

Növényvédőszer-maradékok kimutatásnak új módszere az ELISA technika

A növényvédő szerek alkalmazása a mezőgazdaság kemizálási programjában elsősorban gazdasági kérdésként merült fel: az alkalmazás mennyiben javította a termésátlagot, s a kijuttatás költségei hányszoros mértékben térültek meg a terményben? A hazai és a nemzetközi tapasztalatok azonban igen hamar rávilágítottak a túlzott vagy szakszerűtlen kezelés következtében, illetve a növényvédő szer hatóanyagok előre nem látott káros tulajdonságai miatt kialakuló tényleges vagy potenciális mellékhatásokra. Ezen felismerések alapján az alkalmazott növényvédő szerek vegyszermaradék vizsgálatai – elsősorban toxikológiai, de környezeti szempontból is – nagy súlyt kaptak, s kétségkívül ez irányban hat majd a nyugat-európai piacok által támasztott fokozott igény-szint is.

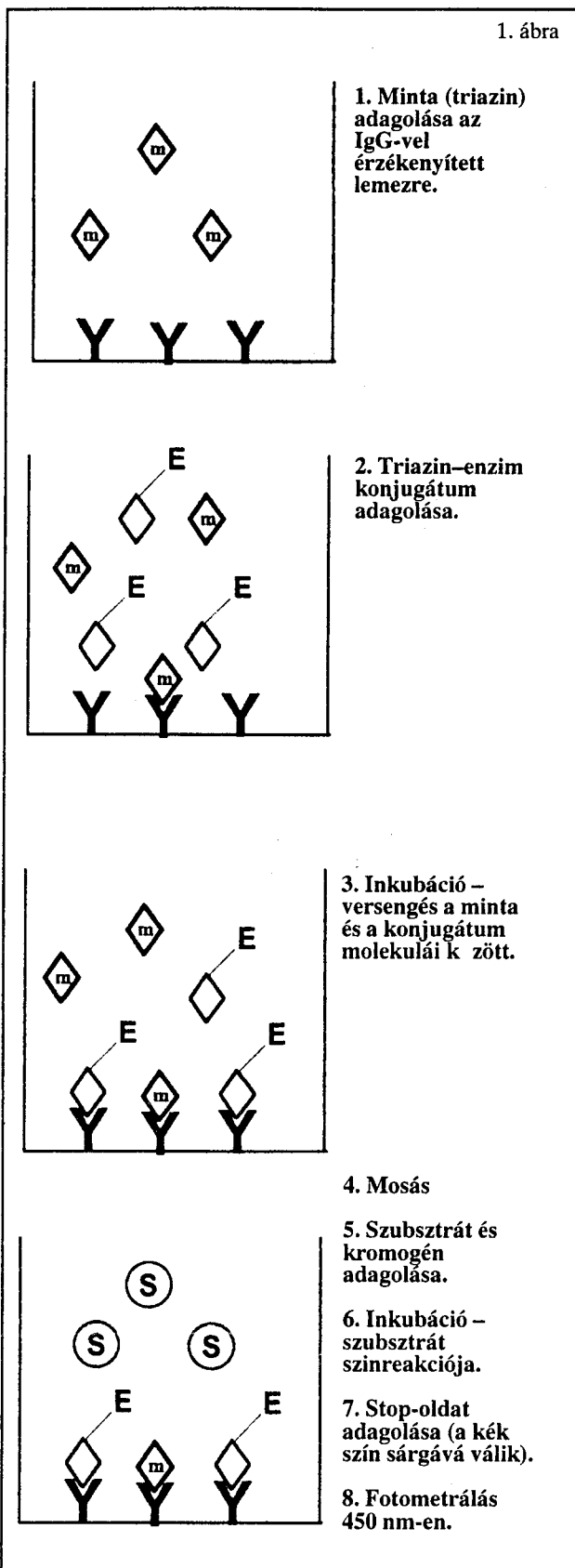
A szermaradékok műszeres kimutatása rendszerint munka- és időigényes feladat, amely magasan képzett szakembereket és komoly műszerparkot igényel. Ezen tényezők, valamint a napjainkban alkalmazott növényvédő szerek nagy száma miatt a szermaradékok hagyományos analitikai vizsgálati költségei nem ritkán olyan összegre rúgnak, amelyet a kistermelő nem engedhet meg magának. Az utóbbi évtizedben a szermaradékok nagyszámú mintából történő és rendszeresen végzett vizsgálata toxikológiai, környezetvédelmi és piaci szempontokból egyaránt előtérbe került a nemzetközi gyakorlatban, s a hangsúly a nagy mérési kapacitást biztosító, illetve a kis műszerezettségű igényelők, egyszerűen kivitelezhető kimutatási módszereinek fejlesztése felé toldott.

A fejlesztési programok egyike, a Magyar-Amerikai Közös Alap által finanszírozott „ELISA rendszerek alkalmazása környezetvédelmi célokra” (J.F.No. 051/92) című projekt. Az MTA Növényvédelmi Kutatóintézete és a Kaliforniai Egyetem Rovartani és Környezeti Toxikológiai Tanszékei (University of California, Departments of Entomology and Environmental Toxicology, Davis, USA) együttműködésében zajló kutató-fejlesztő program célkitűzése, analitikai gyorsdetekciós

módszerek kifejlesztése egyes növényvédő szerek maradékainak illetve bizonyos toxinoknak vízből, talajból és növényből történő kimutatása.

Az ELISA (enzimatis immunoassay) technika a célvegyület kimutatására állati ellenanyagot (antitest, IgG) használ fel, mely egyszerre biztosítja a módszer érzékenységét (igen alacsony koncentrációkon is kimutat) és szelektivitását (csak a vizsgálni kívánt vegyület(ke)t mutatja ki). Az eljárás elve igen hasonló az Agrofórum 1993. évi 9. számában (13-14. old.) ismertetett „kettős antitest szendvics” módszerhez.

Egy lehetséges kialakítást szemléltet az 1. ábra (*Kompetitív ELISA eljárás növényvédő szer kimutatására*). A vizsgálni kívánt vegyület ellen nyert antitesteket a 96 vizsgálati minta befogadására szolgáló ELISA lemezhez rögzítjük, s ehhez adagoljuk a mintát, valamint a célvegyület megfelelően módosított származékának (amelyet hapténnek szokás nevezni) enzimmel jelölt konjugátumát. A mintában lévő célvegyület(ek), valamint a haptén vegyület versengeni fog(nak) az antitestek kötőhelyeiért, mely folyamatban az antitestek egy része a hapténekhez kötődik. A folyamat utolsó lépésében a jelölőenzimet szubsztrátjával reagáltatva színreakció jön létre, melynek erősségéből



1. táblázat

A Magyarországon forgalmazott enzimatikus immunoassay (ELISA) rendszerek hatóanyag és növényvédőszer készítmény szerint

Hatóanyag	Készítmény	Kimutatási határ vízben (ppb)	Gyártó/forgalmazó Magyarországon
2,4-D	2,4-D amin, Dikamin	0,7	Ohmicron/Biomedica
	Dezormon	0,1	Millipore
alaklór	Satoklór, Flekszenit	0,05	Ohmicron/Biomedica
		0,05	Millipore, Agri-Diagnostics
		2,0	Transia/Noack
aldikarb	Temik	0,25	Ohmicron/Biomedica
		0,5	Millipore
atrazin (triazinok)	Aktikon, Hungazin PK, Zeapos,	0,02	Ohmicron/Biomedica
	Nitazin, Satecid, Kombrin	0,05	Millipore
	Gesaprim, Atrazin, Gartoxin,	0,05	Agri-Diagnostics
	Mavilex, Laddok, Clap	0,01	Transia/Noack
benomil	Fundazol, Agrocit	0,1	Ohmicron/Biomedica
		0,1	Millipore
		1,0	Transia/Noack
cianazin	Bladex	0,04	Ohmicron/Biomedica
imazakvin	Scepter	5 (talajból)	Agri-Diagnostics, Transia/Noack
kaptán	Buvidid, Merpán, Orthocid, Buvisild, Evershield, Pomuran	10	Ohmicron/Biomedica
			Millipore
karbaril	Sevin, Ravion	0,25	Ohmicron/Biomedica
karbendazim	Kolfugo, Buvisild, Konker		Ohmicron/Biomedica
karbofurán	Chinofur	0,06	Ohmicron/Biomedica, Millipore
klordán (ciklodiének)	–	5	Millipore
klórpírifosz	Dursban, Pynrex, Reldan	0,1	Ohmicron/Biomedica
klórtalonil	Bravo, Daconil	0,07	Ohmicron/Biomedica
		1	Transia/Noack
metalaxil	Ridomil Plus	< 0,1	Millipore
metolaklór	Dual	0,05	Ohmicron/Biomedica,
		kb. 1	Agri-Diagnostics
		2	Transia/Noack
metoprén	–	100	Millipore
parakvat	–	10	Ohmicron/Biomedica
		0,02	Millipore
procimidon	Sumilex	0,8	Ohmicron/Biomedica
trifluralin	Olitref, Treflan, Triflurex	2	Transia/Noack

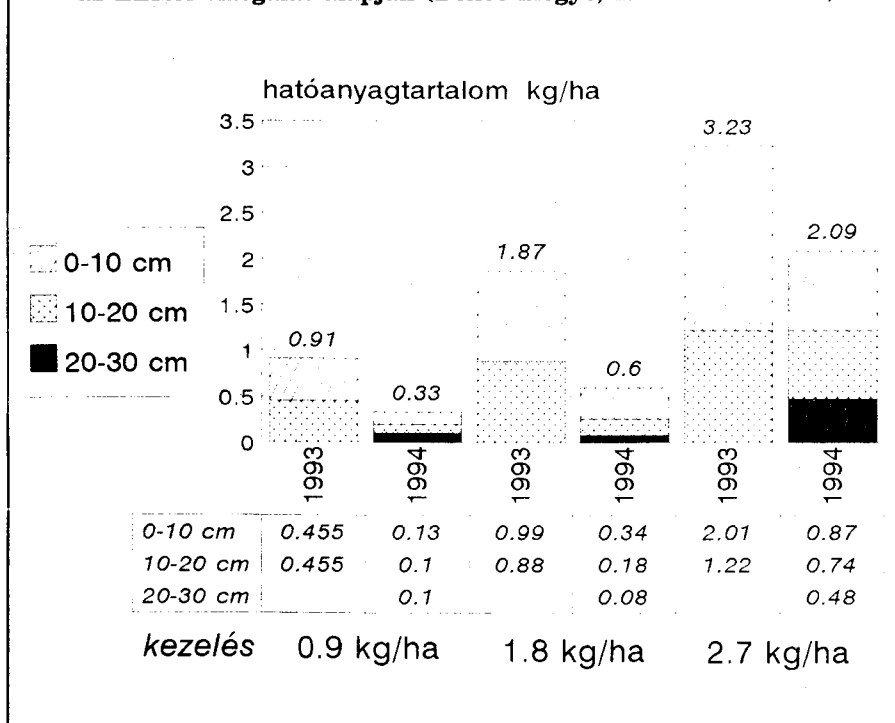
következtethetünk a szermaradék mennyiségére.

Az eljárás első ránézésre bonyolultnak tűnhet, ám kivitelezése rendkívül egyszerű. További előny a viszonylag alacsony műszerigény is, amelyek együttesen kiválóan alkalmassá teszik a technikát nagy számú minta párhuzamos vizsgálatára. A módszer újszerűsége emellett abban áll, hogy a hagyományos analitikai eljárásokkal ellentétben – melyeknek első lépésében a vizsgálni kívánt szermaradékot rendszerint valamilyen szerves oldószerezrel ki kell vonni a vizes mintából – a kimutatás közvetlenül a vízmintából történhet. Ez jelentősen leegyszerűsíti a mintaelőkészítés folyamatát, ami a módszer költségében és vizsgálati kapacitásában igen kedvezően nyilvánul meg. A fenti előnyök miatt a technika a hetvenes évektől kezdve a humán- és állatgyógyászatban terjedt el, ám az utóbbi évtized áttörést hozott a módszer alkalmazási körében, s az remélhetőleg a környezetvédelmi és a növényvédelmi gyakorlat kelléktárába is hamarosan bevonul.

A jelenleg fejlesztés alatt álló, növényvédő szerek maradékainak kimutatására szolgáló ELISA eljárások rendszerint lemezes vagy tesztcsöves kiszerezésűek, de az – egyelőre talán távoli – jövőre vonatkozó tervek között a tesztkártyás növényvédő szer ELISA módszerek kifejlesztése is szerepel. Ez a módszer – jellegéből adódóan – nemcsak gyors kimutatást ígér, de azt is jelentené, hogy a félkvantitatív kimutatáshoz nem szükséges koncentráció-sorozat segítségével standard görbét felvenni, hiszen a mintának a kártyára való felcsöppentése után a kialakuló szín megmutatja, hogy a kérdéses vegyszermaradék szint egy meghatározott határérték alatt marad-e. Az ilyen tesztkártyás ELISA rendszerek kifejlesztéséig és elterjedéséig azonban laboratóriumi célra a lemezes, szabadföldi célra pedig a tesztcsöves ELISA rendszerek kiválóan alkalmazhatóak. A kereskedelmi forgalomban Magyarországon is forgalmazott növényvédő szerek kimutatására szolgáló ELISA rendszereket az 1. táblázat ismerteti.

A fentiekben említett amerikai-magyar kutatási fejlesztési együttműködés keretében lemezes kiszerezésű ELISA rendszereket vizsgálunk és fejlesztünk. Az amerikai együttműködő laboratóriumban kifejlesztett és a Millipore cég által forgalmazott, triazin herbicidek – így elsősorban atrazin (Hungazin PK, Hungazin Rapid, Akti-

2. ábra. Az Atrazinmennyiség változása talajrétegenként egy év alatt az ELISA vizsgálat alapján (Békés megye, 1993-as kezelések)



kon, Zeaposz, Satecid, Gesaprim, Atrazin Flow) és szimazin (Hungazin DT) – kimutatására szolgáló ELISA rendszert a növényvédelmi szolgálat budapesti állomásának (BFNTÁ) ELISA laboratóriumában beállítottuk, valamint a Velencei-tó vízgyűjtő területéről származó vízmintákon, illetve Békés megyei mezőgazdasági területéről származó talajmintákon, többéves követéses kísérletben alkalmaztuk. A szabadföldi mintákat a növényvédelmi hálózat egyes állomásai szolgáltatták: a vízmintákat a Fejér megyei állomás, a talajmintákat pedig a Békés megyei állomás. Az atrazin talajbeli lebomlási szintjeit mutatja be a 2. ábra,

rétegenkénti és évenkénti lebontásban.

A növényvédő szer hatóanyagok kimutatására szolgáló új ELISA rendszerek fejlesztése terén módszert dolgoztunk ki a környezetkímélő növényvédelemben használatos miklobutanil hatóanyagú fungicid készítmény (Sythane 12E), valamint a fenoxikarb hatóanyagú inszekticid (Insegar) gyorsdetektálására. A kevésbé érzékeny miklobutanil ELISA kimutatási határa vizes oldatban, mintegy 100 ppb, s a jelenleg is fejlesztés alatt álló fenoxikarb ELISA alsó érzékenységi határa várhatóan 1-5 ppb.

Bár a fentiekben egyelőre csupán kísérleti eredményekről számolhattunk

be, a fejlesztés eredményeképpen kidolgozott ELISA rendszereket remélhetőleg hamarosan a gyakorlatban is alkalmazni fogjuk. Ennek első lépésében közös monitoring vizsgálatot tervezünk a BFNTÁ ELISA laboratóriumával, ahol a későbbiekben a módszer a rutinfelhasználás céljára is rendelkezésre áll majd. Emellett hasonló fejlesztéseket tervezünk más, elsősorban a hagyományos szermaradék analitikai módszerekkel nehezen detektálható növényvédő szer hatóanyagok és bomlástermékek ELISA kimutatására.

Dr. Székács András
MTA Növényvédelmi Kutatóintézete