

DIPLOMAMUNKA

Állatorvostudományi Egyetem
Élelmiszer-higiéniai Tanszék

A prochloráz penetrációja a növényi szövetekbe poszt-harveszt alkalmazás során
Penetration of prochloraz into plant tissues during treatment and storage

Készítette: Batta Sára

Témavezető: Dr. Lányi Katalin

ÁTE, Élelmiszer-higiéniai Tanszék, tudományos főmunkatárs

Budapest

2022.

Absztrakt

Kutatásom során a prokloráz hatóanyagú Faxer növényvédőszeret vizsgáltam, ami pre- és posztharveszt peszticidként is használatos. Kísérleteink során kereskedelmi forgalomban kapható kezeletlen héjú citromokon tanulmányoztuk a prokloráz penetrációját a növény mélyebb szöveteibe. 3 féle koncentrációban 1, 4 illetve 8 perc behatási ideig merítéses módszerrel, emellett a permetezéshez legjobban hasonló spricceléssel vittük fel a megfelelő koncentrációra hígított oldatot a gyümölcsre. A minta előkészítést elvégeztük a citrom héjából és héj nélküli gyümölcs húsából is a QuEChERS módszerrel, majd a minták prokloráz koncentrációját LC-MS/MS rendszerrel mértük meg. Az élelmiszer-toxicológiai vizsgálatokon túl a MATE keszthelyi Georgikon Campusának Növényvédelmi Tanszékével karöltve házityúk tojásokon is alkalmaztuk a növényvédőszeret, hogy információt nyerjünk az ökotoxikológiai tulajdonságairól. 2 féle koncentrációban merítettük be a vizsgált tojásokat, majd rögtön a kezelés után, az első napon, a második napon, a 9. nap után, és a 19. nap után is mintát vettünk belőlük. A kezelési kísérletek azt mutatták, hogy mind a bemejtési időnek, mind a kezelő oldat koncentrációjának szignifikáns hatása volt a gyümölcs héján mérhető reziduum-szintekre. A spray-vel felvitt növényvédő szer alacsonyabb reziduum-szintet eredményezett, mint az ugyanolyan koncentrációjú bemejtéses kísérletek legtöbbje, viszont jelentősen nőtt a szennyezés heterogenitása a gyümölcsön. A tojás vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a prokloráznak jól kimutatható embrió károsító hatása van.

Az eredményeim alapján javasolható, hogy a jelenleginél sokkal alaposabban és feltűnőbben hívják fel a fogyasztók figyelmét a kezelt héjú gyümölcsökre, mert az oda nem figyelés komoly egészségkárosodáshoz, vagy környezeti kárhoz vezethet.

Abstract

In my research, I tested the pesticide Faxer, which contains the active ingredient prochlorase and is used as a pre- and post-emergence pesticide. In our experiments, we studied the penetration of prochlorase into the deeper tissues of the plant on commercially available untreated lemons. In addition, we applied the solution diluted to the appropriate concentration to the fruit by a spray application method at 3 different concentrations with 1, 4 and 8 min of immersion time. Sample preparation was performed on both lemon peel and peelless fruit flesh using the QuEChERS method, and the prochlorase concentrations of the samples were measured by LC-MS/MS. In addition to the food toxicological studies, the pesticide was also applied on domestic hen eggs in collaboration with the Department of Plant Protection

Georgikon Campus of MATE, Keszthely, to obtain information on its ecotoxicological properties. The treatment experiments showed that both the immersion time and the concentration of the treatment solution had a significant effect on the residue levels measured on the fruit peel. The spray-applied pesticide resulted in lower residue levels than most of the immersion experiments with the same concentration, but significantly increased the heterogeneity of contamination on the fruit. The egg studies demonstrated that prochlorase has a well-detectable embryo damaging effect.

Based on my results, it is recommended that consumers' attention to treated peeled fruit should be more thoroughly and conspicuously drawn than at present, as inattention could lead to serious health or environmental damage.

TARTALOMJEGYZÉK

1. Rövidítések jegyzéke.....	6
2. Bevezetés.....	8
3. Irodalmi áttekintés.....	10
3.1. A prokloráz.....	10
3.2. Élelmezés-egészségügyi határérték.....	11
3.3. Ökotoxikológiai vonatkozások.....	12
3.4. A prokloráz madarakra gyakorolt hatása.....	14
3.5. Humán vonal.....	15
4. Célkitűzés.....	17
5. Anyag és módszertan.....	18
5.1. Anyag és módszertan a citromokat érintő kísérletekben.....	18
5.1.1. QuEChERS módszer.....	21
5.1.2. Műszeres mérések.....	23
5.1.3. Adatfeldolgozás.....	24
5.2. Tojásokat érintő kísérletek anyag és módszertana.....	24
6. Eredmények.....	27
6.1. Citrommal történt vizsgálatok eredményei.....	27
6.2. Tojásokkal történt vizsgálatok eredményei.....	28
7. Következtetések.....	32
8. Összefoglalás.....	33
9. Irodalomjegyzék.....	35
10. Köszönetnyilvánítás.....	38

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

MRL	maximum residue level = megengedett növényvédőszer maradékok határértéke
HWB	hot water brushing
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Egyesült Nemzetek Szervezetének Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezete)
EFSA	European Food Safety Authority (Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság)
TCDD	2,3,7,8-tetraklór-dibenzo-p-dioxin
BuChE	butirilkolinészteráz
InsL3	insulin-like hormon 3
PCZ	prokloráz
MeOH	metil-alkohol
MATE	Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
CL	kontroll citrom
L1L	alacsony koncentrációjú bemeztető oldatban, 1 percig rázatott citromok
L4L	alacsony koncentrációjú bemeztető oldatban, 4 percig rázatott citromok
L8L	alacsony koncentrációjú bemeztető oldatban, 8 percig rázatott citromok
M1L	közepes koncentrációjú bemeztető oldatban, 1 percig rázatott citromok
M4L	közepes koncentrációjú bemeztető oldatban, 4 percig rázatott citromok
M8L	közepes koncentrációjú bemeztető oldatban, 8 percig rázatott citromok
H1L	magas koncentrációjú bemeztető oldatban, 1 percig rázatott citromok
H4L	magas koncentrációjú bemeztető oldatban, 4 percig rázatott citromok
H8L	magas koncentrációjú bemeztető oldatban, 8 percig rázatott citromok
LSL	alacsony koncentrációjú oldattal spricceléssel bevont citromok
MSL	közepes koncentrációjú oldattal spricceléssel bevont citromok
HSL	magas koncentrációjú oldattal spricceléssel bevont citromok
LC-MS/MS	Liquid chromatography – tandem mass spectrometry (Folyadékromatográfia- tandem tömegspektrometria)
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (mintaelőkészítési módszer)
CE	kontroll tojás
EL	alacsony koncentrációba merített tojások
EH	magas koncentrációba merített tojások

1EL	alacsony koncentrációba merített tojás -1. mintavétel
2EL	alacsony koncentrációba merített tojás -2. mintavétel
3EL	alacsony koncentrációba merített tojás -3. mintavétel
4EL	alacsony koncentrációba merített tojás -4. mintavétel
5EL	alacsony koncentrációba merített tojás -5. mintavétel
1EH	magas koncentrációba merített tojás -1. mintavétel
2EH	magas koncentrációba merített tojás -2. mintavétel
3EH	magas koncentrációba merített tojás -3. mintavétel
4EH	magas koncentrációba merített tojás -4. mintavétel
5EH	magas koncentrációba merített tojás -5. mintavétel
n.q.	nem mérhető érték

2. BEVEZETÉS

Több mint 7,5 milliárd éhes száj van a bolygónkon. A világ népességének ilyen mértékű növekedése nem jöhetett volna létre az élelmiszertermelés párhuzamos növekedése nélkül. Peszticidek használata nélkül a gyümölcsstermelés 78%-os, a zöldségtermesztés 54%-os, a gabonatermesztés pedig akár 32%-os veszteséggel is járhatna. Jól látszik, hogy a peszticidek ma is világszerte kritikus szerepet játszanak a termés hozam növelésében. [1]

A peszticidek alkalmazása számos előnnyel jár az emberiség számára a mezőgazdasági, ipari és egészségügyi területeken, de toxicitásuk emberben és állatban is mindig aggodalomra ad okot. A peszticidek segítségünkre vannak a kártevők elpusztításában és a gyomok elleni védekezésben, ugyanakkor a környezetbe kijutva szennyezhetik a talajt, a vizeinket, a levegőt, ezáltal mérgezőek lehetnek más szervezetekre is, például a nem célnövényekre, hasznos rovarokra, halakra, madarakra. Az ilyen vegyszermaradványok a környezet- és élelmiszerszennyezés által is hatással vannak az ember egészségére is. A megtermelt élelmiszerek egyharmada élelmiszer hulladékká válik. Európában évente 88 millió tonna élelmiszert pazarolunk el.[1]

Az élelmiszer-pazarlás globális mennyisége 1,6 milliárd tonna [2]. Fontos összetevője ennek a nagy számnak, a tárolás és a szállítás során megromló termék; ez ellen védekezünk a poszt-harveszt peszticidekkel. Ezenkívül az éghajlatváltozással összefüggő tényezők is hatással vannak a peszticidek felhasználására, megnövekedett peszticidhasználatot és növényvédőszer-szennyezést eredményeznek. [3]

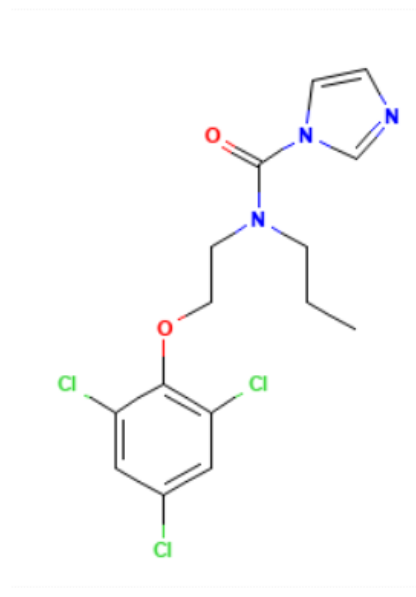
Függetlenül az akut mérgezéstől - amely a peszticidek bizonyos osztályaiban, például a szerves foszforsav és származékainak esetében gyakori - a peszticidek krónikus és idővel akár halálos elváltozásokkal is összefüggésbe hozhatóak, ezért globális figyelmet kaptak az utóbbi évtizedekben. Számos cikk megjelenet azzal kapcsolatban, hogy peszticidekkel való kontamináció összefüggésbe hozható jónéhány kórkép kialakulásával, például neurodegeneratív-, légzőszervi-, reprodukív-, fejlődési- és anyagcserebetegségek. Közülük néhány példa: rákos megbetegedések, Alzheimer-kór, Parkinson-kór, szklerózis, asztma, hörghurut, meddőség, születési rendellenességek, figyelemhiányos hiperaktivitási rendellenesség, autizmus, cukorbetegség, és az elhízás. [4]

Általában az élelmiszerekben található peszticid-reziduumok értéke nem haladja meg az előírások alapján meghatározott megengedett növényvédőszer-maradvány értéket (ún. MRL). A közelmúltban történt ellenőrzések alapján Kínában, a gyümölcs- és zöldségminták 95,0 %-a az előírt maximális maradékanyag-határérték (MRL) alatt volt, a minták 66,2 %-ában pedig az Európai Unióban meghatározott MRL alatti [5]. Ez összehasonlítható az EU-s országok eredményeivel, ahol az élelmiszerminták több mint 96% -a megfelelt az előírásoknak [6]. Az emberek azonban tipikusan több peszticid csoporttal érintkeznek egy időben, ezért fontos lehet a többfajta anyag együttes hatásának felmérése és a halmozott kockázatértékelés is [7].

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A PROKLORÁZ

Dolgozatom témája az imidazol származékok közé tartozó prokloráz. Ez egy gombaölő szer, melyet széles körben használnak kertészetekben és mezőgazdaságban. Alkalmazzák búzán, árpán, burgonyán, paradicsomon, citrusféléken, laskagombán, cseresznyén, emellett virágtermesztésben és golfpályák gyepének karbantartása során.



1. ábra: Prokloráz szerkezeti képlete [8]

A gombaölő szerként használt imidazolok hatása a lanoszterol ergoszterollá történő átalakulásához szükséges citokróm P450-függő 14α -demetiláz aktivitás gátlásán alapul [9], amely a gombák sejtmembránjának egyik alapvető összetevője. Ennek a gátlásnak a molekuláris alapja egy imidazol-rész jelenléte, amely erős kölcsönhatásba lép a citokróm P450 vasatomjával. A kötődés nem specifikus, így az imidazol fungicidek számos más citokróm P450-függő enzim aktivitását is gátolják, beleértve a szteroidok bioszintézisében és metabolizmusában részt vevő kulcsenzimeket, pl. CYP19 aromatáz [7].

Néhány példa a múltból a szer pozitív hatásaira: A proklorázzal kezelt vetőburgonya szignifikánsan ellenállóbb volt az ezüstfoltosságot okozó *Helminthosporium solani* és az ún. fekete pontokat kialakító *Colletotrichum coccode* fertőzéssel szemben, emellett nem befolyásolta hátrányosan a növényállományt vagy a gumótermést [10].

Mangó gyümölcs *Alternaria alternata* gomba okozta szüret utáni megbetegedésének előfordulásának csökkentésére és a mangó gyümölcs eltarthatóságának javítására egy 15-20 másodpercig tartó kombinált melegvizes permetezést és gyümölcskefés (hot water brushing - HWB) kezelést fejlesztettek ki. A forró vizes kezelés hatékonyságát 48 és 64 °C közötti hőmérséklet-tartományban tesztelték, proklorázos kezeléssel és gyümölcsviaszolással kombinálva. A gyümölcsök forró vizes ecsetelése jelentősen csökkentette az *A. alternata* által okozott bomlás (a fertőzött területen) kialakulását [11]. Ez a gombafaj akár ornyálkahártyagyulladást is okozhat immunhiányos páciensekben.[12]

Zhang és munkatársai 2020-ben publikált kutatásában egyértelműen megjelölik, hogy a széles körben alkalmazott prokloráz 50%-kal csökkenti a *Penicillium digitatum* által okozott zöldpenész kialakulását 0,005 és 0,01 mg/liter dózisban [13]. Bár a *P. digitatum* emberi fertőzése ritka, úgy tűnik, hogy ez a gomba nagyon virulens és rezisztens lehet az antimikotikumokkal szemben és akár halálos kimenetelű tüdőgyulladást is okozhat.[14]

3.2. ÉLELMEZÉS-EGÉSZSÉGÜGYI HATÁRÉRTÉK

Az EFSA által 2011-ben végzett szakértői értékelést követően az 1143/2011/EK bizottsági végrehajtási rendelettel közzétették a prokloráz hatóanyagának a 91/414/EGK irányelv I. mellékletébe való felvételéről szóló határozatot. Az 541/2011/EU rendelet értelmében a proklorázt az 1107/2009/EK rendelet értelmében jóváhagyottnak kell tekinteni. Ez a jóváhagyás csak gombaölő szerként történő felhasználásra korlátozódik. A kültéri felhasználásra a kijuttatási mennyiségre vonatkozóan korlátozás van meghatározva, amely kijuttatásonként nem haladhatja meg a 450 g/ha-t. A proklorázra vonatkozó uniós MRL értékeket a 396/2005/EK rendelet II. és IIIB. melléklete határozza meg. [15]

A prokloráz természetét három különböző növénycsoportban (gabonafélék, olajos magvak/hüvelyesek, gyümölcsös növények és gombák) vizsgálták. Ezen túlmenően a rendelkezésre álló tanulmányok különböző típusú alkalmazásokra vonatkoznak (levélkezelés, vetőmagkezelés és helyi alkalmazások). Minden tanulmányban hasonló metabolizmust azonosítottak, ami lehetővé tette az EFSA számára, hogy általános határértéket állapítson meg a növényi árukban. [15]

A kockázatértékeléshez szükséges maradványanyagok értékét a prokloráz és a 2,4,6-triklór-fenol részt tartalmazó metabolitjainak összegeként határozták meg. Hasonló szermaradvány-mintázatot figyeltek meg a vetésforgós kultúrákban, és stabilnak találták standard hidrolízis körülmények között. Ezért ezek a szermaradvány-meghatározások a vetésforgóban természet

növényekre és feldolgozott árukra is érvényesek. A rendelkezésre álló szermaradványvizsgálatok elegendőek voltak ahhoz, hogy az összes értékelt árura vonatkozó MRL-javaslatokat, kockázatértékelési értékeket határozzanak meg, kivéve a citrusféléket, a mandulát, a csonthéjas gyümölcsöket és az epret. A gabonaszalmára, a cukorrépa fejekre, a takarmányrépára (gyökér és fej) és a repce/repce takarmányra vonatkozó kísérleti MRL értékeket is meghatározták, tekintettel arra, hogy a takarmánytélékben MRL értékeket kell meghatározni. A korlátozott vetésforgóban termesztett növényeken végzett vizsgálatok alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a vetésforgós kultúrákban jelentős szermaradványok várhatók. Kísérleti jelleggel kockázatcsökkentő intézkedést javasoltak (minimum 365 napos visszavetési intervallum) ennek a felvételnek a korlátozására. Az élelmiszeripari termékek esetében a javasolt mérséklés várhatóan elegendő lesz a jelentős felhasználás elkerülésére [15].

3.3. ÖKOTOXIKOLÓGIAI VONATKOZÁSOK

A zebra-dánió vagy zebrahal (*Danio rerio*) egy trópusi eredetű, háziastított pontyféle, melyet egyre gyakrabban használnak vegyi anyagok és a szennyvizek toxicitásának vizsgálatára, mivel tartásuk gazdaságos, egyedfejlődésük gyors, és érzékenyek a környezeti hatásokra. A proklorázzal való kontamináció egyértelműen teratogén hatással volt a vizsgált zebra-dániók fejlődésére, több aggasztó tünetegyüttes is megjelent, például a gerincdeformáció, testszerte ödéma, pigmenthiány bradycardia vagy akár embrióelhalás is megfigyelhető volt. [16]

Egy másik tanulmány célja a prokloráz endokrin hatásainak vizsgálata volt, szintén zebra-dániókon. A zebra-dániókat különböző koncentrációjú prokloráznak (10-300 µg / l) tették ki a kikelés utáni 60. napig, amely magában foglalja a szexuális differenciálódás időszakát is. A következő 40 napban a halakat tiszta vízben tartották a peszticid szervezetükből való kiürülésének céljából, vagy további folyamatos kontaminációnak vetették alá. Az ivarmirigyek szövettani vizsgálata során szignifikáns elváltozásokat mutattak ki a nemi differenciálódásban. A nemek aránya eltolódott a hím ivar arányába, és lényegesen több interszexuális egyedeket találtak a kikelés utáni 60. napon. A 40 napos tiszta vízben tartás után nem találtak interszexuális egyedeket de még továbbra is több volt a hím egyedek száma, a nőstények pedig éretlenebb petefészekkel rendelkeztek mint a kontroll csoport egyedei. Ez alátámasztja, hogy a prokloráz visszafordíthatatlanul befolyásolja a zebra-dánió nemi fejlődését [17].

A méhek fontos részei az ökoszisztémának, ezért több kísérletet is végeztek azzal kapcsolatban, hogy a peszticid milyen hatással vannak a mézelő méhek életciklusára.

Kimutatták a prokloráz jelenlétét pollenben és mézben is. Bizonyították, hogy megváltoztathatja a mézelő méhek immunstátuszát a különböző fejlődési szakaszokban, ezek közül is a lárva stádium a legérzékenyebb. Ez befolyásolja a következő évi méhcsaládok számát, hiszen ha az áttelelő lárvák, akik felelősek a populáció túléléséért, elpusztulnak, kevesebb lesz az utánpótlás. Ez a forgatókönyv akkor a legvalószínűbb, ha a méhek a szezon végén proklorázzal kezelt napraforgóról gyűjtenek [18].

Alkassab és munkatársai a tiaklopid-prokloráz keveréket, ajánlott mennyiségben (72 g tiaklopid/ha és 675 g prokloráz/ha) alkalmazták virágzó repcén, majd vizsgálták hatásait, a repce táblával érintkező darazsakon, méheken. A vörös kőműves méh (*Osmia bicornis*) reprodukciós készségében negatív irányú változás volt megfigyelhető, ugyanis a nevelt bábok száma jelentősen kevesebb volt, mint a kontroll csoportban [19].

Áttérve az emlősök világára: Vingaard és munkatársai leírták, hogy a prokloráz ösztrogénként és androgén antagonistaként is viselkedik a szervezetben. A szer azon képessége, hogy egynél több mechanizmuson keresztül hat, fokozhatja a biológiai toxicitását.

A patkányokon végzett kísérlet során, a vemhesség 7. napjától adagoltak proklorázt, az ellés utáni 17. napig. Az anyatej kémiai elemzése azt mutatta, hogy a prokloráz átkerült a tejbe is. Emellett kismértékben, de statisztikailag szignifikánsan megnövelte a vemhesség átlagos hosszát, körülbelül 12 órával. Hím ivarú utódokban méretben jelentősen visszamaradt mellbimbókat, csökkent fejlettségű bulbourethralis nemi mirigyét, és az anogenitális távolság lecsökkenését tapasztalták. Ez összefüggésbe hozható a prokloráz által kiváltott tesztoszteronszint-csökkenéssel és progeszteronszint növekedéssel, amit a magzatokban mind a herében, mind a plazmában kimutattak [20].

A prokloráz hepatotoxicitását is igazolták már egereken illetve patkányokon végzett kísérletek során [21].

Egy másik patkányokon végzett tanulmány során megállapították, hogy mivel a prokloráz gátolja a tesztoszterontermelést, csökkenti az androgénérzékeny szervek súlyát és fejlettségét, valamint késlelteti a hím egyedekben a pubertás időszakot [22].

Egy 2012-es kísérlet során holstein-fríz tehenek primer emlőhámsejt tenyészetén vizsgálták a prokloráz és a káros hatásairól jól ismert TCDD interakcióit. Szignifikánsan kimutatható, hogy a prokloráz fokozhatja a potenciálisan káros xenobiotikumok transzporter által közvetített kiválasztódását a tejbe. Ezek az eredmények további vizsgálatokra adnak okot, mind a borjak, mind a tejterméket fogyasztó humán vonalon is [23].

3.4. A PROKLORÁZ MADARAKRA GYAKOROLT HATÁSA

A PCZ madarakra gyakorolt biotoxikus hatásait is többen kutatták már:

J. L. Rivière és munkatársai a PCZ gyógyszeranyagcserére gyakorolt hatását vizsgálták különböző madárfajokon: japán fűrjben (*Coturnix coturnix*), szürke fogolyban (*Perdix perdix*), csirkében (*Gallus gallus*) és fácánban (*Phasianus colchicus*). A szer indukálta a máj és a bélrendszer citokróm P-450 rendszerét és növelte a monooxigenáz aktivitást. Fűrjekben egyetlen adag PCZ beadása után kétfázisú hatást láttak: gátolta, majd indukálta az anilin-hidroxiláz aktivitást. Ezzel a kétfázisú mintázattal szoros összefüggésben módosult a pentobarbitál inaktiválási ideje és az inszekticid paration toxicitása. A prokloráz különböző dózisszintű alkalmazása a fűrj takarmányában nem befolyásolta a termékenységet és az utódfejlődést [24].

A malation (egy szerves foszfát rovarirtó szer, amely acetilkolinészteráz inhibitorként működik) toxicitása fokozódott a vöröslábú foglyok (*Alectoris rufa*) esetében a prokloráznak való behatást követően. Az egyszeri, 180 mg/kg-os orális adaggal végzett prokloráz előkezelés a szerves foszfortartalmú rovarirtó malation toxicitásának drámai fokozódását eredményezte. A proklorázzal előkezelt madaraktól három egyed 10 percen belül elpusztult akut mérgezés következtében (az agy kolinészteráz aktivitásának 82-100%-os gátlása miatt) 3,3 mg vagy 16,7 mg/kg malation intraperitoneális beadását követően, míg a szérumban kolinészteráz-aktivitás szignifikáns gátlása nem volt megfigyelhető a kontrollmadarakban 1 órával az inszekticid beadása után. A prokloráz előkezelés az alacsony orális malation dózissal szembeni érzékenység jelentős növekedését is eredményezte. A malation in vitro metabolizmusa a kontrollmadarak mikroszómáiban nagyrészt malation-monosav képződését eredményezte, míg az antikolinészteráz esetében a malaoxon volt a fő metabolit, amelyet a proklorázzal előkezelt madarak mikroszómái termeltek. A malation toxicitásának drámai felerősödése a proklorázzal való indukciót követően annak tulajdonítható, hogy egy vagy több indukált monooxigenáz forma fokozza a malation aktiválását [25].

Szintén hibrid vöröslábú foglyokkal végzett laboratóriumi vizsgálatok kimutatták, hogy a mezőgazdasági peszticidek bizonyos kombinációinak kölcsönhatása a toxicitás fokozódásához vezethet. Erre a megállapításra tekintettel a fogságban tartott vadgalambokat (*Columba livia*) és a seregélyt (*Sturnus vulgaris*), a hibrid vöröslábú foglyok (*Alectoris rufa*) mellett egy laboratóriumi vizsgálatban is felhasználták, hogy kiterjessék a toxicitás fokozására irányuló vizsgálatokat. A malation és a prokloráz együttes hatását vizsgálták ebben a kísérletben is.

A 90 vagy 180 mg/kg proklorázzal végzett előkezelést követően mind a galambok, mind a foglyok szervezetében szignifikánsan nagyobb mértékben gátlódott a szérumbutirilkolinészteráz (BuChE) aktivitás, mint a kontrollmadarakban. Másrészt a 180 vagy 300 mg/kg proklorázt kapott seregélyek nem mutattak eltérést a kontrollokhoz képest a szérumbuChE gátlásában malation-adagolás után. A szérumbuChE fokozott gátlása galambban és fogolyban malation adagolása után a malation malaoxonra való fokozott aktiválódásának tulajdonítható, miután a máj monooxigenáz rendszerét prokloráz indukálta. A szérumbuChE gátlás hasznos lehet az organikus foszfátok és bizonyos gombaölő szerek interaktív hatásainak vizsgálatában a szántóföldön [26].

A mezőgazdasági területen élő madarak tojásainak jelenleg használt növényvédő szerekkel történő szennyeződése rosszul dokumentált, annak ellenére, hogy károsan befolyásolhatja tenyésztési teljesítményüket. Emiatt Elisabeth Bro és munkatársai 139 vadmadártojást elemeztek, melyeket Franciaországban 12 intenzíven művelt mezőgazdasági területen gyűjtöttek be 2010–2011-ben. Összesen 15 különböző vegyületet mutattak ki a tojásokból. Közülük kilencet használtak a gazdálkodók a gombák (difenokonazol, tebukonazol, ciprokonazol, fenpropidin és prokloráz), a rovarok (lambda-cihalotrin és tiametoxam/klotianidin) és a gyomok (bromoxinil és diflufenikán) elleni védelmére. Ezek az eredmények arról tanúskodnak, hogy a tojók és a tojások ténylegesen ki vannak téve a növényvédőszerrel való szennyeződésnek, valamint a Franciaországban évek óta betiltott szerves klórszennyező anyagoknak vagy azok maradékainak, amelyek tartósan szennyezik a környezetet [27].

3.5. HUMÁN VONAL

Az állatokkal végzett kísérletek eredményeinek felhasználása humán vonalon, nem mindig lehetséges alapvető biológiai eltérések miatt: különbözik a molekulák expressziós szintje, lokalizációja, a szubsztrát szelektivitás vagy a transzportfehérjék eltérő tulajdonságai miatt.

Floerl és munkatársai különböző gyógyszerek és peszticidek hatásait vizsgálták egér, patkány és emberi sejtvonalakon is, melynek eredményeként elmondták, hogy sok esetben átültethetőek az adatok humán vonalra, viszont nem kizárható, hogy vannak különbségek, a faji eltérések miatt, ami további vizsgálatokat igényel [28].

Aggodalomra ad okot olyan vegyületek kumulatív expozíciója, amelyek megzavarják a férfi szexuális differenciálódást a magzati életben, hiszen ez visszafordíthatatlan károsodásokhoz vezethet, ideértve a sperma minőségének romlását, a herék le nem szállását, a pénisz rendellenes fejlődését és a hererákot. A hagyományos vegyi anyag egyenkénti

kockázatértékelési megközelítése nem elegendő, hiszen nem képes felmérni kumulatív egészségügyi kockázatokat. Itt fontos megemlíteni az androgén receptor antagonistákat, mint például a saját kutatásom anyagát: a proklorázt. Az androgén receptor antagonisták képesek megzavarni a szteroid szintézist, InsL3 termelést (insulin-like hormon 3), és a prosztaglandin jelátvitelt emberben is [29].

Humán placenta sejtvonalon folytatott kísérletek során kiderült, hogy a triazolok mellett a prokloráznak is dózisfüggő gátló hatása van a progeszteron termelésre, kissé fokozza az aromataz expressziót és az ösztradiol termelést. Az emberi placenta által termelt fő szteroid hormon a progeszteron. Míg a terhesség első trimeszterében a petefészek hozzájárul a progeszteron szintéziséhez és ezzel a terhesség fenntartásához, az utolsó két trimeszterben ezt a szerepet a placenta veszi át. A prokloráz szignifikánsan csökkenti a placenta progeszteron szekrécióját [30].

Kongsbak és munkatársai számítógépes modellek segítségével megállapították, hogy a prokloráz emberi egészségre gyakorolt hatásaira vonatkozó előrejelzések összhangban vannak a patkányokon végzett kísérleti adatokkal, amelyek azt mutatják, hogy a proklorázzal való kezelés fő káros következménye a reprodukciós szervekkel kapcsolatos [31]. Leírták, milyen gének társulnak az adott kórformához, majd megnézték, mely gének társulnak a prokloráz expozícióhoz és ezek között van-e, ami társul az adott kórfolyamathoz. Számos esetben találtak szignifikáns összefüggést pl: gynecomastia, Leydig sejt daganat, prosztata rák, endometriosis, policisztás petefészek szindróma [32].

4. CÉLKITÚZÉS

Diplomamunkám témája ennek a széles körben használt poszt-harveszt peszticid, a prokloráz penetrációjának vizsgálata növényi szövetekben. Kutatásom arra irányult, hogy a gyümölcs héjára felvitt poszt-harveszt növényvédőszer megjelenik-e a héjon kívül a szövetekben, a gyümölcshúsban is. Vizsgálatunkhoz kereskedelmi forgalomban kapható kezeletlen héjú citromokat vettünk és ezeket mi kezeltük le prokloráz hatóanyagú Faxer növényvédőszerrel.

A citrom egy fontos és népszerű citrusféle mind nyersen, mind élelmiszer alapanyagként fogyasztva, ezért is választottam kísérleteim alapjául. Az Európai Unióban 964 ezer tonna citromot importálnak az európai országok egymást közt, és ezen felül még 447 ezer tonna citromot importálnak az Unión kívülről [33] Magyarországon az egy főre jutó éves citrus fogyasztás átlagosan 6,2 kg, olvasható a Központi Statisztikai Hivatal oldalán [34].

Emellett felmerült a kérdés, hogy a szer veszélyt jelenthet-e az elsődleges szántóföldi alkalmazása során a környéken fészkelő madár populációk újabb generációira teratogén hatása végett. Emiatt megtermékenyített házityúk tojásokon vizsgáltuk a prokloráz hatásait.

5. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN

5.1. ANYAG ÉS MÓDSZERTAN A CITROMOKAT ÉRINTŐ KÍSÉRLETEKBEN

A prokloráz hatóanyagú Faxer gombaölő permetezőszer NÉBIH által kiadott forgalomba hozatali és felhasználási engedélyében olvasható, hogy egy átlátszó, emulzióképző apoláros folyékony koncentrátumról van szó. A hatóanyag koncentrációja 450 g/l. A felhasználási előírás alapján őszi és tavaszi búzán, rozson és tritikálén lehet alkalmazni a szárbaindulástól egészen a kalászhányás végéig. Szeptóriás levélfoltosság és szártörőgomba ellen javasolt megelőző jelleggel, vagy legkésőbb az első tünetek megjelenésekor egy alkalommal. Légi permetezése nem engedélyezett. Az előírt alkalmazási dózisa 1 liter Faxer 300-400 liter vízbe keverve hektáronként. Kifejezetten veszélyes vízi szervezetekre, hosszan tartó károsodást okoz. LD50 értéke patkányokra 1796 mg/ttkg. Emberi szervezetre nézve belélegezve, lenyelve akár halálos is lehet, szembe vagy bőrre kerülve károsodást, helyi irritációt okoz. Élelmezési-egészségügyi várakozási ideje 35 nap a javasolt növényfajokra [35].

A Faxer biztonsági adatlapjában olvasható a vegyszer összetétele. Megközelítőleg 40,7 % PCZ, 10-20 % benzil-akohol, mely belélegezve akut toxicitást eredményez, kb. 10 % etoxil és foszfát tartalmú poliaril-fenol, ami szembe és bőrre kerülve irritációt okoz; és kb. 10 % aromás szénhidrogén, mely kifejezetten káros a vízi szervezetekre. Tehát nem elhanyagolható a segédanyagok ökototoxicitása sem az aktív hatóanyagé mellett [36].

A megfelelő módszer kidolgozásához és ellenőrzéséhez próbakísérleteket végeztem. A közeli hipermarketben 3-3 kezeletlen héjú, bio illetve kezelt héjú citromot vásároltam. A 3 kezelt héjú citromot 10 percig 5 %-os ecetes vízben áztattam, majd szivaccsal átdörzsöltem és desztillált vízzel mostam le. Ez az eljárás bizonyult a leghatásosabbnak a felületi peszticidek eltávolítására egy a tanszéken végzett kutatás során [37].

Majd az összes citromot 4 csoportra osztottam: mosott, kezeletlen héjú, bio illetve kontroll citromokra. Minden csoport citromait egyesével lemértem, majd meghámoztam egy éles rozsdamentes acél pengéjű késsel, amit a citromok között metanollal majd desztillált vízzel mostam el, hogy elkerüljem a kereszt kontaminációt. Mind a héjakból, mind a gyümölcsök húsából 10,0-10,0 gramm mintát készítettem elő a vizsgálatokra. Ehhez az ún. QuEChERS módszert használtam, majd a minták prokloráz koncentrációját LC-MS/MS rendszerrel mértük meg.

Az éles kísérletekhez összesen 4203 gramm citromot használtunk fel, mindegyik a kezeletlen héjú volt, így lecsökkentettük a háttérszennyeződést lehetőségét. 12 csoportot hoztunk létre, a kezelés során használt bemerítő oldat koncentrációja és a bemerítési idő függvényében, emellett volt egy kontroll csoportunk is. A csoportok átlagos tömege 150 g volt.

Először a hígabb ún. „low” bemerítő oldatot készítettem el, összesen 1,5 litert. Ehhez 4667 µl metanolt, 333 µl prokloráz hatóanyagú Faxert és 1495 ml desztillált vizet használtam. Így 0,1 mg/ml koncentrációjú oldatot kaptam PCZ-ra nézve.

A bemerítés hatékonyságának növeléséhez laboratóriumi horizontális rázatógépre rögzített edényt használtunk. Ebbe behelyeztem az először a „low” csoportot, majd 62-70 fordulatszámot állítottam be az IKA Shakers KS 501 digital készüléken. 1, 4, 8 percig hagytam benne egy-két citromot. Miután az utolsó citromot is kivettem, és hagytam lecsöpögni, kontrollált hőmérsékletű helyiségbe tettem száradni.

Ezután következett a közepes koncentrációjú ún. „medium” bemerítő oldat. 4111 µl metanolt, 889 µl Faxert és szintén 1495 ml desztillált vizet használtam fel a PCZ-ra nézve 0,27 mg/ml koncentrációjú oldat elkészítéséhez. Ebben is elvégeztem a 1, 4, 8 perces bemerítést a következő citrom csoporttal.

Ezt követően a magasabb koncentráció eléréséhez 3333 µl metanolt és 1667 µl Faxert tettem az 1400 ml desztillált vízhez majd az előzőekkel megegyező módon jártam el a kapott 0,5 mg/ml PCZ koncentrációjú oldattal. Ez megfelel a poszt-harveszt technológiák során alkalmazott koncentrációval (400 liter permetezőszer/ha).

Modellezni próbáltam a szántóföldi permetezést is. A próbakísérletek során kiderült, hogy egy egyszerű műanyag szórófej pumpás kézi permetezővel 8 fújás bizonyult elegendőnek, a gyümölcs héjának teljes beborításához. A 8 fújás 855 µl-nek felel meg.

Elkészítettem a 3 különböző koncentrációjú oldatot majd lepermeteztem az erre a célra szánt citrom csoportokat. Az előző módszerrel megegyező koncentrációjú oldatokat készítettem. Az alacsony koncentrációjú permetezéshez 956 µl metanolt, 44 µl Faxert és 19 ml desztillált vizet használtam, így kaptam meg a kívánt 0,1 mg/ml-es PCZ koncentrációt. A közepes töménységhez 881 µl metanolt és 119 µl Faxert, a legtöményebb oldathoz pedig 778 µl metanolt és 222 µl Faxert tettem a 19 ml desztillált vízbe. Ily módon kaptam meg a közepes, azaz 0,27 mg/ml koncentrációjú és a magas, azaz 0,5 mg/ml koncentrációjú oldatot PCZ-ra nézve.

Ezek után bemelegített és lefűjt, lecsöpögtetett citromokat egy napig száradni hagytam kontrollált hőmérsékletű helyiségben. (2. ábra)



2. ábra: A kezelt citromokat egy napig száradni hagytam

A kísérlet másnapján a citromokat csoportonként laboratóriumi mérleggel lemértem, majd gumikesztyűben, erre a célra szánt késsel meghámoztam és így is lemértem. Átlagosan 2,541 mm lett a lehámozott héjak vastagsága, digitális tolómérőt használva a méréshez. Ezt követően a héjat apró darabokra vágtam egy erre a célra előkészített vágódeszkán (3. ábra), a gyümölcshúst pedig a felszeletelés után konyhai robotgéppel homogenizáltam. Analitikai mérleg segítségével 10-10 grammot tettem centrifuga csövekbe a héjból és a gyümölcshúsból is. Ezt a kontroll csoporttal is elvégeztem.

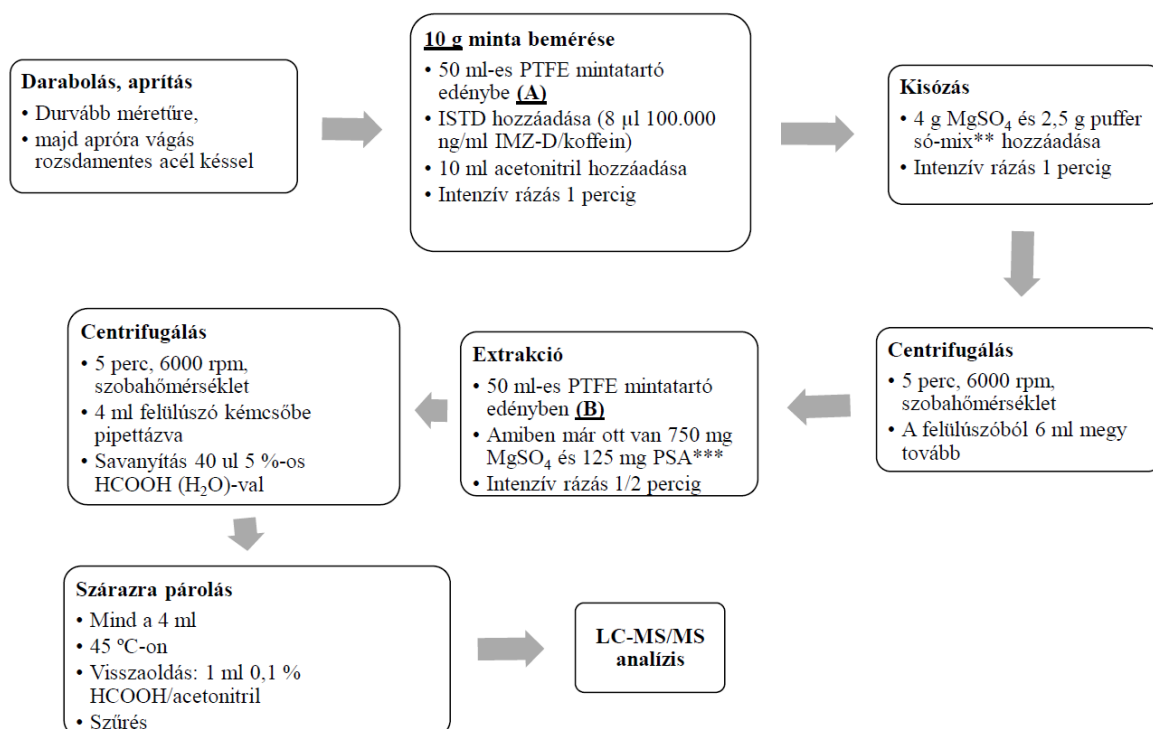
A csoportok között a segédeszközeimet metanolos-acetonos eleggyel és desztillált vízzel takarítottam a kontamináció kockázatának csökkentésére.



3. ábra: Hámozott citrom, felszeletelt héj

5.1.1. QuEChERS módszer

Miután minden csoportból 10,0-10,0 g mintát mértem be 50 ml-es PTFE centrifuga csőbe (5. ábra) és hozzáadtam a belső sztenderdként használt 8 µl koffeint és a 10 ml acetonitrilt, 1 percig intenzíven ráztam a centrifuga csöveket. Majd a kisózás következett 4 mg MgSO₄ és 2,5 g puffer só-mix hozzáadásával és ismét 1 perc intenzív rázással. Ezután centrifugába raktam a csöveket 5 percre és 6000-es percenkénti fordulatszámra. A keletkezett felülúszóból 6 ml-t egy másik 50 ml-es PTFE centrifuga csőbe pipettáztam, amelybe előzőleg már belekerült 750 mg MgSO₄ és 125 mg primer-szekunder amin (PSA). Ezt fél perc intenzív rázás követte majd ismét centrifugába raktam a csöveket 5 percre és 6000-es percenkénti fordulatszámra. A felülúszóból 4 ml-t kémcsövekbe pipettáztam, majd hozzáadtam 40 µl 5 %-os hangyasav oldatot, amit előzőleg elszívó fülke alatt hígítottam. A savanyítás után következett a szárazra párolás. A kémcsöveket 45 Celsius-fokos hőmérsékletre nitrogén áramba raktam és szárazra pároltam (6. ábra). Majd 1 ml 0,1 %-os hangyasavat tartalmazó acetonitriben oldottam vissza (7. ábra). Ez után átszűrtem az elegyet egy szűrővel ellátott fecskendő segítségével és következhetett az LC-MS/MS analízis. (4. ábra)



4. ábra: Az alkalmazott minta előkészítési módszer

(** puffer só mix: 1 g NaCl, 1 g trinátrium-citrát, 0,5 g dinátrium-hidrogén-citrát

***PSA: primer-szekunder amin)



5. ábra: 50 ml-es PTFE centrifuga csövek a
10,0-10,0 g mintákkal



6. ábra : Szárazra párlás



7. ábra: Mintáim az acetonitriben történő visszaoldás után

5.1.2. Műszeres mérések

Az elkészített minták mellett a fent említett minta előkészítési módszert végeztem el az ismert töménységű proklorázzal elszennyezett bio-citromlé mintákkal (mátrix-illesztett kalibráció) és a szennyezetlen bio-citromléből álló vak mintákkal is.

Az extrahált minták PCZ tartalmának mérését LC-MS/MS módszerrel végeztük, egy Shimadzu LCMS-8030Plus rendszeren. Az elválasztáshoz használt kromatográfias oszlop egy Phenomenex Kinetex C18 EVO, 50 x 4,6 mm ID (2,6 µm részecskeméret) kolonna volt; 4 x 2 mm C18 EVO védőkolonnával. Gradiens elúciót alkalmaztunk, melyben az 'A' eluens: 50 mM ammónium-acetát vízben (pH=5 ecetsavval), a 'B' eluens: 0,1 % (v/v%) hangyasav acetonitrilben. Az áramlási sebesség: 0,3 mL/min; egy kromatográfias mérés ideje: 8 perc volt. A kolonnatér hőmérséklete: 30 °C, a mintaadagoló hőmérséklete: 5 °C. Injektált térfogat: 10 µl.

Electrospray (ESI) ionforrást használtunk pozitív ionizációs polaritással, multiple reaction monitoring (MRM) módban. Interface: 4,5 kV, interface hőmérséklet 250 °C, desolvation line: 300 °C, heat block: 350 °C, detektor feszültség: 1,78 kV, porlasztó gáz (N₂): 3 l/perc, szárító gáz (N₂): 15 l/perc. Ütközési gáz (Ar): 230 kPa.

A mennyiségi méréshez belső sztenderdes kalibrációt alkalmaztunk, deuterált imazalilt használva belső sztenderdként (ISTD). Ennél a módszernél az állandó koncentrációban adagolt belső sztenderd kromatográfias csúcsterületéhez viszonyítja az adatgyűjtő szoftver a mérendő vegyület csúcsterületét, és azt a koncentráció arányok függvényében ábrázolva kalkulálja a kalibrációs egyenest, illetve végzi mérendő vegyületek koncentrációjának számítását az ismeretlen mintákban.

A mesterségesen és ismert koncentrációkkal elszennyezett biocitromlevek mátrix-illesztett kalibrációja segített kiküszöbölni a háttér hatásokat, amiket az esetleges komplex növényi szövetek jelentettek.

A kalibrációs pontok abban az esetben voltak elfogadhatóak, ha azt a kalibrációs egyenes $\pm 15\%$ -os pontossággal visszamérte a névleges koncentrációhoz képest. Az ettől nagyobb mértékben eltérő értékeket figyelmen kívül hagytuk. Legalább 9-pontnak elfogadhatónak kellett lennie a 11 pontos kalibrációból, emellett az egyenes r^2 értékének legalább 0,99-nek kellett lennie ahhoz, hogy az adott batch kalibrációját elfogadhatónak nyilvánítsuk. A kalibrációs mintákat és az éles mintáikat is háromszor injektáltuk.

Az LC-MS/MS módszer alsó mérési határa (LOQ) 0,5 ng/ml (ng/g), az alsó kimutatási határa 0,1 ng/ml volt.

5.1.3. Adatfeldolgozás

Az LC-MS/MS analízis eredményeit a SHIMADZU LabSolutions® program segítségével dolgoztuk fel, majd az Excel segítségével statisztikai számításokat végeztünk.

5.2. TOJÁSOKAT ÉRINTŐ KÍSÉRLETEK ANYAG ÁS MÓDSZERTANA

A citrom kezeléssel foglalkozó kísérletekben három PCZ koncentrációval dolgoztunk: 0,10; 0,27 és 0,50 mg/ml, melyek közül a középső koncentráció, azaz a 0,27 mg/ml felel meg a poszt-harveszt technológiákban használt töménységnek. A szántóföldi alkalmazás során lényegesen nagyobb koncentrációkban használják a PCZ-t [35].

Az alkalmazási területek figyelembevételkor felmerült a kérdés, hogy a szer ilyen koncentrációkban milyen hatást fejthet ki a környéken fészkelő vadmadár populációkra. Ezt próbáltuk modellezni PCZ tartalmú kezelőoldatokkal és tyúktojással.

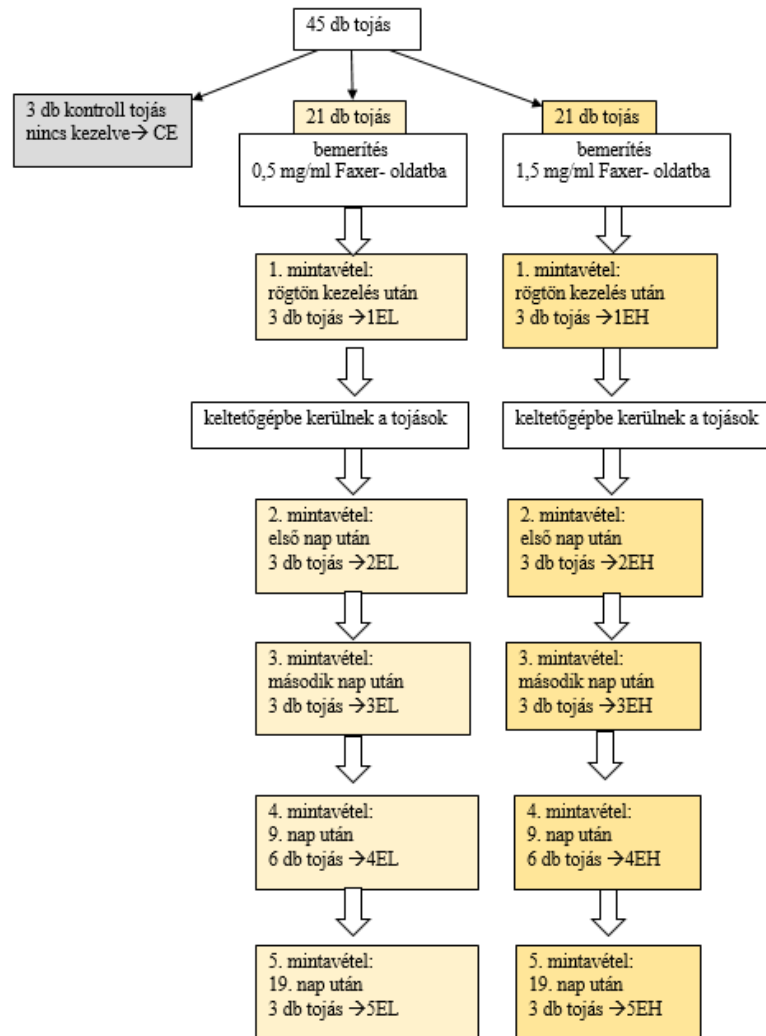
A madártojásos kísérletek során 2 különböző Faxer koncentrációval dolgoztunk. Az alacsonyabb koncentrációjú oldat 0,5 mg/ml; a magasabb koncentrációjú pedig 1,5 mg/ml töménységű volt. Az itt alkalmazott alacsonyabb koncentrációjú kezelőoldat megfelel a citromos kísérlet során használt magas koncentrációjú oldatnak. Nem dolgoztunk kisebb koncentrációjú oldatokkal a tojások esetében, mert nem lett volna reprezentatív a kísérletünk, hiszen ennél lényegesen töményebb oldatokat használnak a szántóföldi gabonanövények permetezése során.[35]

Összesen 45 db madártojás volt érintett. A kísérletek legnagyobb pontosságának elérése érdekében ugyanazzal a flakon Faxerrel dolgoztunk itt is, mint a tojások esetében, mert a gyártó egy bizonyos $40,5 \pm 2,0$ % (m/m) változékonyságot adott meg a termék forgalomba hozatali és felhasználási engedélyén. [35]

A kísérletek kivitelezésének helyszíne a keszthelyi Magyar Agrár-és Élettudományi Egyetem Georgikon Campusa volt, melynek munkatársai nagyban hozzájárultak a vizsgálatokhoz.

A 45 tyúktojásból 3 tojásból kezelések nélkül került sor a mintavételre, ez lett a kontroll csoport. A továbbiakban 21-21 tojás került a „low” és a „high” csoportba. Az alacsony koncentrációjú kezelőoldat létrehozásához 1667 µl PCZ tartalmú Faxert és 1,5 l desztillált vizet használtunk fel, így 0,50 mg/ml PCZ koncentrációt kaptunk. A magasabb koncentráció eléréséhez 4983 µl Faxert és szintén 1,5 desztillált liter vizet elegyítettünk, hogy elérjük a 1,50 mg/ml PCZ koncentrációt. A kontroll csoport elkülönítése után a kezelőoldatokba 4 percig merítettük be a 21-21 tojást, majd lecsöpögtettük.

Az első mintavétel rögtön a kezelés után történt 3-3 tojásból. Ezután a tojások bekerültek egy Ragus típusú asztali keltetőgépbe 37,5-38,0°C-ra. Az első mintavétel után még 4 mintavételezés történt: az első nap után, a második nap után, a 9. nap után és a 19. nap után. (8. ábra) Az inkubáció 3. napján korai embrionális fejlődés vizsgálat történt. A fejlődés 19. napján az embriókat kórbonctani vizsgálatnak vetették alá.



8. ábra: Tojások kezelésének folyamatábrája

A -80 Celsius-fokra fagyasztott embriók és tojások a kezeléseket, vizsgálatokat, és mintavételezéseket utáni állapotban kerültek az Állatorvostudományi Egyetem Élelmiszer-higiéniai Tanszékének laborjába, ahol megkezdődtek a méréshez szükséges minta előkészítések (9. ábra). A tojásokat illetve a csirkeembriókat homogenizáltuk egy erre a célra szánt konyhai robotgéppel. A csoportok között a segédeszközöket, tárolóedényeket metanolos-acetonos eleggyel és desztillált vízzel takarítottuk a kontamináció kockázatának csökkentésére.

Majd a feljebb bemutatott QuEChERS módszert alkalmazva megtörtént a mintaelőkészítés. A mintákat szintén az LC-MS/MS analízisnek vetettük alá.

A mátrix illesztett kalibrációhoz vásárolt kezeletlen tojásokból készítettünk homogenizátumot és szintén 11 pontos kalibrációt készítettünk, ahogyan a citromok esetében is.



9. ábra: Tojás és embrió minták jelölése

6. EREDMÉNYEK

6.1. CITROMMAL TÖRTÉNT VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

Eredményeim értékelésekor egyből szembetűnő adat volt, hogy egyik citrom csoport gyümölcshúsában sem volt mérhető mennyiségű PCZ. Illetve a másik kulcsfontosságú és szerencsésnek nevezhető adatom, hogy egyik mért érték sem érte el a PCZ-ra meghatározott MRL értéket (10 000 ng/g), a legmagasabb PCZ koncentrációt a „high” csoportban mértük 385,18 ng/g (1. táblázat).

Ez kardinális információ, hiszen a „medium” csoport modellezi a technológiában is használatos poszt-harveszt alkalmazáshoz szükséges koncentrációt, a „high” csoport bemeztető oldata még ennél is magasabb dózisban tartalmazta a PCZ-t.

Kijelenthető, hogy a bemeztető oldatok koncentrációjának növekedésével - az egyes csoportokat nézve, ahol megegyezett a bemeztetési idő - egyenes arányban nőtt a gyümölcshéjból mérhető PCZ koncentráció.

Megállapítható, hogy a bemeztető oldatban töltött idő múlásával is egyenes arányban növekedett a héjban mérhető PCZ koncentrációja. Tehát a bemeztetési idő és a merítő oldat koncentrációja is jelentős hatással volt a gyümölcshéjban mérhető PCZ reziduumszintekre.

A közepes koncentrációjú oldatba merített citromok héjában mért PCZ mennyisége lényegesen magasabb, mint az alacsony koncentrációjú oldatba merített citromok héjában mért értékek. Tehát a merítő oldat koncentrációjának emelkedése tükröződik a héjból készült mintákon is. Viszont a magas koncentrációjú oldatba merített citromok héjából készített minták PCZ mennyisége nem mutatott ilyen mértékű különbséget a közepes koncentrációjú oldatba merített citromokéhoz képest. Felvetődik a kérdés, miszerint a citromhéj csak egy bizonyos mennyiségű PCZ-t képes a felületén megkötni, majd telítődik. Ez további vizsgálatokat igényelhet. Megállapítható az is, hogy a spray-vel lefűjt citromoknál már más a helyzet. Itt mind az alacsony-közepes, mind pedig a közepes-magas koncentrációjú oldat koncentrációkülönbségét is tükrözik a gyümölcshéjból mért adatok. Sprayzéssel a citrom felületére juttatott 3 eltérő koncentrációjú oldattal hasonló eredményeket értem el, mint a megegyező koncentrációjú oldatokba való 1 perces bemeztetés során.

1. táblázat: Citromokban mért PCZ koncentrációk a kezelések után

(n. q.= nem mérhető érték)

kód	kezelési mód	bemerítő oldat koncentrációja		kezelési idő (p)	Héj PCZ koncentráció	Gyümölcshús PCZ koncentráció (ng/g)
		kategória	érték (ng/g)		(ng/g)	(ng/g)
CL	kontroll	-	-	-	n.q.	n.q.
L1	bemerítés	alacsony	100 000	1	67,61	n.q.
L4	bemerítés	alacsony	100 000	4	110,06	n.q.
L8	bemerítés	alacsony	100 000	8	167,00	n.q.
M1	bemerítés	közepes	266 667	1	191,24	n.q.
M4	bemerítés	közepes	266 667	4	294,27	n.q.
M8	bemerítés	közepes	266 667	8	376,09	n.q.
H1	bemerítés	magas	500 000	1	288,21	n.q.
H4	bemerítés	magas	500 000	4	357,91	n.q.
H8	bemerítés	magas	500 000	8	385,18	n.q.
LS	spray	alacsony	100 000	-	70,03	n.q.
MS	spray	közepes	266 667	-	170,03	n.q.
HS	spray	magas	500 000	-	285,18	n.q.

6.2. TOJÁSOKKAL TÖRTÉNT VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI

A madártojásokon végzett kísérletek eredményeinek értékelése során érdekesnek találtam, hogy a kontroll kezeletlen tojásból is kimutatható volt a PCZ, habár csak 1,4 ng/g koncentrációban (2. táblázat). Ez számomra azt jelenti, hogy a madarak valóban ki vannak téve a proklorázzal való érintkezés veszélyének. Az eredményeket látva megállapítható, hogy az embrió fejlődésével párhuzamosan egy időben csökken a PCZ koncentráció. A legmagasabb mért szint 865,46 ng/g PCZ volt. A 4. mintavételezéskor, az inkubálás 9. napján már külön mintát vettünk a tojásból és az embrióból is. Látszik, hogy a tojásban mérhető PCZ szint mellett nem elhanyagolható az embrióból mért PCZ szint sem. Az 5. mintavételezéskor, a 19. inkubálási napon vett embrió mintákból kimutatható volt a PCZ, itt az embrió fejlettsége miatt a tojás embrión kívüli részéből már nem vettünk mintát.

Feltételezhető, hogy nem csak egy természetes biodegradációról van szó a PCZ esetében, hanem a szer be is épül a fejlődő embrióba.

Látszik, hogy a magas koncentrációval kezelt csoport PCZ szintje meredekebb ívben csökkent, mint az alacsonyabb koncentrációval kezelt csoport szintje. Az embrió felhasználja a rendelkezésre álló anyagokat, akkor is ha az teratogén hatású rá nézve, ugyanakkor hasonló deformitásokat látunk az alacsony és a magasabb töménység oldattal való kezelés után. Feltételezhető, hogy amennyiben egy nem meghatározott küszöbszintet meghalad a teratogén hatású vegyület koncentrációja, akkor már nem lesz különbség a bekövetkező negatív hatások mértékben .

2. táblázat: Tojásokkal végzett kísérletek eredményei

kód	bemerítő oldat koncentrációja		kezelési idő	Tojásban	Embrióban
	kategória	érték (ng/g)		mért PCZ	mért PCZ
			nap	ng/g	
CE	kontroll			1,47	
1EL	alacsony	500 000	0	303,77	
2EL	alacsony	500 000	1	274,12	
3EL	alacsony	500 000	2	235,68	
4EL	alacsony	500 000	9	216,78	46,19
5EL	alacsony	500 000	19		1,25
1EH	magas	1 500 000	0	865,46	
2EH	magas	1 500 000	1	531,57	
3EH	magas	1 500 000	2	481,41	
4EH	magas	1 500 000	9	294,23	75,11
5EH	magas	1 500 000	19		23,84

A 3. keltetési napi embriómortalitás vizsgálatunk során nem találtunk különbséget a különböző koncentrációkkal kezelt tojások között (3. táblázat). Ugyanez megállapítható a 19. napi embrióelhalás vizsgálat kapcsán is (4. táblázat). Viszont mindkét kezelt csoportban több embrió pusztult el, mint a kezeletlen kontroll csoportban. De a különbség csak a 19 napon vált statisztikailag szignifikánssá, $p < 0,05$ szignifikancia határt véve.

3. táblázat: Az embriómortalitás alakulása a keltetés 3. napján

Csoportok	elpusztult embriók száma/ termékeny tojások száma (db)	elpusztult embriók aránya (%)	p-érték
CE	1/20	5,00	
EL	4/20	20,00	p= 0,17082
EH	4/20	20,00	p=0,17082

4. táblázat: Az embriómortalitás alakulása a keltetés 19. napján

Csoportok	elpusztult embriók száma/ termékeny tojások száma (db)	elpusztult embriók aránya (%)	p-érték
CE	2/43	4,65	
EL	8/43	18,60	p= 0,04436
EH	8/43	18,60	p=0,04436

Fejlődési rendellenességek alakulásának vizsgálata során a keltetés 3. napján nem találtunk különbséget az eltérő koncentrációjú kezelőoldatok kapcsán (5. táblázat). A 16 tojásból 5 rendellenes fejlődésű tojást jegyeztünk fel mind az alacsony mind a magas koncentrációjú oldattal kezelt tojások között is. A jellemző morfológiai elváltozások a következők voltak: gyengén/gyengébben fejlett embrió, torz embrió; gyengén/gyengébben fejlett szikérhálózat, gátolt angiogenezis, vérgyűrű, vérszigetek a vitellus vaszkuláris rendszerében; fejletlen agyhólyagok; ikerembrió.

5. táblázat: Fejlődési rendellenességek alakulása a keltetés 3. napján

Csoportok	rendellenes fejlődésű embriók száma/ élő embriók száma (db)	elpusztult embriók aránya (%)	p-érték
CE	2/19	10,52	
EL	5/16	31,25	p= 0,13540
EH	5/16	31,25	p=0,13540

A 19. inkubálási napon fejlődési rendellenéseket keresve az alábbiak figyeltük meg: végtagdeformitás, görbült láb, felső csőr-káva megrövidülése, keresztcsőr, szemgolyó gyengén fejlett, vagy nem fejlődött ki, szemgolyó az orbitából kidülled, nyitott mellkas és hasüreg, görbült nyak, lokális, illetve testszerte kialakuló ödéma, agysérv. Az alacsony koncentrációjú PCZ eleggyel kezelt tojások közül szignifikánsan kevesebb esetben láttunk deformitást, mint a magasabb koncentrációval kezelt tojások esetében (6. táblázat). Viszont a kontroll csoporthoz képest nem számottevő a rendellenesen fejlődött tojások száma.

6. táblázat : Fejlődési rendellenességek alakulása keltetés 19. napján

Csoportok	rendellenes fejlődésű embriók száma/ élő embriók száma (db)	elpusztult embriók aránya (%)	p-érték
CE	5/41	12,19	
EL	1/35	2,85	p= 0,97943
EH	5/35	14,28	p= 0,52561

7. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatásaim során több kulcsfontosságú megállapítást is tettem. A citromok bemeztése és sprayzése során egyik töménységű oldattal sem tudtuk előidézni a Faxer gombaölőszer gyümölcshúsba való beoldódását. Egyik koncentrációjú oldat alkalmazása sem jelentett potenciális veszélyt a meghatározott MRL érték elérésében. Tehát élelmiszer-toxikológiai szempontból megnyugtatóak az eredmények de kérdéseket vethet fel a szer gombaölő hatékonyságát illetően. A mért értékek egyike sem érte el a tanszéken a kereskedelmi forgalomban kapható citrusféléken végzett korábbi kutatások során megállapított értékeket [37].

Nem találtunk szignifikáns különbséget a közepes és magas koncentrációjú oldattal való kezelés után a héj mérhető PCZ tartalmát vizsgálva. Ez arra enged következtetni, hogy a gyümölcs héja egy bizonyos küszöbérték után telítődik és nem képes több hatóanyag megkötésére. Tehát alacsonyabb koncentrációval is elérhető ugyanaz az anyagkoncentráció a citromhéjban. További kérdéseket vet fel, hogy elegendő-e az alacsonyabb koncentrációjú oldat alkalmazása, akár hosszabb behatási idővel a kívánt gombaellenes hatás eléréséhez.

Fontosnak tartom ismét megjegyezni, hogy az alacsony koncentrációjú (0,1 mg/ml) oldat alkalmazása után hasonló értékű PCZ koncentrációt mértünk a kezelt citromhéjakban a kezelési módtól függetlenül. Így felmerülhet, hogy ne bemeztést, hanem sprayzést alkalmazzanak a technológiában használatos poszt-harveszt kezeléseknél, ezzel is minimalizálva a kezelő oldatok mennyiségét így csökkentve a környezetterhelést.

Emellett fontos megemlíteni a hulladékkezelés kérdését is, hiszen a héjban maradt PCZ reziduumnak számít, ami nem elhanyagolható, ismerve a szer ökotoxikológiai hatásait.

Tehát a fő kérdés: elegendő koncentrációban alkalmazzuk a poszt-harveszt peszticideket ahhoz, hogy kifejtsék a kívánt hatásukat és emellett nem túl nagy-e a felhasznált oldat töménysége ahhoz, hogy nagyban növelje az ökotoxikus mutatókat a hulladékkezelés nem megfelelő kivitelezésének kapcsán.

A tojásokon végzett kísérletek során bebizonyosodott, hogy a prokloráznak jól kimutatható embrió károsító hatása van. Az eredményeim kiértékelése során megnyugtató volt, hogy a tojásokban mért PCZ koncentrációk nem érték el a nemzetközi határértékeket, ennek ellenére fontos veszélyforrást jelenthetnek a leendő madárpopulációkra nézve, hiszen a tojások akár többször is érintkezhetnek a szerrel fejlődésük során, amely bioakkumulációhoz vezethet. Emellett fontos a biomagnifikáció kérdése is, hiszen a madártojások az emberi fogyasztás mellett sok élőlény táplálékául is szolgálnak.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Bár napjainkban sok vita övezi a növényvédő szerek használatát, szerepük az élelmiszer-előállításban nem csökken, sőt, bizonyos területeken növekszik is. A peszticidek jelentette minden lehetséges probléma ellenére vitathatatlan tény, hogy a növekvő globális népesség növekvő élelmiszer igényeit ki kell elégíteni, és ebben jelentős szerep jut az agrokemikáliáknak. A növényvédő szereknek az elsődleges élelmiszertermelés minden fázisában lehet szerepük, de ezen túl a betakarítás után, a raktározás és szállítás során is védelemre szorulhat a termék, vagy alapanyag, amihez a poszt-harveszt (betakarítás utáni) peszticideket hívhatjuk segítségül. Ugyanakkor ez azt is jelenti, hogy további reziduumok jelenhetnek meg az élelmiszerekben, ráadásul közvetlenül a fogyasztó közelében, a boltok polcain is.

Kutatásom során a Faxer növényvédőszert vizsgáltuk, aminek a hatóanyaga prokloráz, ami pre- és posztharveszt peszticidként is használatos. Alkalmazzák szántóföldi gabonaféléken, zöldségeken, gyümölcsökön egyaránt. Kísérleteink során kereskedelmi forgalomban kapható kezeletlen héjú citromokon vizsgáltuk a prokloráz penetrációját a növény mélyebb szöveteibe, hiszen a gyümölcshéj kezelése során fennáll a veszélye, hogy az emberi fogyasztásra szánt gyümölcshúsban is megtalálható lesz bizonyos mennyiségben a szer.

3 féle koncentrációban 1, 4 illetve 8 perc behatási ideig merítéses módszerrel, emellett a permetezéshez legjobban hasonló spricceléssel vittük fel a megfelelő koncentrációra hígított oldatot a gyümölcsre. A minta előkészítést elvégeztük a citrom héjából és héj nélküli gyümölcs húsából is a QuEChERS módszerrel, majd a minták prokloráz koncentrációját LC-MS/MS rendszerrel mértük meg.

Ugyanígy felmerült a kérdés, hogy a szántóföldi alkalmazás során, a környéken fészkelő (vad)madarak tojásaira milyen hatást fejthet ki ez a vegyi anyag. Ezért a MATE keszthelyi Georgikon Campusának Növényvédelmi Tanszékével karöltve házityúk tojásokon is alkalmaztuk a kidolgozott módszert. 2 féle koncentrációba merítettük a vizsgált tojásokat, majd rögtön a kezelés után, az első napon, a második napon, a 9. nap után, és a 19. nap után is történtek mintavételezések.

A várakozásoknak megfelelően a kezelési kísérletek eredményei azt mutatták, hogy mind a bemerítési időnek, mind a kezelő oldat koncentrációjának szignifikáns hatása volt a gyümölcsben mérhető reziduum-szintekre. A spray-vel felvitt növényvédő szer alacsonyabb reziduum-szintet eredményezett, mint az ugyanolyan koncentrációjú bemerítéses kísérletek legtöbbje, viszont jelentősen nőtt a szennyezés heterogenitása a gyümölcsön.

A tojás vizsgálatok során bebizonyosodott, hogy a prokloráznak jól kimutatható embrió károsító hatása van.

Az eredményeim alapján javasolható, hogy a jelenleginél sokkal alaposabban és feltűnőbbben hívják fel a fogyasztók figyelmét a kezelt héjú gyümölcsökre, mert az oda nem figyelés komoly egészségkárosodáshoz, vagy környezeti kárhoz vezethet.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Változó éterek, változó tájak – A mezőgazdaság és az élelmiszerek Európában — Európai Környezetvédelmi Ügynökség
2. FAO (2013) Food wastage footprint: Impacts on natural resources
3. Tudi M, Daniel Ruan H, Wang L, Lyu J, Sadler R, Connell D, Chu C, Phung DT (2021) Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *Int J Environ Res Public Health* 18:1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>
4. Mostafalou S, Abdollahi M (2017) Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Arch Toxicol* 91:549–599. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1849-x>
5. Zhang Y, Si W, Chen L, Shen G, Bai B, Zhou C (2021) Determination and dietary risk assessment of 284 pesticide residues in local fruit cultivars in Shanghai, China. *Sci Rep* 11:9681. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89204-5>
6. European Food Safety Authority (EFSA), Carrasco Cabrera L, Medina Pastor P (2021) The 2019 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J Eur Food Saf Auth* 19:e06491. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491>
7. Stein B, Michalski B, Martin S, Pfeil R, Ritz V, Solecki R (2014) Human health risk assessment from combined exposure in the framework of plant protection products and biocidal products. *J Für Verbraucherschutz Leb* 9:367–376. <https://doi.org/10.1007/s00003-014-0915-7>
8. PubChem Prochloraz. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/73665>. Accessed 16 Nov 2022
9. Henry MJ, Sisler HD (1984) Effects of sterol biosynthesis-inhibiting (SBI) fungicides on cytochrome P-450 oxygenations in fungi. *Pestic Biochem Physiol* 22:262–275. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(84\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0048-3575(84)90019-1)
10. Treatment of seed potatoes with prochloraz for simultaneous control of silver scurf and black dot on progeny tubers | SpringerLink. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02358247>. Accessed 4 Oct 2022
11. Prusky D, Fuchs Y, Kobiler I, Roth I, Weksler A, Shalom Y, Fallik E, Zauberman G, Pesis E, Akerman M, Ykutiely O, Weisblum A, Regev R, Artes L (1999) Effect of hot water brushing, prochloraz treatment and waxing on the incidence of black spot decay caused by *Alternaria alternata* in mango fruits. *Postharvest Biol Technol* 15:165–174. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00082-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00082-9)
12. Hattab Z, Ben Lasfar N, Abid M, Bellazreg F, Fathallah A, Hachfi W, Letaief A (2019) *Alternaria alternata* infection causing rhinosinusitis and orbital involvement in an immunocompetent patient. *New Microbes New Infect* 32:100561. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100561>
13. Zhang Y, Zhang B, Luo C, Fu Y, Zhu F (2021) Fungicidal Actions and Resistance Mechanisms of Prochloraz to *Penicillium digitatum*. *Plant Dis* 105:408–415. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1128-RE>

14. Oshikata C, Tsurikisawa N, Saito A, Watanabe M, Kamata Y, Tanaka M, Tsuburai T, Mitomi H, Takatori K, Yasueda H, Akiyama K (2013) Fatal pneumonia caused by *Penicillium digitatum*: a case report. *BMC Pulm Med* 13:16. <https://doi.org/10.1186/1471-2466-13-16>
15. Brancato A, Brocca D, Carrasco Cabrera L, De Lentdecker C, Erdos Z, Ferreira L, Greco L, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R, Lostia A, Lythgo C, Medina P, Miron I, Molnar T, Pedersen R, Reich H, Sacchi A, Santos M, Stanek A, Sturma J, Tarazona J, Theobald A, Vagenende B, Villamar-Bouza L (2018) Review of the existing maximum residue levels for prochloraz according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. *EFSA J* 16:e05401. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5401>
16. Domingues I, Oliveira R, Musso C, Cardoso M, Soares AMVM, Loureiro S (2013) Prochloraz effects on biomarkers activity in zebrafish early life stages and adults. *Environ Toxicol* 28:155–163. <https://doi.org/10.1002/tox.20710>
17. Baumann L, Knörr S, Keiter S, Nagel T, Segner H, Braunbeck T (2015) Prochloraz causes irreversible masculinization of zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Sci Pollut Res* 22:16417–16422. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3486-3>
18. Glavinic U, Tesovnik T, Stevanovic J, Zorc M, Cizelj I, Stanimirovic Z, Narat M (2019) Response of adult honey bees treated in larval stage with prochloraz to infection with *Nosema ceranae*. *PeerJ* 7:e6325. <https://doi.org/10.7717/peerj.6325>
19. Alkassab AT, Kunz N, Bischoff G, Pistorius J (2020) Comparing response of buff-tailed bumblebees and red mason bees to application of a thiacloprid-prochloraz mixture under semi-field conditions. *Ecotoxicology* 29:846–855. <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02223-2>
20. Vinggaard AM, Christiansen S, Laier P, Poulsen ME, Breinholt V, Jarfelt K, Jacobsen H, Dalgaard M, Nellemann C, Hass U (2005) Perinatal exposure to the fungicide prochloraz feminizes the male rat offspring. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol* 85:886–897. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi150>
21. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance prochloraz | EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2323>. Accessed 4 Oct 2022
22. Blystone CR, Furr J, Lambright CS, Howdeshell KL, Ryan BC, Wilson VS, LeBlanc GA, Gray LE Jr (2007) Prochloraz Inhibits Testosterone Production at Dosages below Those that Affect Androgen-Dependent Organ Weights or the Onset of Puberty in the Male Sprague Dawley Rat. *Toxicol Sci* 97:65–74. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm004>
23. Halwachs S, Wassermann L, Lindner S, Zizzadoro C, Honscha W (2013) Fungicide Prochloraz and Environmental Pollutant Dioxin Induce the ABCG2 Transporter in Bovine Mammary Epithelial Cells by the Arylhydrocarbon Receptor Signaling Pathway. *Toxicol Sci* 131:491–501. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs304>
24. Rivière JL, Bach J, Grolleau G (1985) Effects of prochloraz on drug metabolism in the Japanese quail, grey partridge, chicken, and pheasant. *Arch Environ Contam Toxicol* 14:299–306. <https://doi.org/10.1007/BF01055406>

25. Johnston G, Collett G, Walker C, Dawson A, Boyd I, Osborn D (1989) Enhancement of malathion toxicity to the hybrid red-legged partridge following exposure to prochloraz. *Pestic Biochem Physiol* 35:107–118. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(89\)90108-9](https://doi.org/10.1016/0048-3575(89)90108-9)
26. Johnston G, Walker CH, Dawson A (1994) Interactive effects of prochloraz and malathion in pigeon, starling and hybrid red-legged partridge. *Environ Toxicol Chem* 13:115–120. <https://doi.org/10.1002/etc.5620130116>
27. Bro E, Devillers J, Millot F, Decors A (2016) Residues of plant protection products in grey partridge eggs in French cereal ecosystems. *Environ Sci Pollut Res Int* 23:9559–9573. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6093-7>
28. Floerl S, Kuehne A, Hagos Y (2020) Functional and Pharmacological Comparison of Human, Mouse, and Rat Organic Cation Transporter 1 toward Drug and Pesticide Interaction. *Int J Mol Sci* 21:6871. <https://doi.org/10.3390/ijms21186871>
29. Kortenkamp A, Faust M (2010) Combined exposures to anti-androgenic chemicals: steps towards cumulative risk assessment. *Int J Androl* 33:463–474. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01047.x>
30. Rieke S, Koehn S, Hirsch-Ernst K, Pfeil R, Kneuer C, Marx-Stoelting P (2014) Combination Effects of (Tri)Azole Fungicides on Hormone Production and Xenobiotic Metabolism in a Human Placental Cell Line. *Int J Environ Res Public Health* 11:9660–9679. <https://doi.org/10.3390/ijerph110909660>
31. Kongsbak K, Hadrup N, Audouze K, Vinggaard AM (2014) Applicability of Computational Systems Biology in Toxicology. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 115:45–49. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12216>
32. Kongsbak K, Vinggaard AM, Hadrup N, Audouze K (2014) A computational approach to mechanistic and predictive toxicology of pesticides. *ALTEX - Altern Anim Exp* 31:11–22. <https://doi.org/10.14573/altex.1304241>
33. (2021) European Statistics Handbook 2021. *Eur Stat Handb*
34. Központi Statisztikai Hivatal (2021) Az egy főre jutó éves élelmiszer-fogyasztás mennyisége régió és a települések típusa szerint
35. Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (2018) Faxer gombaölő forgalomba hozatali és felhasználási engedélyének kiadása
36. BELCHIM CROP PROTECTION (2021) Faxer Biztonsági Adatlap
37. Anna B (2019) A citrusfélék gomba elleni védelmének élelmiszer-egészségügyi vonatkozásai. 39

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőmnek Dr. Lányi Katalinnak és segéd témavezetőmnek Dr. Buzás Annának, valamint Dr. Süth Miklós Tanszékvezető Úrnak, hogy lehetővé tették és segítették dolgozatom létrejöttét. Köszönöm az Élelmiszer-higiéniai laboratórium munkatársainak Lucsányi Georgina és Nagy Emese labortechnikusoknak a fáradhatatlan munkájukat, együttműködésüket és türelmüket a kísérletek során. Kiemelt köszönet illeti a MATE keszthelyi Georgikon Campus Növényvédelmi Tanszékének munkatársait: Dr. Budai Péter egyetemi docenst és Major László PhD hallgatót, akik egy hiánypótló kooperációval részt vettek a kutatás kivitelezésében. Emellett hálás köszönettel tartozom családomnak, barátaimnak, amiért végig támogattak dolgozatom megírásában.

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott Dr. Lányi Katalin tudományos főmunkatárs; Dr. Buzás Anna PhD hallgató..... Igazolom, hogy

..... **Batta Sára** (a hallgató neve)

..... **A prokloráz penetrációja a növényi szövetekbe poszt-harveszt alkalmazás során**

..... című

diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2020. november 16.



Alírás

Élelmiszer-higiéniai

Tanszék

HuVetA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: BATTA SARA
Elérhetőség (e-mail cím): batta.sasi@amail.com
A feltöltendő mű címe: A PROKLORAL PENETRÁCIÓJA A MŰFELNYI
SÖVETESBE PONT-HARVEET ALKALMAZÁS JÓRAIU
A mű megjelenési adatai: 2022. 11. 18.
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:




Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2022. év^M.....hó¹⁸.....nap


aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*