

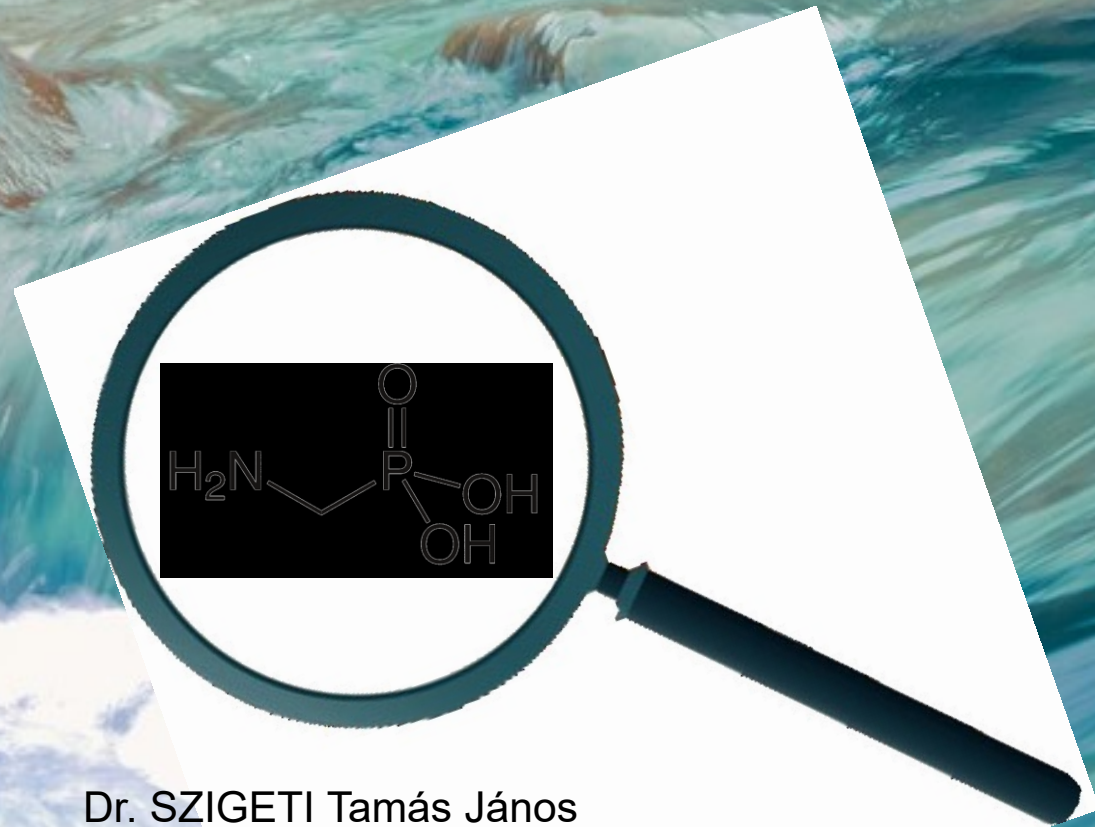
HUNGALIMENTARIA 2019



WESSLING

Quality of Life

A glifozát jelenléte környezetünkben, a gyomirtó szer maradékainak analitikája



Dr. SZIGETI Tamás János

Ö C Ó

Matolcsy György

O

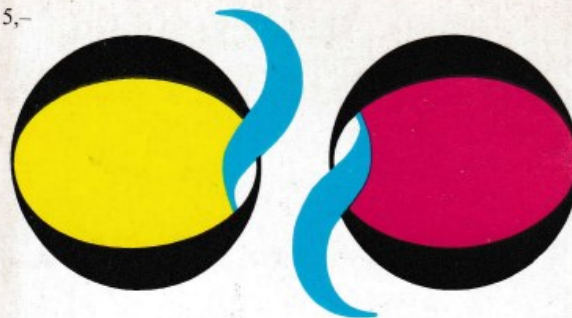
N - C - H

**Az a bizonyos
harmincöt százalék**

Gyorsuló idő

C = O

5,-



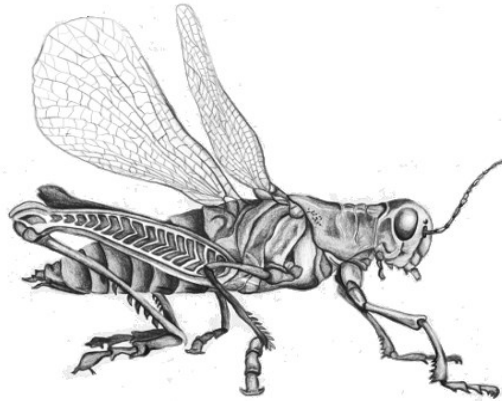
MAGVETŐ

„A Föld lakossága ma négy milliárd. Ennek kétharmada olyan területen él, ahol már ma is kevés az élelem.

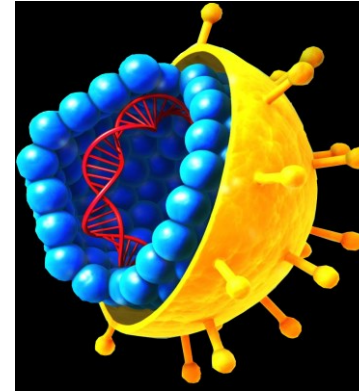
A csökkenő élelmiszerkészlet gondja immár állandósultan jelen van az emberi nem sorsáért aggódó szakemberek töprengéseiben, gyöttrő gondolataiban és javaslataiban. A mezőgazdasági terméshozamok növelése az emberiség alapvető kérdésévé vált.

Megbízható felmérések szerint a kultúrnyövényeket károsító élő szervezetek 35%-kal csökkentik a mezőgazdasági terméshozamokat. A növényvédelem feladata ezt a 35%-ot, a Föld mezőgazdasági termésének több mint egyharmadát a pusztulástól megmenteni.”





Rovarok



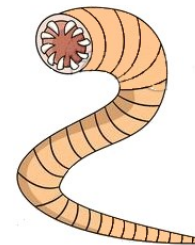
Vírusok



Gyomok



Gombák, baktériumok



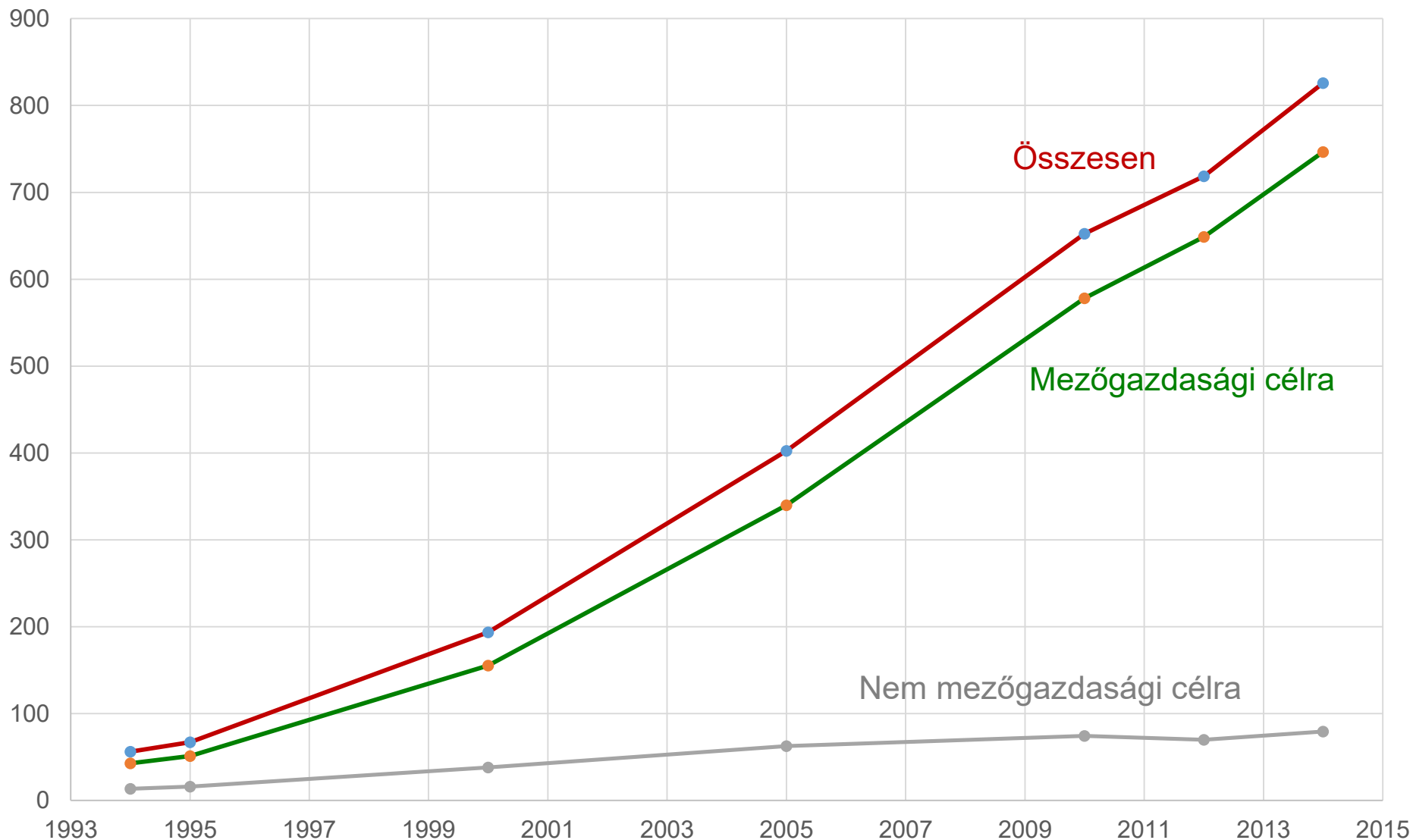
Nematodák



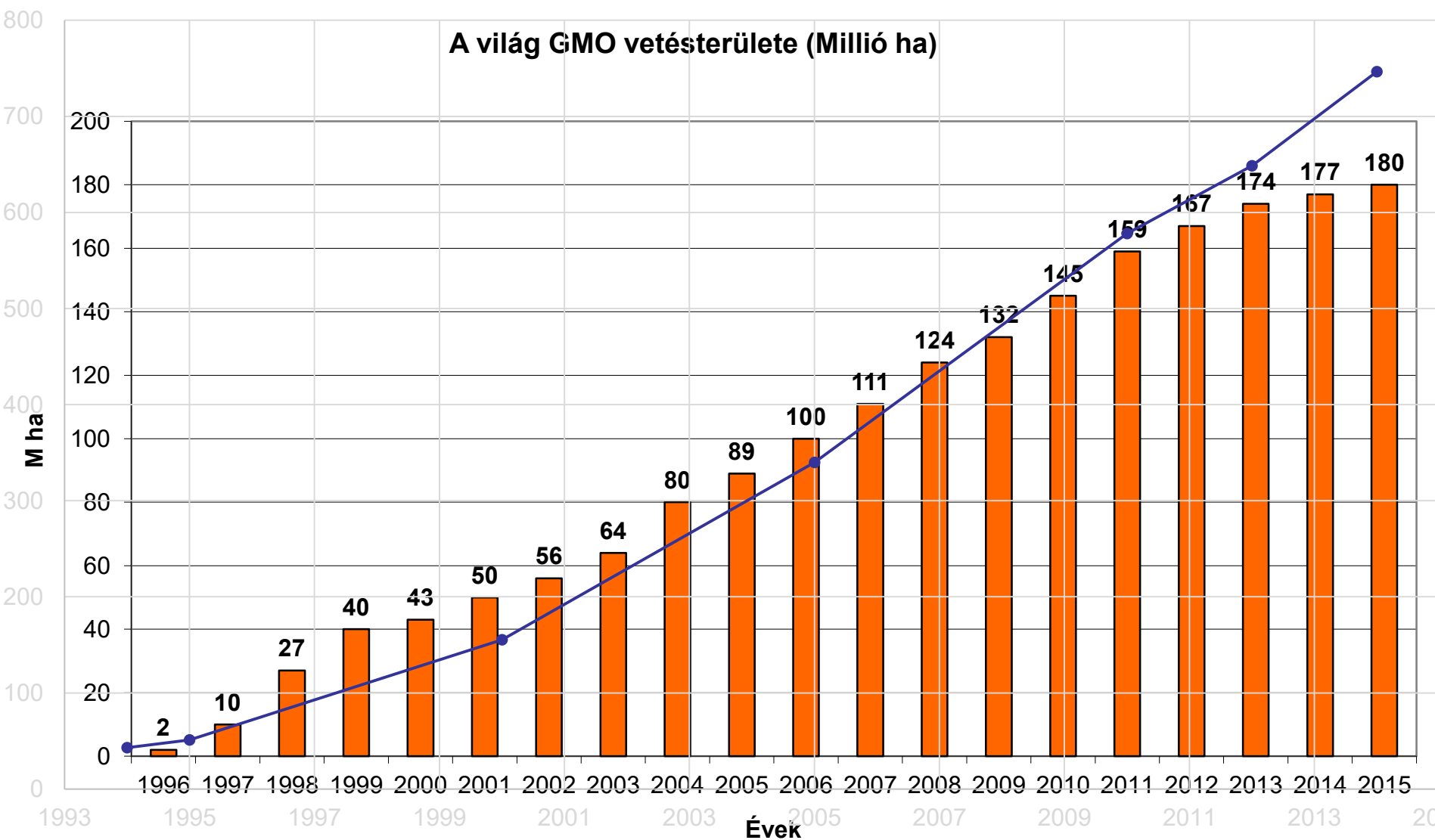
Rágcsálók

Tarackbúza (*Agropyron repens*) földalatti része






A világ GMO vetésterülete (Millió ha)





**index**

KÉZI-VB INDEX IN ENGLISH SZABAD INDEX

2019. 01. 19. szombat
Sára, Mórió EUR: 317,65 Ft ▲ -6 °C
GBP: 359,65 Ft ▲ 2 °C 

BELFÖLD KÜLFÖLD GAZDASÁG TECH-TUDOMÁNY KULT SPORT VÉLEMÉNY VIDEÓ FOTÓ 24 ÓRA



KÜLFÖLD HÍREK NÖVÉNYVÉDŐ SZEREK ENGEDÉLYEZÉS ELJÁRÁS

Az EP jobb uniós engedélyezési eljárást javasol a növényvédő szereknél

IV

2019.01.16. 21:40

 Ajánlom 2

A növényvédő szerek (peszticidek) uniós engedélyezési eljárását átláthatóbbá, a felelősségi területeket egyértelműbbé tévő tervet szavazott meg az Európai Parlament strasbourgi plenáris ülésén szerdán.

Az 526 szavazattal, 66 ellenszavazat és 72 tartózkodás mellett elfogadott javaslat szerint nyilvánosan hozzáférhetővé kell tenni a növényvédő szerek engedélyezési eljárása során felhasznált tanulmányokat, köztük a vonatkozó adatokat és a felhasználásukra vonatkozó információkat.

Az eljárás során az engedélyért folyamodó gyártóknak nyilvánosan elérhető adatbázisban kell rögzíteniük, hogy milyen vizsgálatokat kívánnak elvégezni. A folyamatnak tartalmaznia kell egy úgynevezett észrevételezési időszakot is, amelynek során az érdekelt felek további adatokkal szolgálhatnak, hogy így a döntéshozó

It is suggested that all studies on **glyphosate** should be reviewed for **carcinogenicity**. Residues in soil and surface water should set a limit for the Committee. (MTI)

**Szilárd
élelmi-
szerek**

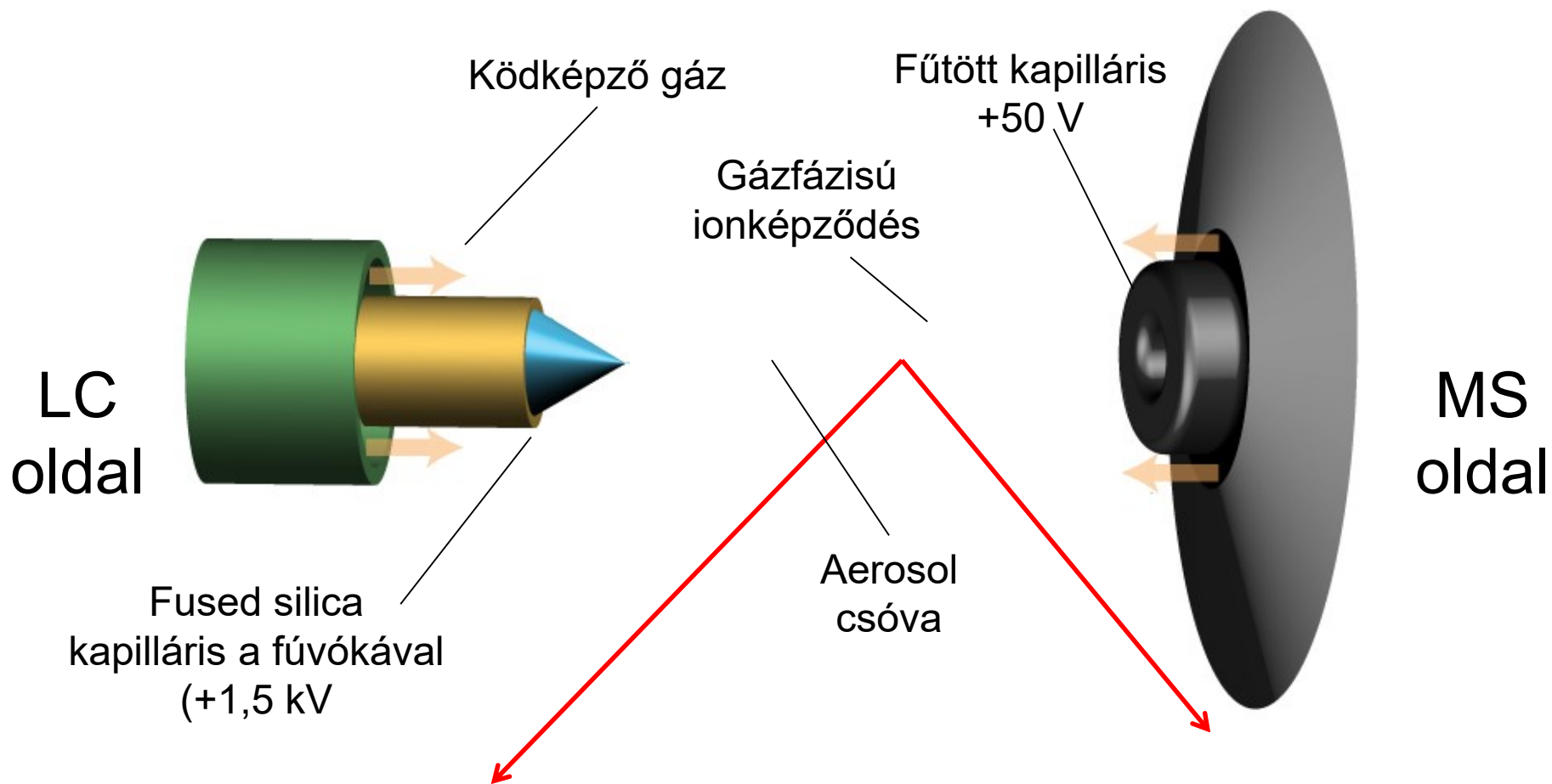
**Ivóvíz,
egyéb
vizek**

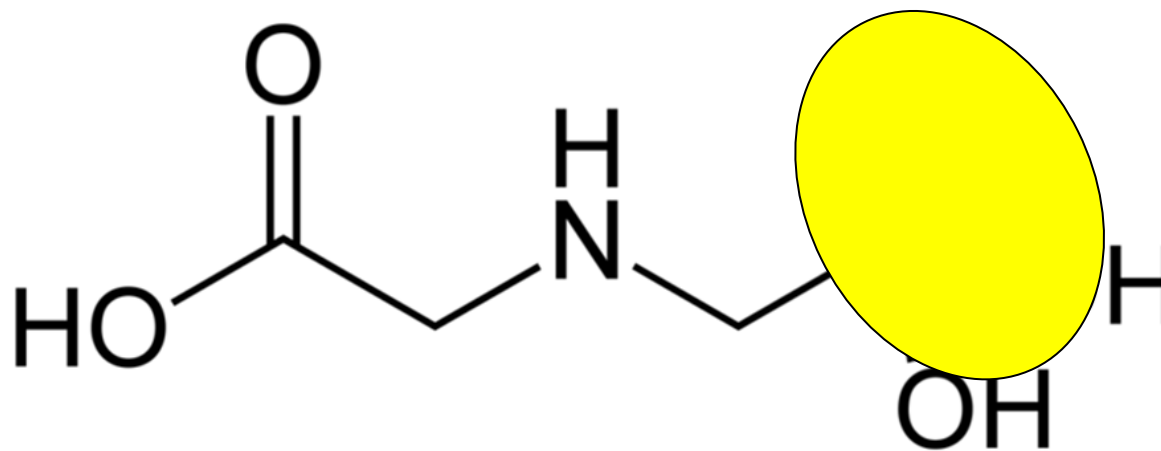


- Erősen **poláros**,
- **Kicsiny** molekula,
- Ennek ellenére **nem illékony**,
- **Gyenge a fényelnyelése**,
- **Fluoreszcenciája nincsen**,
- Fordított fázison **gyenge a retenciója**;

Ezért ismereteink szerint kevés laboratórium vállalkozik maradékainak meghatározására (EU: 32 hatósági labor).

- Homogenizálás, majd 5 g minta bemérése,
- Extrakció hangyasavas metanollal,
- Centrifugálás, szűrés,
- Térfogat-beállítás,
- Bemérés a HPLC autosampler-ébe,
- Elválasztás Hypercarb GCB oszlopon,
- **LC-ESP - MS/MS (TripleQuad)** detektálás,
- Belső standerdek: $^{13}\text{C}_2$ és ^{15}N nuklidokkal jelzett glifozát standerddel,
- Jellemző ionátmenetek: **168/63** m/z, illetve a jelzett standerdekből **171/63** m/z;
- LOQ: 10 ng/g = **10 $\mu\text{g}/\text{kg}$**





$$3 \text{ C} = 36$$

$$8 \text{ H} = 8$$

$$5 \text{ O} = 80$$

$$1 \text{ P} = 31$$

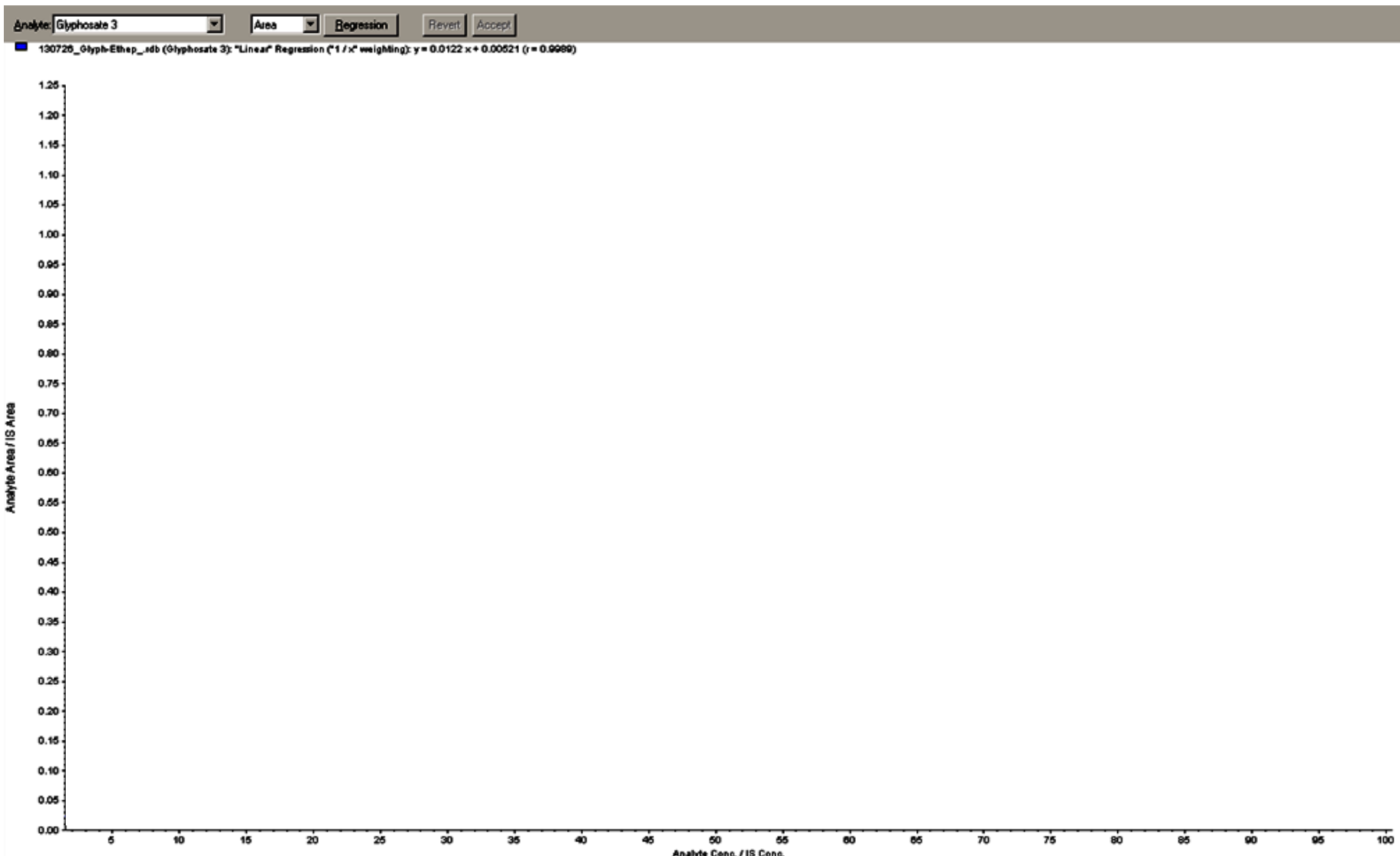
$$1 \text{ N} = 14$$

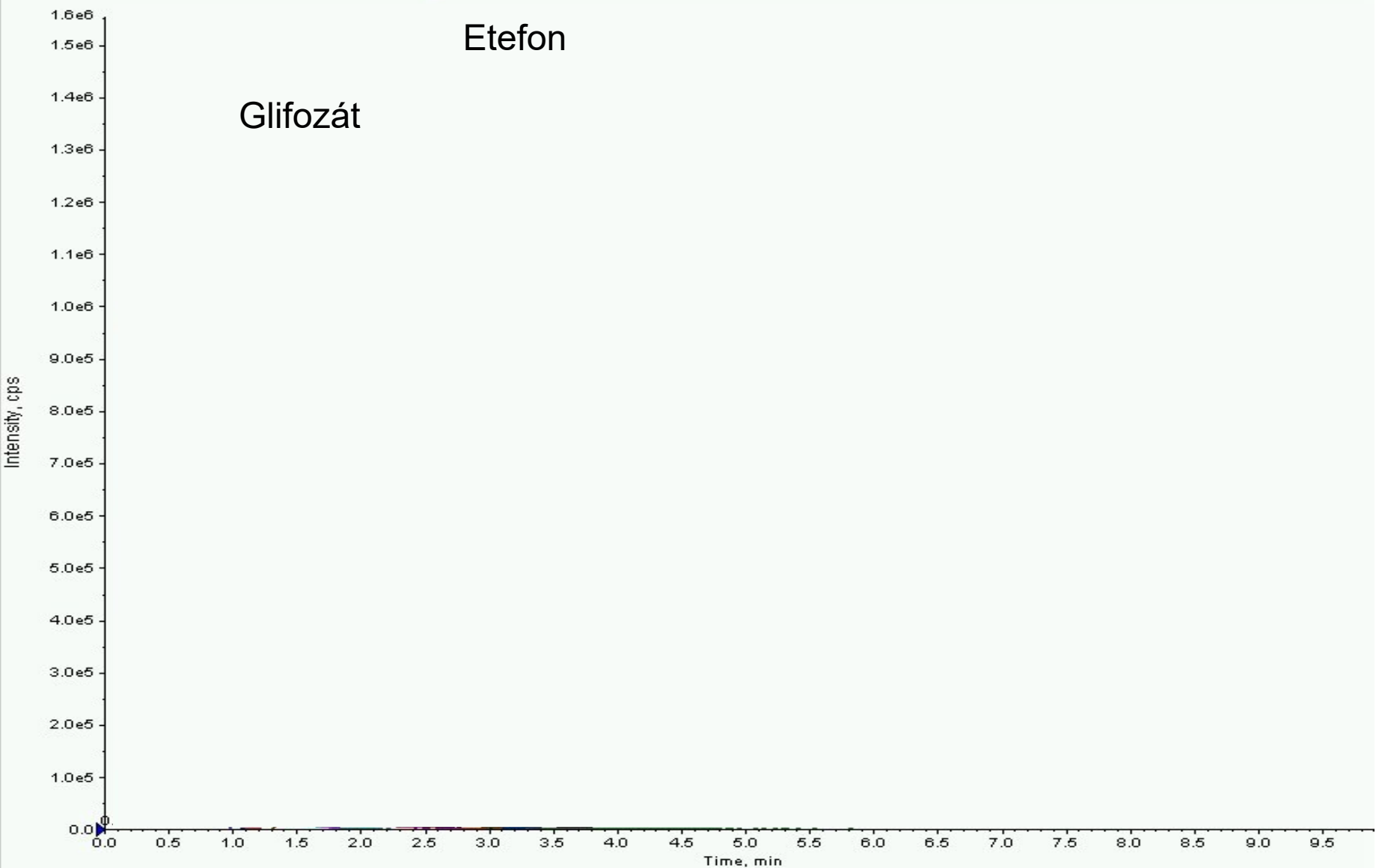
$$M_0 = 169$$

1 proton-vesztéssel: $M_1 = 168$

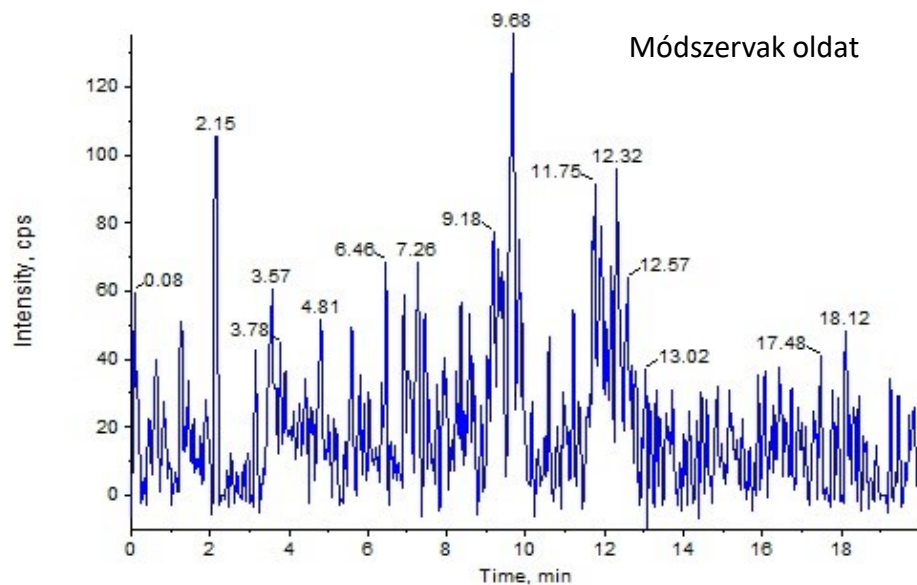
Foszforsav leszakad PO_2 -vé: 63

Glifozát kalibráció (2 ng/ml-100 ng/ml)

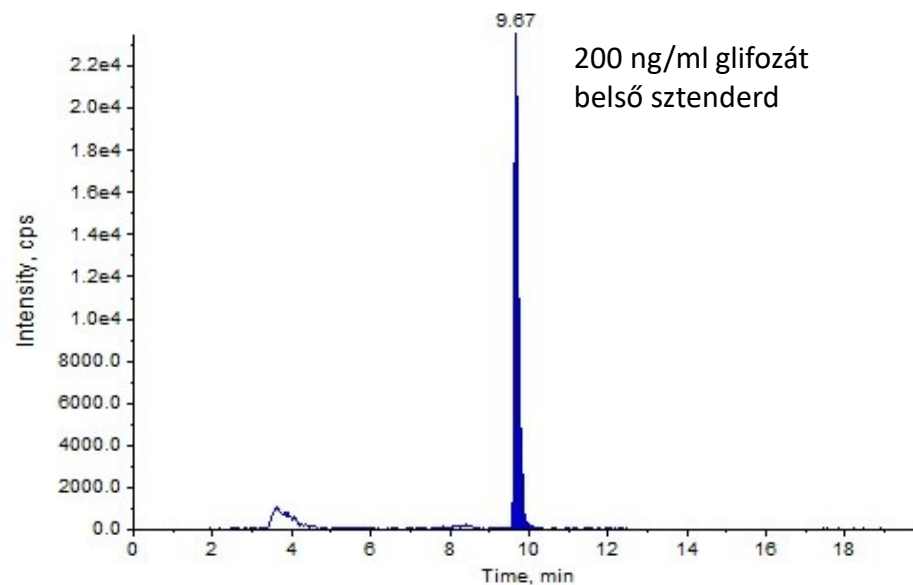




T_2 - Glyphosate 1 (Unknown) 168.000/63.000 Da - sample 21 of 29 from 140210-Gly...
Area: 32.4 counts Height: 71.4 cps RT: 9.73 min

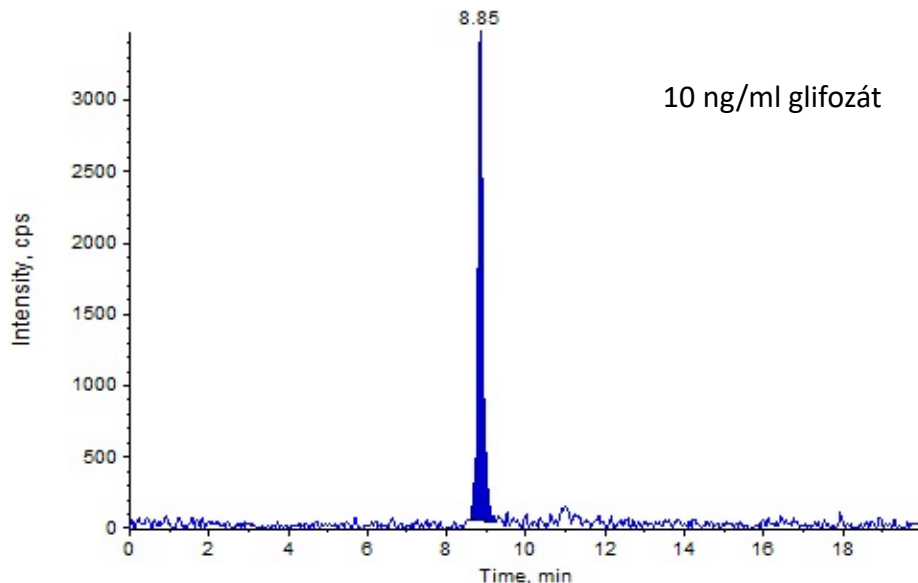


T_2 - Glyphosate-13C2-15N(15) (Unknown) 171.000/63.000 Da - sample 21 of 29 from 140210-G...
Area: 190000. counts Height: 23900. cps RT: 9.67 min

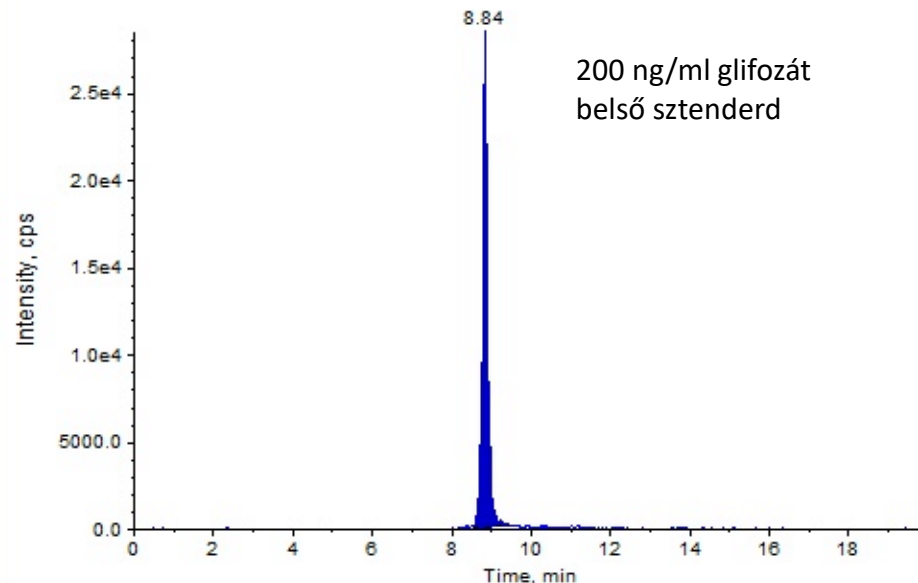


A glifozát retenciós idejének közelében észlelhető zavaró hatású jelek kromatogramja

kal-10ppb - Glyphosate 1 (Standard) 168.000/63.000 Da - sample 9 of 29 from 14021...
Area: 31700. counts Height: 3470. cps RT: 8.85 min



kal-10ppb - Glyphosate-13C2-15N(1S) (Standard) 171.000/63.000 Da - sample 9 of 29 from 1402...
Area: 248000. counts Height: 28800. cps RT: 8.84 min



A glifozát 1 ng/ml-es mennyiségének és az izotópjelzett belső sztenderdnek a kromatogramja

**Szilárd
élelmi-
szerek**

**Ivóvíz,
egyéb
vizek**





Az **ivóvíz** minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről szóló **201/2001. (X.25.) Kormányrendelet** módosításában kibővítették az ivóvízben vizsgálandó növényvédő szerek maradékainak listáját.

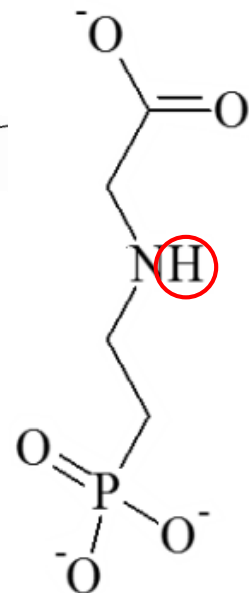
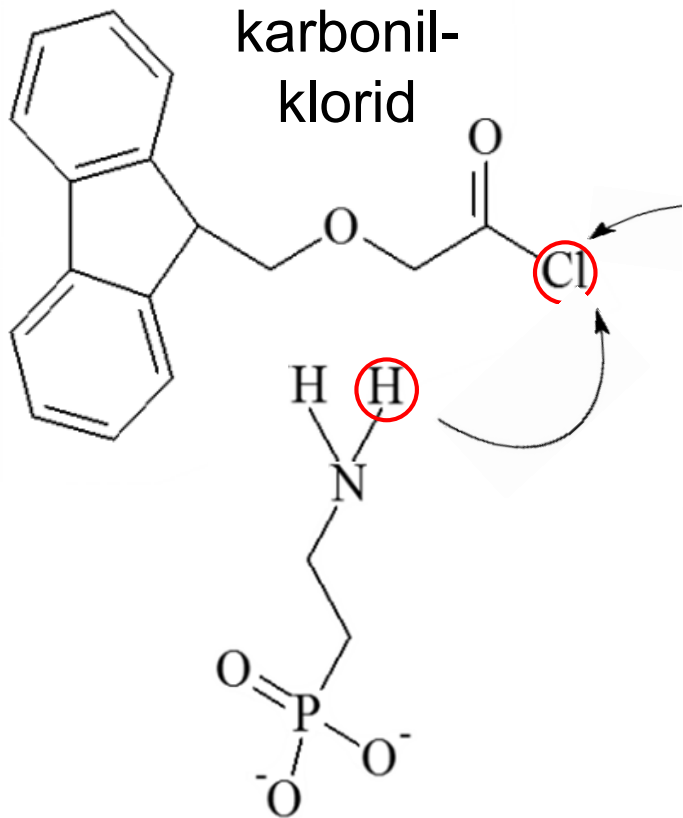
Ezért az ivóvízben számos más növényvédő szer mellett 2019 januárjától a **glifozátot** is vizsgálni kell. A glifozát (**Gialka, Round Up**) számos vitát kiváltó és a Föld teljes termőfelületét csaknem „összefüggően” beborító, gyomirtó szer, amelynek bomlástermékét, az **AMPA**-t is vizsgálni kell.

	201-es rendelet						Ivóvizes határérték 201-es rendelet szerint µg/L
	16-os	2018-tól	2019-től				
acetoklór	+	+	+	GC-MS	LC+		0,1
2,4,5-T	+					LC-	0,1
2,4-D	+	+	+			LC-	0,1
aldrin		+	+	GC-MS			0,03
AMPA			+				0,1
atrazin	+	+	+	GC-MS	LC+		0,1
bentazon		+	+			LC-	0,1
DDT/DDD/DDE	+	+	+	GC-MS			0,1
dezetil-atrazin	+	+	+	GC-MS	LC+		0,1
dezipropil-atrazin	+	+	+	GC-MS	LC+		0,1
diazinon	+			GC-MS			0,1
dieldrin		+	+	GC-MS			0,03
dikamba			+			LC-	0,1
dimeténamid			+	GC-MS	LC+		0,1
endoszulfán		+	+	GC-MS			0,1
endoszulfán-szulfát		+	+	GC-MS			0,1
endrin	+			GC-MS			0,1
forát	+			GC-MS			0,1
glifozát			+				0,1

Helyszín	Minták száma	Glifozát eredmény	AMPA eredmény	Megjegyzés
USA 2002	51 patakvíz minta és mezőgazdasági területek mintái, összesen 154 minta	5,10 µg/L	3,67 µg/L	A minták 36%-ában glifozátot, 69%-ában AMPA-t mutattak ki
USA 2002	10 szennyvíztelepről 40 minta	<0,1 - 2,0 µg/L	<0,1 - 4,0 µg/L	Glifozát: 17,5%, AMPA 67,5% gyakorisággal
Kanada 2002	3 minta vizes területről, 74 minta mezőgazdasági területen átfolyó tíz patakából	<0,02 - 6,08 µg/L	X	A glifozátot a minták 22%-ában találták meg
Kolumbia	5 területről 24 minta (gabonatermő és coca termőterület közeléből)	maximum: 30,1 µg/L	X	A minták 8%-ában detektálták a glifozátot
Dánia 2010-2012	4 mezőgazdasági területről 450 minta	<0,1 - 31,0 µg/L	<0,1 - 31,0 µg/L	A glifozátot a minták 23%-ában, az AMPA-t a minták 25%-ában találták meg

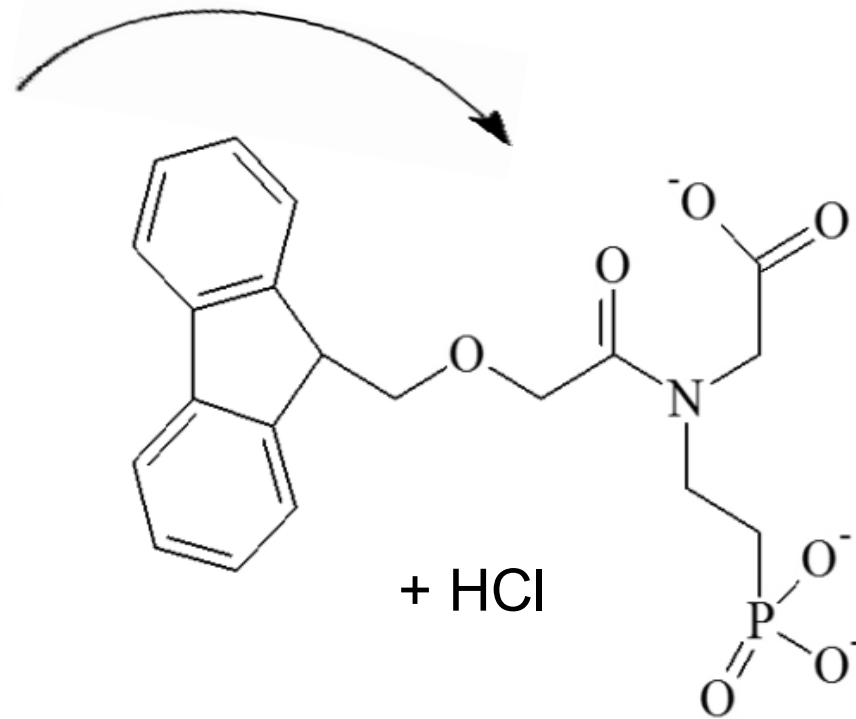
Battaglin et al., (2005), Kolpin *et al.* (2006), Humphries et al. (2005), Solomon *et al.*, (2007), Brüch et al. (2013)

FMOC-Cl:
9-fluorenil-
metiloxi-
karbonil-
klorid



Glifozát

pH = 9,0



FMOC-Glifozát származék

AMPA (-CH₂COOH-val kisebb)



- **20 ml vízminta** + HCL összerázás után + KOH-oldat + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- Az összerázott mintához + borát puffert adtunk
- Származékképzés: **FMOCl** -oldattal
- Származékképzés: 60 perc szobahőmérsékleten
- A származékhoz + HCOOH (pH: 3 – 4 között)
- A savas oldathoz + EDTA, majd összerázzuk



- **SPE kondicionálása:** MeOH majd HCOOH (MilliQ vízzel hígítva – Strata PDVB);
- **A teljes mintamennyiséget** felvisszük, lassú átcsepegetési sebességgel;
- **Mosás** Cl_2CH_2 ;
- **Szárítás** 10 perc;
- Glifozát és AMPA **elúciója** MeOH-lal, lassú csepegetés mellett;

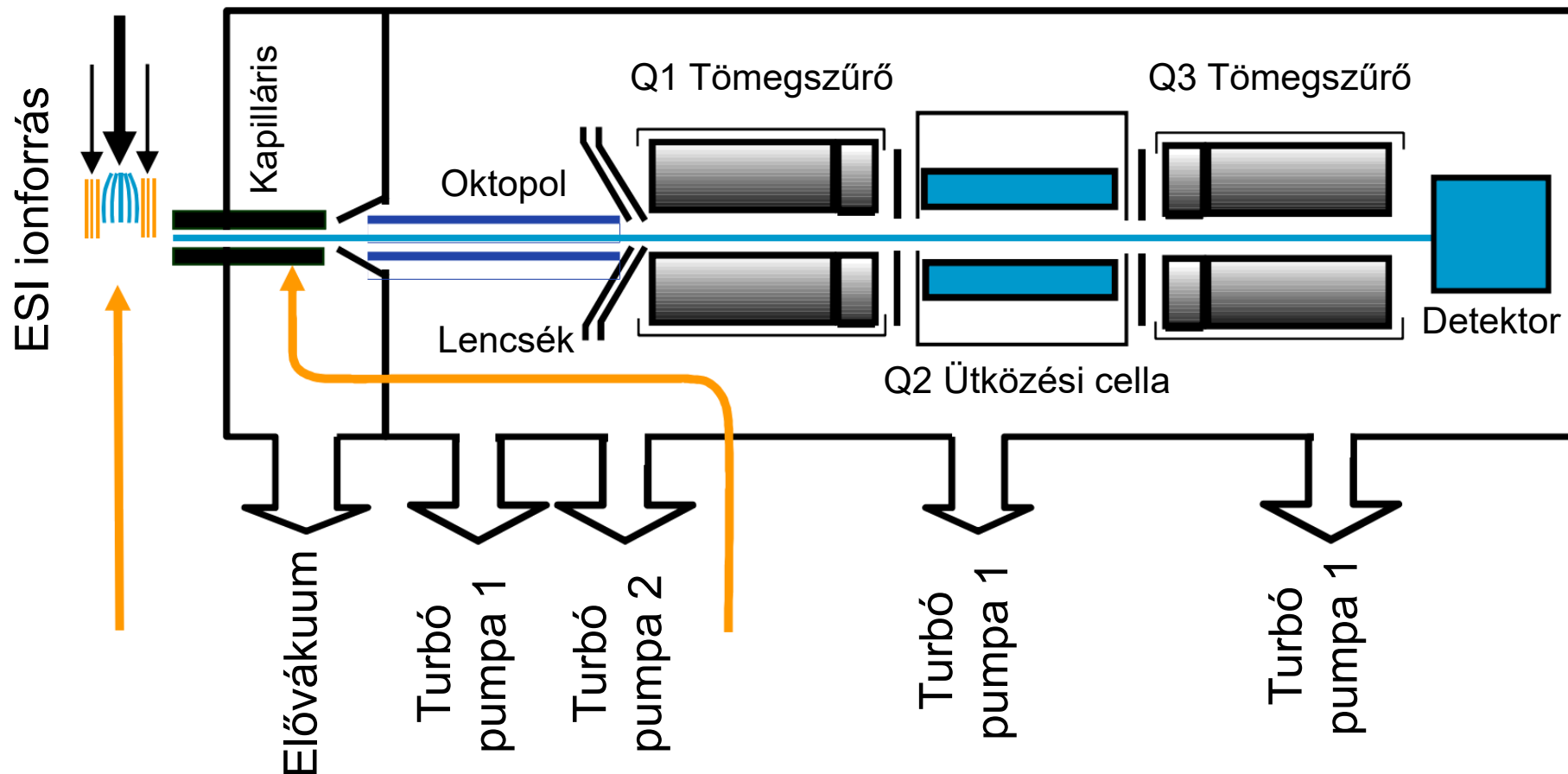


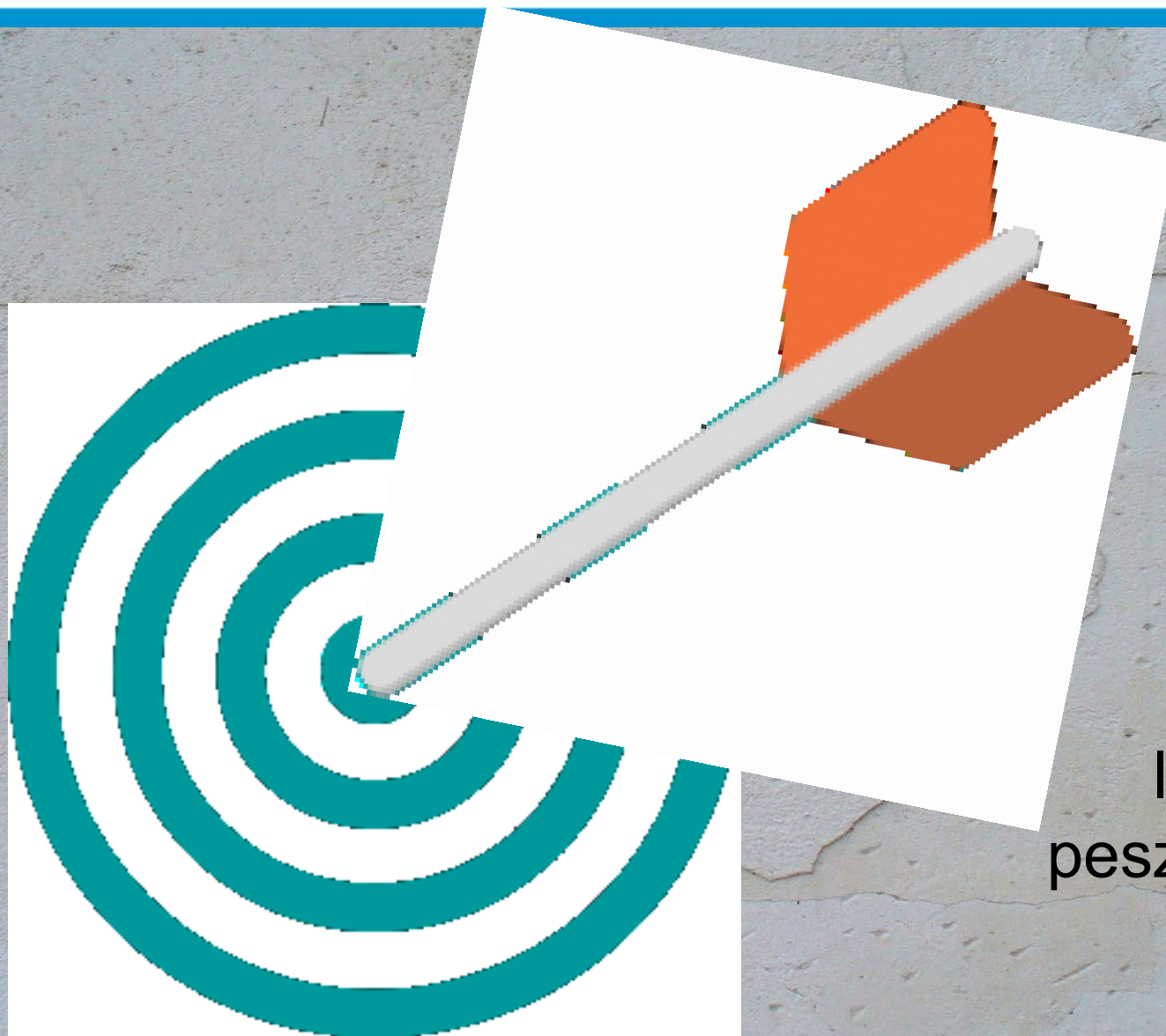
- Az eluátumot **nitrogén alatt szárazra pároljuk** 50 °C-on;
- **Visszaoldás** MeOH-oldattal (MilliQ vízzelkészült);
- **Szűrés** 0,22 µm PVDF (poli- vinilidén fluorid) szűrőn fényvédő borostyánszínű fiolákba;
- **Tárolás** mérésig -20 °C-on;



Készülék	LC-MS/MS (<i>Agilent, 6490</i>)
Ionizációs mód	ESI pozitív
Oszlop	YMC-Triart C18, 75x2,0 mm ID, S-1,9 mm
Szűrő	0,4 µm acélszűrő
A eluens	Ammónium-acetát puffer
B eluens	Acetonitril
Injeltált térfogat	10 µm
Belső standardek	Glifozát- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N és AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, D ₂

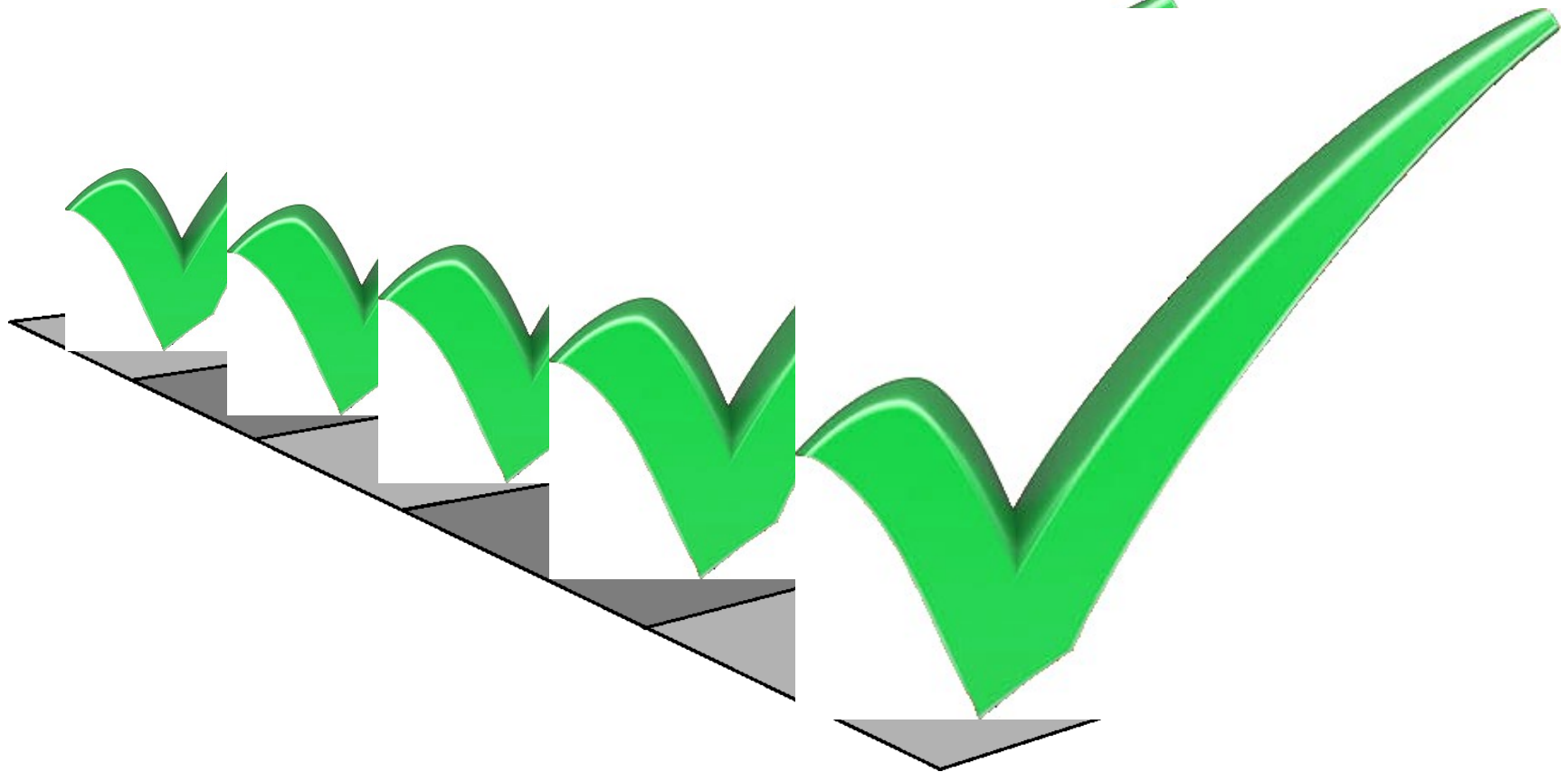






A glifozát a legelterjedtebb peszticid a világon (kvázi-totális herbicid)

Komponens	MRM 1	MRM 2
Glifozát-FMOC	392	214
Glifozát-FMOC	392	178
Glifozát-FMOC	392	170
Glifozát-FMOC	392	88
Glifozát- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N-FMOC	395	178
Glifozát- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N-FMOC	395	217
Glifozát- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N-FMOC	395	173
Glifozát- ¹³ C ₂ , ¹⁵ N-FMOC	395	97
AMPA-FMOC	334	178
AMPA-FMOC	334	156
AMPA-FMOC	334	112
AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, D ₂ -FMOC	338	178
AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, D ₂ -FMOC	338	160
AMPA- ¹³ C, ¹⁵ N, D ₂ -FMOC	338	116



A módszer validálását **ivóvíz mátrixban** végeztük el úgy a glifozátra, Mint az AMPA komponensre.

Egészségügyi és Élelmiszerbiztonsági Főigazgatóság -
SANTE/11813/2017, „G” melléklete iránymutatásai szerint

- **Kalibráló sorozat:** 1, 2, 5, **10**, 50, 100, 200, 500, 1000, 1500 pg/ml (glifozátból és AMPA-ból)
- Reagenseket tartalmazó **vak oldat**
- 6 csapvízminta **adalékolás nélkül**
- 6 **adalékolt** csapvízminta (**LOQ** 10 ng/L szinten)
- 6 **adalékolt** csapvízminta (**QL** – 100 ng/L szinten)

2

AMPA-FMOC

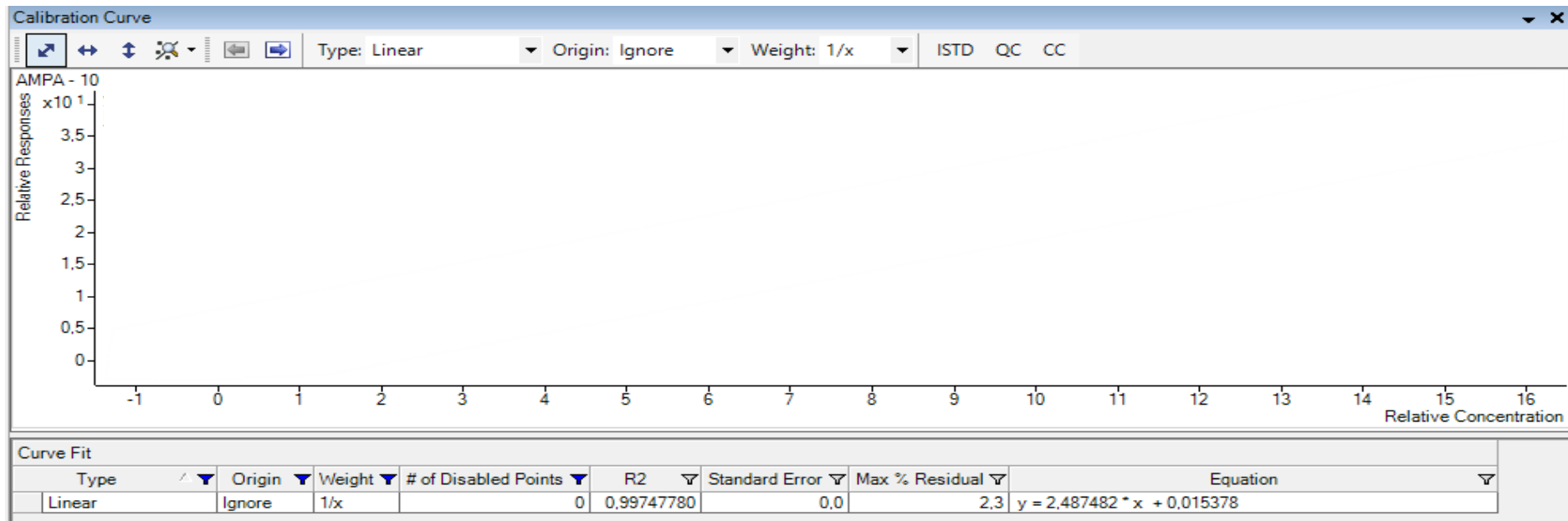
2

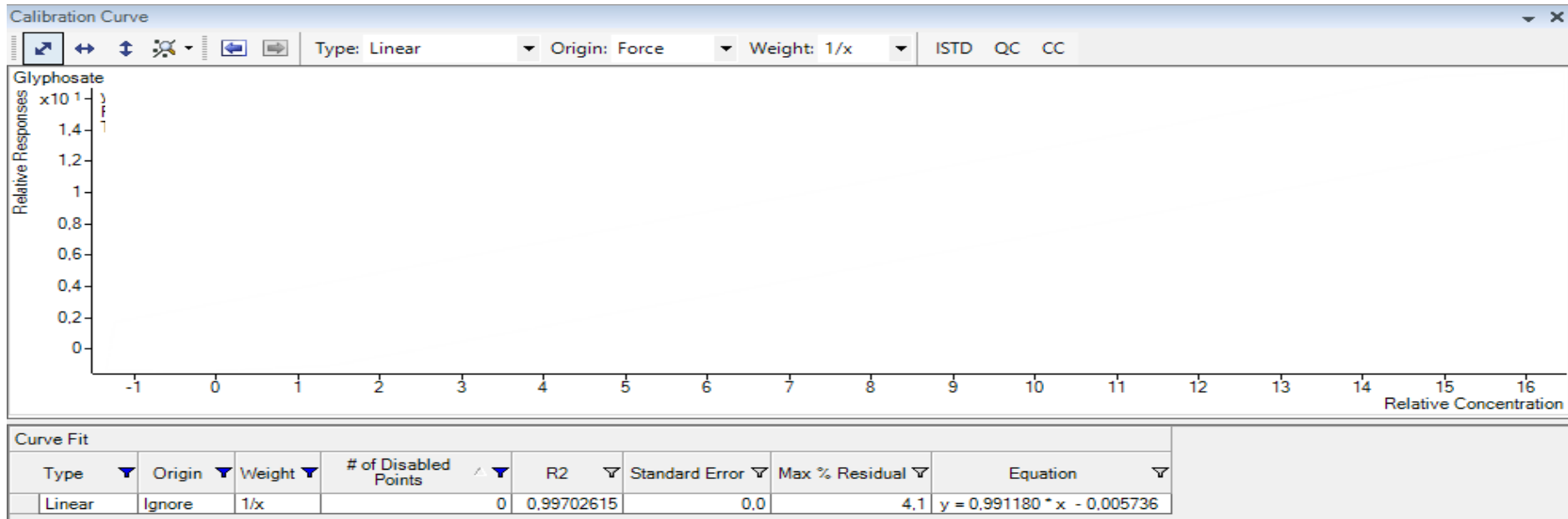
Glifozát-FMOC

Glifozát-FMOC (CAS: 1373205-41-4)

Aminometil-foszforossav-FMOC (CAS: 195306-88-8)

Linearitás vizsgálata: AMPA (5 – 1500 pg/L $r^2 = 0,99748$)



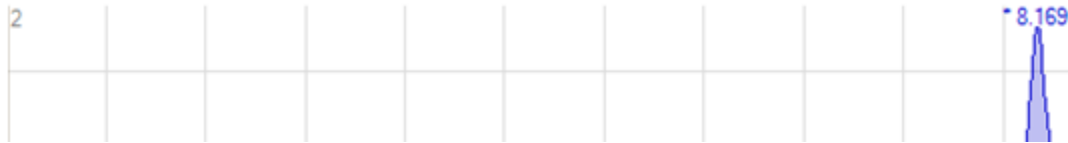


A vizsgált tartományban a csúcsterület és a koncentráció közötti összefüggés **lineáris** volt mindkét komponens (AMPA és glifozát) esetében. A kalibrációs egyenesek maximális **reziduális szórása** százalékban kifejezve **2,3%** és **4,1%**, illetve a **korrelációs koefficiense** nagyobb mint **0,997**.

A linearitás vizsgálatához készített 1, 5, 10, 50, 100 pg/ml koncentrációjú oldatból felvett kromatogramon az egyes mérendő komponensekhez meghatározzuk a jel/zaj arányt.

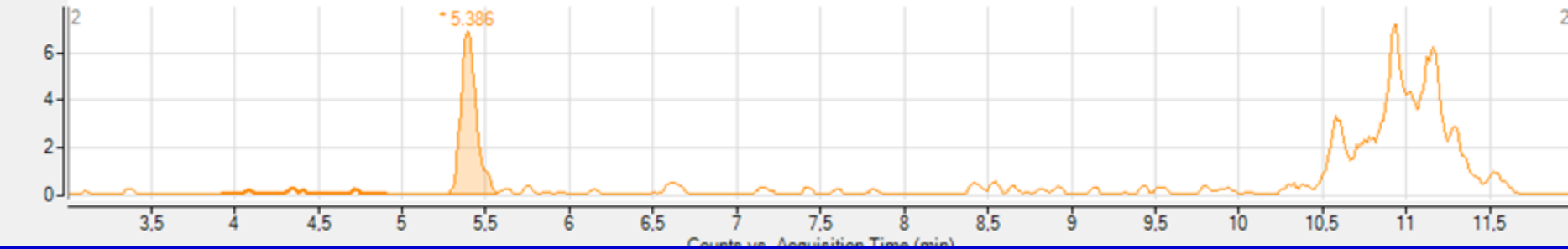
- **A legkisebb detektálható mennyiség (Limit of Detection – LOD):** az a koncentráció, ahol a S/N (jel/zaj) arány legalább 3;
- **A mérés alsó határa (Limit of Quantification – LOQ)** a LOD-nek megfelelő koncentráció háromszorososa;
- Tehát: $3 \cdot N = \text{LOD}$, $3 \cdot \text{LOD} = \text{LOQ}$, $\approx 10 \cdot N = \text{LOQ}$

5 pg/ml AMPA Jel/zaj arány: 31,9



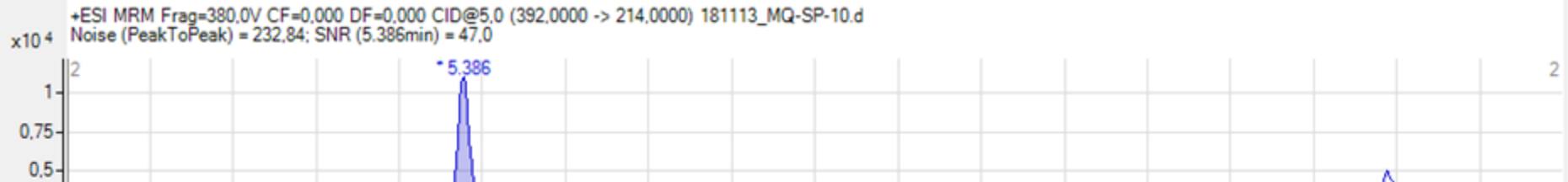
5 pg/ml glifozát Jel/zaj arány: 31,0

+ESI MRM Frag=380,0V CF=0,000 DF=0,000 CID@5,0 (392,0000 -> 214,0000) 181113_MQ-SP-5.d
Noise (PeakToPeak) = 220,90; SNR (5.386min) = 31,0

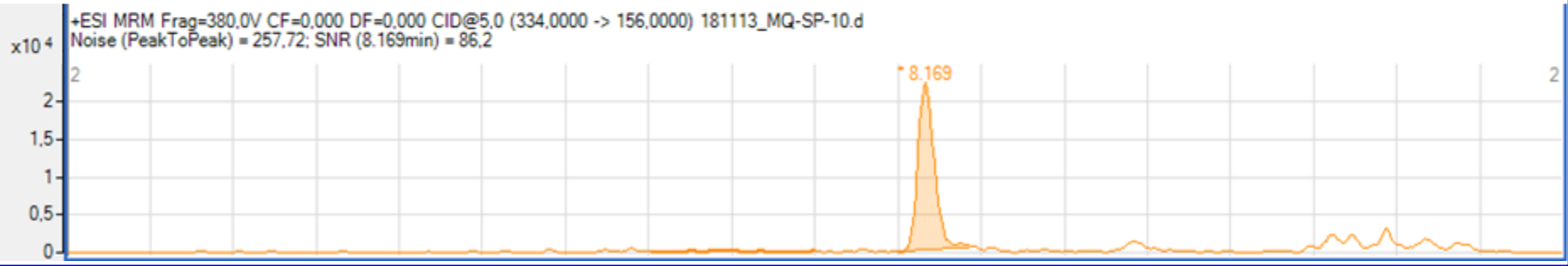


MDQ: Minimum detectable quantities **5 pg/ml** ($10 < \text{jel/zaj arány} < 35$)

10 pg/ml AMPA Jel/zaj arány: 47,0



10 pg/ml glifozát Jel/zaj arány: 86,2



LOQ: Limit of quantification **10 pg/ml**;

LOD (Limit of Detection) 5 pg/ml

$10 < \text{jel/zaj arány} > 35$

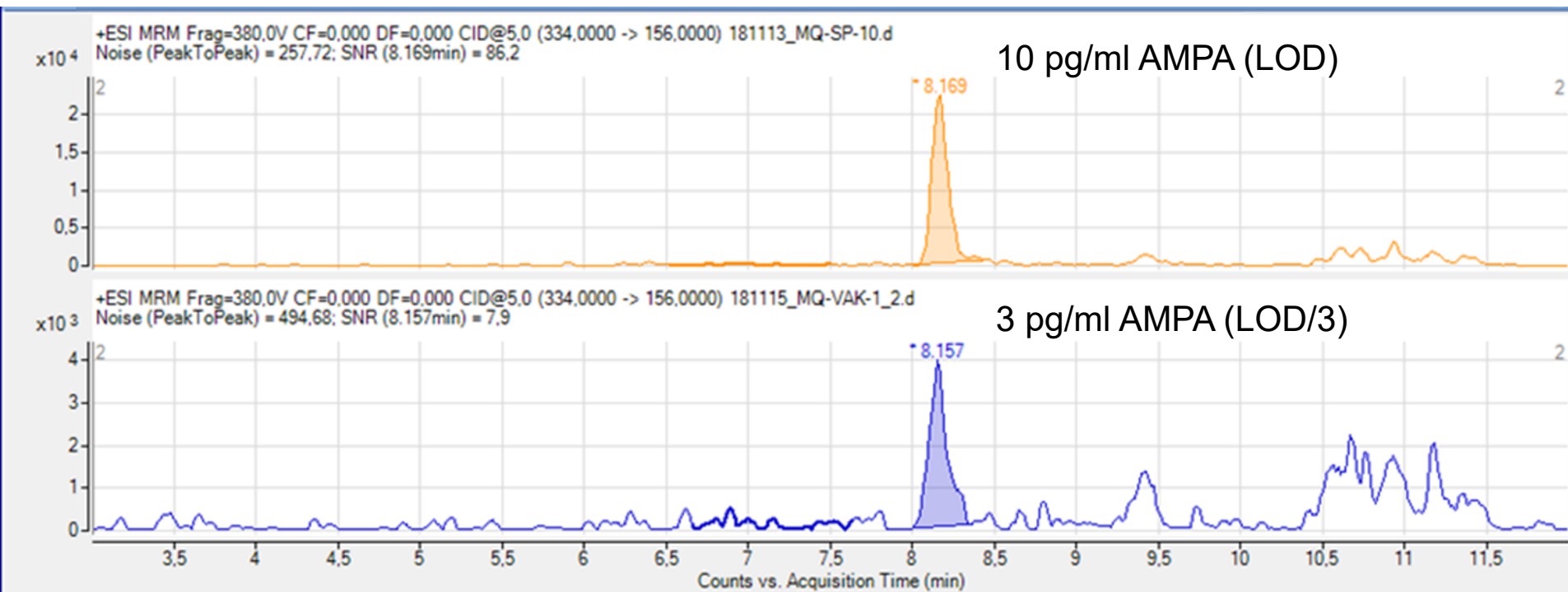
LOQ (Limit Of Quantification) 10 pg/ml

$35 < \text{jel/zaj arány}$

RL (Reportation Limit)

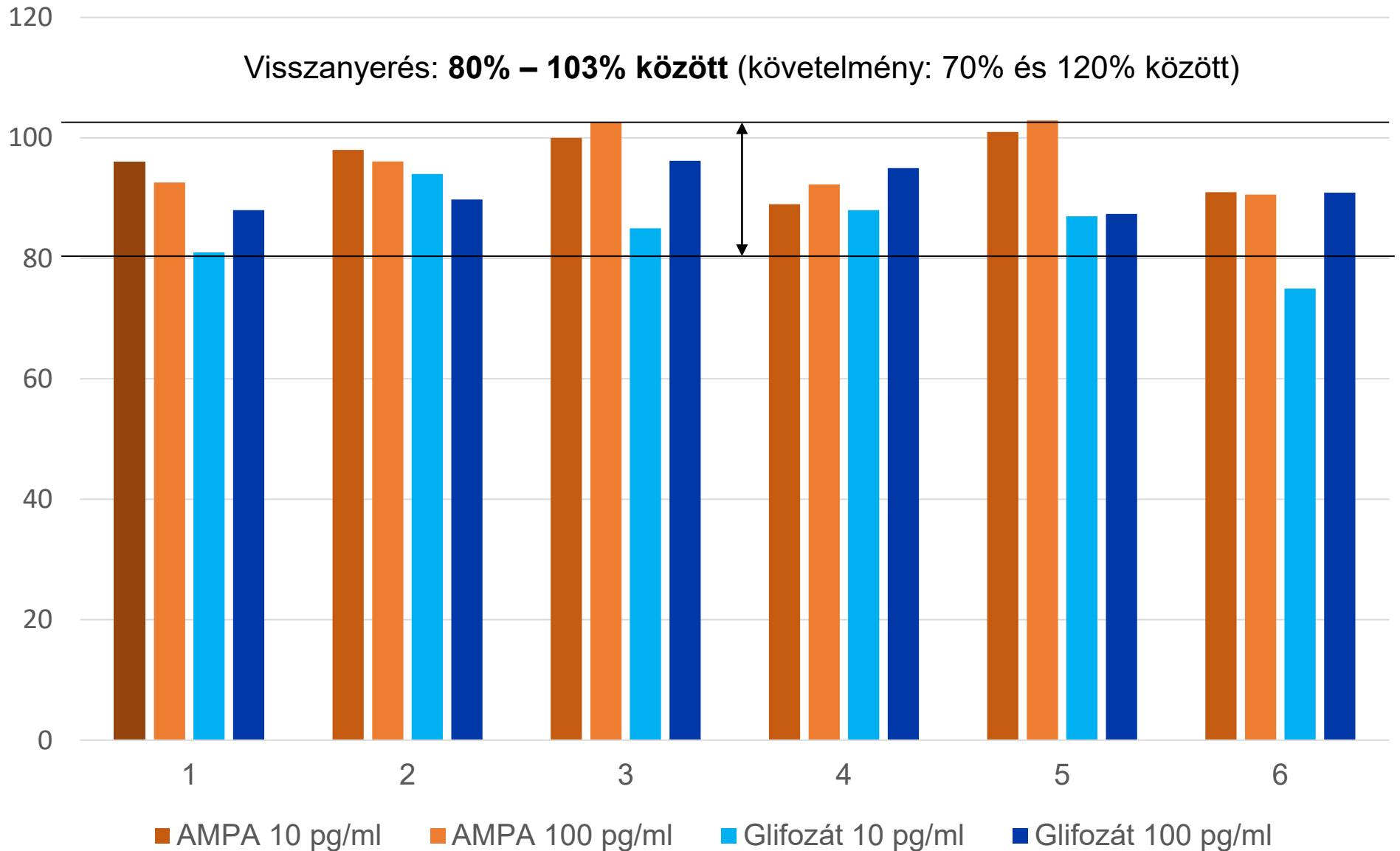
Jelentési határ, esetünkben a megengedett
maximális koncentráció ivóvízben:

100 pg/ml (0,1 µg/l) (határérték ivóvízben)

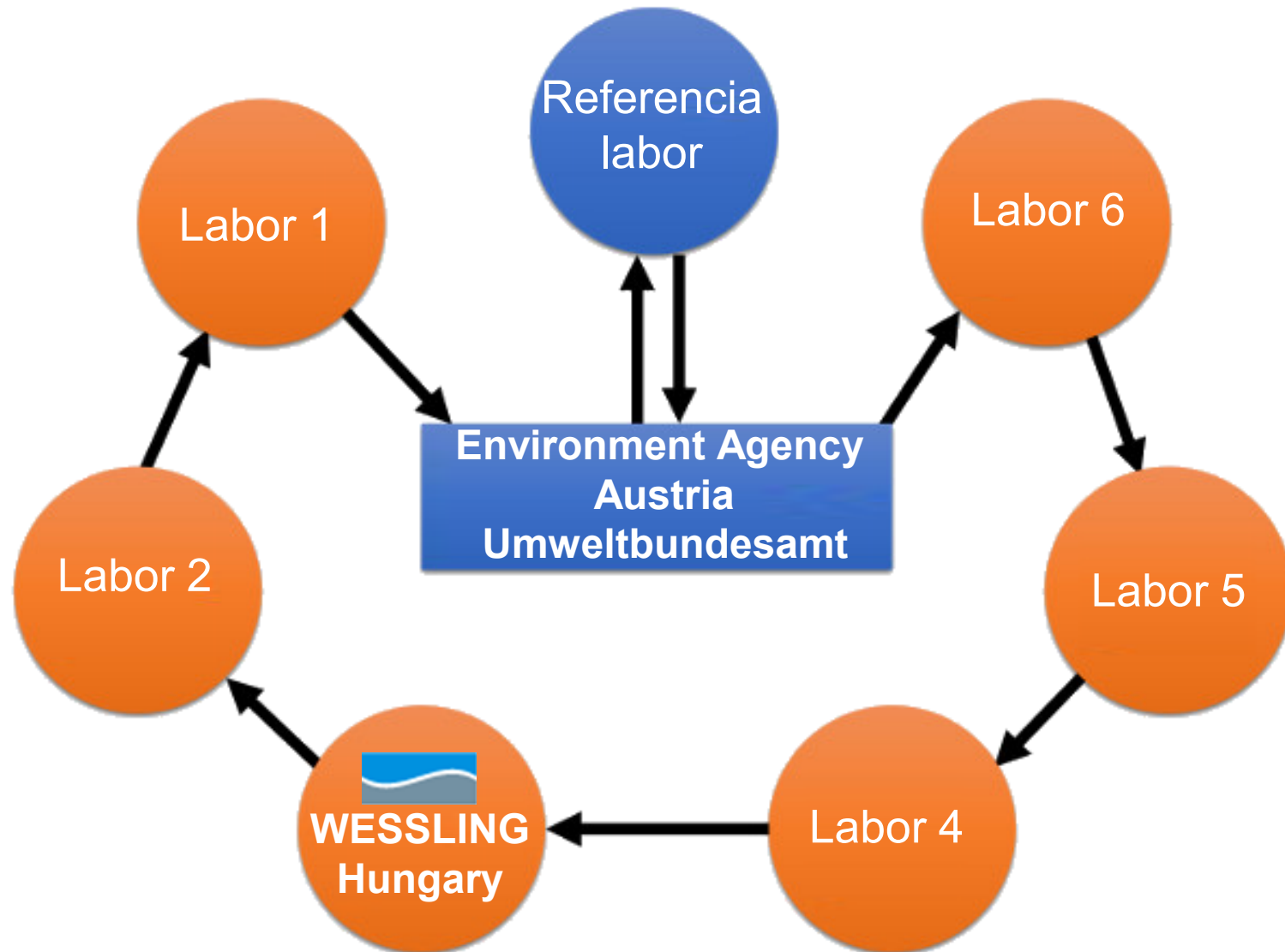


A módszervakban található zavaró csúcsok jel nagysága nem haladta meg az LOD 30%-ához tartozó (3 pg/ml) csúcs jelének nagyságát.

A specifikusság a glifozátra is ugyanígy teljesült.



Az 1 héten át -20 °C-on tárolt kalibrációs oldatok kalibrációs görbéjéről leolvasható koncentráció-veszteség $\pm 25\%$ -ban tért el az elméleti koncentrációtól úgy az AMPA, mint a glifozát esetében.



Szervező:

Environment Agency Austria, Umweltbundesamt

Vizsgálat:

Pesticides in Accordance with the Drinking Water Ordinance- PM02

Körvizsgálati jelentés:

Projektszám: 2018/K/07410

Elvárt érték: 0,366 µg/l

Mért érték: 0,4 µg/l,

z.score: 0,53 - megfelelt

ÉLELMISZERVIZSGÁLATI K Ö Z L E M É N Y E K

Az 1955-ben alapított tudományos szakfolyóiratot 2014 január elseje óta (5. éve) a WESSLING Nonprofit Kft. (WIREC) adja ki.

Szigeti Tamás János¹, Suszter Gabriella¹, László József¹

Érkezett/Received: 2014. március/March – Elfogadva/Accepted: 2014. szeptember/September

A glifozát maradékainak jelenléte környezetünkben, és analitikai meghatározásának lehetőségei

Kulcsszavak: növényvédelem, herbicidek, N-(foszfometil)-glicin, glifozát, Roundup, John E. Franz, maradékanyag, GMO, vizelet glifozát-tartalma, kétéltűek, validálás, relatív szórás, visszanyerés

1. Összefoglalás

Amikor a mezőgazdasági termelők 1974-ben megismerkedtek az akkor vadonatúj és nagy előnyöket ígérő gyomirtó szerrel, a glifozáttal, vajon ki gondolta volna, hogy közel 40 év múltán a molekuláris biológiai nagyipar olyan növényeket fog előállítani, amelyek az addigra elavulni látszó hatóanyag diadalútját fogják beláthatatlan időre meghosszabbítani?

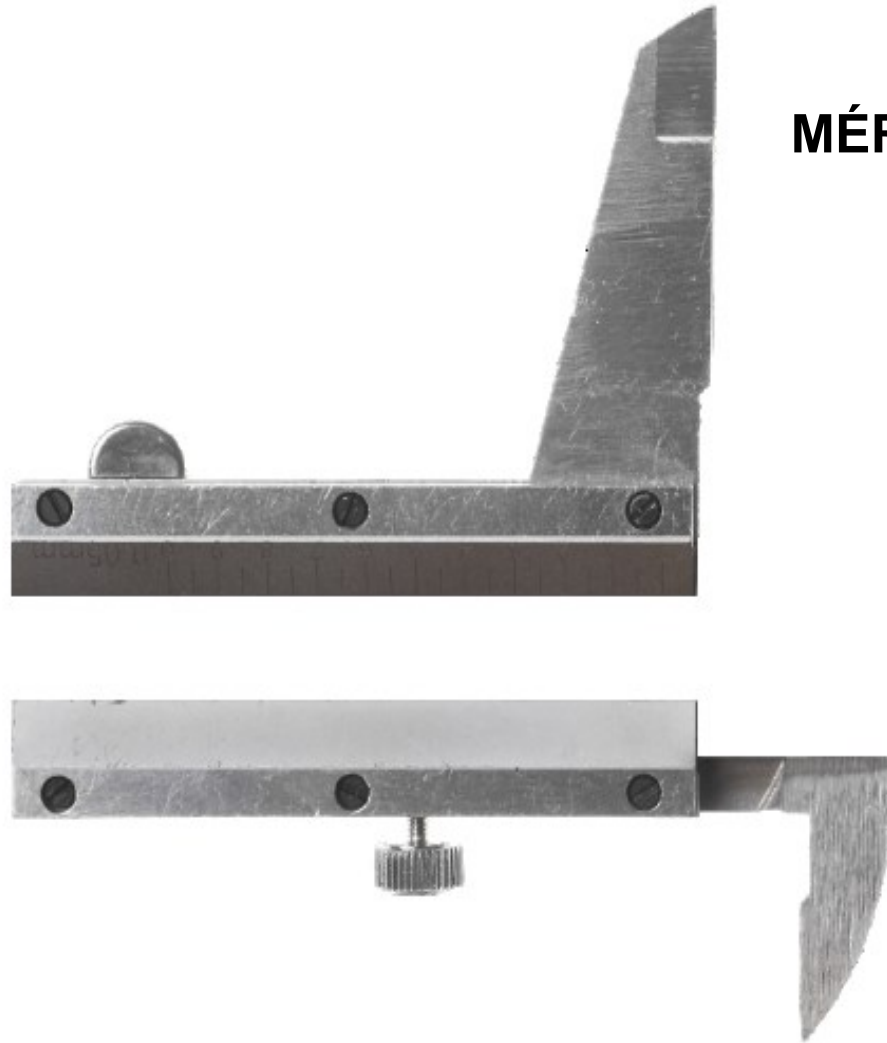
A glifozát – N-(foszfometil)-glicin –, mint leendő herbicid hatóanyagot 1971-ben az amerikai Monsanto cég szabadalmaztatta. A belőle előállított készítmény a „Roundup” fantázianevet kapta. A szer a növények levelébe szívódva blokkolja az 5-enolpiruvát-sikiminsav-3-foszfát szintáz enzim (EPSPS) működését, így megakadályozza az aromás gyűrűt tartalmazó aminosavak (fenilalanin, tirozin, triptofán) szintézisét. Így a permet felszívódását követő, néhány napon belül a növény elpusztul. A glifozát házi kertekben is alkalmazható az agracszíven tért hódító tarackbúza ellen, azonban – saját tapasztalatunk szerint – kissé túlادagolva, a szer totális gyomirtóként tönkretelheti a kert kultúrnövényeit is.

Az 1980-as évek végén új fejezet kezdődött a molekuláris biológiai kutatások eredményeinek agrotechnikai vonatkozású alkalmazásában. Megjelentek az első szabadföldön termesztett genetikailag módosított növények. Közöttük az egyik, talán legnagyobb jelentőségű „termék” a glifozáttal szemben ellenálló növény, a Roundup Ready Soybean (RR szója) volt. Az RR szója szabadalmának tulajdonosa szintén a Monsanto.

A glifozát felhasználásának növekvő üteme, és az a tény, hogy egy európai felmérés során 182 ember vizeletében 44% gyakorisággal sikerült a hatóanyag jelenlétét kimutatni, arra ösztönzött bennünket, hogy a WESSLING Hungary Kft. laboratóriumaiban módszert állítsunk be a glifozát maradékainak kimutatására növényi és állati eredetű élelmiszerekből, mezőgazdasági terményekből. A mérésekhez LC-MS-MS technikát alkalmaztunk electrospray ionforrással és negatív ionizációval. A vegyület azonosítását az LC-MS-MS rendszerben a 168→63, 168→79 és 168→150 átmenetek figyelésével végeztük. Kidolgozott módszerünket almából és tehéntejből készült mintakivonatokat elemzésével validáltuk. Ezen túlmenően a laboratóriumba érkező egyéb mátrixok elemzésénél kapott analitikai teljesítményjellemzők felhasználásával folyamatos validálást („on-going” validation) is végeztünk. Kidolgozott módszerünkkel 10 és 100 µg/kg szinten R=79,4%-os átlagos visszanyerést és RSD=12,6%-os relatív szórás-adatot értünk el. Így módszerünk ismételtetését, valamint torzítatlanságát megfelelőnek ítéltük.

Bizunk benne, hogy e herbicid-molekula maradékainak laboratóriumi vizsgálatával hozzájárulhatunk hazánk élelmiszer- és környezetbiztonságának javításához.

¹ WESSLING Hungary Kft.
¹ WESSLING Hungary Kft.



MÉRÉSI EREDMÉNYEINK

Mintaszám 2018.08.08. és 2018.09.12 között

168 db felszíni vízminta

(Főként a Happy Fish programban vett minták)

Vizsgálat:

AMPA és glifozát

Eredmények:

Glifozát: 78 mintából 5 db pozitív (6,4%):

5 db 0,1 – 0,4 µg/l,

AMPA: 78 mintából 13 db pozitív (16,7%):

13 db 0,1 – 0,6 µg/l,



Mintaszám 2014.06.04. és 2018.11.22. között (4 év, 3 hónap)

875 db összes élelmiszerminta **glifozátra**, ebből
252 db mintában mérhető volt a glifozát (>LOQ) **28,8%**
44 db összes élelmiszerminta **AMPA**-ra, ebből
0 db volt pozitív – valamennyi: <LOQ

462 vizsgált minta, ebből:
317 minta < LOQ (68,6%)
145 minta > LOQ (31,4%)

LOQ = 0,01 – 0,05 mg/kg
mintatípustól függően



83%

Étkezési magvak 76 db

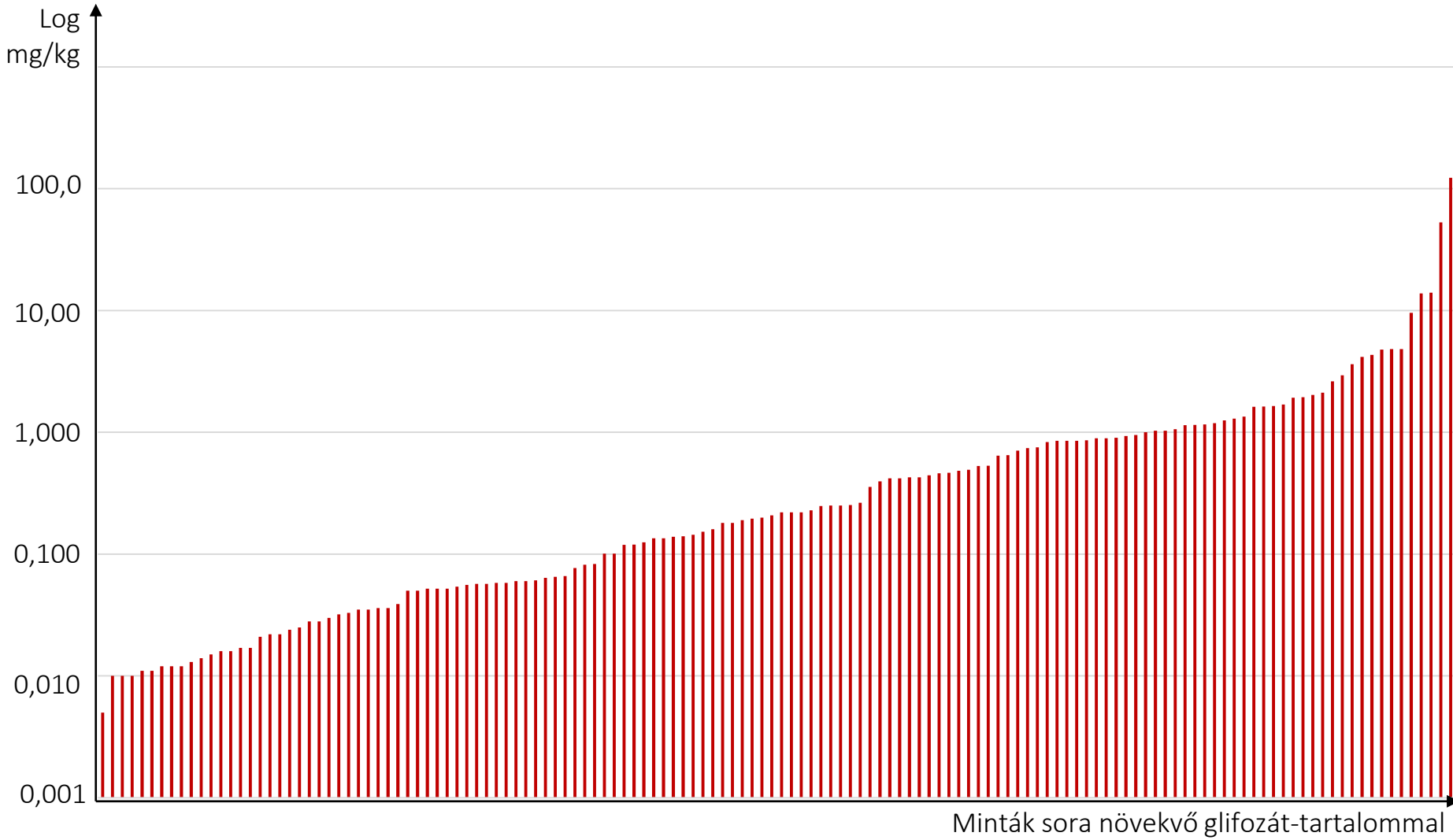
Gabona feldolgozási termékek 46 db

Gyümölcs- és zöldséglevelek 1 db

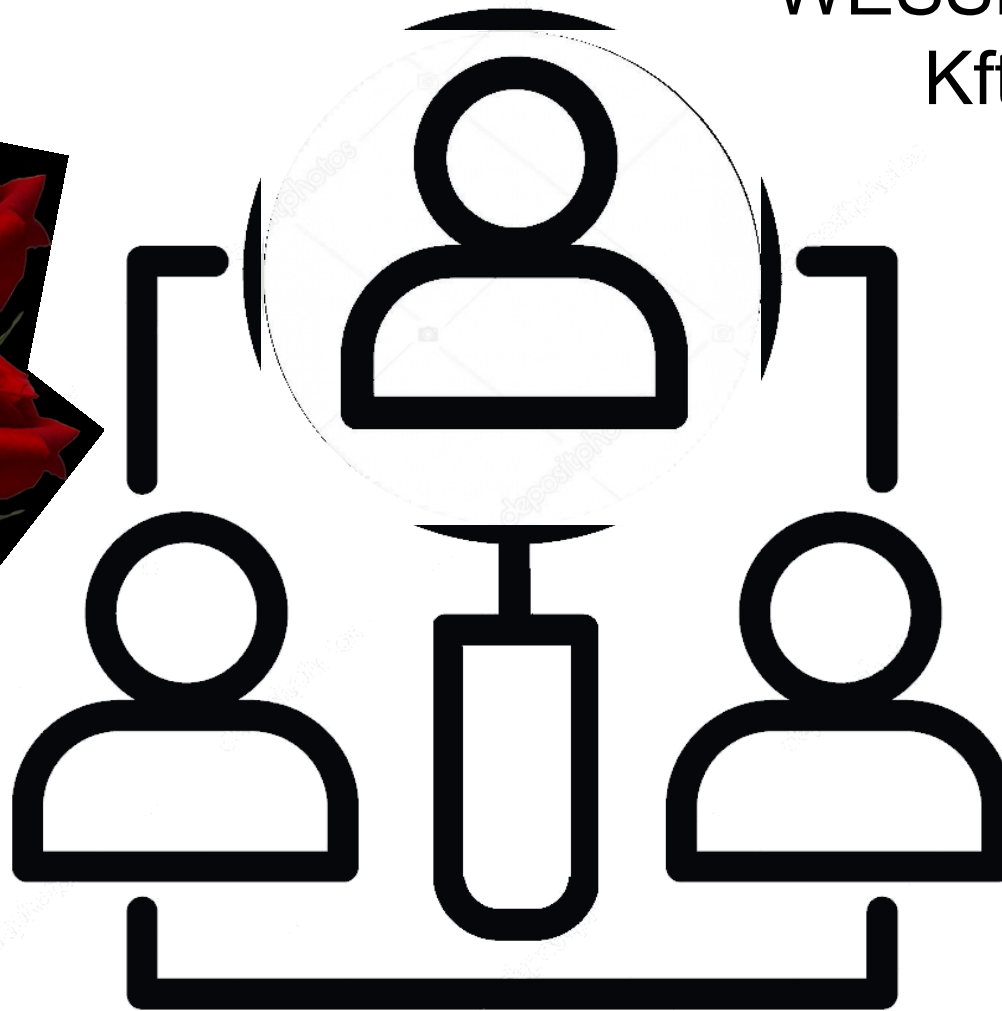
Gyümölcs- és zöldségtermékek 3 db

Egyéb mezőgazdasági termék 19 db

Pozitív minták >LOQ 145 minta (31,4%), Glifozát mg/kg



WESSLING Hungary
Kft. Növényvédő
szermaradék-
vizsgáló
Csoport



Dr. Suszter Gabriella, Gorka Ágnes, Katona Mária, Nagy Fanni, Nagy Ildikó



Köszönöm megtisztelő figyelmüket a kertünkben nyíló tulipánokkal!

