

Pannon Egyetem
Mérnöki Kar
Kémiai és Környezettudományi Doktori Iskola



DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

AEROSZOL MINTÁK ÖKOTOXICITÁSÁNAK ELEMZÉSE

DOI: 10.18136/PE.2015.590

Készítette:

Kovács Anikó

Környezettudományi Intézet, Limnológia Tanszék

Témavezetők:

Dr. Kovács Nóra, *egyetemi docens*

Környezettudományi Intézet, Limnológia Tanszék

Dr. Nagy Szabolcs Tamás, *egyetemi tanár*

Georgikon Kar, Állattudományi és Állattenyésztéstani Tanszék

Pannon Egyetem, Veszprém

2015.

AEROSZOL MINTÁK ÖKOTOXICITÁSÁNAK ELEMZÉSE

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:
Kovács Anikó

Készült a Pannon Egyetem Kémiai és Környezettudományi Doktori Iskolája keretében

Témavezetők: **Dr. Kováts Nóra**

Elfogadásra javaslom (igen / nem) (aláírás)

Dr. Nagy Szabolcs Tamás

Elfogadásra javaslom (igen / nem) (aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton%-ot ért el,

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen /nem
(aláírás)

Bíráló neve: igen /nem
(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Veszprém,
a Bíráló Bizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....
.....
Az EDHT elnöke

Rövidítések jegyzéke

<i>A. salina</i>	<i>Artemia salina</i> héj nélküli kistrák
AChE	acetilkolinészteráz
APHA	foszfát puffer (American Public Health Association)
ATCI	acetiltiokolin-jodid
CDNB	1-klór-2,4-dinitrobenzol
DTNB	5,5 ditio-bisz-nitro-benzol
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> baktérium
EAD	ekvivalens aerodinamikai átmérő
EC ₅₀	Effective Concentration, az a toxikus koncentráció, mely a kezelt alanyokon 50%-os hatást vált ki
GST	glutathion S-transzferáz
IC ₅₀	Inhibitory Concentration, az a toxikus koncentráció, mely a vizsgált tulajdonság 50%-os gátlását okozza
LD ₅₀	Lethal Dosis, az a toxikus mennyiség, melynél a kezelt alanyok 50%-a elpusztul
LDH	tejsav dehidrogenáz
NADH	nikotinamid adenin dinukleotid hidrid
PAH	policiklusos aromás szénhidrogének (polycyclic aromatic hydrocarbons)
PBS	fiziológiás só tartalmazó foszfát puffer
PM	aeroszol részecskék (particulate matter)
PM ₁₀	10 µm-nél kisebb aerodinamikai átmérővel rendelkező aeroszol részecskék

PM _{2.5}	2,5 µm-nél kisebb aerodinamikai átmérővel rendelkező aeroszol részecskék
TC	total carbon, összes szén
Tris-NaCl	trisz (hidroximetil)-aminometán, nátrium klorid és nátrium-azid tartalmú puffer
UF	ultrafinom aeroszol részecskék
<i>V. fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i> biolumineszcens baktérium
VOC	illékony szerves vegyület (Volatile Organic Compound)

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	2
Tartalomjegyzék.....	4
Kivonat	7
Abstract.....	8
Auszug.....	9
Bevezetés	10
1. Irodalmi áttekintés.....	12
1.1. Légekri aeroszolok	12
1.1.1. Légekri aeroszolok keletkezése	13
1.1.2. Légekri aeroszolok kémiai összetétele.....	16
1.1.3. Légekri aeroszolok káros hatásai.....	18
1.2. Ökotoxikológiai módszerek	24
1.2.1. Aeroszolok ökotoxikológiai vizsgálata biolumineszcens baktérium teszttel	25
1.2.2. Direkt kontakt tesztek és jelentőségük.....	29
1.2.3. Bioszenzorok	34
1.2.4. Aeroszolok ökotoxikológiai vizsgálatai egyéb tesztekkel	36
1.2.5. Gumiabroncs törmelék ökotoxikológiai vizsgálatai	37
1.2.6. Biomarkerek	38
2. Célkitűzés.....	40
3. Anyag és módszer	41
3.1. Mintavétel	41
3.1.1. Dízel üzemű gépjárművek kipufogó gázai.....	41

3.1.2. Városi aeroszol minták.....	42
3.1.3. Biomassza füst.....	43
3.1.4. Vörösiszap por.....	43
3.1.5.Policiklusos aromás szénhidrogének.....	44
3.2. Vizsgálati módszerek.....	45
3.2.1. <i>Vibrio fischeri</i> biolumineszcencia-gátlás vizsgálat ToxAlert 100 luminométerrel.....	45
3.2.2. <i>Vibrio fischeri</i> biolumineszcencia-gátlás vizsgálat Ascent luminométerrel.....	47
3.2.3. Genotoxikológiai vizsgálat SOS-Chromotesttel.....	50
3.2.3. Mortalitás vizsgálat <i>Artemia salina</i> héjnélküli kistrákon.....	52
3.2.4. Enzimaktivitási vizsgálatok <i>Artemia salina</i> héjnélküli kistrákon.....	53
4. Eredmények és értékelésük.....	58
4.1. ToxAlert 100 luminométer és az Ascent luminométer összevetése.....	58
4.1.1. Rendszerek összevetése PAH mintákon.....	58
4.1.2. Rendszerek összevetése aeroszol mintákon.....	59
4.2. <i>Vibrio fischeri</i> biolumineszcencia gátlás vizsgálat.....	63
4.2.1. Dízel üzemű gépjárművekből származó aeroszol minták eredményei.....	63
4.2.2. Városi aeroszol minták ökotoxicitásának meghatározása.....	71
4.2.3. Biomassza füst ökotoxicitásának meghatározása.....	74
4.2.4. Vörösiszap por ökotoxicitásának meghatározása.....	76
4.3. Mortalitás vizsgálat eredményei <i>Artemia salina</i> héjnélküli kistrákon.....	76
4.4. Enzimaktivitási vizsgálatok eredményei <i>Artemia salina</i> héjnélküli kistrákon.....	78
4. Eredmények összefoglalása.....	86
Irodalomjegyzék.....	88
Tézisek.....	109

Theses	111
Tudományos tevékenységek	113
Köszönetnyilvánítás	116

Kivonat

Szilárd fázisú minták vizsgálatára egy új protokoll került kidolgozásra, melyet 2010-ben szabványosítottak (ISO, 2010). A szerző célja az volt, hogy vizsgálja az új protokollra épülő *Vibrio fischeri* biolumineszcencia-teszt alkalmazhatóságát szilárd fázisú aeroszol mintákon. További célja volt a különböző tesztrendszerek érzékenységének, alkalmasságának összevetése, melynek során az aeroszol mintákat direkt módon az Aboatox Co. által forgalmazott Ascent luminométerrel (Flash System) vizsgálta, mellyel párhuzamosan összehasonlító méréseket végzett aeroszol-extraktumokkal, ToxAlert® 100 rendszeren. Az eredmények alapján statisztikailag is értékelte a két *V. fischeri* alkalmazó módszert, melynek során szignifikáns összefüggést talált a két módszer között. A Flash rendszer elég érzékenynek bizonyult a különböző aeroszol minták vizsgálatára, így jól alkalmazható különböző környezeti aeroszol minták ökototoxicitásának elemzésére.

A szerző továbbá vizsgálta az *Artemia salina* mortalitás teszt alkalmazhatóságát aeroszol minták ökototoxicitásának meghatározására, illetve *A. salina* héj nélküli kistrákon *in vivo* enzimikus vizsgálatok alkalmazhatóságát aeroszolok ökototoxicitásának meghatározására. Az *A. salina* kistrákon végzett mortalitás teszt eredményeit és az enzimikus vizsgálatok eredményeit összevetette a Flash rendszerrel mért ökototoxicitás eredményekkel. Mind a sórákkal végzett mortalitási teszteredmények, mind az enzimaktivitási vizsgálatok által nyert eredmények hasonló trendet mutattak a Flash rendszeren mérhető eredményekkel.

A szerző kutatásai során különböző típusú aeroszol mintákat vizsgált. A kutatási adatai alapján sor került a különböző aeroszol minták tényleges ökototoxicitásának minősítésére és a különböző tesztrendszerek érzékenységének, alkalmasságának összevetésére is.

A disszertáció eredményeit összefoglalva elmondható, hogy az új protokoll (ISO 21338:2010) jó eredménnyel használható aeroszol minták ökotoxikológiai vizsgálatához, illetve az ennek során alkalmazott saját fejlesztésű mintaelőkészítési eljárás egy nagyon jól alkalmazható mintaelőkészítési módszer az aeroszol minták ökotoxikológiai vizsgálatához.

Abstract

A new protocol was developed for the examination of solid-phase samples, which was standardized in 2010 (ISO, 2010). The aim of the author was to investigate the applicability of the *Vibrio. fischeri* bioluminescence-based test on solid-phase aerosol samples, based on the new protocol. The further goal of the author was to compare the sensitivity and applicability of different test systems, in which the aerosol samples were directly examined using the Ascent luminometer (Flash System) distributed by the Aboatox Co., in parallel to which she conducted comparative measurements using aerosol extracts, using the ToxAlert® 100 system. The two methods applying *V. fischeri* were also statistically assessed based on the findings, through which significant correlations were found between the two methods. The Flash system has proved to be sensitive enough to examine the different aerosol samples, so it is well applicable for the ecotoxicity analysis of different environmental aerosol samples.

The author also examined the applicability of the mortality test of *Artemia salina* for estimating the ecotoxicity of aerosol samples, as well as the applicability of the *in vivo* enzymatic analysis of *A. salina* brine shrimp for estimating the ecotoxicity of aerosol samples. The results of the mortality test carried out on *A. salina* brine shrimp and the results of the enzymatic analysis were compared to the ecotoxicity results measured using the Flash system. Both the mortality test results carried out on brine shrimp and the results obtained by the enzymatic activity assays showed a similar trend to the results measured using the Flash system.

The author examined different types of aerosol samples during her research. Based on her research findings the actual ecotoxicity classification of different aerosol samples and the comparison of the sensitivity and applicability of different test systems was carried out as well.

The results of the dissertation reveal that the new protocol (ISO 21338: 2010) can be used with good results for the ecotoxicological analysis of aerosol samples and the self-developed sample preparation procedures applied here is a very well applicable sample preparation method for the ecotoxicological analysis of aerosol samples.

Auszug

2010 wurde ein neues Protokoll standardisiert (ISO, 2010), das zu Proben aus festen Phasen entwickelt wurde. Das Ziel der Autorin war es, die Verwendungsfähigkeit des auf dem neuen Protokoll basierenden *Vibrio Fischer* Biolumineszenz-Tests bei Aerosolproben aus festen Phasen zu erforschen. Weitere Ziele waren, die Sensibilität und die Tauglichkeit der verschiedenen Testsystemen zu vergleichen, während dessen sie die Aerosolproben in direkter Weise mit dem von Aboatox Co. vertriebenen Ascent Luminometer (Flash System) analysierte und parallel komparative Messungen mit Aerosolextrakten auf ToxAlert® 100 System verrichtete. Nach den Ergebnissen bewertete sie die zwei Methoden, die *V. fischer* anwendeten statistisch, während dessen sie signifikante Zusammenhänge zwischen den zwei Methoden fand. Das Flash System erwies sich als sensible genug für die Erforschung von Aerosolproben, somit ist es gut anwendbar für Ökotoxizität-Analysen an verschiedenen umgebungs Aerosolproben. Die Autorin analysierte zusätzlich die Anwendbarkeit des *Artemia salinas* bei Mortalitäts-tests zur Bestimmung der Ökotoxizität der Aerosolproben, beziehungsweise die Anwendbarkeit von in vivo enzymatischen Prüfungen an *A. salina* schalenlose Kleinkrebse zur Bestimmung der Ökotoxizität der Aerosolen. Die Ergebnisse der an *A. salina* Krebsen durchgeführten Mortalitäts-test und die Ergebnisse der enzymatischen Analyse wurden verglichen mit den Ergebnissen der mit dem Flash System gemessenen Ökotoxizitätuntersuchungen. So wie die Ergebnissen der mit den Salinenkrebse durchgeführten Mortalitäts-tests als auch die Ergebnissen der Untersuchungen zur Enzymaktivität zeigten ähnliche Trends wie die Ergebnissen des Flash Systems. Während ihre Forschungen untersuchte die Autorin verschiedene Aerosolproben. Aufgrund dieser Forschungsdaten erfolgte die Beurteilung der Ökotoxizität von verschiedenen Aerosolproben und auch die Gegenüberstellung der Verwendbarkeit und der Sensibilität von den verschiedenen Testsystemen. Nach Zusemmenfassung der Ergebnissen von der Dissertation kann man sagen, dass das neue Protokoll (ISO 21338:2010) für die ökotoxikologischen Prüfungen von Aerosolproben gut benutzt werden kann, beziehungsweise ist die während dessen benutzte selbst entwickelte Probenvorbereitungsprozess eine sehr gut anwendbare Probenvorbereitungsmethode zur ökotoxikologischen Prüfungen von Aerosolproben.

Bevezetés

Az aeroszokok káros egészségügyi hatása általában forgalmas nagyvárosok és iparvidékek szennyezett levegőjében és levegő csóvájában jelentkezik. A nagyvárosok levegőjének minőségét egyre növekvő mértékben rontják a közlekedési eredetű aeroszol részecskék (szálló porok, PM). Egészségügyi szempontból különösen a 10 μm -nél kisebb aerodinamikai átmérőjű részecskék (PM₁₀ méretfrakció) jelentősek. Egy tanulmány szerint, a légszennyezés általi halálozási arány közel fele tulajdonítható közúti kipufogó gázoknak (Künzli et al., 2006).

A 10 mikrométernél illetve a 2,5 mikrométernél kisebb méretű aeroszol részecskéket (PM₁₀ illetve PM_{2.5}) az Európai Unió 2008/50/CE sz. levegőminőségre vonatkozó irányelvei az emberi egészségre leginkább káros légszennyező anyagként határozza meg. Ennek az egyik oka, hogy az aeroszokok ezen belélegezhető frakciója számos légzőszervi megbetegedés és elváltozás kiváltója lehet.

A városi szállópor PM_{2.5} mérettartományba eső frakciójának fő forrása a közlekedés (főként a dízel üzemű járművek kipufogógázai), a fatüzelés és a felkavart, már kiülepedett por (Schauer et al., 1996). Az Európában és világszerte is tapasztalható növekvő mértékű városiasodás hatására, a városi levegőminőséget egyre nagyobb mértékben befolyásolják a közlekedési eredetű aeroszol részecskék, amelyek PM₁₀ és PM_{2.5} frakciójának fő forrása elsősorban a dízel üzemű járművek kipufogógázai, illetve a fékbetétek- és a gumiabroncsok kopása során keletkező ultra finom szemcsézettségű por. A városi környezet PM₁₀ mérettartományba eső aeroszokok mennyiségének növekedését ugyancsak nagymértékben növelheti a burkolattal ellátott és burkolat nélküli utacról, valamint beépítetlen területekről, bontási- illetve, építési területekről levegőbe jutó por mennyisége is (Chow and Watson, 2002).

Az aeroszokok humán toxikológiai hatása már jól ismert (Kappos, 2010), azonban meglehetősen korlátozottak ismereteink az aeroszokok, ezen belül is a dízelüzemű gépjárművek által kibocsátott aeroszokok ökotoxikológiai hatásainak tekintetében.

Nem elegendőek csupán az analitikai vizsgálatok az aeroszol részecskék környezeti hatásának becsléséhez, mindenképp szükséges olyan tesztrendszerek alkalmazásai is, amelyek a minták kumulatív hatásának mérésére képesek.

1. Irodalmi áttekintés

1.1. Légekri aeroszolok

A légekri aeroszol (PM, particulate matter) a levegőben finoman elosztatott szilárd és/vagy cseppfolyós részecskék kolloid diszperz rendszere (Mészáros, 1997; Gieré and Querol, 2010).

Az aeroszol egyik legfontosabb tulajdonsága a részecskék mérete, mert egy részecske összes tulajdonsága valamilyen mértékben függ a részecske méretétől. A folyadék részecskék általában gömb alakúak, a szilárd részecskék formája viszont szabálytalan is lehet. Az aeroszolok viselkedését leíró elméletek, csak gömb alakú részecskéket tudnak kezelni, ezért bevezettek egy idealizált méretet, melyet ekvivalens aerodinamikai átmérőnek (EAD) nevezünk. Ekvivalens aerodinamikai átmérőn egy olyan egységnyi - a vízzel azonos - sűrűségű gömb alakú részecske átmérőjét értünk, amelynek az aerodinamikai viselkedése a levegőben megegyezik a kérdéses részecske viselkedésével. Értékét az átmérő és a relatív sűrűség négyzetgyökének hányadosa adja meg (Hinds, 1982). A részecskék átmérőjén a továbbiakban ezt az átmérőt értjük.

A légekri aeroszol részecskék mérete nagyon tág határok között változik, néhány nanométertől 100 mikrométerig terjed, ezt a határt az ülepedési sebesség szabja meg. Méretük alapján két nagy csoportra osztjuk őket: finom és durva tartományra. A durva aeroszol részecskék átmérője 1 μm -nél nagyobb, míg a finom aeroszol részecskék átmérője nem haladja meg az 1 μm -t. (Whitby, 1978) Az aeroszol részecskék két csoportja összetételükben, keletkezésük dinamikájában, légekri folyamatokban betöltött szerepükben, illetve tartózkodási idejük, kémiai és fizikai tulajdonságaik tekintetében is jelentősen eltérnek egymástól (Seinfeld and Pandis, 2006). A részecskék mérete nem csak forrásuk, képződésük jellegére utal, de jelentősen befolyásolja egészségügyi és éghajlati hatásait is. A légekri aeroszolt alkotó részecskéket méreteloszlásuk alapján korábban három részre bontották, napjainkban azonban négy tartományt különböztetünk meg: nukleációs módus (<0,01 μm), Aitken módus (0,01-0,1 μm), akkumulációs módus (0,1-1 μm), durva módus

(>1 μm) (Whitby, 1978; Mészáros, 1997; Raes et al., 2000). A nukleációs és Aitken tartományban lévő részecskéket együttesen ultrafinom részecskéknak nevezzük. A nukleációs módusban, az Aitken módusban és az akkumulációs módusban lévő részecskék alkotják a finom aeroszol részecskéket.

A részecskék - méretüktől függően - néhány órától tíz napig tartózkodnak tipikusan a levegőben (Jaenicke, 1978).

1.1.1. Légköri aeroszlok keletkezése

Az aeroszol részecskék keletkezésük szerint lehetnek elsődleges részecskék vagy másodlagos részecskék. Az elsődleges részecskék közvetlenül kerülnek a levegőbe. A légkörbe került anyagok kémiai reakciói útján létrejött aeroszol részecskék alkotják a másodlagos részecskéket. Mindkét csoportban származhatnak mind természetes, mind antropogén forrásokból a részecskék.

A durva részecskék általában természetes eredetűek, ezzel szemben a finom aeroszol részecskék elsősorban antropogén forrásból származnak. A durva aeroszol részecskék esetén az elsődleges részecskéképződés a meghatározó (Mészáros, 1997; Gelencsér, 2004; Bozó et al., 2006).

Természetes forrásokból származó, elsődleges aeroszol szárazföldi környezetben a vulkáni hamu, a talajerózió, a felszíni kőzetek mállása és a szél munkája által képződő részecskék, illetve az ún. biológiai aeroszol részecskék (pollenek, spórák, gombák, vírusok, baktériumok, növények mechanikai kopása, mikroorganizmusok aktivitása, növények párolgása, stb.) (Andreae and Crutzen, 1997; Seinfeld and Pandis, 1998; Claeys et al., 2004). Biológiai források az erdőtüzek is, amelyek adott helyen rövid idő alatt sokszorosára növelhetik a térségben uralkodó aeroszol koncentrációt. Az óceáni eredetű aeroszol keletkezésének egyik módja, hogy a szél a hullámok tarajáról közvetlenül cseppeket ragad el. A tengeri só részecskék keletkezésének másik, jóval hatékonyabb módja a tengerfelszínre érkező gázbuborékok szétrobbanása (Woodcock, 1953; Mészáros, 1997; 1999).

Természetes eredetű másodlagos aeroszol a növényzet által kibocsátott illékony szerves gázokból (izoprének, terpének) képződő szerves aeroszol, illetve óceáni környezetben az

egyes algafajok által kibocsátott dimetil-szulfid (DMS) oxidációjából keletkező szulfát aeroszol (Andreae and Crutzen, 1997; Claeys et al., 2004).

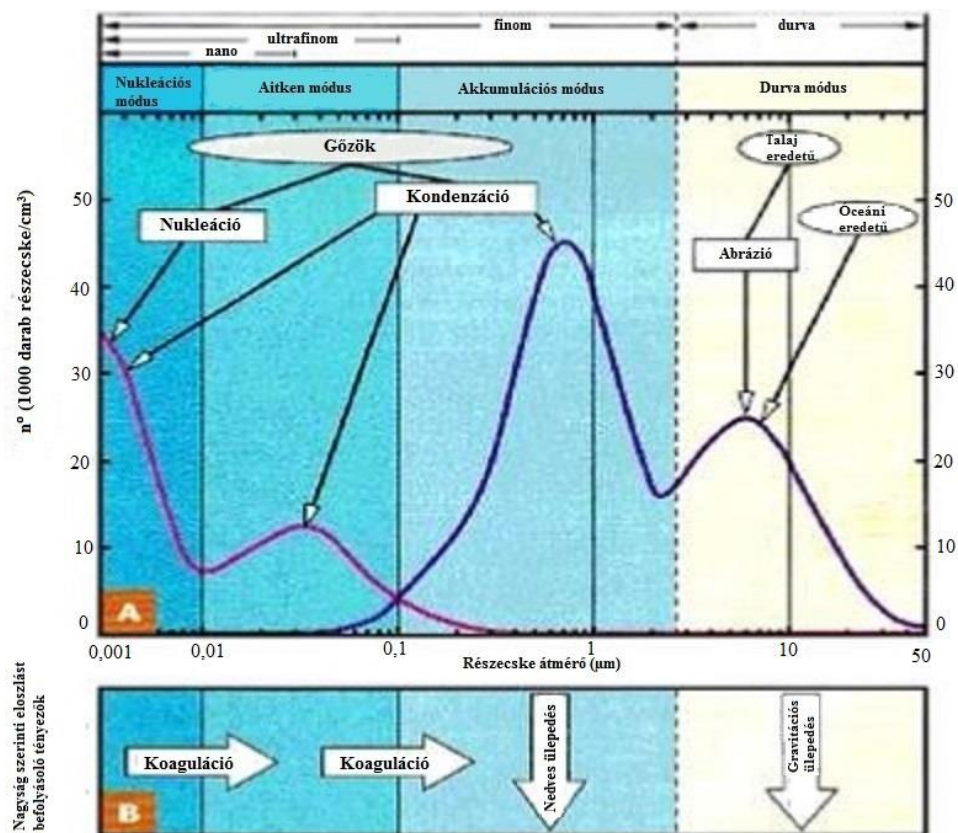
Különböző égési folyamatok (biomassza égetés, fosszilis tüzelőanyagok égetése) során finom és durva aeroszol részecskék egyaránt keletkezhetnek (Ondov and Biermann, 1980; Mitra et al., 2002).

Az legjelentősebb antropogén elsődleges források közé tartozik az ipar (cementipar, fémkohászat, hőerőművek), a mezőgazdaság (különböző földmunkák), a közlekedés (fékbetétek kopása, gumiabroncs futófelületének kopása, a forgalom által felvert por, üzemanyagok égetése) (Colvile et al., 2001.; Vouitsis et al., 2009), a biomassza és a fosszilis tüzelőanyagok égetése (Mitra et al., 2002). Ezen források nagy részéből többek között a másodlagos aeroszol képződéséhez szükséges szerves gázok (SO_2 , NO_x) és illékony szerves vegyületek (VOC) is felszabadulnak, illetve a tökéletlen égési folyamatok során jelentős mennyiségű koromrészecske is kerül a levegőbe (Rogge et al., 1993; Graham et al., 2002).

Elsődleges aeroszol részecskék elsősorban diszperziós folyamatokon keresztül jutnak a légkörbe és többségében a durva frakciót alkotják. A finom frakciót többnyire a másodlagos aeroszol részecskék alkotják, melyek nukleációs, kondenzációs és koagulációs folyamatok során jönnek létre. A $0,01\mu\text{m}$ -nél kisebb átmérőjű részecskék alkotják a nukleációs módust, melyben a részecskék gőzök nukleációjával keletkeznek. A különféle gőzök nukleációja során a kevésbé rendezett fázisból (pl. gőz) a tér bizonyos pontjain rendezettebb fázis (folyadék, szilárd) alakul ki. Ez a folyamat lehet homogén, amikor csak a kondenzálandó gőzök vesznek részt, és heterogén, amikor a kondenzáció meglévő részecskék felületén, úgynevezett kondenzációs magvakon megy végbe (Kulmala, 2003). A $0,01 - 0,1 \mu\text{m}$ közötti részecskék alkotják az Aitken-módust, melyek a nukleációs tartományban lévő részecskék termikus koagulációjával, vagy az ezeken történő kondenzációval jönnek létre. A nukleációs és Aitken-részecskék termikus koagulációval gyorsan növekednek az akkumulációs tartományig ($0,1-1 \mu\text{m}$), és ott összegyűlnek, vagyis akkumulálódnak. Az akkumulációs részecskék egyrészt gőzök kondenzációjával növekednek, másrészt a részecskék vízfelvétellel való aktiválódását követően a vizes fázisban abszorbeálódott gázok reakcióinak termékei a víz elpárolgását követően növelik a

részecske eredeti méretét (Hering et Friedlander, 1982; John et al., 1990; Hering et al., 1997; Mészáros, 1997, 2001; Kulmala et al., 2004).

A légköri aeroszol részecskék keletkezési és ülepedési folyamatai a részecskék méreteloszlásának függvényében az 1. ábra mutatja (Gieré and Querol, 2010). A légkörben az aeroszol részecskék nagyság szerinti eloszlását két alapvető dinamikai hatás, a koaguláció, illetve a gravitáció miatti ülepedés módosítja. A koaguláció a 0,1 μm -nél kisebb, a gravitációs ülepedés pedig az 1 μm -nél nagyobb részecskék koncentrációját csökkenti jelentős mértékben.



1. ábra: A légköri aeroszol részecskék méreteloszlása és a részecskék keletkezési és ülepedési folyamatai (Gieré and Querol, 2010)

A turbulens diffúzió miatti száraz ülepedés szintén a 0,1 μm -nél kisebb sugarú részecskéket vonja ki a levegőből. A 0,1–1 μm nagyságú részecskék tartózkodási ideje a leghosszabb (8–10 nap), ezek a részecskék a csapadékelemekkel együtt, nedves ülepedéssel hagyják el a légkört (Mészáros, 2001).

1.1.2. Léggöri aeroszolok kémiai összetétele

A léggöri aeroszol szerves és szervesetlen alkotókból épül fel, összetétele függ az aeroszol forrásaitól, a levegőben lejátszódó kémiai átalakulásoktól és a meteorológiai tényezőktől (Lighty et al., 2000; Solomon and Sioutas, 2008; Amodio et al., 2012). A finom és a durva aeroszol részecskék kémiai összetétele alapvetően különbözik egymástól.

A durva részecskék legfontosabb forrása a felszín aprózódása, ezért szárazföldek felett elsősorban a talaj és a felszíni kőzetburok összetevői építik fel a részecskéket. A durva aeroszolban megtalálható a kvarc, dolomit, agyagásványok, alumínium-szilikátok, -oxidok, -hidroxidok, kalciumvegyületek (Mahowald et al., 2010; Zhang et al., 2010; Klaver et al., 2011). Az összetételben elsősorban a szilícium (Si) és az alumínium (Al) játszanak meghatározó szerepet, a talajokban és sziklákban lévő alumínium szilikátok miatt, de nem elhanyagolható a kalcium (Ca) és vas (Fe) koncentrációja sem. A vas jelenléte a durva frakcióban az afrikai talajok vas-oxid (Fe_2O_3) tartalmának köszönhető. Óceánok, tengerek felett a részecskék többségét tengeri sókristályok alkotják (NaCl , NaNO_3 , MgSO_4), ezen felül magas a szulfát (SO_4^{2-}) koncentrációja is (Mészáros, 1999; Clays et al., 2010). Óceáni környezetben a szulfácion nem az antropogén kén-dioxid (SO_2), hanem a természetes forrásokból felszabaduló kénvegyületek, elsősorban a dimetil-szulfid ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$) oxidációjának következménye, illetve a fosszilis tüzelőanyagok égetése során felszabaduló kén-dioxid átalakulásából származik (Bozó et al., 2006). A durva aeroszolban ezen felül megtalálhatók az előző fejezetben is említett biológiai aeroszol részecskék (vírusok, baktériumok, pollenek, stb.).

A finom részecskék kémiai összetételében a szulfát (SO_4^{2-}), az ammónium (NH_4^+) (elsősorban az ammónium-szulfát [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$], kisebb mértékben ammónium-hidrogénszulfát [NH_4HSO_4]) és különböző szerves vegyületek dominálnak (organic carbon, OC), de kisebb mennyiségben nitrát- és fémvegyületek, valamint elemi szén (elemental carbon, EC) is mérhető bennük. A szulfát főként antropogén eredetű, elsősorban a kén-dioxid (SO_2) és a dimetil-szulfid ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$) oxidációját követően keletkezik. Becslések szerint a léggöri kén kibocsátás 60-80 %-a származik antropogén forrásból. A legfőbb kén-dioxid forrás a fosszilis tüzelőanyagok égetése. A kén-dioxid jelentős forrása még a

biomassza és a mezőgazdasági hulladék égetése, valamint a fémkohászat és a hajózás (Junge, 1963; Chuang et al., 1997; Andreae et Rosenfeld, 2008). Természetes kén-dioxid források a vulkánkitörések, melyek hatására hirtelen kerül nagy mennyiségben kén-dioxid a légkörbe. A nitrát és fémvegyületek jelenléte csaknem teljes mértékben a közlekedés, az energia- és ipari termelés hatásának köszönhető. Ezen tevékenységeknek köszönhető többek közt az ólom (Pb), kadmium (Cd), cink (Zn), vanádium (V), nikkel (Ni), króm (Cr) jelenléte a légköri aeroszol finom frakciójában. A közlekedésből származik a bróm (Br) és az ólom (Pb). A réz (Cu) jelentős része a színes fémkohászat eredményeképpen kerül a levegőbe. A vanádium pedig jelentős mértékben az olajtüzelésből származik (Pacyna, 1998; Allen et al., 2001). A légköri aeroszol két fő széntartalmú összetevője a grafit jellegű szén és a több ezer vegyületet magába foglaló szerves anyag (OC), melyeket együttesen az aeroszol összes széntartalmát (total carbon, TC) alkotják. A grafit jellegű szén termikus mérési módszerekkel mérve elemi szénnek (EC), míg optikai tulajdonságok alapján történő meghatározáskor koromnak vagy fekete szénnek (black carbon, BC) hívjuk (Gelencsér, 2004; Andreae et Gelencsér, 2006). A korom részecskék felületén könnyen megkötődnek többek között a rákkeltő poliaromás szénhidrogének. Az elemi szén elsősorban a dízel meghajtású gépkocsik kibocsátásának köszönhetőn, illetve a fosszilis tüzelőanyagok és a biomassza égetése során a tökéletlen égés eredményeként kerül a levegőbe (Seinfeld and Pandis, 2006; Sánchez de la Campa et al., 2009; Snyder et al., 2010). A gépjárművek kibocsátásai jelentős mértékben befolyásolják a finom részecskék koncentrációját városi levegőben (Schauer et al. 1996; Kleeman et al. 2000); közvetlen és közvetett úton hozzájárulnak az aeroszol koncentráció növeléséhez. A közvetlen források közé tartoznak a kipufogógáz (Mulawa et al., 1997; Sagebiel et al. 1997), a gumiabroncsok és a fékek mechanikai kopása (Rogge et al. 1993; Garg et al. 2000), a részecskék felverődése az útburkolatról (Kupiainen et al. 2005), a burkolat nélküli úton való közlekedés (Moosmüller et al. 1998), valamint a reszuszpenciós folyamatok (Nicholson et al. 1989; Sternbeck et al. 2002). A közvetett hozzájárulások magukban foglalják a reakcióképes gázokat, illetve szerves és szervetlen alkotókat, amelyekből a légköri átalakulások folyamán a másodlagos aeroszol képződik. A finom részecskék összetételében megtalálható még a klór is, amely többségében feltehetően tengeri eredetű. Hazánkban azonban a klór a vegyipari

kibocsátásból, illetve a téli időszakban az utak sózásából származik (Han et al., 2007; Patra et al., 2008).

Az aeroszolak szerves komponensei és forrásai mindkét frakcióban viszonylag jól ismertek. Az aeroszol részecskék jelentős része szerves vegyületekből épül fel, azonban a szerves anyag összetételére vonatkozó ismereteink a mai napig rendkívül hiányosak. Az egyedileg azonosított szerves vegyületek körülbelül 15%-át teszik ki az aeroszol teljes szerves széntartalmának (Rogge et al., 1993). Városi környezetben a szerves aeroszol jelentős része alkánokból, alkénekből, alifás alkoholokból, mono- és dikarbonsavakból, illetve szerves nitrátokból áll. Ezen felül kisebb részben megtalálhatók az aromás és policiklikus aromás szénhidrogének is. A PAH vegyületek jelenlétéhez nagymértékben hozzájárul a közlekedés (dízel- és benzinüzemű gépjárművek) és az ipari tevékenységek (Abul-Kassim et Simoneit, 1995; Barakat, 2002; Mostafa et al., 2009). A szerves aeroszolak elsődleges forrásai a biomassza égetés és a fosszilis tüzelőanyagok égetése, a másodlagos forrásai pedig a természetes (óceánok, talaj és üledékek, szerves hulladék mikrobiológiai lebontása, növény lombozat, stb.) és antropogén (aromás és nagyobb alifás szénhidrogének) forrásból származó illékony szerves vegyületek (volatile organic compounds, VOC). Az illékony szerves vegyületek kibocsátása nagyobb mértékben az antropogén forrásoknak köszönhetőek (Griffin et al., 1999b; Hallquist et al., 1999, Kamens et al., 1999).

1.1.3. Légekri aeroszolak káros hatásai

A légekri aeroszolak részecskék többféle területen fejtik ki hatásukat. Az utóbbi évtizedek kutatásai eredményeként bizonyossá vált a légekri aeroszolak globális éghajlati hatása, továbbá az emberi egészségre és a környezetre kifejtett káros hatása. Az aeroszolak további hatásai között szerepel szennyezett iparvidékek közelében a látótávolság csökkentése, de emellett a károsítják az épített környezetet és veszélyeztetik a kulturális örökséget is. A látótávolság változását főként az aeroszolak részecskék koncentrációjának

változása idézi elő és az aeroszol higroszkóposága miatt, a légkör nedvességtartalma is befolyásolja. (Horvath, 1992; Molnár and Gácsér, 2011)

Az aeroszol részecskék közvetlen (direkt) és közvetett (indirekt) hatásaik révén befolyásolják a légkör hőmérsékletét. A direkt hatás abból adódik, hogy a részecskék szórják és kisebb mértékben elnyelik (abszorpció) a beérkező napsugárzást. A két folyamat együttesen adja a sugárgyengülést (extinkció).

A szórás estén a részecskék a besugárzott elektromágneses hullámokat (napfényt) változatlan hullámhosszon újra kisugározzák, azonban ez a kisugárzás más-más intenzitással a tér minden irányában észlelhető, ezáltal a szórás hűti a légkört. A szórás az olyan mérettartományba eső részecskékénél a legintenzívebb, ahol a részecske átmérője összemérhető a sugárzás hullámhosszával, tehát a finom részecskék (0,1-1 μm) tartományában. Az aeroszol részecskék közül a szulfát, a nitrát és a szerves szén főként nem elnyelő részecskéket tartalmaznak, így ezek a részecskék a napfény szórásával direkt módon csökkentik a felszín elérő rövidhullámú energia mennyiségét (Piliński et al., 1995).

Az abszorpció során a sugárzási energia a részecskében más energiatípusává, például hővé vagy kémiai energiává alakul. Ez a folyamat fűti a légkört. Abszorpció az égési folyamatokból származó korom és talajeredetű, valamint az ásványi anyagokat tartalmazó aeroszol részecskékénél figyelhető meg. (Rosen et al, 1978)

Az aeroszolak indirekt hatása abból áll, hogy befolyásolja a felhők mikrofizikai tulajdonságait, és ennek következtében azok sugárzás-visszaverő képességét (albedóját), mennyiségét és átlagos élettartamát. A felhők szerkezete pedig csapadékképző hatékonyságukat is alapvetően befolyásolja. A felhők keletkezésének alapvető mozzanata a párolgással a levegőbe került vízgőz kondenzációja, melynek előfeltétele a levegő hűlése. A levegő hűlését a feláramlás idézi elő, amelyet okozhatnak hőmérsékleti különbségek (szabad konvekció) vagy úgynevezett kényszer emelések (kényszer konvekció). A levegő adiabatikus hűlése folyamán, benne a vízgőz telítetté válik, ami a kondenzáció megindulásához vezet. A levegőben a kondenzáció mindig heterogén, azaz aeroszol részecskéken, úgynevezett kondenzációs magvakon megy végbe. Azokon a részecskéken keletkeznek felhőcseppek, melyeknek kritikus telítettsége kisebb, mint a maximális telítettség vagy azzal egyenlő. A kritikus túltelítettség, a kémiai összetétel felül a részecske sugarának függvénye is. Minél nagyobb a részecske sugara, annál alacsonyabb az

a tútelítettség, amelyen a kondenzációban aktívvá válik. Az aktív kondenzációs magvakat elsősorban oldódó vegyületek alkotják, ilyen a finom részecskék tartományába tartozó ammónium-szulfát $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ és kisebb mértékben az ammónium-nitrát (NH_4NO_3), illetve óceáni környezetben a nátrium-klorid. Egy adott tútelítettségnél szárazföldi levegőben jóval több kondenzációs mag van, amiből az következik, hogy a szárazföldi felhőkben adott tútelítettségen sokkal több felhőcsepp található. A tengeri felhőcseppek átlagos mérete nagyobb, mint a szárazföldi felhőcseppeké. A napsugarakat a kisebb átmérőjű, de nagyobb koncentrációjú felhők jobban visszaverik, tehát a kondenzációs magvak számának növekedésével csökken a Föld felszínére érkező napsugarak erőssége (Twomey, 1974; Colls, 1997; Ramanathan, 2001), így a felszín hűtését okozzák. A kisebb méretű felhőcseppekből kisebb valószínűséggel képződik csapadék, így ezeknek a felhőknek az élettartalma hosszabb, ami hozzájárul a megnövekedett sugárzás-visszaverő képességből eredő hatásukhoz és szintén a felszín hűtéséhez járulnak hozzá (Albrecht, 1986).

Az aeroszolok egészségre gyakorolt hatásának tudományos bizonyítékai egybehangzóak a világ különböző területén élők - mind a fejlett, mind a fejlődő országok - tekintetében (Polichetti et al., 2009; Perrone et al., 2010). Az aeroszolok káros egészségügyi hatása általában forgalmas nagyvárosok és iparvidékek szennyezett levegőjében és levegőcsóvájában jelentkezik, ahol ez a hatás nagyszámú lakost érint (Curtis et al., 2006). A hatás széles spektrumú, elsősorban a légző- és a keringési rendszert érinti, és annak hatása korcsoportonként, illetve az egészségi állapot függvényében különböző mértékű lehet. Az egyes hatások bekövetkezésének kockázata az expozíció függvényében növekszik, és nincs elég bizonyíték arra, hogy létezik hatástalan küszöbkoncentráció, az egészségre gyakorolt észlelhető hatást már kiváltó koncentráció tartomány nem tér el jelentősen az átlagosan levegőben mért koncentrációtól.

Az aeroszolok mérete az expozíció szempontjából is fontos, mert a PM_{10} (10 μm -nél kisebb aeroszol részecskék) a bronchusokba (hörgők), a $\text{PM}_{2.5}$ (2,5 μm -nél kisebb aeroszol részecskék) a bronchiolusokba (hörgőcskék) és az alveolusokba (tüdőhólyagocskák) is eljut, innen pedig felszívódnak és a keringésbe kerülnek (Heyder et al., 1986; Magyar, 1998; Oberdörster et al., 2005). A 10 μm -nél nagyobb részecskék már belélegezhetőek

(inhalábilisak), de ezek nagy része az orrban és a szájban, legkésőbb a gégefőnél elakad, nem jut mélyebbre a légutakban.

A legkisebb PM₁₀ koncentráció is hatással van a szervezetre, ami azt eredményezi, hogy a legalacsonyabb szintű szennyezés is veszélyt jelent az érzékeny emberekre. A leginkább veszélyeztetett csoportokat a csecsemők, az időskorúak, és az aktív és passzív dohányosok képezik. Rajtuk kívül kiemelten érzékenyek a légúti és keringési megbetegedésben szenvedők, mert a részecskék belégzése a légzőszervi betegekben (asztma, bronchitis) szenvedők állapotát súlyosbítja, és csökkenti a tüdő ellenálló képességét a fertőzésekkel, toxikus anyagokkal szemben (Highwood and Kinnersley, 2006).

Az aeroszolok egészségkárosító hatását leggyakrabban epidemiológiai vizsgálatokban vagy laboratóriumi *in vivo* / *in vitro* tesztekkel tanulmányozták.

Epidemiológiai vizsgálatok során összefüggést találtak a (légzőszervi és szív- és érrendszeri) halálozás és az aeroszol részecskék (PM) belégzése között, még alacsony vagy mérsékelt környezeti PM koncentráció mellett is (Schwartz 1994; Brook et al. 2003; Katsouyanni et al. 2003). Epidemiológiai vizsgálatok azt is bizonyítják, hogy az aeroszol akut és krónikus egészségkárosító hatást egyaránt kifejt. Számos epidemiológiai tanulmány vizsgálta a különböző PM méretfrakciók (PM₁₀, PM_{2.5}, és PM_{10-2.5}) egészségre gyakorolt hatását. Ezen vizsgálatok arra következtettek, hogy a különböző méretfrakciók közül, a legnagyobb mértékben a PM_{2.5} hozható összefüggésbe a halálozással (Fairley 1999; Brook et al. 2003). A krónikus expozíció a fokozott érlemeszedéssel hozható kapcsolatba (Kunzli et al. 2005), míg PM_{2.5} akut expozíciója (akár már 2 órás expozíció) emelheti az akut szív- és érrendszeri károsodások kockázatát (Peters et al. 2001). Eddig csak néhány tanulmány jelent meg az ultrafinom részecskékkel (UF) végzett epidemiológiai vizsgálatokról, amelyekben azonban bizonyítékot találtak arra, hogy az UF részecskék is jelentősen hozzájárulnak a káros egészségügyi hatásokhoz (Peters et al. 1997; Sioutas et al., 2005). Bár az epidemiológiai vizsgálatok átfogó bizonyítékot adnak az aeroszol egészségügyi hatásait illetően, azonban ezeknek a vizsgálatoknak is vannak bizonyos korlátai, ezért a toxikológiai vizsgálatok elengedhetetlenek, hogy kiegészítsék az epidemiológiai eredményeket (Devlin et al., 2005; WHO 2006).

Az aeroszolk toxicitásának meghatározására két módszert használnak a leggyakrabban: *in vivo* - kontrollált humán és állati expozíciós vizsgálatokat, és *in vitro* – sejt vizsgálatokat. Az humán expozíciós vizsgálatok elengedhetetlenek az aeroszolk egészségügyi hatásainak meghatározásánál, melynek során az adott PM frakció belélegzését vizsgálják szigorúan ellenőrzött feltételeket mellett, amelyek lehetővé teszik az expozíció-válasz összefüggések megismerését. A kontrollált humán expozíciós vizsgálatoknak is vannak bizonyos korlátaik (Utell and Frampton 2000), ezért gyakran alkalmaznak állati expozíciós vizsgálatokat, melynek során magasabb PM koncentráció mellett értékelik a krónikus expozíciós hatásokat (Devlin et al. 2005). Az *in vitro* vizsgálatok során a celluláris és molekuláris mechanizmusokat tanulmányozhatjuk (Devlin et al. 2005; Rothen-Rutishauser et al. 2008). Az *in vitro* vizsgálatoknál számos végpontot tudunk vizsgálni: PM transzlokáció a sejtekbe, citotoxicitás, oxidatív stressz indukciója, gyulladás, DNS-károsodás és az apoptózis, különösen a humán tüdő epiteliális sejtekben és pulmonális artéria endothel sejtekben (Bai et al. 2001; Li et al. 2000, 2002, 2003; Karoly et al. 2007; Mazzearella et al. 2007)

A jelenleg hatályos levegő minőségéről szóló 2008/50/EK irányelv a szálló poron (PM₁₀ és PM_{2.5}) kívül a kén-dioxidra, nitrogén-dioxidra, benzolra, szén-monoxidra, ólomra, a troposzféra ózontartalmára ír elő rendelkezéseket. Az irányelv határértékeket és céldátumokat határoz meg a szálló por koncentrációjának csökkentésére. Az irányelv hatályba lépésével a PM₁₀ önálló határértéket kapott Magyarországon is, az EU-s tagállamok közül elsőként, svájci mintára. Az új irányelv már a PM_{2.5}-re is kiterjeszti a szabályozást, erre azonban nem rögzített továbbra sem határértékeket. Első lépésben célérték meghatározása történt, 2010-től a teljesítendő célérték 25 µ/m³ egy naptári évre, 2015-től azonban a 25 µ/m³ már kötelező határérték előírás lesz. Indikatív jellegű határérték a 20 µ/m³, amelyet 2020. január 1-jére kell teljesíteni (4/2011 (I.14.) VM rendelet 1. melléklet alapján). Az egyes évekre vonatkozó konkrét határértékeket a 2011/850/EU Bizottsági Végrehajtási Határozat I. melléklete tartalmazza.

Az aeroszolk egészségre gyakorolt hatása szempontjából fontos az expozíció időtartama, ezért az uniós szabályozás különbséget tesz napi, illetve éves határérték között. A jelenleg hatályos 2008/50/EK irányelv XI. melléklete tartalmazza a különböző légszennyező anyagokra, köztük a PM₁₀-re vonatkozó (éves és napi) egészségügyi

határértékeket. 2005 óta a PM₁₀-re vonatkozó egy napi egészségügyi határérték (24 óras átlag): 50 µ/m³, az éves 40 µ/m³. A túréshatár a napi határértéknél 50%, míg az éves határértéknél 20%. Az Amerikai Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatala (EPA) által engedélyezett napi egészségügyi határérték: 150 µg/m³.

A 2008/50/EK irányelv szerint egy naptári évben meghatározott számú napnál többször nem léphető túl az egészségügyi határérték. A PM₁₀-es méretű részecskék vonatkozásában a napi maximumot évente legfeljebb 35 alkalommal lehet túllépni. Magyarország ezt a küszöböt évről évre túllépi, a leggyakrabban Budapesten és térségében, a Sajó völgyében, Nyíregyházán és Szegeden, főként a téli hónapokban. A küszöbérték túllépése 2015 februárjában is többször megfigyelhető volt. Budapesten, Vácott, Miskolcon, illetve a Sajó völgyében Kazincbarcikán és Putnokon mérték a legmagasabb értékeket. Ugyanakkor még Szolnokon, Debrecenben és Egerben is valamivel a 100%-os érték felett volt kevéssel a szálló por koncentrációja.

A hazai határértékeknél szigorúbbak a WHO (PM₁₀-re: 20 µ/m³, PM_{2.5}-re: 10 µ/m³) és az ENSZ egészségügyi Világszervezete által ajánlott határértékek (WHO, 2005). Bár a WHO a PM₁₀-re és PM_{2.5}-re meghatározott határértéket, hangsúlyozza, hogy nincs olyan alacsony koncentrációja, ami ne jelentene kockázatot az egészségre, ezért arra kell törekedni, hogy minél inkább csökkentsük a mennyiségét.

1.2. Ökotoxikológiai módszerek

Calow (1993) meghatározása szerint az ökotoxikológia olyan tudomány terület, amely a már ismert és az új szennyezőanyagokat, és azok környezetre gyakorolt ökológiai hatását tanulmányozza. Az ökotoxikológia, a toxikológiai és ökológiai kutatások megállapításain túl beépíti és hasznosítja a fiziológia, kémia, matematika, geológia, genetika és mikrobiológia eredményeit is. Az ökotoxikológia a szennyezőanyagoknak a szupraindividuális rendszerekre gyakorolt hatását vizsgálja, a környezeti hatásvizsgálat és az ökológiai kockázatbecslés fontos eszköze.

Az ökotoxikológiai vizsgálatok célja, hogy viszonylag egyszerű és reprodukálható biológiai tesztekkel az ökoszisztéma egészére kivetíthető becslést kapjunk. Mind egyes vegyi anyagok, mind szennyezett környezeti minták élő szervezetekre gyakorolt hatása vizsgálható ökotoxikológiai tesztekkel. Az eredmények képezik a kockázatfelméréshez szükséges, az ökoszisztémát nem károsító koncentráció (Predicted No Effect Concentration, PNEC) érték alapját.

Az ökotoxikológiai tesztek figyelembe veszik az ökológia törvényszerűségeit, így egyed szinten az egyed élettani viselkedését (pusztulás, növekedés, reprodukció, energiaháztartás, biokémiai folyamatok, mutáció) vizsgálják, a populáció szintjén pedig a szaporodás, egyedsűrűség, eloszlás törvényszerűségeivel foglalkoznak. Társulás szintjén a fajszám, a fajok közötti kapcsolatok, indikátor fajok jelenléte; míg az ökoszisztéma szintjén a rendszer egészének anyag- és energiaforgalma áll az ökotoxikológia érdeklődésének középpontjában (Suter, 1993).

Másképpen fogalmazva, az ökotoxikológia a teljes ökoszisztémát érintő hatásokkal foglalkozik (Moriarty, 1983). Az ökotoxikológiai tesztek közvetlenül mutatják a környezeti minták aktuális toxicitását és egyéb káros hatásait. Az ökotoxikológiai eredmény magában foglalja a környezeti mintában található, különféle módokon és erősséggel kötődő szennyezőanyagok hozzáférhetőségét. Vegyes szennyeződés esetében a hatások eredőjét mutatja, melyben az egymást erősítő, összeadó és kioltó hatások egyaránt megjelennek. Ismeretlen összetételű anyagok hatása is mérhető. Az ökotoxikológiai vizsgálatok alapján előrejelzés adható arról, hogy a környezetbe került vegyi anyagok miként módosítják adott

ökoszisztéma struktúráját és funkcióját, milyen mértékű kockázatot jelentenek az élő szervezetek számára. Természetesen a teljes ökoszisztémát érő hatásokat és azok következményeit nem tudjuk feltárni, azonban a toxikológiai és ökotoxikológiai tesztek eredményeiből extrapolálni lehet a valós életközösségekre (Gruiz et al., 2001).

Az ökotoxikológiai vizsgálatok, nem csupán mennyiségi információt adnak a (öko) toxikus hatást illetően, de a vizsgálatok célja, hogy meghatározza a környezetterhelés mértéke (az a mennyiség, amelynek a szervezet ki van téve), valamint az ökológiai hatások jellege és mértéke közötti kapcsolatot (Walker et al., 2006). A minta ökotoxicitása leggyakrabban EC_x formában van kifejezve, vagyis az a számított effektív koncentráció, amely x%-os ökológiai hatást eredményez. Leggyakrabban, az EC_{50} értéket használjuk (az a koncentráció, amely 50%-os hatást okoz). A minta ökotoxicitásának kifejezésére egy koncentráció-hatás összefüggés adható, mellyel koncentráció-hatás vagy stressz-válasz kapcsolatokat elemezhetünk.

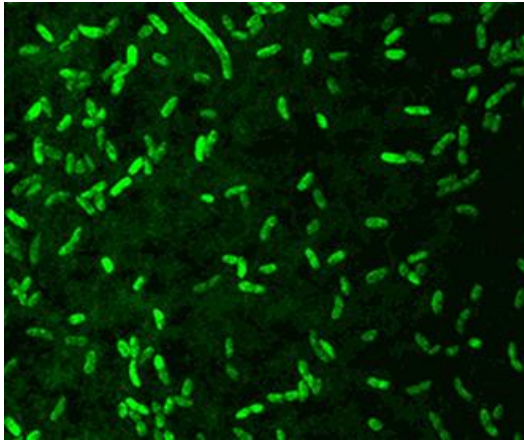
1.2.1. Aeroszolok ökotoxikológiai vizsgálata biolumineszcens baktérium teszttel

A városi és a közlekedésből származó részecskék emberi egészségre gyakorolt hatásait már széles körben tanulmányozták epidemiológiai vizsgálatokkal vagy laboratóriumi *in vivo* / *in vitro* tesztekkel. Ezen stresszorok nem-humán biótára és ökoszisztémákra vonatkozó ökotoxikológiai hatásáról azonban elég kevés információ áll rendelkezésünkre.

Az aeroszolok vizsgálata során számos módszertani korlát merül fel: az ökotoxikológiai vizsgálatok viszonylag nagy mintamennyiséget igényelnek, figyelembe kell venni az adott mintavételi hely sajátosságait, illetve maga a mintavétel is viszonylag nehéz. A légköri aeroszolókat a mintavétel során általában filterre gyűjtik, ami korlátozza a minta mennyiségét és ezáltal csökkenti a vizsgálathoz rendelkezésre álló tesztszervezetek körét is, illetve nehezíti az aeroszolok toxicitásának értékelését (DeVizcaya-Ruiz et al., 2006).

Az ökotoxikológiai vizsgálatokban leggyakrabban a *Vibrio fischeri* biolumineszcencia gátláson alapuló tesztet alkalmazzák (pl. El-Alawi et al., 2002; Lin et Chao, 2002; Lee et al., 2003; Triolo et al., 2008; Vouitsis et al., 2009; Roig et al., 2013).

A *V. fischeri* (2.ábra) egy mélytengeri, anaerob, Gram negatív biolumineszcens baktérium. A biolumineszcencia a sejt életképességének jellemzője, mely kiváltásáért két enzim (luciferáz és fotogenáz) felelős. A toxicitás mértéke az által válik mérhetővé, hogy a baktériumok által kibocsátott fény mennyisége csökken a mérgező vegyületek hatására. A fényintenzitás csökkenéséért a luciferáz enzim működésének gátlása a felelős. (Bulich 1979). A biolumineszcencia csökkenését luminométerrel mérhetjük.



2.ábra: A *Vibrio fischeri* (*Photobacteria phosphoreum*)

A lumineszcencia gátlás arányos a toxicitás mértékével (3. ábra). A *V. fischeri* mind nehézfémekre, mind szerves makro- és mikro- szennyezőanyagokra érzékeny.

A *V. fischeri* teszt alapváltozata vizes fázissal (kivonat vagy üledék esetében pórúsvíz) dolgozik, mivel a *V. fischeri* tengeri baktérium. Számos rendszer létezik, mely ezen a verzió alapul, így a ToxAlert (Merck), a Microtox (AZUR Environmental), a LUMISTox (Hach-Lange) vagy a BioTox (ABOATOX). A teszt ezen változatához több nemzeti, illetve nemzetközi szabvány áll rendelkezésre. A lumineszcens baktériumok gátlásán alapuló vizsgálatra épül például a francia szabvány (DIN 38412-1990), az amerikai szabvány (ASTM D5660- 1995), a kínai szabvány (GB / T 15441- 1995) és az európai szabvány (EN ISO 11348). A hazánkban releváns szabványok: MSZ EN ISO 11348-1:2009 (Vízminőség. Vízminták gátló hatásának meghatározása a *Vibrio fischeri* fénykibocsátására

A *V. fischeri*vel végzett vizsgálatok kimutatták, hogy megfelelő érzékenységet mutatnak azokra a szennyező anyagokra, amelyek a levegőben várhatóan előfordulnak. Ezen szennyezők közül a legfontosabbak a PAH-ok és a fémek. *V. fischeri* érzékenységét a PAH-okra már többen is bizonyították (El-Alawi et al., 2002; Hirmann et al., 2007), és a rendelkezésünkre állnak egyes PAH-ok EC₅₀ értékei is (Eom et al., 2007). Fulladosa et al. (2005) részletesen tanulmányozták a fémek toxicitását *V. fischeri*-ben.

Triolo et al. (2008), az Azur Environmental által forgalmazott Microtox® rendszert alkalmazta légköri szennyező anyagok ökotoxikológiai értékeléséhez. A szerves szennyezőket féligáteresztő membránra gyűjtötték (SPMDs), majd a membránokat aceton és dimetil-szulfoxid (DMSO) keverékével öblítették át és oldották a szennyezőket. Az acetont nitrogén áramban bepárolták, és a kinyert mintát használták. Roig et al. (2013) is a Microtox rendszert alkalmazta légköri szennyező anyagok ökotoxikológiai vizsgálatához. A begyűjtött mintáik Katalónia (Spanyolország) különböző területeiről származtak. A vizsgálatokat a szűrőre gyűjtött aeroszolok vizes extraktumával végezték, enyhe savas mikrohullámú feltárás után (15 ml, 0,1 M HNO₃ 2% NaCl). A minták kémiai analízisét követően, a legtöbb szennyezőanyag korrelációt mutatott a toxicitás értékekkel (ilyen szennyező anyagok voltak a fémek és poliklórozott dibenzo-p-dioxinok és dibenzofuránok). Tanulmányukban a toxicitás tér- és időbeli mintázatot mutatott, a városi minták toxikusabbak voltak, mint a vidéki minták, illetve a téli minták toxicitása magasabb volt, mint a nyári mintáké.

Ikeda et al. (2009) szintén a *V. fischeri* biolumineszcencia gátlásán alapuló ökotoxikológiai vizsgálatot alkalmazta beltéri és kültéri aeroszol minták vízoldható frakciójának elemzéséhez. A vizsgálatokat az aeroszol minták vizes extraktumával végezték. A vizsgált mintáik Kanagawából (Japán) származtak. Tanulmányuk során toxikusabbnak találták a beltéri aeroszol mintákat, mint a kültéri mintákat, továbbá azt figyelték meg, hogy a vizsgált minták kivonatának toxicitása korrelál a kivonatok nitrát és szulfát koncentrációjával.

Vouitsis et al. (2009) személygépkocsik által kibocsátott aeroszol részecskék ökotoxikológiai becslését végezte szintén Microtox rendszert használva. A folyékony fázist úgy készítették, hogy 300 ml diklórmetánnal (DKM) Soxhlet extrakciót végeztek a szűrőre gyűjtött kipufogógáz mintákkal, majd 24 órán át rotációs bepárlást végeztek, hogy a

végtérfogatot csökkentsek. A koncentrált extraktumot 1 ml dimetil-szulfoxidban (DMSO) oldották, majd a végső térfogatot desztillált vízzel 10 ml-re hígították. Tanulmányukban a személygépkocsik (egy dízel és egy benzin üzemű gépkocsi) PM kibocsátását jellemezték, összehasonlítva a különböző üzemeltetési ciklusokat. A dízel üzemű gépjármű esetében, a járművet először eredeti kipufogógáz-utókezelő konfigurációban (Diesel OEA) tesztelték, majd ezt követően egy szilícium-karbamid katalizált dízel részecskeszűrővel (cDPF). A személygépkocsik kibocsátásának ökototoxicitása a következő sorrendben csökkent: benzines autó > cDPF > Diesel OEA.

Lin és Chao (2002) hasonló mintaelőkészítési módszert alkalmazott a dízel üzemű kibocsátásokból származó szerves fázis akut toxicitásának meghatározására.

Ledda et al. (2013) is a Microtox rendszert alkalmazta bazalt kőpor, vulkáni hamu és cement ökotoxikológiai vizsgálatához. A vizsgálatokat a különböző minták extraktumával készítették, az extrakcióhoz 2% -os nátrium-klorid oldatot használtak. Erdőtüzekből származó hamu ökotoxicitásának értékelése során Silva et al. (2014) vizes kivonatból végezte el a *V. fischeri* tesztet.

A *V. fischeri*, mint tesztorganizmust PAH-ok toxicitásának értékeléséhez is használták (El-Alawi et al. 2002, Lee et al. 2003). A *Vibrio fischeri* biolumineszcencia gátláson alapuló ökotoxikológiai teszt bizonyítottan érzékeny dízel üzemű gépjárművek kibocsátásainak és a légköri PM₁₀ frakciójú aeroszolok ökotoxicitásának értékelésére (Isidori, 2003; Triolo et al., 2008; Papadimitriou et al., 2008; Vouitsis et al., 2009; Roig et al., 2013).

1.2.2. Direkt kontakt tesztek és jelentőségük

Az aeroszol kivonatokat alkalmazó toxicitási vizsgálatok nem tükrözik a reális környezeti expozíciós utat. A szerves oldószerek használatával olyan összetevőket is mobilizálhatunk, amelyek rendszerint biológiailag nem hozzáférhetőek (Harkey és Young, 2000) így az aeroszol toxicitását túlbecsülhetjük. Annak érdekében, hogy egy sokkal reálisabb expozíciós utat kapjunk a szilárd minták ökotoxicitásának értékelésére, a

részecskék és a tesztorganizmusok között közvetlen érintkezést kell biztosítani, mivel a toxikus hatás leginkább a részecskékhez kötött vegyületektől függ.

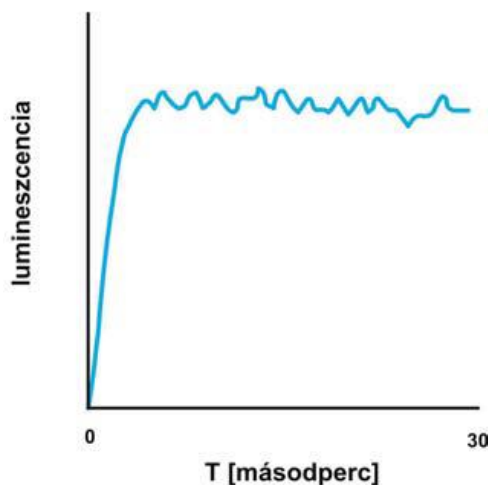
Direkt kontakt tesztek legelőször üledék- illetve talajminták toxicitásának tesztelésére fejlesztettek ki. A direkt kontakt tesztek esetében a tesztorganizmet az üledékben vizsgáljuk, ezáltal közvetlen kontaktust valósítunk meg az organizmus és az üledék szilárd részecskéi között. Ebben az esetben a tesztorganizmus gyakorlatilag testének egész felületén érintkezik a potenciálisan szennyezett közeggel.

A *V. fischeri* biolumineszcencia-gátláson alapuló ökotoxicitás-vizsgálatnak olyan változatai is ismertek, amelyek direkt kontakt tesztként működnek. Először Brouwer et al. (1990) és Tung et al. (1990) dolgoztak ki egymástól függetlenül ilyen jellegű tesztprotokollt, amelyben a baktérium tesztorganizmetek és a szilárd minta közvetlen kontaktusban vannak. Az Azur Environmental által forgalmazott Microtox® Solid Phase Basic Test úgy működik, hogy a tesztorganizmetek (szuszpenzió formájában) először egy meghatározott expozíciós ideig közvetlen kontaktusban vannak a szennyezett szilárd mintarészecskékkel, majd az expozíciós idő leteltét követően a szilárd frakciót szűréssel eltávolítják, és a fennmaradó vizes fázist használja tovább a rendszer. A protokoll hátránya, hogy a szűrés folyamán a szűréssel eltávolított szilárd részecskékkel, a részecskéken megtapadt baktériumok egy része is eltávozhat, ezáltal a visszamaradó szuszpenzió baktériumsűrűsége és a fénykibocsátás mértéke is csökken, mely nem valós toxicitás értéket eredményezhet (Ringwood et al., 1997).

A Basic Solid-Phase Test egy egyszerűbb és gyorsabb eljárás, mint a Solid Phase Test. A Basic Solid Phase Teszt esetén nincs szükség a szilárd fázis leszűrésre. Az üledék mintákat előzőleg egyszerűen le kell szitálni egy 0,25 mm lyukbőségű szitán, majd hozzá kell adagolni a 35 g/l koncentrációjú NaCl oldatot, és különböző hígításokat készíteni belőle. A kezdeti fénykibocsátás mérése (I_0) 15°C-on készül a baktérium szuszpenzióról, majd az I_0 felvétele után a különböző hígításokat hozzá adagoljuk a baktérium szuszpenzióhoz. A fényleolvasás a 30. percben történik, majd az eredményt EC_{50} értéként adhatjuk meg. (Azur Environmental, 1995) A Basic Solid-Phase Test során a *V. fischeri* baktériumok vizes szuszpenzióban direkt kontaktusba kerülnek a szilárd fázissal. Azonban a módszer fő hátránya az, hogy a minta turbiditása, ami a luminométeres mérések során is fennáll, módosíthatja a baktériumok fény kibocsátásának mértékét, illetve a kibocsátott

fény intenzitását, ezzel magasabb toxicitás értékeket indukálva. A minta turbiditásának zavaró hatását a *V. fischeri* baktériumokra nézve több luminométer rendszeren tanulmányozták (Lappalainen et al., 1999, 2001; Campisi et al., 2005), a teszt standardizálhatóságának érdekében.

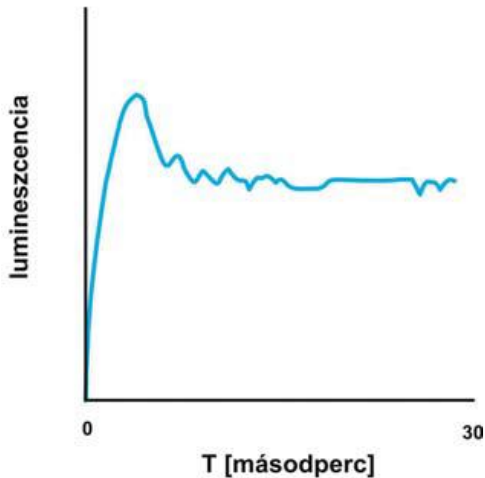
Lappalainen et al. (1999, 2001) kidolgozott egy új protokollt szilárd és/vagy színes minták elemzésére. A protokoll szintén szuszpenzióval dolgozik, itt viszont a tesztbaktériumok a mérés teljes ideje alatt a szuszpenzióban maradnak. A protokollra épülő szabványt (ISO 21338:2010: Water quality - Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* /kinetic luminescent bacteria test/) 2010-ben fogadták el. Ezt a protokollt alkalmazza a finn Aboatox Co. által forgalmazott Ascent Luminométer. A készülék novum jellege elsősorban a kinetikus toxicitás-mérés (Lappalainen et al., 1999). A készülék a mintához hozzáadja a baktériumsuszpenziót, majd az ezt követő 30 másodperces időszakban folyamatosan rögzíti a fénykibocsátás jellegét és lefutását (a rendszer rövid neve éppen ezért Flash System). A kontrollban a baktériumok felvillannak, a fénykibocsátás pedig közel állandó szinten marad (4.ábra).



4.ábra: Fénykibocsátás lefutása a kontrollban (30 sec)

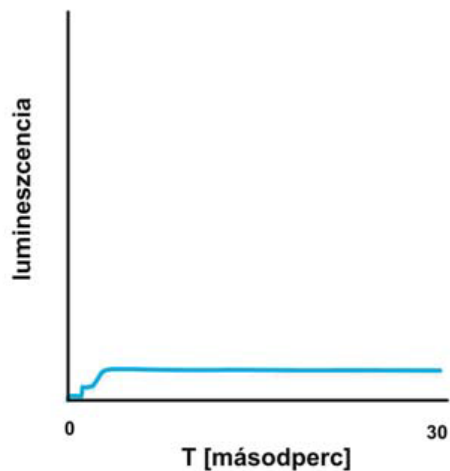
Toxikus közegben a baktériumok felvillannak, majd a minta gátló hatására a fénykibocsátás szinte azonnal csökkenni kezd (még a 30 mp-es intervallumon belül) (5.ábra). A minta toxikus jellege már 30 mp-es expozíció során becsülhető, számszerűsíthető (Mortimer et

al., 2008). A gátlást a kontrolltól függetlenül, a kezdeti és a végső mért értékek összehasonlításával lehet kiszámítani.

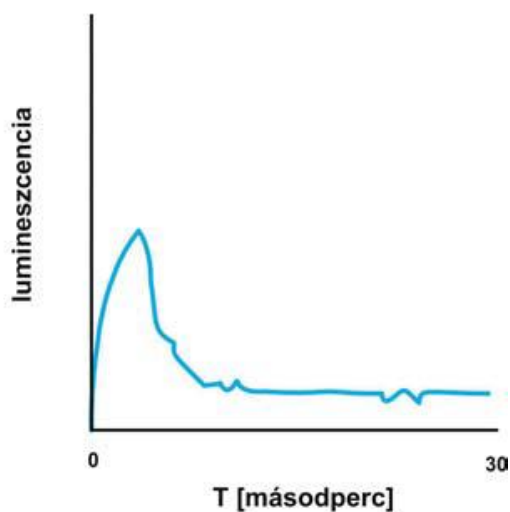


5.ábra: Fénykibocsátás lefutása toxikus mintában (30 sec)

A rendszer további fejlesztése a minta zavarosságának, színének figyelembe vétele (Lappalainen et al., 2001). A mintában (szuszpenzióban) jelen lévő valamilyen szín, vagy feloldatlan szemcsék Tyndall szórása gyengíti a baktériumok által kibocsátott lumineszcens fényt, így nem toxikus minta esetében virtuális toxicitást eredményezne. A protokoll ezt úgy korrigálja, hogy az egyes minták fénykibocsátásának csökkenését abszolút kontroll nélkül értékeli, azaz a gátlást adott minta esetében a 0. időpillanatban és az expozíciós idő letelte után mutatott fénykibocsátás alapján számítja. A szín vagy zavarosság okozta fénykibocsátás gátlás jól elkülöníthető a toxikus hatástól a kinetikus mérés során a kapott jel alapján, mert első 30 mp-es jel során a kontrollhoz képest eleve alacsonyabb a kezdeti fénykibocsátás, de ez utána közel állandó marad (6.ábra). A színes vagy szemcsés, de toxikus minta esetében az első 30 mp-ben kapott jel szintén jellegzetességet mutat, a kontrollhoz képest eleve alacsonyabb a fénykibocsátás, ami a kezdeti felvillanás után a toxikus hatásra csökken (7.ábra).



6.ábra: Fénykibocsátás lefutása nem toxikus, zavaros/sötét mintában (30 sec)



7.ábra: Fénykibocsátás lefutása toxikus, zavaros/sötét mintában(30 sec)

A Flash-rendszer a szilárd anyag szuszpenzióját (max 200 mg/l) használja a mérés során (a hígító oldat 2%-os NaCl).

A Flash rendszert sikeresen alkalmazták szennyezett talajok és üledékek által jelentett ökológiai kockázat értékelésére (Pollumaa et al., 2000, 2004; Heinlaan et al., 2007).

1.2.3. Bioszenzorok

Találkozhatunk olyan tanulmányokkal is, melyekben ökotoxikológiai vizsgálatokat a gáz fázis közvetlen mérésével végeztek, bioszenzorok alkalmazásával.

A bioszenzor olyan analitikai eszköz, amely ötvözi a biológiai rendszerek specificitását a jelátalakító azon tulajdonságával, hogy képes a meghatározandó kémiai anyag koncentrációjával arányos jelet szolgáltatni (IUPAC, 1997). A bioszenzorok tehát olyan kémiai érzékelők, amelyek működése szelektív biokémiai, biológiai folyamatokon, jelenségeken alapul (Nagy, 2009).

Gil et al. (2000, 2002) kifejlesztettek egy teljes-sejt bioszenzort gázok ökotoxicitásának kimutatására. A rendszer egy rekombináns biolumineszcens *Escherichia coli* törzset használ, amelyet a lac: luxCDABE fúzióval hoztak létre. A baktériumok agar gélben helyezkednek el. Az immobilizált sejt mátrix fenntartja a tesztorganizmusok aktivitását, amelyek közvetlen kapcsolatban vannak a rendszeren keresztül áramló toxikus gázzal. Hasonlóan az eredeti *Vibrio fischeri* teszthez, a toxicitást a biolumineszcencia csökkenésének mérésével értékelik. A rendszert először benzolon tesztelték és egyértelmű dózis-válasz mintázatot tapasztaltak (Gil et al., 2000). A rendszer érzékenysége más BTEX gázokra (például toluol, etil-benzol, xilol) is bebizonyosodott (Gil et al., 2002). Ez a bioszenzor hordozható eszközként funkcionálhat.

Komori et al. (2009) kifejlesztett egy gyors gáz toxicitás értékelő rendszert, ahol a *V. fischeri* poliion komplex membránon van, hogy lehetővé tegye a félig közvetlen érintkezést a baktériumok és a toxikus gázok között. A rendszer lehetővé teszi a modell gázok EC₅₀ értékének (ppm-ben) mérését. A rendszer érzékenységét gáz mintákon értékelték, úgymint a benzol, triklór-etilén, aceton, NO₂, SO₂ és CO, valamint különböző kibocsátások (dízelmotorok kipufogógázai, benzinmotorok kipufogógázai, cigarettafüst, szénégető kibocsátása). A szerzők összehasonlították a rendszer érzékenységét hagyományos állati tesztekkel és azt találták, hogy a gáz szenzor érzékenysége 1-3 nagyságrenddel nagyobb, mint a konvencionális állati teszteké. A vizsgált gázok, illékony szerves vegyületek a tesztbaktériumokban okozhatnak károkat, azáltal, hogy a permeáció vagy akkumuláció miatt a foszfolipid membrán megsemmisül (Schultz et al., 2003), vagy a NO₂ és a SO₂

gázok, a vízben való oldódásukat követően, átalakulnak salétrom/salétromos- és kénsavakká, így csökkentve a pH-t a membránban, amely szintén gátló hatású a baktérium enzimaktivitására. A rendszer fő előnye az érzékenysége mellett, a rövid expozíciós idő (15 perc), továbbá szintén egy hordozható eszköz lehet gázfázisú minták ökotoxikológiai vizsgálatához.

A bioszenzorok egy része a biolumineszcencia gátlását méri (mint a hagyományos *Vibrio fischeri* protokollok), ezek az úgynevezett „light off” vizsgálatok, azonban vannak olyan bioszenzorok, amelyek fényjelzést adnak, így ezeket „light on” vizsgálatoknak nevezzük (Kim et al., 2003). A „light on” rendszerekben a lux gének szintetizálják a luciferázt, a kemikáliák által kiváltott promóterek indukciója révén, így megnövelve a lumineszcenciát. Ezek a promóterek specifikusak, speciális vegyi anyagokra vagy speciális stresszorokra reagálnak.

Eltzov et al. (2011) két különböző *Escherichia coli* törzset használt száloptikai alapú bioszenzorban levegő toxicitásának monitorozására. A DPD2794 törzs hordozza a recA promótert, amely aktiválja a DNS javító rendszert a DNS-károsodás következtében (Vollmer et al., 1997; Elsemore, 1998; Davidov et al., 2000). A TV1061 törzs hordozza a hő-sokk grpE promótert, amely a citotoxikus anyagokra érzékeny (Arsene et al., 2000). Mindkét törzsben az analit elindítja a reporter luciferáz gének aktiválását és ezáltal mérhető fényjel keletkezik.

Valdman és Gutz (2008) is kifejlesztett egy bioszenzort naftalin mérésére levegőben, *Pseudomonas fluorescens* HK44 törzset használva. Ez a törzs hordozza a biolumineszcens reporter plazmid pUTK21-t, amely egy nahG-luxCDABE fúziót tartalmaz (D'Souza, 2001). Már jól dokumentált ennek a törzsnek az alkalmazása a talaj bioremediáció során (Sayler et al., 1999; Ripp et al., 2000). Ennek a törzsnek alacsony a kimutatási határa a levegőben lévő naftalinra (Valdman et al., 2004). A környezeti relevanciája magas, mivel a nagyvárosokban a legmagasabb koncentráció elérheti a 170 g/m³-t (Preuss et al., 2003). Emellett a rekombináns biolumineszcens baktériumok, mint például az *E. coli*, RFM443 törzs, a pLITE2 plazmidot hordozva (lac::luxCDABE), megfelelő érzékenységet mutatott fenantrénre (Gu és Chang, 2001; Chang et al., 2004) és más policiklusos aromás szénhidrogénekre, mint például a naftalinra, antracénra, pirénre és benzo (a) pirénre (Lee et al., 2003).

1.2.4. Aeroszolok ökotoxikológiai vizsgálatai egyéb tesztekkel

A biolumeszscens baktériumokat alkalmazó ökotoxikológiai teszteken kívül, találkozhatunk olyan tanulmányokkal, melyekben más tesztstruktúrát alkalmaznak az aeroszolok ökotoxicitásának értékeléséhez. Azt azonban fontos megjegyezni, hogy csak nagyon kevés ilyen irodalom áll rendelkezésünkre, mint már említettem, a rendelkezésre álló minta mennyisége a limitáló tényező.

Daresta et al. (2015) aeroszol minták közvetlen hatását vizsgálta a növények növekedésére, melynek során kvarc szűrőre gyűjtött (PM₁₀) aeroszolon közvetlenül tanulmányozták a paradicsom palánták (*Solanum lycopersicum* L.) növekedését, illetve a reaktív oxigénformák (ROS) felhalmozódását a gyökerekben, és a klorofill-a és klorofill-b, valamint összes karotinoid-tartalom változását. Tanulmányuk során az összes vizsgált szűrőn szignifikáns negatív hatást figyeltek meg a gyökernövekedésen, továbbá, a korai magnövekedési paraméterek - azaz a friss hajtások és a gyökér súlyok - is jelentősen csökkentek. Eredményeik alapján az aeroszol minták mindegyike képes volt kiváltani az ROS termelést a paradicsom gyökerekben, így befolyásolva a gyökernövekedést. Ezen felül a vizsgált aeroszol minták szignifikáns hatást gyakoroltak a fotoszintetikus pigment (klorofill a, b és karotinoid) tartalomra is.

Verma et al. (2013) finom aeroszol toxicitásának becsléséhez édesvízi kerekfőregget (*Brachionus calyciflorus*) alkalmazott tesztstruktúráként. Tanulmányukban külön vizsgálták a PM_{2.5} extraktumok (víz és metanol) hidofil és hidrofób frakcióit. Eredményeik szerint a metanolos extraktumok toxicitása sokkal (6-8 nagyságrenddel) magasabb volt, mint a vizes extraktumok toxicitása, azaz a poláris vegyületekhez képest a nem-poláros vegyületek sokkal toxikusabbnak mutatkoztak kerekfőreggekre. Vizsgálták továbbá a kerekfőreggek toxicitásának PM komponensekkel való korrelációját, amely szerint a vizes extraktumok az EC és OC tartalommal mutattak jelentős korrelációt, illetve az LC₅₀ értékek jól korreláltak a fémek EC₅₀ értékeivel (As, Cd).

Egy másik tanulmányban fonálférget használtak aeroszolok toxicitásának értékeléséhez. Zhao et al. (2014) közlekedésből származó finom aeroszol (PM_{2.5}) hatásait vizsgálta *Caenorhabditis elegans* fonálférget alkalmazva tesztstruktúráként. Mintáikat

Pekingből (Kína) sűrű forgalmú közlekedési területekről gyűjtötték be (Beiuyan autópálya és Pekingi 5. körgyűrű). Kutatásuk során a fonálférgerekre és utódaikra gyakorolt hatásokat tanulmányozták. Azt tapasztalták, hogy a $PM_{2.5}$ viszonylag nagy koncentrációban káros hatásokat okozhat a kitett fonálférgerek utódainak élettartamában, szaporodásában, és mozgási viselkedésében, azonban nem volt megfigyelhető káros hatása az utódok túlélésére és fejlődésére. Adataik azt mutatják, hogy a közlekedésből származó $PM_{2.5}$ káros hatásainak a fonálférgerek és utódaik egyaránt ki vannak téve.

1.2.5. Gumiabroncs törmelék ökotoxikológiai vizsgálatai

A gépjárművekből származó kipufogógáz emisszió mellett a gumiabroncs és a fék kopása szintén fontos forrása a városi aeroszokok belélegezhető frakciójának, hozzájárulva a közúti közlekedésből származó PM emisszió kb. 3-7 %-ához (Gualtieri et al., 2005a). Wik és Dave (2009) áttekintést ad a gumiabroncs kopásából származó részecskék mért, becsült és bejelentett maximum koncentrációiról a különböző környezeti elemekben. A talaj tűnik az elsődlegesen érintett résznek, a vízi ökoszisztémákat a talajszennyezésen vagy a közútról való továbbterjedésén keresztül érintheti.

Bár "normális" vezetési körülmények között a gumiabroncs kopás kevesebb, mint 5% -a a PM_{10} kibocsátásnak (Wik és Dave, 2009), a lehetséges toxicitást nem lehet elhanyagolni. A gumiabroncs potenciálisan mérgező komponenseket tartalmaz, mint például a PAH-ok (Takada et al., 1991) és a fémek, különösen a cink (Councell et al., 2004). Gumiabroncsok vizes extraktumát különböző taxonómiai osztályokba tartozó organizmusokon tesztelték, mint például rákok (Day et al., 1993; Nelson et al., 1994; Gualtieri et al., 2005b; Wik and Dave, 2005, 2006; Marwood et al., 2011), kétéltűek (Gualtieri et al., 2005a; Mantecca et al., 2007); halak (Day et al., 1993; Nelson et al., 1994; Hartwell et al., 2000; Marwood et al., 2011), valamint az algák (Gualtieri et al., 2005b; Marwood et al., 2011) és baktériumok (Day et al., 1993; Hartwell et al., 2000).

Ezekben a vizsgálatokban, vagy egész gumiabroncsot vagy gumiabroncs darabokat extraháltak (Wik és Dave / 2009 / egy áttekintést adtak a különböző ökotoxikológiai tanulmányokban alkalmazott kilúgozási eljárásokról).

Bár nem végeztek ökotoxikológiai vizsgálatokat a gumiabroncsok kopásából származó aeroszol részecskék belélegezhető frakcióján, az a tény, hogy a fent említett tanulmányokban a gumiabroncs darabok kivonata magasabb toxicitást mutatott, mint a teljes gumiabroncs extraktuma, felhívja a figyelmet a kis részecskék potenciális kockázatára.

1.2.6. Biomarkerek

Biomarkernek nevezünk egy xenobiotikum által kiváltott, a normálistól eltérő biológiai választ, ami valamelyik intraindividulális szinten vizsgálható paraméterben bekövetkezik. A biomarkerek mérése a testnedvekben, sejtekben vagy szövetekben jelzi a toxikus anyagok jelenléte vagy mennyisége miatt bekövetkező biokémiai és sejt szintű változásokat, így egy korai figyelmeztető jelet adnak a potenciális toxikus hatást illetően (NRC, 1987).

A biomarkerek több csoportra bonthatók (pl. molekulák, enzimek, hormonok, gének által előállított termékek, de lehet valamely speciális sejttípus is), a legérzékenyebb csoport a biotranszformációs enzimek. Ezek az enzimek részt vesznek a xenobiotikus biotranszformációban és aktivitásuk egyaránt lehet indukált vagy gátolt. Az acetilkolinészteráz (AChE) aktivitásának gátlását, a tejsavdehidrogenáz (LDH) aktivitásnak változását és a glutation S-transferáz (GST) indukcióját már széles körben alkalmazzák különböző környezeti stresszorok hatásának értékelésére.

Az acetilkolinészteráz az acetilkolin lebontását végzi, amely egy neurotransmitter anyag. Optimális körülmények között az enzim az acetilkolint acetátra és kolinra bontja, gátlása esetén az acetilkolin felhalmozódik és blokkolja a neurotranszmissziót (Purves et al. 2004). AChE gátlását először szerves foszfát és karbamát peszticidek hatásértékelése során alkalmazták (Peakall, 1992).

Az LDH fő funkciója, hogy katalizálja a piruvát reverzibilis átalakulását laktáttá (Vassault, 1983). A tejsavdehidrogenáz aktivitásban bekövetkezett változás vizsgálatát széles körben alkalmazza a toxikológia. Az LDH fontos glikogén enzim, mely szinte az összes szövetben előfordul, ezért elterjedten alkalmazott eljárássá vált az ökotoxikológia területén is. Az LDH-szint változása, főképpen a sejtek, szövetek épségének jelzője (Decker and Lohmann-Matthes 1989).

A glutation S-transzferáz enzimeknek az oxidatív stressz termékek detoxifikációjában és lipidperoxidáció megelőzésében van központi szerepük, ezáltal a GST a detoxifikációs folyamatok indukciójának jelzője, mely fontos szerepet játszik a szervezetbe került xenobiotikumok metabolikus folyamataiban (George, 1994).

A PAH-ok és biomarkerek közötti kapcsolatot leggyakrabban olajjal szennyezett üledék vagy talaj (Francioni et al., 2007; Brinkmann et al., 2013), olajfoltok (Marigómez et al., 2006), üledékek vagy bizonyos esetekben, egyes policiklikus aromás szénhidrogének vizsgálata során tanulmányozták, melynek során az ökológiai hatás felmérését végezték. Nahrgang et al. (2009) a benzo (a) pirén ökotoxikus hatásának értékelésénél, azt találta, hogy a mind a fehérje szint, mind a mRNA expresszió egy dózis-válasz mintázatot mutatott, de a fehérje szint gyengébb választ adott. Azonban a biomarker válaszok a PAH expozíciót nem demonstrálták megfelelően.

Sajnos nem található referencia arról, hogy milyenek a biokémiai / genetikai válaszok az aeroszol minták esetében. Az aeroszlok összetétele nagyon komplex, számtalan toxikus vegyületet tartalmaznak, így az aggregált ökotoxikus hatást kell értékelni, figyelembe véve az esetleges interakciókat a szennyezőanyagok között.

2. Célkitűzés

Az aeroszolok humán toxikológiai hatásáról bőséges és részletes irodalom áll rendelkezésünkre, ezzel ellentétben az ökotoxikológiai hatásokról nagyon kevés információt tudunk. Az ökotoxikológiai vizsgálatok rendszerint a minták eredő toxicitását jellemzik. Az aeroszol minták esetében a kis mintamennyiség miatt ezen vizsgálatok elvégzése nehézségekbe ütközik. Szilárd fázisú minták vizsgálatára egy új protokoll került kidolgozásra, melyet 2010-ben szabványosítottak (ISO, 2010).

Kutatásaim céljai:

1. Munkacsoportunk a *Vibrio fischeri* biolumineszcencia-gátláson alapuló teszt kinetikus változatát (ún. Flash teszt) alkalmazva olyan mintaelőkészítési protokollt fejlesztett ki (Kováts et al., 2011), amely lehetővé teszi direkt kontakt teszt elvégzését. Elsődleges célom annak az igazolása volt, hogy ez a továbbfejlesztett tesztprotokoll (1) megfelelően érzékeny, (2) valós expozíciós utat reprezentál és (3) kiküszöböli a minta esetleges zavarosságából eredő hamis toxicitást.
2. Ennek érdekében összevettem a különböző tesztrendszerek érzékenységét, megbízhatóságát. Az aeroszol mintáinkat (szilárd fázis) direkt módon az Aboatox Co. által forgalmazott Ascent luminométerrel (Flash System) vizsgáltam. Ezzel párhuzamosan összehasonlító méréseket végeztem aeroszol-extraktumokkal, ToxAlert® 100 rendszeren.
3. Kutatásaim további céljaként tűztem ki *Artemia salina* mortalitás tesztek alkalmazását aeroszol minták ökotoxicitásának meghatározására, illetve szintén *A. salina* kistrákon *in vivo* enzimikus vizsgálatok alkalmazását aeroszolok ökotoxicitásának meghatározására.

3. Anyag és módszer

3.1. Mintavétel

A kutatásaim során több különböző típusú aeroszol mintákat vizsgáltam. Az eltérő típusú minták különböző mintavételi eljárást igényeltek.

3.1.1. Dízel üzemű gépjárművek kipufogó gázai

A mintáink 9 eltérő típusú dízel üzemű személygépkocsi és 6 különböző motortípussal rendelkező dízel üzemű busz kipufogógázai voltak (alapjáraton és gázfröccsel). A mintákat $32 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ térfogatáramú KÁLMÁN $\text{PM}_{2.5}$ mintavevővel gyűjtöttük egy zárt telephelyen a kipufogóktól körülbelül 1 méterre, alapjáraton (600/perc) 10 percig, gázfröccsel (1500/perc) 3 percig. A minták mindegyikét 150 mm átmérőjű kvarc szűrőre gyűjtöttük.

1. táblázat: Vizsgált személygépkocsik adatai

Modell/Típus	Évjárat	Környezetvédelmi osztály	Motor (cm^3)	Motor teljesítmény	Kilométeróra állás [km]
FORD FOCUS 1,8 D	2003	EURO-2	1753 cm^3	66 KW	173 617
BMW 320D	1995	EURO-3	1995 cm^3	110 KW	176 809
OPEL OMEGA 2.5 TD	1996	EURO-3	2497 cm^3	96 KW	340 981
TOYOTA HILUX PICKUP DOUBLE CAB 4WD	2002	EURO-3	2494 cm^3	75 KW	165 296
RENAULT TRAFIC 1.9 dci	2004	EURO-3	1870 cm^3	74 KW	140 736
FORD MONDEO TDCI	2005	EURO-3	1998 cm^3	96 KW	106 368
FORD MONDEO	2006	EURO-3	1998 cm^3	85 KW	165 861
FORD S MAX TDCI	2006	EURO-4	1753 cm^3	92 KW	87 063
MITSUBISHI L200	2006	EURO-4	2477 cm^3	100 KW	154 385

A vizsgált személygépkocsik jellemzőit az 1. táblázat foglalja össze. A mintavételhez használt autóbuszok a Balaton Volán Zrt. gépjárművei közül lettek kiválasztva, melyek legfontosabb adatai a 2. táblázatban láthatók (2. táblázat).

2. táblázat: Vizsgált autóbuszok adatai

Modell/Típus	Évjárat	Környezetvédelmi osztály	Kilométeróra állás [km]	Motor adatok	Jármű Tömege
IKARUS 26006	1987	EURO-0	207505	11200 cm ³ , 150 KW	saját: 16000 kg
IKARUS 415.26	1997.07.08	EURO-1	977446	10350 cm ³ , 206 KW	saját: 10100 kg, összt: 17500 kg
IKARUS E 95	2000.12.18	EURO-2	713832	10350 cm ³ , 235 KW	saját: 13200 kg, összt: 18500 kg
VOLVO ALFA B12 B Regio	2006.04.05	EURO-3	264792	12130 cm ³ , 250 KW	saját: 11323 kg, összt: 18600 kg
CREDO EC12	2006.09.20	EURO-3	355864	5880 cm ³ , 194 KW	saját: 8665 kg, összt: 16500 kg
VOLVO ALFA B12 B Regio	2008.12.10	EURO-4	155814	12130 cm ³ , 250 KW	saját tömeg: 11120 kg, össztömeg: 19000 kg

3.1.2. Városi aeroszol minták

A városi PM₁₀ frakciójú aeroszol mintákat Budapesten az Országos Meteorológiai Szolgálat Marczell György Főobszervatóriumnál gyűjtöttük, 24 órán keresztül 10 l min⁻¹ térfogatáramú MSP PM₁₀ személyi mintavevővel. A mintákat 2009. július 29.-augusztus 14. és 2010. január 20.-február 12. között vettük. A 17 nyári és 24 téli mintát 37 mm átmérőjű kvarc szűrőkre gyűjtöttük (Whatman QM). Ezen felül további 6 mintát (3 nyári és 3 téli) vizsgáltunk, referenciaként, a ToxAlert 100 luminométer és az Ascent luminométer összevetéshez, amelyeket K-pusztán gyűjtöttünk az előzőekben leírtak szerint. A K-pusztai mérőállomás (46° 58' N, 19° 33' E, 126 m) az egyik regionális háttérszennyezettség-mérőállomás Magyarországon, ami az Országos Meteorológiai Szolgálat gondozásában működik, és része az Európai Megfigyelési és Értékelési Programnak (EMEP). A Nagyalföldön található, Kecskeméttől kb. 10 km-re északnyugatra, Budapesttől mintegy 70 km-re.

3.1.3. Biomassza füst

A biomassza füst mintákat egy 10 l min^{-1} térfogatáramú MSP PM_{10} személyi mintavevővel gyűjtöttük 30 percig. A mintákat csertölgy ágak nyílt égetése során közvetlenül a füstből vettük. A mintákat 37 mm átmérőjű kvarc szűrőre gyűjtöttük.

3.1.4. Vörösiszap por

Ajkán 2010. október 4-én egy tragikus munkabaleset történt, mely következményeként mintegy 700.000 m^3 erősen maró hatású vörösiszap elöntött három települést és mintegy 40 km^2 mezőgazdasági területet, valamint a szennyező anyag belekerült a Torna-patakba, majd a Marcal Torna torkolata alatt fekvő részéhez is elért. A szennyező anyag a Marcalon keresztül eljutott a Rábába, onnan a Mosoni-Dunába és a Dunába.

Az egyik fő aggodalmat a baleset következményei közül a vörösiszap üledékből származó hatalmas mennyiségű diffúz por potenciális egészségügyi és környezeti hatásai jelentették.

Így, ökotoxikológiai vizsgálatot végeztünk a reszuszpendált vörösiszap por belélegezhető $\text{PM}_{(10-1)}$ frakciójára (azon részecskék amelyek $<10 \mu\text{m}$, de $>1 \mu\text{m}$ ekvivalens aerodinamikai átmérővel rendelkeznek). A mintavételhez egy speciális mintavevő eszközt alkalmaztunk, amelyet a reszuszpendált por belélegezhető frakciójának gyűjtésére fejlesztettek ki (Turóczy et al., 2013). A készülék kulcs egysége egy kompakt PARTISOL-FRM MODEL 2000 mintavevő, melyet $16,7 \text{ l / min}$ áramlási sebesség mellett működtettünk. A mintavevő tartalmaz egy ciklon szeparátort, amely összegyűjti a $\text{PM}_{(10-1)}$ frakciót (Gelencsér et al., 2011).

3.1.5.Policiklusos aromás szénhidrogének

Az aeroszol részecskéken adszorbeált anyagok között mind környezeti, mind pedig humán-egészségügyi szempontból a legnagyobb jelentőséggel a policiklusos aromás szénhidrogének (PAH-ok), valamint ezek kinon-, karboxil- és nitro- származékai bírnak (Schuetzle et al., 1981; Cho et al., 2004; Jakober et al., 2007). A *V. fischeri* érzékenyzége PAH-vegyületekre már jól megállapított (pl Hirmann et al., 2007), még irodalmi EC₅₀ értékek is rendelkezésünkre állnak (Eom et al., 2007). Ezért a ToxAlert 100 luminométer és az Ascent luminométer összevetését különböző PAH mintákon teszteltük.

3. táblázat: A vizsgált PAH-vegyületek és EC₅₀ értékeik (Eom et al., 2007)

PAH minták	EC50 (µg/l)
Fenantrén	0,346591
Fluorén	0,513771
Pirén	0,599749
Fluorantén	0,577018
Benzo [a] pirén	0,02971
Antracén	0,032865
Krizén	0,06215
Benzo [ghi] perilén	0,033595

Az általunk vizsgált PAH vegyületek a 3. táblázatban láthatók. A mintaelőkészítés során a PAH minták vizes oldatát készítettük el, melyet Hirmann et al. (2007) által leírtak alapján végeztük a kiválasztott PAH mintákkal. A tiszta anyagokat feleslegben adtuk 50 ml desztillált vízhez, majd erőteljesen ráztuk körülbelül 1 percig. A mintákat szobahőmérsékleten (24 °C) tároltuk sötétben 24 órán keresztül, hogy lehetővé tegyük az ülepedést a fel nem oldódott anyagok számára. A tiszta felülúszót használtuk fel a méréseinkhez közvetlenül vizsgálat előtt.

3.2. Vizsgálati módszerek

3.2.1. *Vibrio fischeri* biolumineszcencia-gátlás vizsgálat ToxAlert 100 luminométerrel

3.2.1.1. Mintaelőkészítés

A vizsgálatokhoz szükséges extraktumokat Vouitsis et al. (2009) által leírtak alapján készítettünk.

A szűrőkből 25 mm átmérőjű mintákat vágunk, majd a szűrő foltokat Sartorius mikromérleggel (10 μ g érzékenységgű) gravimetriásan mértük. Ezt követően 300 ml diklórmetánnal (DKM) extrakciót végeztünk, majd szárazra pároltuk. A koncentrált extraktumot 1 ml dimetil-szulfoxidban (DMSO) oldottuk, majd desztillált vízzel 10 ml végső térfogatra hígítottuk.

3.2.1.2. Mérés menete

A módszer elve, hogy először megmérjük a baktériumszuszpenzió lumineszcencia intenzitását (RLU – relative luminescence unit), a baktériumszuszpenzióhoz ezután hozzáadjuk a mintaoldatot, majd megfelelő inkubációs idő (expozíciós idő) után ismételtén mérjük a lumineszcencia intenzitását.

A vizsgálatokat az ISO 11348-3:2009 szabvány alapján végeztük a *Vibrio fischeri* baktériumtörzset alkalmazó, Merck által forgalmazott ToxAlert ® 100 luminométerrel.

Első lépésként a mintával hígítási sort készítünk felező hígítással (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%). A hígítatlan minta lesz a 100%-os koncentráció.

A mérés elvégzéséhez először a baktérium szuszpenziót kell elkészíteni, a liofilizált baktérium és a rekonstitúciós oldat felhasználásával. A laboratóriumban a kereskedelmi forgalomban kapható NRRL B-1117 törzset alkalmazzuk.

A rekonstitúciós oldatot a mérés előtt felolvasztjuk. Mivel a *V. fischeri* egy tengeri baktérium, ezért a rekonstitúciós oldata ennek megfelelően enyhén sós. A baktériumokat a fagyasztóból kivéve 2 percig hideg vízben olvasztjuk a hősokk elkerülése érdekében. A 2 perc letelte után a baktériumokhoz hozzáadunk 0,5 ml rekonstitúciós oldatot, majd 15 percig hagyjuk őket aktiválódni. Ezután a baktériumos oldatot többször átöblítve áttöltjük a rekonstitúciós oldathoz. Az így elkészített baktériumoldatot használjuk a mérés során.

A mérés során először 0,5 ml baktériumoldatot pipetázunk minden küvettába, majd megmérjük mindegyik küvettában a baktériumszuszpenzió lumineszcencia intenzitását (RLU – relative luminescence unit). Ezután a baktériumszuszpenziókhöz hozzáadjuk a mintaoldatot az adott hígításokban, majd 30 perces inkubációs idő (expozíciós idő) után ismételten mérjük a lumineszcencia intenzitását.

3.2.1.3. Mérés kiértékelése

A ToxAlert[®]100 luminométer valamennyi értéket automatikusan kiszámol. Először az f_{kt} korrekciós faktort számolja ki a mért lumineszcencia-intenzitásból ([1] egyenlet).

$$f_{kt} = I_{kt} / I_0 \quad (t = 30 \text{ perc}) \quad [1]$$

ahol

f_{kt} az exposíciós (kontakt) időre megadott korrekciós faktor

I_{kt} lumineszcencia intenzitás a kontrollban, az exposíciós idő után

I_0 a kontroll tesztsuszpenzió lumineszcencia intenzitása közvetlenül a hígító (2%-os NaCl) oldat hozzáadása előtt.

A korrekciós faktor alkalmazásával az egyes tesztminta küvettára kiszámolja I_0 korrigált értékét ([2] egyenlet).

$$I_{ct} = I_0 \times f_{kt} \quad [2]$$

ahol

f_{kt} az f_{kt} értékek átlaga

I_0 a kontroll tesztsuszpenzió lumineszcencia intenzitása közvetlenül a hígító (2%-os NaCl) oldat hozzáadása előtt

I_{ct} az I_0 korrigált értéke a tesztminta küvettákra közvetlenül a tesztminta hozzáadása előtt.

Ezek után a tesztminta H_t inhibeáló effektusát számítja ki ([3] egyenlet).

$$H_t = [(I_{ct} - I_{Tt}/I_{ct})] \times 100 \quad [3]$$

ahol

H_t a tesztminta inhibeáló effektusa az expozíciós idő után, %-ban megadva

I_{ct} az I_0 korrigált értéke a tesztminta küvettákra közvetlenül a tesztminta hozzáadása előtt

I_{Tt} a tesztminta lumineszcencia intenzitása az expozíciós idő után.

A készülék százalékban adja meg a minták biolumineszcencia gátlását, amely alapján az EC_{50} érték (az a koncentráció, amely 50%-os gátlást okoz) kiszámítható. Az EC_{50} érték kiszámítására a Probit szoftvert alkalmaztam (USEPA Probit Analysis Program v1.5) (Finney, 1971; Hubert and Shock, 1984).

3.2.2. *Vibrio fischeri* biolumineszcencia-gátlás vizsgálat Ascent luminométerrel

3.2.2.1. Mintaelőkészítés

A mintaelőkészítés során 25 mm átmérőjű szűrő mintákat vágunk, melyeket ezután Sartorius mikromérleggel (10 μ g érzékenységgű) gravimetriásan mértünk. Az aeroszol tömege az egyes szűrőfoltokon körülbelül 2 mg volt. A szűrő foltokat achát mozsárban porítottuk, majd 4 ml-es tisztított üvegcsékbe helyeztük és mindegyik üvegcséhez 2 ml ioncserélt (Millipore víztisztítóval előállított) vizet adtunk. A szuszpenzió készítését folyamatos keverés mellett végeztük.

A mintaelőkészítési protokoll laboratóriumunk saját fejlesztése, amelyet kalibráltunk és különböző típusú aeroszol minták ökotoxikológiai értékelésére alkalmaztunk, így lehetővé téve, hogy a mintáinkat direkt módon vizsgáljuk.

Mivel a szűrőről az aeroszol minta a mintaelőkészítés során nem lett leválasztva, így fontos volt, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy a szűrő anyaga nem toxikus és így nem befolyásolja a kapott eredményeinket. A vizsgálatok bebizonyították, hogy az általunk használt kvarc szűrők (Whatman QM) nem befolyásolják mérési eredményinket, mert az üres kvarc szűrők esetében nem volt mérhető toxicitás (Kováts et al., 2012).

Vizgáltunk különböző környezetvédelmi besorolású dízelmotorok kibocsátásából származó aeroszol minták ökotoxicitása és illékonysága közötti összefüggéseket. A vizsgálatokhoz kiválasztottunk négy különböző környezetvédelmi osztályba tartozó alapjáraton működő autóbust és ezen autóbuszok égéstermékeiből gyűjtött aeroszol mintákat használtuk fel a méréseinkhez. A kvarcszűrőre gyűjtött aeroszol mintákból 5,65 mm átmérőjű szűrődarbot vágunk, a kivágott szűrődarabokat hat különböző hőmérsékleten (20 °C, 50 °C, 125 °C, 200 °C, 275 °C, 350 °C) 10 percig termosztáltuk. A különböző hőmérsékleten termosztált szűrőket az előzőekben leírt mintaelőkészítési mód szerint készítettük elő az ökotoxikológiai méréshez.

3.2.2.2. Mérés menete

A módszer elve a *V. fischeri* biolumineszcens baktérium fénykibocsátásának kinetikai vizsgálatán alapul. A ToxAlert módszer esetében is alkalmazott baktériumszuszpenziót ez esetben az Ascent luminométer készülék diszpenzere segítségével adagoljuk az előkészített magas lebegőanyag tartalmú (max. 200 mg/l) mintaoldatokhoz. A baktériumszuszpenzió injektálását követően, a készülék 30 másodpercig folyamatosan rögzíti a fénykibocsátás jellegét és lefutását. Ez lesz a kezdeti (kontroll) fénykibocsátás, melyhez a 30 perces expozíciós idő elteltével mérhető fénykibocsátás mértékét hasonlítjuk.

Az ökotoxikológiai vizsgálatot a következő ISO szabvány szerint végeztük: ISO 21338:2010: Water quality - Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment,

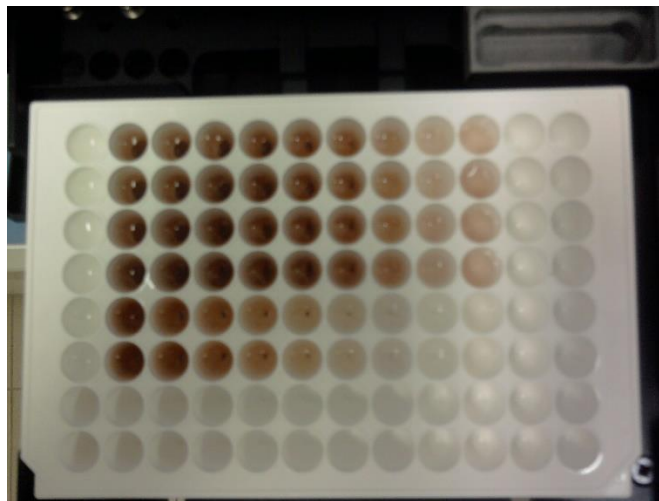
other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* /kinetic luminescent bacteria test/.

Az Ascent luminométer teljesen automatizált, így használata egyszerűbb, mint a ToxAlert[®] 100 luminométernél.

A ToxAlert módszer esetében is alkalmazott baktériumszuszpenziót használjuk a mérés során, így a baktériumszuszpenzió előkészítése megegyezik az előzőekben leírtakkal.

A vizsgálandó mintát, felező hígítást alkalmazva, 96 lyukú mikroplétre visszük. A mintatartó plét 8x12 lyukú, ezért egyszerre 4 mintát 11 hígításban tudunk 2 párhuzamos méréssel vizsgálni. A mikroplét cellái 350 µl térfogatúak, az első oszlop a kontroll, ezt 150 µl térfogatú 2%-os nátrium-klorid oldattal töltjük fel, a második oszlopba 150 µl térfogatú 100%-os töménységű mintát pipetázunk. A további oszlopokban a mintával hígítási sort készítünk felező hígítással.

A készülék diszpenzerét a baktériumszuszpenzióval átöblítjük, a mikroplétet a készülékbe helyezzük, majd elindítjuk a mérést. A készülék 150 µl térfogatú baktériumszuszpenziót injektál minden cellába, majd ezt követően rövid ideig regisztrálja az egyes cellákon a fény intenzitását (T_0 időpillanat).



8.ábra: A vizsgált mintákkal feltöltött mintatartó plét

Ezt követően a mikroplétet az expozíciós idő elteltéig 15°C-on inkubáljuk, majd a 30 perces expozíciós idő letelte után visszahelyezzük a készülékbe. Az expozíciós idő leteltét követően a készülék ismét méri az egyes cellákon a fénykibocsátás intenzitását (T_{30}).

3.2.2.3. Mérés kiértékelése

A minták toxicitásának értékeléséhez az Aboatox Co. által forgalmazott Ascent Software-t használtuk.

A gátlást adott minta esetében a T_0 időpillanatban és az expozíciós idő letelte után (T_{30}) mutatott fénykibocsátás alapján számítja:

$$KF = IC_{30}/IC_0$$

$$INH\% = 100 - 100 \times (IT_{30} / KF \times IT_0)$$

Ahol:

KF = korrekciós faktor

IC_{30} = a kontrollban mért lumineszcencia-intenzitás 30 perc expozíció után, RLU-ban kifejezve

IC_0 = a kontrollban mért kezdeti lumineszcencia-intenzitás, RLU-ban kifejezve

IT_{30} = a mintában mért lumineszcencia-intenzitás 30 perc expozíció után, RLU-ban kifejezve

IT_0 = a mintában mért kezdeti lumineszcencia-intenzitás, RLU-ban kifejezve.

A szoftver automatikusan kiszámolja a minta EC_{50} és EC_{20} értékeit. A számított %-os koncentráció az eredeti extraktumra vagy szuszpenzióra vonatkozik, amely 50%-os biolumineszcencia gátlást okozott.

3.2.3. Genotoxikológiai vizsgálat SOS-Chromotesttel

Ökotoxikológiai eredményeink összehasonlításaként vizsgáltuk a dízel üzemű gépjárművekből származó aeroszol minták genotoxicitását. A genotoxicitás értékeléséhez az SOS-Chromotest™ kitet alkalmaztuk. Az SOS-Chromotest™ (OECD

Guidelines No 471:1977) egy olyan gyors kolorimetriás bioteszt, amellyel a minták széles választékát lehet vizsgálni. A tesztet Quillardet et al. (1982) fejlesztette ki. A Chromotest egy genetikailag módosított *Escherichia coli* törzset (PQ37) alkalmaz, és a sejtek saját DNS-javító mechanizmusát (SOS javító mechanizmus) használja, genotoxicitás értékeléséhez (Nishioka et al., 1983; Nylund et al., 1992). A teszt méri a SOS válasz indukcióját a vizsgálat tesztorganizmusban. A teszt által alkalmazott *E. coli* törzsben elindul a β -galaktozidáz termelés, ha genotoxikus anyagok hatására a természetes SOS javító mechanizmus aktiválódik. A β -galaktozidáz aktivitása arányos a mintában mért genotoxicitással. Megfelelő kromogén oldat hozzáadásával, egy színreakció lép fel. Ha a könnyen kimutatható kék szín jelenik meg, akkor a minta tartalmaz genotoxikus vegyületet. A megjelent kék szín intenzitását a pozitív kontroll színével (4-nitro-kinolin-N-oxid, 4NQO) vizuálisan hasonlítjuk össze (vizuális analízis), vagy a kék szín intenzitása spektrofotométerrel is mérhető (műszeres analízis) (EPBI 2009; Quillardet et al., 1982). A kitet az Environmental Bio Detection Products Inc.-től (EBPI, 6800 Campobello Road, Mississauga, Ontario, Kanada; www.ebpi.ca) szereztük be.

Az SOS-Chromotest™ mérésekhez a mintaelőkészítés megegyezik a ToxAlert 100 luminométerrel végzett ökotoxikológiai méréseknél leírt mintaelőkészítéssel (3.2.1.1. fejezet).

A mérést megelőzően a fagyasztva szárított baktériumokat a kithoz mellékelt protokoll (EPBI 2009) szerint rehidratáltuk: 10 ml tápoldatot adtunk a liofilizált baktériumokhoz. A szuszpenziót egy éjszakán át inkubáltuk 37 °C-os hőmérsékleten. Másnap a baktériumszuszpenzió sűrűségét (OD) spektrofotométerrel állapítottuk meg 600 nm-en. Az OD600 értékét tápoldattal 0,05-re állítottuk be. A vizsgált mintákat 0,1%-os DMSO oldatban (2% NaCl) szuszpendáltuk (Kakasi, 2012).

A mikroplate 1. oszlopába a pozitív kontroll (4NQO) hígítási sora került, ami hatszor 10 μ L 10% DMSO-ban egymáshoz képest kétszeresen hígított mintából állt. Az 1. oszlop H cellája volt a negatív kontroll (10 μ L 10% DMSO). A többi oszlopba az adott minta hígítási sora került: a mintákat 14 kétszeres hígításban értékeltük (hígítatlantól 1:8192 hígításig). Az egyes cellákba 10 μ L kívánt töménységű mintát pipettáztunk, majd 100 μ L előkészített és megfelelő optikai denzitására hígított baktériumszuszpenziót (10mL baktérium szuszpenzió OD600nm értéke 0,05) juttattunk az egyes cellákba, majd a mikroplate-et két órán át 37°C-

on inkubáltuk. A két órás inkubációs idő alatt a genotoxikus komponensek kölcsönhatásba lépnek a baktériumok DNS-ével, ezzel indukálva az SOS-javítómechanizmust és közvetve a β -galaktozidáz enzim szintézisét. A mérés utolsó szakaszában a két órás inkubációs idő után hozzáadtunk 100 μ L kék kromogén oldatot minden használatban lévő cellához és a mikroplate-et 90 percig inkubáltuk 37°C-on, majd elvégeztük a genotoxikológiai értékelést.

Az értékelést (dízelüzemű személyautókból származó aeroszol minták esetében) vizuálisan, a pozitív kontroll színreakcióihoz viszonyítva végeztük. Az esetleges akut toxicitás (olyan mérvű toxicitás, amely azonnal elpusztítaná a baktériumokat az SOS-mechanizmus aktiválódása előtt) kizárására alkalikus foszfatázos vizsgálatot is végeztünk – a cellákban megjelenő sárga szín jelzi, hogy a baktériumok élnek.

A későbbiekben rendelkezésünkre állt a műszeres értékeléshez szükséges plate reader, így a továbbiakban (dízelüzemű autóbuszokból származó aeroszol minták esetében) az eredmények értékelése műszeresen történt egy Dialab EL800 típusú plate readerrel. A mikroplatekre minden minta 4 hígításban került fel, három ismétlésben. A direkt genotoxicitás mérése mellett metabolikus aktiválást is végeztünk S9 májenzim-aktivációs kit segítségével. A mérés kivitelezése a kithoz mellékelt, műszeres értékeléshez ajánlott protokoll szerint történt (SOS Chromotest S9 Activation Enzymes version 6.4). A teszt kvantitatív választ ad, komplex minták esetén az ún. SOS indukciós faktort (SOSIF), ami a vizsgált minta hígításainak függvényében adja meg a baktériumokban kiváltott SOS válasz mértékét (Kakasi, 2012).

3.2.3. Mortalitás vizsgálat *Artemia salina* héjnélküli kistrákon

3.2.3.1. Mintaelőkészítés

A mintaelőkészítés során 9,04 cm² hasznos átmérőjű szűrő mintákat vágunk kvarc szűrőből, melyet 11,32 cm³ diklór-metánban (DKM) 2 órán keresztül extraháltunk (10 min ultrahangos feltárás, 50 min kézzel rázogatva, két perióduson keresztül). A mintákat ezután Millex HV PVDF 33 mm-es, 0,45 μ m-es fecskendőszűrővel szűrtük, majd folyamatos

nitrogénáram alatt beszárítottuk. Az extraktumokat 1 ml 1 %(V/V) dimetil-szulfoxidban (DMSO) felvettük, majd közvetlenül a felhasználás előtt tízszeresére hígítottuk, a tesztrendszernek megfelelő standard oldatban.

3.2.3.2. Mérés menete és kiértékelése

A vizsgálatok elvégzéséhez szükséges tesztállatok petéit (JBL NovoTemia, Németország) helyi kisállat kereskedésből szereztük be és mesterségesen előállított standard sósvízben keltettük ki. A petéket 12 órán keresztül 4°C-on előhidratáltuk, majd az előhidratáció során alkalmazott standard oldatot lecseréltük. A petéket ezután folyamatos levegőztetés mellett 26°C-on inkubátorban 24 órán át keltettük.

A kísérletek során 48 lyukú polisztiirén mikropléteket alkalmaztunk. Hígító és kontrollközegként előlevegőztetett mesterséges sósvizet használtunk. A megfelelően hígított mintákból 950 µl-t adagoltunk a mikroplét celláiba, majd ehhez 50µl (kb. 100-150 darab) lárvát tartalmazó folyadékot pipettáztunk a keltető edényből. Minden mintával három párhuzamos mérést végeztünk. Az így feltöltött mikropléteket 24 órán át 26 °C fokon inkubáltuk, majd felülről, alsó megvilágítás mellett 10 másodperces felvételeket készítettünk a cellákról. Az így kapott felvételek alapján határoztuk meg később a mortalitás arányát.

3.2.4. Enzimaktivitási vizsgálatok *Artemia salina* héj nélküli kistrákon

Az *in vivo* enzimaktivitási vizsgálatok jó felvilágosítást adnak az élő szervezetben toxikus hatásra lejátszódó változások tekintetében. A kísérletek során az élőlény (lehet állati, vagy növényi szervezet) enzimaktivitását, toxikus anyag gátló/aktiváló hatásait vizsgáljuk. Az enzim minősége felvilágosítást ad, hogy milyen hatásmechanizmus szerint hat az adott minta, illetve pontosítani lehet, hogy milyen típusú, jellegű anyagok okozzák a toxikus hatást.

Az enzimek aktivitását standard protokollok mikroplét adaptációi szerint határoztuk meg: a glutation-S transzferáz aktivitást (Habig et al. 1974), a tejsav dehidrogenáz aktivitást (Vassault 1983)- és az acetilkolineszteráz aktivitást (Ellman et al. 1961). Az enzimatis aktivitásokat összprotein tartalomra korrigáltuk (Bradford 1976).

3.2.4.1. LDH enzimaktivitási vizsgálatok

A mortalitási kísérletekben kezelt, még élő állatokat 1 ml Tris-NaCl (0,1 M; pH 7,2; T=4°C) puffer oldatba helyeztük és -20°C-on fagyasztottuk. A minták felengedése után üvegpotterrel homogenizáltuk, ugyanabban a pufferben, amelyben előzőleg is tároltuk, illetve a pottert átmostuk 0,5 ml Tris-NaCl pufferrel, így mintánként 1 ml-es végtérfogatot kaptunk. Újrafagyasztás és kiolvasztás után 6000g mellett 3 percig 4°C-on centrifugáltuk a mintákat.

Az enzimaktivitás meghatározásának alapja, hogy az enzim a piruvátot NADH jelenlétében tejsavvá alakítja. A reakció a NADH fogyásával követhető nyomon, a mért abszorbancia-változás alapján.

A mérések elvégzéséhez 96 lyukú mikroplétet használtunk. A felülúszókból 80-80 µl-t pipettáztunk a mikroplét celláiba, majd hozzáadtunk 140 µl NADH oldatot és 30 µl piruvát oldatot. Vak mintaként a következő oldatok elegyét használtuk: 100 µl Tris-NaCl, 80 µl NADH, 100 µl piruvát. A mikroplét olvasó készülék (Perkin Elmer Viktor³) segítségével mértük az abszorbancia változását, 340 nm-es hullámhosszon 20 másodpercenként, 5 percen keresztül (Diamantino et al. 2001; Vassault 1983).

Az extinkció - reakcióidő görbe lineáris szakaszának meredekségéből számolható az enzimaktivitás változása. A kapott eredményekből minden egyes cellára számítható az LDH aktivitás a következő képlet által:

$$\text{LDH} = (\Delta A / \text{min} \times 10^6 \times TV) / (6,3 \times 10^3 \times L \times V),$$

ahol:

$\Delta A / \text{min}$ –percenkénti abszorbancia változás;

TV- a teljes reakcióelegy térfogata ml-ben;

$6,3 \times 10^3$ – a NADH moláris abszorpciója 340 nm-en;

L- a fény útja mm-ben (jelen esetben 0,7 mm);

V- a minta térfogata ml-ben.

3.2.4.2. GST enzimaktivitási vizsgálatok

A kezelt állatokat 0,5 ml APHA (pH 6,5; T=4°C) pufferbe helyeztük, majd -80°C-on tároltuk az enzimaktivitási vizsgálatig. A minták felengedése után a tesztorganizmokat üvegpotterrel homogenizáltuk, abban a pufferben, amelyben előzőleg tároltuk a naupliákat, illetve a pottert átmostuk 0,5 ml friss APHA pufferrel, így mintánként 1 ml-es végtérfogatot kaptunk. A mintákat 9000g mellett 4°C-on 10 percig centrifugáltuk. A mérési módszer alapja a következő reakció:

A kolorimetriás meghatározás alapja a glutation s-transzferáz enzim által katalizált reakció glutation, valamint a szubsztrátként alkalmazott 1-klór-2,4-dinitrobenzol (CDNB) között. A megfelelő reakciókörnyezetben lejátszódó reakció sebessége csak a jelenlévő aktív GST enzim mennyiségének a függvénye. A reakció terméke dinitrofenil-thioéter, melynek maximális abszorbanciája 340 nm-re esik (Frasco and Guilhermino 2002).

A mérések kivitelezése során 96 lyukú mikroplétet használtunk. A felülúszókból 80-80 µl-t pipettáztunk a mikroplét celláiba majd hozzáadtunk 180 µl GSH-t (20 mM, 6,5 pH, PO4) és 20 µl CDMB-t (20 mM, 6,5 pH, PO4). Kontrollként a következő oldatok elegyét használtuk: 100 µl PBS, 190 µl GSH, 10 µl CDMB. Az abszorbanciaváltozást mikroplét olvasó készülékkel (Perkin Elmer Viktor³) mértük. A készülék a leolvasást 340 nm-es hullámhosszon, 5 percen keresztül, 20 másodperces olvasási gyakorisággal végezte.

Az extinkció - reakcióidő görbe lineáris szakaszának meredekségéből számolható az enzimaktivitás változása. A kapott eredményekből minden egyes cellára számítható a GST aktivitás a következő képlet által:

$$\text{GST (nmol/min/ml)} = \frac{\Delta A/\text{min}}{0,0053 \mu\text{M}^{-1}} * \frac{0,2 \text{ ml}}{A} * \text{mintahígítási hányados}$$

ahol:

$\Delta A/\text{min}$ –percenkénti abszorbancia változás.

3.2.4.3. AChE enzimaktivitási vizsgálatok

A kezelt rákokat 0,5 ml APHA (pH 6,5; T=4°C) pufferbe helyeztük, majd -20°C-on tároltuk az enzimaktivitási vizsgálatig. A minták felengedése után ezeket üvegpotterrel homogenizáltuk, abban a pufferben, amiben előzőleg tároltuk, illetve a pottert átmostuk 0,5 ml friss APHA pufferrel, így mintánként 1 ml-es végtérfogatot kaptunk.

A mérés elvi alapja az acetiltiokolin-jodid (ATCI) acetilkolinészteráz enzim katalizáló hatására létrejövő hidrolízis nyomon követése, mely közben tiokolin keletkezik. Ez a keletkező tiol folyamatos reakciója által lehetséges, a reakcióközegben jelenlévő 5,5-dinitro-bisz-2-nitrobenzol ionnal (I), melynek eredményeként 5-tio-2-nitrobenzolsav keletkezik (II). Ez utóbbi mennyisége a 412 nm-es hullámhosszon mérhető (Ellman et al. 1961).

A mérések elvégzésére 96 lyukú mikroplétet használtunk. A felülúszókból 50-50 µl-t pipettáztunk a mikroplétre majd hozzáadtunk 50 µl PBS (0,1 M) puffert, 100 µl DTNB oldatot (1mM) és 100 µl ATCI oldatot (1,5 mM). Kontrollként a következő oldatok elegyét használtuk: PBS, DTNB és ATCI.

Az abszorbanciaváltozást mikroplét olvasó készülékkel (Viktor³ Perkin Elmer) mértük. A készülék minden cellán mérte az abszorbanciát 412 nm-es hullámhosszon, folyamatosan, 10 percen keresztül.

Az extinkció - reakcióidő görbe lineáris szakaszának meredekségéből számolható az enzimaktivitás változása. A kapott eredményekből minden egyes cellára számítható az AChE aktivitás a következő képlet által:

$$\text{AChE} = \frac{\frac{\Delta A}{t \cdot 10^6}}{13600 \cdot 0,7} * \frac{1}{\frac{V_s}{V_{\text{cell}}} * c_0} \quad [\mu\text{Mol/perc/g}]$$

ahol:

13600 = ATCI extinkciós koefficiens

0,7 = olvasási magasság a cellában (cm)

V_s = bemért minta térfogata [50 µl]

V_{cell} = az assay térfogata [300 µl]

C_0 = a feltárt szövetminta koncentrációja [mg/ml]

3.2.4.4. Mérések kiértékelése

A nyers adatokat OriginLab OriginPro 8.6 és MS Excel 2010 program segítségével elemeztük és ábráztuk. Az enzimaktivitás kontrolhoz viszonyított változását lineáris regresszióval vizsgáltuk. A nyers adatokat a J.J. Hubert-féle probitszám analízissel hasonlítottuk össze (Hubert 1980). A kísérletek mindegyikét legalább háromszor megismételtük.

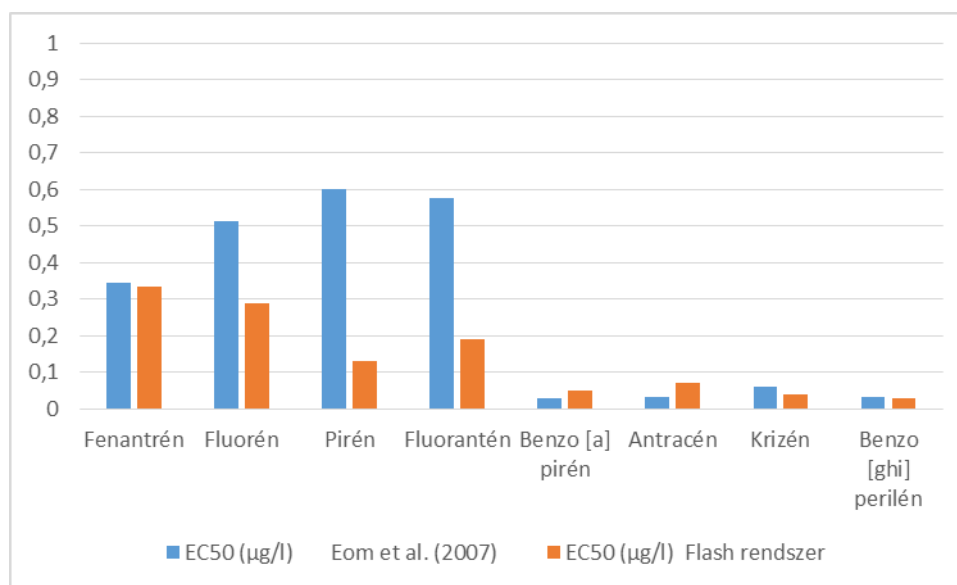
A különböző módszerekkel végzett ökotoxikológiai vizsgálatok eredményeinek összevetésére XLSTAT (Version 2015.3.01.19097; www.xlstat.com) Life programcsomagot alkalmaztunk, nemparaméteres Spearman rangkorrelációt számítva.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. ToxAlert 100 luminométer és az Ascent luminométer összevetése

4.1.1. Rendszerek összevetése PAH mintákon

Lappalainen et al. (2001) tanulmányukban csak egy összehasonlító elemzést adott a korábbi fejezetben említett (1.2.2. fejezet) "standard" és a "kinetikus" módszerekről, azonban nem készítettek statisztikai értékelést, amely összehasonlítja a két protokollt. Így eredményeink alapján statisztikailag értékeltem a két *V. fischeri*-t alkalmazó módszert. A minták ökotoxicitását EC₅₀ (µg/l) koncentrációban fejeztük ki.



9. ábra: PAH minták EC₅₀ eredményei irodalmi adatok alapján és a Flash rendszerrel mérve

A ToxAlert®100 luminométer és az Ascent luminométer összevetése során kapott eredményeinket a 9. ábrán láthatóak.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a fenantrén, benzo [a] pirén, antracén, krizén és benzo [ghi] perilén esetében a két módszerrel hasonló eredményeket kaptunk. A vizsgált PAH minták közül a fluorén, a pirén és a fluorantén esetében a két rendszerrel nagyobb különbségeket mértünk, mint az előzőekben felsorolt minták esetében. Annak ellenére, hogy a Flash rendszer érzékenyebbnek mutatkozott a fent említett három PAH minta esetében, eredményeinkből jól látható összefüggés figyelhető meg a standard módszerrel mért irodalmi adatok és az általunk kinetikus módszerrel mért adatok között.

A statisztikai értékeléshez az XLStat programot használtuk, Spearman rangkorrelációt alkalmazva. A korrelációs koefficiens ez esetben $r = 0,57$, és $p = 0,15$ volt; azaz, közepes pozitív (nem szignifikáns) korreláció áll fenn az általunk mért eredmények és az irodalmi eredmények között. Az eredményekből azonban egyértelműen látható, hogy nincs nagyságrendi különbség a két módszerrel kapott eredmények között. A fent említett öt minta esetében ugyanabba a mérési tartományba estek a standard módszerrel mért irodalmi adatok és az általunk kinetikus módszerrel mért adatok (fenantrén: 0,3-0,4 $\mu\text{g/l}$, benzo [a] pirén: 0-0,1 $\mu\text{g/l}$, antracén: 0-0,1 $\mu\text{g/l}$, krizén: 0-0,1 $\mu\text{g/l}$ és benzo [ghi] perilén: 0-0,1 $\mu\text{g/l}$). Továbbá a fluorén, a pirén és a fluorantén mintáknál sem volt jelentős eltérés a két különböző módszerrel mérve.

4.1.2. Rendszerek összevetése aeroszol mintákon

A két rendszer PAH-vegyületeken történő összevetésén kívül, aeroszol mintákon is elvégeztük a módszerek összevetését, hogy megbizonyosodjunk a Flash módszer aeroszol mintákon való alkalmazhatóságáról. A Flash rendszert eddig még nem alkalmazták aeroszol részecskék ökotoxicitásának elemzésére.

A méréshez a mintáink három nyári és három téli városi aeroszol minta, továbbá három nyári és három téli K-pusztáról származó aeroszol minta voltak. A ToxAlert®100

luminométer és az Ascent luminométer összevetése során kapott eredményeinket a 4. táblázat foglalja össze. A vizsgált minták ökototoxicitását EC_{50} (%) értékekkel fejeztük ki.

A téli mintákat toxikusnak találtunk mindkét módszerrel, és közel hasonló eredményeket kaptunk. A téli minták esetében szignifikáns korreláció volt megfigyelhető a két módszer között (Spearman rangkorreláció, $r = 0,94$, $p = 0,017$). Azonban a nyári minták eredményei között jelentős különbség volt megfigyelhető a két eltérő rendszert alkalmazva. A ToxAlert rendszerrel számolt EC_{50} értékeket a Flash rendszer nem észlelte toxikusnak, ami azt jelenti, hogy még a 100%-os koncentráció sem váltott ki 50%-os biolmineszscencia gátlást.

4. táblázat: ToxAlert[®]100 luminométerrel és az Ascent luminométerrel mért EC_{50} értékek

Minta	ToxAlert EC_{50} %	Flash EC_{50} %
16–17 Július, 2008 K-pusztá	83,26	132,24
20–21 Július, 2008 K-pusztá	94,28	1537,70
03–04 Augusztus, 2008 K-pusztá	98,19	280,89
09–10 December, 2008 K-pusztá	14,77	19,88
10–11 December, 2008 K-pusztá	27,34	23,97
11–12 December, 2008 K-pusztá	28,14	25,45
29 Július, 2009 Budapest	66,21	312,96
30 Július, 2009 Budapest	94,97	10305,95
31 Július, 2009 Budapest	93,53	158,90
20 Január, 2010 Budapest	17,81	20,59
24 Január, 2010 Budapest	11,57	6,44
28 Január, 2010 Budapest	16,21	8,10

A Flash rendszerrel történő mérés során, mind a Budapesti, mind a K-pusztai nyári mintáknál az EC_{50} minden esetben meghaladta a 100%-ot, tehát az adott minta 100%-os koncentrációban sem okozott 50%-os gátlást.

A kapott eredményeket annak tulajdoníthatjuk, hogy alapvető különbség van a ToxAlert és a Flash protokollok között (5. táblázat). A Flash rendszerben a szilárd mintákat szuszpenzióként mérjük, amely megkönnyíti a közvetlen érintkezést a baktériumok és a szilárd részecskék között. A gátlást is eltérő módon kell számolni a két módszer esetében.

A ToxAlert rendszernél a gátlást a kontroll mintához viszonyítva kell értékelni, míg a Flash rendszer a fénykibocsátást a mintában önállóan a kontrolltól függetlenül értékeli, így kiküszöbölve a minta színéből vagy zavarosságából adódó virtuális toxicitást.

A lumineszcens baktérium teszt más változataiban a zavarosság vagy a minta színe jelentős fénykibocsátás csökkenést okozhat különböző fizikai hatások (pl. szilárd részecskék takaró hatása) miatt, ami virtuális toxicitást eredményezhet (Campisi et al., 2005). Ez lehet az egyik oka annak, hogy a nyári mintákat toxikusabbnak találtuk a ToxAlert módszerrel, mint a Flash módszerrel.

5. táblázat: A két rendszer közötti különbségek

	ToxAlert 100 Luminométer	Ascent Luminométer
Mintaelőkészítés	<p>Extraktumok készítése</p> <p>Vizsált frakció: Az összes szerves oldószerezrel kivonható frakció</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: kb. 5-6 óra</i></p>	<p>Szuszpenzió készítése</p> <p>Vizsgált frakció: csak a biológiailag felvető frakció</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: kb. 1 óra</i></p>
Mérés	<p>A fénykibocsátás gátlását a kontroll mintához viszonyítva kell értékelni.</p> <p>A rendszer nem automatizált, külön kell elvégezni a hígítási sor elkészítését, a baktérium szuszpenzió hozzáadását és a mérést.</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: kb. 1 óra</i></p>	<p>A fénykibocsátás gátlását a mintában önállóan a kontrolltól függetlenül értékeli.</p> <p>Automatizált a rendszer, csak a minta hígítási sorát kell elkészíteni.</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: kb. 1 óra</i></p>
Kiértékelés	<p>A készülék százalékban adja meg a minták biolumineszcencia gátlását, amely alapján Probit szoftver segítségével számolható ki az EC₅₀ érték</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: kb. 30 perc</i></p>	<p>A készülékhez tartozó Ascent Software-t használjuk, a szoftver automatikusan kiszámolja a minta EC₅₀ és EC₂₀ értékeit.</p> <p><i>Elvégzéshez szükséges idő: -</i></p>
Vizsgálat elvégzéséhez szükséges idő	kb. 6,5-7,5 óra	kb. 2 óra

Egy másik ok lehet a két módszer közötti eltérésre az, hogy ToxAlert mérésekhez a mérés során vizsgált kivonatokat, a mintákból egy többek által (Lin and Chao, 2002; Triolo et al., 2008; Vouitsis et al., 2009) leírt extrakciós eljárással készítjük elő, melynek során szerves oldószert használunk, ami azt jelenti, hogy az összes kivonható frakciót és nem csupán a biológiai frakciót mérjük.

Összességében elmondható, hogy az általunk kifejlesztett protokoll elég érzékenynek bizonyult a különböző aeroszol minták vizsgálatára. Ez a teszt a közvetlen érintkezés során egy olyan potenciálisan reális expozíciós útvonalat szimulál, amely az aeroszol részecskék

és a biológiai rendszerek között bekövetkezik. További előny, hogy nincs szükség szerves oldószerek használatára a minta előkészítésnek folyamán, így az eredményeink valós toxicitási értékeket adnak. Az elmondottak mellett, további előny, hogy a Flash rendszerrel az aeroszol részecskék ökotoxicitásának meghatározása nagyon rövid idő alatt (kb. 2 óra) elvégezhető, a többi ökotoxikológiai módszerhez képest (min. 7 óra, de egyes tesztek esetében akár 48 vagy 72 óra). Ezen felül mivel minimális mintamennyiséget igényel a Flash rendszer, így jól alkalmazható környezeti aeroszol minták ökotoxicitásának elemzésére.

4.2. *Vibrio fischeri* biolumineszcencia gátlás vizsgálat

4.2.1. Dízel üzemű gépjárművekből származó aeroszol minták eredményei

4.2.1.1. Dízel üzemű személygépkocsikból származó aeroszol minták eredményei

A vizsgált személygépkocsik által kibocsátott aeroszol minták ökotoxicitás eredményei és egyéb adatai (PAH, TC, PM_{2.5}) a 6. táblázatban láthatók.

6. táblázat: Személyautók kibocsátásainak ökotoxikológiai eredményei

Modell/Típus	Környezetvédelmi osztály	PAH [ng/m ³]	TC [mg/m ³]	PM _{2.5} [mg/m ³]	EC ₅₀ [%]
FORD FOCUS 1,8 D	EURO-2	93349,59	34,94	37,90	0,25
BMW 320D	EURO-3	209,82	0,50	0,54	44,85
OPEL OMEGA 2.5 TD	EURO-3	3419,17	7,53	8,18	88,37
TOYOTA HILUX 2.5 TD	EURO-3	114,25	0,30	0,33	442,73
RENAULT TRAFIC 1.9 dci	EURO-3	122,22	1,55	1,68	32,69
FORD MONDEO TDCI	EURO-3	171,12	0,57	0,62	248,06
FORD MONDEO	EURO-3	2279,45	1,87	2,03	11,06
FORD S MAX TDCI	EURO-4	42,65	0,17	0,18	161,98
MITSUBISHI L200	EURO-4	449,18	2,90	3,15	7,67

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az EURO-2 környezetvédelmi osztályba tartozó (Ford Focus 1,8 D) személygépkocsiból származó mintánk volt a legtoxikusabb. Ez az eredmény várható volt az alapján, hogy ez az autó rendelkezett a legnagyobb PAH (93349 ng/m³), illetve TC (34,9 mg/m³) emisszióval. Az EURO-3 emissziós szabvánnyal rendelkező gépjárművek esetében az EC₅₀ értéke viszonylag széles határok között (11,6 és 442,73) mozgott, ezek közül a Toyota Hilux 2.5 TD gyakorolta a legkisebb környezeti terhelést (TC = 0,3 mg/m³, PAH = 114 ng/m³, EC₅₀% = 442,73). Az EURO-3 emissziós szabvánnyal rendelkező gépjárművek közül az Opel Omega 2.5 TD gépjárműnél volt megfigyelhető a legmagasabb PAH és TC mennyiség, ezt azonban az alacsony toxicitási értéke nem tükrözte. Azt viszont figyelembe kell vennünk, hogy a vizsgált személygépkocsik közül ennek az autónak volt a legtöbb a kilométeróra állása (340 981 km). Meglepő módon, nagy különbségeket találtunk a két FORD MONDEO TDCI gépkocsik között (TC = 1,9 és 0,57 mg/m³, PAH = 2280 és 171 ng/m³, EC₅₀ % = 11,06 és 248,06). Ez részben azzal magyarázható, hogy a két személygépkocsinak nagymértékben eltért egymástól a kilométeróra állása (165 861 km volt az első FORD MONDEO TDCI jármű esetében és 106 368 km volt a második esetében). A két jármű műszaki állapota is hozzájárulhatott az eltérő emissziós jellemzőkhöz; azonban ezek a paraméterek nehezen standardizálhatók.

Az EURO-4 környezetvédelmi osztályba tartozó személygépkocsik ökototoxicitása között is kiemelkedően nagy különbséget találtunk (TC = 0,17 és 2,9 mg/m³, PAH = 42,6 és 449 ng/m³, EC₅₀ % = 161,98 és 7,67), de ha összevetjük az ökototoxicitás eredményeit az egyes gépkocsik PAH és TC koncentrációjával, akkor szignifikáns pozitív korrelációt (Spearman rangkorreláció, $r = 0,912$; $p = 0,001$, valamint $r = 0,956$; $p < 0,001$) figyelhetünk meg. Látszólag a dízel kipufogógázok ökotoxikus hatása közvetlenül függ a széntartalmú részecskék mennyiségétől. A magas szénrészecske koncentráció jelzi a tökéletlen égést, amely a különböző illékonyságú toxikus szerves vegyületek képződését sokkal valószínűbbé teszi, illetve elősegíti a félig illékony anyagok (pl.: PAH-ok) részecskéken való megtapadását. Azonban a magas toxicitás a MITSUBISHI L200 jármű esetében nem tulajdonítható egyedül a PAH kibocsátásnak, például az EURO 3 emissziós szabvánnyal rendelkező OPEL OMEGA 2.5 TD esetében kb. kétszer több volt PAH kibocsátás, viszont alacsonyabb toxicitást mutatott. Az is lehet, hogy a különbség a két EURO 4

környezetvédelmi osztályba tartozó személygépkocsi környezeti hatása között azzal magyarázható, hogy a Mitsubishi L200 2.5 DID jármű a magasabb kilométeróra állás (154 385 km) mellett magas toxicitás ($EC_{50} \% = 7,67$), és viszonylag magas PAH-kibocsátást (449 ng/m³) mutatott. Chiang et al. (2012) is összefüggést talált a magas PM kibocsátás és a futásteljesítmény, valamint a tesztelt gépjárművek kora között.

Minjares et al. (2013) arról számol be, hogy vizsgálataik során a PM_{2.5} kibocsátás szignifikánsan csökkent a különböző emissziós szabványoknál. Eredményeink alapján a legmeglepőbb az volt, hogy nem találtunk egyértelmű összefüggést a környezetvédelmi osztályok és a kibocsátások hatásai között. Ez talán annak tudható be, hogy az általunk kiválasztott két EURO 4 besorolású személygépkocsinál kiugróan magasabb volt az emisszió, mint bármelyik EURO 3 besorolású gépjárműnél. Azonban szignifikáns korrelációt találtunk a PAH kibocsátás és a futott kilométerek között (Spearman rangkorreláció, $r = 0,733$, $p = 0,031$), melyből arra következtetünk, hogy egy adott személygépjármű állapotát jobban tükrözi a használata, mint az életkora.

7. táblázat: Személyautók ökotoxicitásának és genotoxicitásának eredményei

Típus/Modell	Évjárat	Motor térfogat/ Környezetvédelmi osztály	Motor teljesítmény	Kilométeróra állás [km]	PAH [ng/m ³]	PM ₁₀ [µg/m ³]	EC ₅₀ [%]	EC ₅₀ PM ₁₀ [µg/m ³]	Geno- toxicitás [µg/ml 4NQO]
FORD FOCUS 1,8 D	2003	1753 cm ³ , EURO-2	66 KW	173 617	93349,6	40183,3	0,25	100,38	0,313
FORD MONDEO	2006	1998 cm ³ , EURO-3	85 KW	165 861	2279,45	2149,66	11,06	237,75	0,313
BMW 320D	1995	1995 cm ³ , EURO-3	110 KW	176 809	209,82	579,42	44,85	259,87	non toxic
RENAULT TRAFIC 1.9 dci	2004	1870 cm ³ , EURO-3	74 KW	140 736	122,22	1780,04	32,69	581,89	non toxic
TOYOTA HILUX PICKUP DOUBLE CAB 4WD	2002	2494 cm ³ , EURO-3	75 KW	165 296	114,25	346,54	442,73	1534,23	non toxic
FORD MONDEO TDCI	2005	1998 cm ³ , EURO-3	96 KW	106 368	171,12	655,04	248,06	1624,88	non toxic
OPEL OMEGA 2.5 TD	1996	2497 cm ³ , EURO-3	96 KW	340 981	3419,17	8657,99	88,37	7651,07	non toxic
MITSUBISHI L200	2006	2477 cm ³ , EURO-4	100 KW	154 385	449,18	3332,63	7,67	255,69	non toxic
FORD S MAX TDCI	2006	1753 cm ³ , EURO-4	92 KW	87 063	42,65	189,85	161,98	307,53	non toxic

Eredményeink kiegészítéseként a továbbiakban vizsgáltuk a minták genotoxicitását. Az ökotoxikológiai és genotoxikológiai eredményeket a 7. táblázatban foglaltam össze.

A genotoxikológiai értékelést vizuálisan, a pozitív kontroll (4NQO) színreakcióihoz viszonyítva végeztük. A genotoxikológiai értékelés során a kék szín végig megjelent a pozitív kontroll hígítási sorában.

Az elemzés során a FORD MONDEO és FORD FOCUS 1,8 D személygépkocsikból származó mintáinknál a legtöményebb hígításban enyhe genotoxikus hatást észleltünk (ami 0,313 μg / ml 4NQO hatással volt egyenértékű). Az öko- és genotoxicitási eredményeink összefüggést mutattak. Az eredményeket összehasonlítva látható, hogy annál a két mintánál volt megfigyelhető genotoxikus hatás, amelyeknél a legnagyobb ökotoxicitást (100,38 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ és 237,75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) mértük.

Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy még több adatra van szükségünk ahhoz, hogy egy releváns statisztikai adatbázis készítsünk. Példaként említeném a Lim et al. (2005) által használt multikritériumos értékelést, melynek során különböző tényezők hatását vizsgálták dízel üzemű buszok PAH kibocsátásaira. Eredményeink azonban egyértelműen mutatják, hogy az általunk alkalmazott teszt módszer alkalmas dízel üzemű személygépjárművekből származó kibocsátások ökotoxicitásának gyors meghatározására.

4.2.1.2. Dízel üzemű autóbuszokból származó aeroszol minták eredményei

A minták ökotoxicitását EC_{50} érték mellett EC_{50} aeroszol tömeg/ ml szuszpenzió koncentrációban is kifejeztük, eredményeinket a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat: Autóbuszok kibocsátásainak ökotoxikológiai eredményei

Minta	Modell/Típus	Működés/Fordulatszám	Évjárat	Környezet védelmi osztály	EC ₅₀ %	EC ₅₀ (µg/ml)
EU0-IK1987-A	IKARUS 26006	alapjáraton (600/min)	1987	EURO-0	0,32	1,24
EU0-IK1987-B		gázfröccsel (1500/min)			0,59	2,47
EU1-IK1997-A	IKARUS 415.26	alapjáraton (600/min)	1997	EURO-1	0,2	0,96
EU1-IK1997-B		gázfröccsel (1500/min)			0,6	2,31
EU2-IK2000-A	IKARUS E 95	alapjáraton (600/min)	2000	EURO-2	2,16	2,87
EU2-IK2000-B		gázfröccsel (1500/min)			4,72	2,19
EU3-VO2006-A	VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjáraton (600/min)	2006	EURO-3	34,23	12,58
EU3-VO2006-B		gázfröccsel (1500/min)			9,5	3,71
EU3-CR2006-A	CREDO EC12	alapjáraton (600/min)	2006	EURO-3	20,44	3,07
EU3-CR2006-B		gázfröccsel (1500/min)			21,08	4,11
EU4-VO2008-A	VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjáraton (600/min)	2008	EURO-4	nem toxikus	nem toxikus
EU4-VO2008-B		gázfröccsel (1500/min)			nem toxikus	nem toxikus

Az autóbuszok kipufogógázainak EC₅₀ értékei erőteljes korrelációt mutattak a különböző EURO besorolású motor típusok esetén. Az EURO-0 és az EURO-1 motortípusokkal rendelkező buszok (IKARUS 260.06, IKARUS 415.26) ökotoxicitását találtuk a legmagasabbnak, mind alapjáraton, mind a gázfröccsel történő üzemeltetés esetén. Az EURO-4 besorolású motor típusnál (EU4-VO2008-A, EU4-VO2008-B) nem volt kimutatható toxicitás (a legtöményebb koncentráció sem érte el az 50%-os gátlást) egyik üzemeltetés mellett sem.

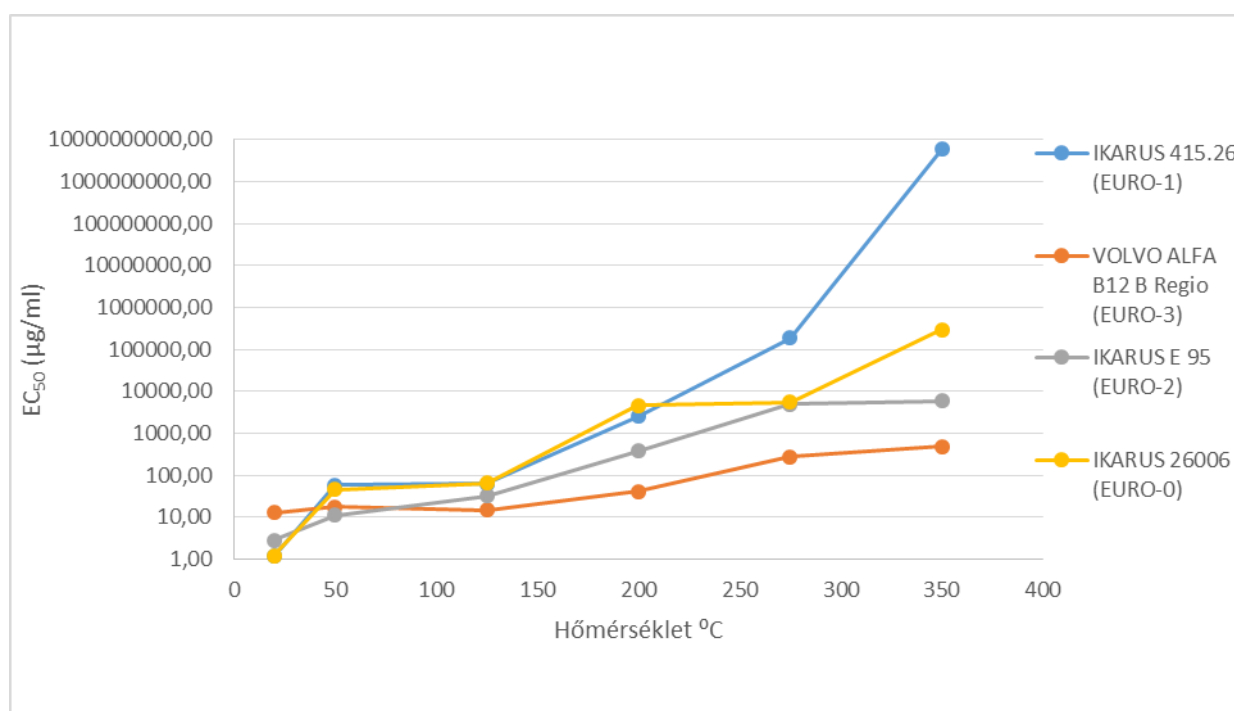
Alapjáraton jelentős eltérést tapasztaltunk a két EURO-3 motortípussal rendelkező (CREDO EC12, VOLVO ALFA B12 B Regio) busz esetében. A EU3-CR2006-A minta esetében hasonló EC₅₀ értéket mértünk, mint az EURO-0 és az EURO-1 környezetvédelmi osztályba sorolható buszoknál (EU0-IK1987-A, EU1-IK1997-A). Ezzel szemben az EU3-VO2006-A minta ökotoxicitása alapjáraton ennél jóval alacsonyabb volt.

Gázfröccsel történő üzemeltetés mellett, a két EURO-3 motortípussal rendelkező busz toxicitása már jóval kisebb mértékben tért el egymástól, az EURO-0, EURO-1 és EURO-2 besorolású motor típusoknál (EU0-IK1987-B, EU1-IK1997-B, EU2-IK2000-B) pedig közel azonos EC₅₀ érték volt megfigyelhető.

Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a buszok esetében az ökotoxicitás erősen függ az adott gépjármű környezetvédelmi osztályba tartozásától, a motor típusától és korától. Minjares et al. (2013) szintén azt tapasztalta vizsgálatainak során, hogy a PM_{2.5} kibocsátás szignifikánsan csökkent a különböző emissziós szabványoknál. A

motor korának növekedésével jelentősen nőtt a motorok emissziójának ökotoxicitása is. Eredményeink azonban megerősítik a személygépkocsik ökotoxikológiai elemzésénél tapasztaltakat, vagyis az ökotoxicitás nem csak a különböző környezetvédelmi osztályba tartozástól függ, hanem a gépjárművek egyéb paramétereitől is.

További vizsgálataink során tanulmányoztuk a különböző környezetvédelmi besorolású dízelmotorok kibocsátásából származó aeroszol minták ökotoxicitása és illékonyága közötti összefüggéseket. Az aeroszol minták ökotoxicitása és illékonyága közötti vizsgálat eredményei a 10. ábrán láthatók.



10. ábra: A különböző környezetvédelmi osztályba tartozó dízelmotorok kibocsátásából származó aeroszol minták ökotoxicitása, a termosztálási hőmérséklet a függvényében

A különböző környezetvédelmi besorolású autóbuszokból származó aeroszol minták ökotoxicitása különböző módon változott a hőmérséklet függvényében. A 20 °C-on történő kifűtésnél még az EURO-0 és EURO-1 besorolású dízelmotorral rendelkező gépjárművek ökotoxicitása volt a legmagasabb, a legkevésbé toxikus pedig az EURO-3 besorolású VOLVO ALFA B12 Regio autóbusból származó minta volt. Ez a sorrend már 50 °C-on történő kifűtés esetén is felborul, mivel az ezen a hőmérsékleten kifűtött aeroszol minták

közül az EURO-2 besorolású dízelmotorból származó minta ökotoxicitása a legnagyobb. Ez azzal magyarázható, hogy az EURO-2 motortípussal rendelkező gépjárműből származó mintából 50 °C-on kisebb arányban távoznak az ökotoxikus hatásért felelős vegyületek. 125 °C -on jelentős változás nem történt az 50 °C-on mért ökotoxicitás értékekhez képest, csak az EURO-2 motortípus kibocsátásából származó aeroszol minta ökotoxicitása csökkent nagyobb mértékben a többi mintához viszonyítva. 125 és 200 °C között már erőteljes változás figyelhető meg. Mindegyik minta toxicitása nagymértékben csökken, ami arra utal, hogy ebben a hőmérséklettartományban deszorbeálódik azon vegyületek nagy része, amelyek az ökotoxikus hatásért felelősek. A 200 és 275 °C közötti hőmérséklettartományban a toxicitás további csökkenése figyelhető minden minta esetében, tehát ebben a tartományban is deszorbeálódnak még a részecskék felületén adszorbeálódott ökotoxikus vegyületek. 275 °C felett már csak az EURO-0 és EURO-1 besorolású gépjárművek kibocsátásából származó aeroszol minták esetén csökken jelentős mértékben az ökotoxicitás, ami azzal magyarázható, hogy ezekből a mintákból még ilyen magas hőmérsékleteken is deszorbeálódnak az ökotoxikus vegyületek.

Az eredményeink alapján megállapítható, hogy a különböző környezetvédelmi osztályba tartozó dízelüzemű autóbuszok kibocsátásainak ökotoxicitása nagymértékben függ az aeroszol részecskéken adszorbeálódott közepesen illékony szerves vegyületektől.

Kittelson et al. (2006) nagy teherbírású dízel teherautók kipufogógázából származó aeroszolókat vizsgáltak. A laboratóriumi vizsgálataik kimutatták, hogy a nukleációs módus részecskéi túlnyomórészt nehéz szénhidrogének. A 12-30 nm-es részecskék mennyiségének több, mint 97% -a eltűnt 400 °C-ra történő hevítés hatására. Az illékonyosság hasonlított a C24-C32 n-alkánokéra. Egy másik tanulmányban Yao et al. (2015) dízelüzemű járművek kipufogógázának VOC emisszióját vizsgálta Pekingben (Kína). Vizsgálataik során összesen 64 VOC fajtát határoztak meg, köztük 25 alkán, 4 alkén, 13 aromás, 13 karbonil és 9 egyéb vegyületet. A karbonilok, az aromások és az alkánok voltak a domináns VOC fajták. A karbonilok az összes VOC kibocsátás 42,7% - 69,2% -át alkották. Bagány (2011) szerint a dízelmotor károsanyag kibocsátása az égés tökéletesítésével és a kipufogógáz utókezelésével (katalizátorral) csökkenthető. Ezt a megállapítást eredményeink is megerősítik, tekintve, hogy magasabb égési hőmérsékleten csökkent az adott motorból származó kibocsátás toxicitása.

Ökotoxikológiai eredményeink összehasonlításaként vizsgáltuk a dízelüzemű autóbuszokból származó aeroszol minták genotoxicitását is. Az eredmények kiértékelése ebben az esetben már műszeresen történt, Dialab EL800 típusú plate readerrel. A genotoxikológiai eredményeket az EBPI által ajánlott SOSIF értékekkel fejeztük ki. SOSIF értéke azt mutatja meg, hogy egy minta adott hígításban milyen mértékű SOS választ indukál a baktérium tesztorganizmokban. A kapott SOSIF értékek alapján három kategória definiálható: 0 és 1,5 közt nem toxikus, 1,5 és 2,0 közt nem-konklúzív (nem egyértelműen megállapítható), 2,0 fölött pedig genotoxikus (Kakasi, 2012). Eredményeink a 9. táblázatban láthatóak.

9. táblázat: Autóbuszok ökotoxicitásának és genotoxicitásának eredményei

Modell/Típus	Működés/Fordulatszám	Környezet védelmi osztály	EC ₅₀ %	EC ₅₀ (µg/ml)	Genotoxicitás
IKARUS 26006	alapjáraton (600/min)	EURO-0	0,32	1,24	toxikus
	gázfröccsel (1500/min)		0,59	2,47	toxikus
IKARUS 415.26	alapjáraton (600/min)	EURO-1	0,2	0,96	toxikus
	gázfröccsel (1500/min)		0,6	2,31	toxikus
IKARUS E 95	alapjáraton (600/min)	EURO-2	2,16	2,87	nem konklúzív
	gázfröccsel (1500/min)		4,72	2,19	nem toxikus
VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjáraton (600/min)	EURO-3	34,23	12,58	nem toxikus
	gázfröccsel (1500/min)		9,5	3,71	nem toxikus
CREDO EC12	alapjáraton (600/min)	EURO-3	20,44	3,07	nem toxikus
	gázfröccsel (1500/min)		21,08	4,11	nem toxikus
VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjáraton (600/min)	EURO-4	nem toxikus	nem toxikus	nem toxikus
	gázfröccsel (1500/min)		nem toxikus	nem toxikus	nem toxikus

A vizsgált minták közül négy esetében volt kimutatható genotoxikus SOSIF érték, és egy minta esett a nem konklúzív kategóriába. A többi minta a nem toxikus kategóriába esett. Az EURO-0 és EURO-1 besorolású buszokból származó minták mutatták a genotoxikus SOSIF értéket, valamint az EURO-2 környezetvédelmi osztályba tartozó autóbusból alapjáraton vett minta esett a nem konklúzív kategóriába, még nagyfokú hígítás után is.

Genotoxicitási eredményeink az ökotoxikológiai eredményeinkhez hasonló mintázatot mutattak. Az ökotoxikológiai és genotoxikológiai eredményeknél ($r = 1$, $p < 0,001$,

Spearman rangkorreláció) nagyon szoros pozitív, szignifikáns korrelációt találtunk. Az EURO-0 és EURO-1 motorokból származó minták erősen genotoxikusak, míg az EURO-3 és EURO-4 motorokból vett minták nem mutattak genotoxikus hatást.

A régi típusú EURO-0, EURO-1 és EURO-2 motorokból származó dízel emisszió láthatóan nagy környezeti és egészségügyi kockázatot jelent. A Központi Statisztikai Hivatal adatai szerint a magyar flotta átlagéletkora 13,7 év, sőt, az átlagéletkor enyhén növekvő tendenciát mutat, például 2009-ben 12,9 év volt az átlagéletkor, 2010-ben pedig 13,4 év. Konkrét adatok állnak rendelkezésünkre a Balaton Volán Zrt.-nél alkalmazott kibocsátási szabvány osztályokról, amelyet a cég biztosított részünkre: Euro-0, 17,5%; Euro-1, 11,5%; Euro-2, 42%; Euro-3, 22% (Balaton Volán Zrt. Környezeti Jelentés, 2011). Ezek az adatok azt mutatják, hogy az Euro-2 - Euro-3 buszok dominálnak és a viszonylag magas az aránya Euro-0 – Euro-1 buszoknak.

A dízelolaj összetétele is befolyásolhatja a PAH-kibocsátást és a toxicitást: az alacsonyabb kéntartalom csökkenti a policiklikus aromás szénhidrogének kibocsátását (Lim et al., 2005). Azt állapították meg, hogy általában a jobb minőségű üzemanyag használatával, alacsonyabb a kibocsátás (Nelson et al., 2008).

Az a tény, hogy a legújabb VOLVO ALFA B12 Regio EURO 4-es motorja nem okozott toxikus hatást sem az ökotoxikológiai sem a genotoxikológiai vizsgálat során, arra enged következtetni, hogy a régi EURO-0, EURO 1 és EURO 2 motorok lecserélése egy alternatíva lehet a környezeti veszély csökkentésére.

4.2.2. Városi aeroszol minták ökotoxicitásának meghatározása

A minta ökotoxicitását abszolút aeroszol tömegre vonatkoztatott EC_{50} értékkel határoztuk meg. A nyári (10. táblázat) és a téli (11. táblázat) aeroszol minták eredményeit külön táblázatban foglaltam össze.

A PM_{10} minták NO_x tömeg koncentráció adatait és a meteorológiai paramétereket az Országos Meteorológiai Szolgálat biztosította a mintavételi helyen. Továbbá

meghatároztuk a biomassza égetés nyomjelző vegyületeként ismert levoglukozán (LGS) koncentrációját is.

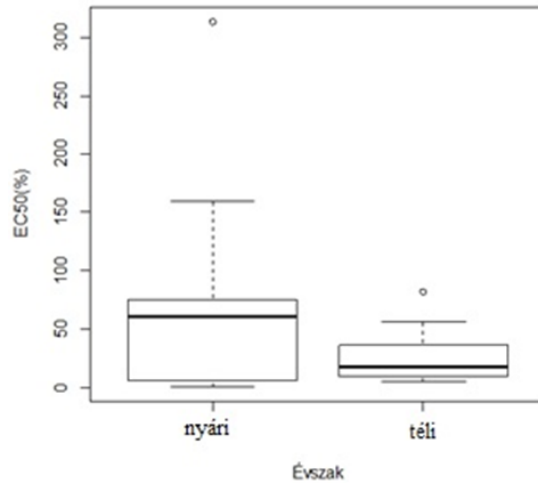
A nyári és a téli városi PM₁₀ aeroszol minták EC₅₀ értékei között jelentős eltérést tapasztaltunk.

10. táblázat: Nyári városi aeroszol minták ökototoxicitás eredményei.

Mintavétel időpontja	PM10 [µg/m ³]	m _{aeroszol} [mg]	EC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (PM10) (µg/m ³)	EC50 (mg)	NOx (µg/m ³)	Ózon (µg/m ³)	SO ₂ (µg/m ³)	CO (µg/m ³)
29.07.09	29,8	0,73	312,96	93,26	2,29	22,43	98,77	6,13	372,94
30.07.09	26,9	0,66	10305,95	2772,30	67,94	27,4	93,57	6,95	271,70
31.07.09	28,7	0,70	158,90	45,60	1,12	27,81	96,91	8,64	216,94
01.08.09	27,0	0,66	53,09	14,35	0,35	16,67	103,65	6,44	278,55
02.08.09	34,6	0,85	74,01	25,59	0,63	11,63	114,94	7,44	271,41
03.08.09	24,7	0,61	7,14	1,76	0,04	20,93	100,91	6,09	256,03
04.08.09	28,7	0,70	5,49	1,57	0,04	15,32	95,21	5,40	300,36
05.08.09	22,7	0,56	3,73	0,85	0,02	33,37	50,03	5,43	348,80
06.08.09	21,8	0,54	1,13	0,25	0,01	24,93	55,70	5,28	319,40
07.08.09	21,7	0,53	2,06	0,45	0,01	20,43	65,53	5,44	282,03
08.08.09	20,1	0,49	66,36	13,31	0,33	14,2	71,04	6,00	233,33
09.08.09	31,2	0,76	73,80	23,02	0,56	14,75	72,25	6,77	227,11
10.08.09	23,6	0,58	89,61	21,13	0,52	19,87	65,03	6,63	269,75
11.08.09	24,8	0,61	54,34	13,45	0,33	32,65	50,12	5,92	345,15
12.08.09	23,6	0,58	52,84	12,45	0,31	24,25	65,28	5,80	323,93
13.08.09	26,7	0,65	76,83	20,50	0,50	32,44	51,06	5,85	331,93
14.08.09	27,6	0,68	68,96	19,02	0,47	60,14	38,95	6,14	458,98

A téli mintáknak szignifikánsan magasabb ($p = 0,01916$, Welch féle d-próba) az ökototoxicitása, mint a nyári mintáké (11. ábra). A nyári mintáknál az első három mintavételi időpont esetében nem volt kimutatható toxicitás (a legtöményebb koncentráció sem érte el az 50%-os gátlást).

A téli minták magas toxicitás értékeihez jelentősen hozzájárulnak a közúti közlekedésből származó kibocsátások. Budapesten meglehetősen magas a használatban lévő járművek átlagéletkora (10-12 év), amely a közúti közlekedés nagymértékű környezeti terhelését segíti elő.



11. ábra: Az átlagos EC₅₀ értékek a nyári és a téli mintáknál

Ezen felül a téli minták magasabb toxicitása a szintén toxikus hatású fatüzelésből származó kibocsátások magas arányával is magyarázható. Ezzel ellentétben, nyáron a PM_{2,5} széntartalmú frakció fő forrása a másodlagos szerves aeroszolak.

11. táblázat: Téli városi aeroszol minták ökotoxicitás eredményei

Mintavétel időpontja	PM10 [µg/m ³]	m _{aeroszol} [mg]	EC ₅₀ (%)	EC ₅₀ (PM10) (µg/m ³)	EC ₅₀ (mg)	NOx (µg/m ³)	LGS (µg/m ³)	SO ₂ (µg/m ³)	CO (µg/m ³)
20.01.10	91,4	2,24	20,59	18,82	0,46	141,5	1,05	7,24	1326,57
21.01.10	39,4	0,97	39,06	15,40	0,38	40,2	0,71	10,53	825,33
22.01.10	53,9	1,32	15,19	8,18	0,20	48,46	0,97	9,68	883,47
23.01.10	70,8	1,74	10,15	7,19	0,18	77,61	1,61	8,75	1169,46
24.01.10	81,7	2,00	6,44	5,26	0,13	84,52	1,97	7,16	1300,78
25.01.10	65,8	1,61	12,65	8,32	0,20	76,79	1,00	6,25	1116,04
26.01.10	67,9	1,66	12,63	8,58	0,21	87,62	1,61	7,57	1107,23
27.01.10	140,1	3,43	5,21	7,30	0,18	212,12	1,57	21,51	1788,06
28.01.10	94,9	2,33	8,10	7,69	0,19	57,31	1,11	29,83	1119,65
29.01.10	79,6	1,95	22,12	17,61	0,43	47,24	1,14	18,26	1044,53
30.01.10	55,7	1,36	23,50	13,09	0,32	45,58	0,89	18,88	1004,83
31.01.10	32,6	0,80	55,89	18,20	0,45	34,55	0,40	12,05	800,78
01.02.10	34,2	0,84	36,81	12,59	0,31	62,79	1,32	9,95	669,86
02.02.10	67,9	1,66	6,10	4,15	0,10	126,57	1,43	7,77	914,34
03.02.10	75,8	1,86	12,05	9,13	0,22	67,67	1,72	11,57	825,45
04.02.10	52,8	1,29	24,43	12,90	0,32	112,93	1,00	9,53	1021,49
05.02.10	14,4	0,35	38,16	5,51	0,14	34,6	0,73	10,26	670,41
06.02.10	19,1	0,47	82,68	15,78	0,39	25,12	0,63	9,70	550,58
07.02.10	47,9	1,17	41,39	19,82	0,49	44,78	0,85	11,06	660,58
08.02.10	86,7	2,13	19,65	17,04	0,42	103,43	2,05	23,88	941,32
09.02.10	102,4	2,51	10,32	10,56	0,26	123,76	0,92	15,23	1044,36
10.02.10	60,0	1,47	49,27	29,59	0,73	32,63	0,58	12,40	625,42
11.02.10	29,3	0,72	47,12	13,81	0,34	58,1	1,01	7,73	664,05
12.02.10	62,9	1,54	44,56	28,03	0,69	88,52	1,02	9,12	879,95

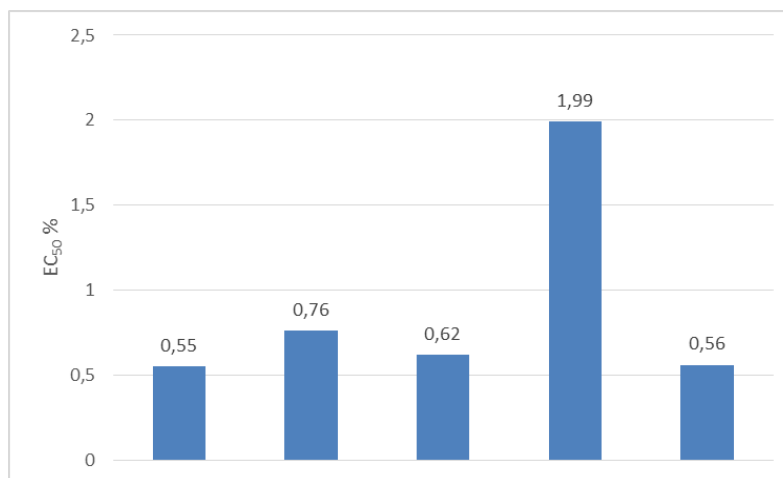
Nyáron a magasabb hőmérséklet miatt lényegesen kevesebb a fellig illékony szerves vegyületek kondenzációja, melyek közül számos erősen toxikus hatású (Reid et al., 1998; Verma et al., 2011). Ezen felül nyáron jelentősen magasabb mértékű a légköri keveredés, amely csökkenti az elsődleges aeroszol részecskék relatív arányát és növeli a légköri transzportot.

Nyáron a biológiai aeroszol részecskék ökotoxicitása nagyobb, mint télen, ez azonban nagy valószínűséggel elhanyagolható mértékű a többi kibocsátó forrás mellett.

Összességében ezen tényezők együttes kombinációja magyarázhatja a nyári mintákhoz képest lényegesen nagyobb EC_{50} értékeket a téli minták esetében.

4.2.3. Biomassza füst ökotoxicitásának meghatározása

Eredményeink alapján a biomassza füst jelentős toxicitást mutatott, már egészen kis koncentrációban is 50%-os biolumineszcencia gátlást okozott (12. ábra). A biomassza égetéséből származó kibocsátások EC_{50} értéke 0,55 és 1,99 között volt. Ez alapján látható, hogy a biomassza égetéséből származó kibocsátások igen magas környezeti terhelést jelentenek.



12. ábra: Biomassza füst ökotoxicitás eredményei

Az eredményeinkből megállapítható, hogy a biomassa füst környezeti terhelése igen jelentős. Összehasonlításképpen közel hasonló terhelést jelent, mint amit a régi EURO-0 emissziós szabvánnyal rendelkező buszoknál tapasztaltunk. Vizsgálataik során Klippel and Nussbaumer (2007) is megállapította, hogy a biomassa égetésből származó aeroszol részecskék toxicitása magasabb volt, mint a dízel kibocsátásokból származó részecskék toxicitása.

A biomassa égetésből származik a PAH vegyületek egy része, amelyek jelentős mértékben hozzájárulnak a környezeti aeroszol részecskék teljes toxicitásához, köszönhetően a rákkeltő és mutagén tulajdonságaiknak (Schauer et al., 2001, 2002; Bostrom et al., 2002; Wenger et al., 2009). A tudósok kimutatták, hogy a főképp fatüzelésből és a nyílt biomassa égetésből kibocsátott úgynevezett "barna szén", egy fontos melegedési tényező az aeroszolok sugárzási kényszerében, amit a legtöbb éghajlati modell nem is korlátoz (Saleh et al., 2014). Keywood et al. (2015) eredményei szintén arra utalnak, hogy fokozott fotokémiai aktivitás fordul elő a füst csóvákban és jelentősen megváltoztatják az aeroszolok összetételét, valamint mikrofizikai tulajdonságait, ami potenciális változást okoz az aeroszolok optikai és így sugárzási tulajdonságaiban.

Ito és Penner (2005), úgy becsülik, hogy a biomassa égetés globális mennyisége (2000-ben) évi 5,6 Pg volt, melyből a PM_{2.5} mennyisége 38,3 Tg.

Fontos lenne, hogy kezeljék a biomassa tüzelésből származó aeroszol kibocsátást, ami csökkentheti a légköri aeroszol terheket, valamint az éghajlat felmelegedés hatásait.

Zhang és Cao (2015) szerint a biomassa tüzelésből származó aeroszol részecskék csökkentését el lehetne érni (1) tisztább üzemanyagok használatával és a kályhákban háztartási bioüzemanyag égetésével; (2) beltéri PM_{2.5} normák kidolgozásával; (3) a nyílt biomassa tüzelésű tevékenységek teljesen betiltásával; (4) a vidéki területeken a nemzeti és regionális légszennyezés csökkentési célok átgondolásával és (5) az intézkedések végrehajtásának megerősítésével mind központi, mind helyi szinten.

4.2.4. Vörösiszap por ökotoxicitásának meghatározása

A reszuszpendált vörösiszap por ökotoxicitásának meghatározása során egyik mintát sem találtuk toxikusnak (az 50% gátlás, még a 100% töménységű minta esetén sem volt kimutatható). Összehasonlítás céljából szintén az Ascent luminométerrel mért három Budapestről (2010 januárjában) gyűjtött $PM_{(10-1)}$ aeroszol minta eredményeivel vetettük össze a vörösiszap por mintáink eredményeit. Ezen minták EC_{50} értékei a 0,064 és 0,23 $mg\ ml^{-1}$ között változtak, tehát toxikusnak bizonyultak már egészen alacsony koncentrációban is.

Megállapíthatjuk, hogy az általunk mért vörösiszap szálló pora nem toxikus. Ez az eredmény több dologgal magyarázható. Egyrészt a vörösiszap szálló porában nincsenek nagyon kis részecskék, mint a városi szálló porban. A becsült átlagos összetétel alapján a fő alkotók ásványos fázisok (hematit, kankrinit) és nincsenek jelen a tüdőrákot okozó azbesztekhez hasonló szálak kristályok, továbbá a vörösiszap porából a városi szálló por veszélyes összetevőinek többsége hiányzik (nanoméretű korom és fémrészecskék; PAH-ok, szerves nitrátok). Ezen felül a nehézfémek koncentrációja nem nagyobb a városi szálló porhoz képest, azok is stabil fázisban, elemhelyettesítésként fordulnak elő (Hoffer, 2011).

Egy korábbi tanulmányban is hasonló eredményt kaptak a vörösiszap por ökotoxicitásának vizsgálata során (Dauvin, 2010). A vörösiszap szálló pora méréseink alapján nem látszik veszélyesebbnek, mint a városi szálló por.

4.3. Mortalitás vizsgálat eredményei *Artemia salina* héj nélküli kistrákon

A mortalitás tesztekhez és az enzimikus tesztekhez a mintáink a Flash rendszerrel is vizsgált 6 eltérő motortípussal rendelkező dízel üzemű busz kipufogógázai voltak

(alapjáraton és gázfröccsel). Az enzimatikus tesztek megelőzően, a sórák szervezeten végzett mortalitási teszteredmények is a Flash rendszeren mérhető trendet mutatattak.

12. táblázat A vizsgált minták A. salina mortalitás teszten mérhető hatása

Modell/Típus	Működés / Fordulatszám	Motor környezetvédelmi besorolása	EC ₅₀ (µg/ml)	SD (µg/ml)
VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjárat (600/min)	Euro 4	184,04	±18,3
	gázfröccs (1500/min)		249,08	±5,7
IKARUS 415.26	alapjárat (600/min)	Euro 1	2,35	±0,17
	gázfröccs (1500/min)		14,53	±0,68
VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjárat (600/min)	Euro 3	29,61	±0,72
	gázfröccs (1500/min)		86,17	±0,69
IKARUS E 95	alapjárat (600/min)	Euro 2	24,9	±0,33
	gázfröccs (1500/min)		27,29	±0,81
CREDO EC12	alapjárat (600/min)	Euro 3	162,3	±4,57
	gázfröccs (1500/min)		297,29	±7
IKARUS 26006	alapjárat (600/min)	Euro 0	10,2	±0,28
	gázfröccs (1500/min)		16,83	±0,73

A Flash rendszerrel mért eredmények és a mortalitás teszt eredmények között ($r = 0,842$, $p = 0,004$, Spearman rangkorreláció) szoros pozitív, szignifikáns kapcsolatot találtunk. Ez esetben is, a felállítható hatássorrend megfelel az EURO besorolásnak megfelelően. Továbbá itt is megfigyelhető volt az ökototoxicitás csökkenése a magasabb fordulatszám mellett vett minták esetében. Ez az eredmény annak köszönhető, hogy a dízelmotorok elsősorban teljes terhelésnél (magasabb fordulatszám) gondoskodnak kielégítő oxigénfeleslegről, ezáltal mintegy 50%-kal csökkentik a koromkibocsátást, továbbá magasabb üzemi hőmérsékleten, a koromrészecskéken adszorbeálódott különböző illékonyaságú szerves vegyületek is deszorbeálódnak, amelyek az ökotoxikus hatásért felelősek. Ezeket az eredményeinket alátámasztják a dízelmotorok kibocsátásából származó aeroszol minták ökototoxicitása és illékonyasága közötti összefüggésekből kapott eredményeink is (4.2.1.2. fejezet).

A tesztrendszer érzékenysége néhány nagyságrenddel elmarad a Flash rendszerétől, azonban a mérhető értékek közti különbségek sokkal kifejezőbbek (12. táblázat).

4.4. Enzimaktivitási vizsgálatok eredményei *Artemia salina* héjnélküli kistrákon

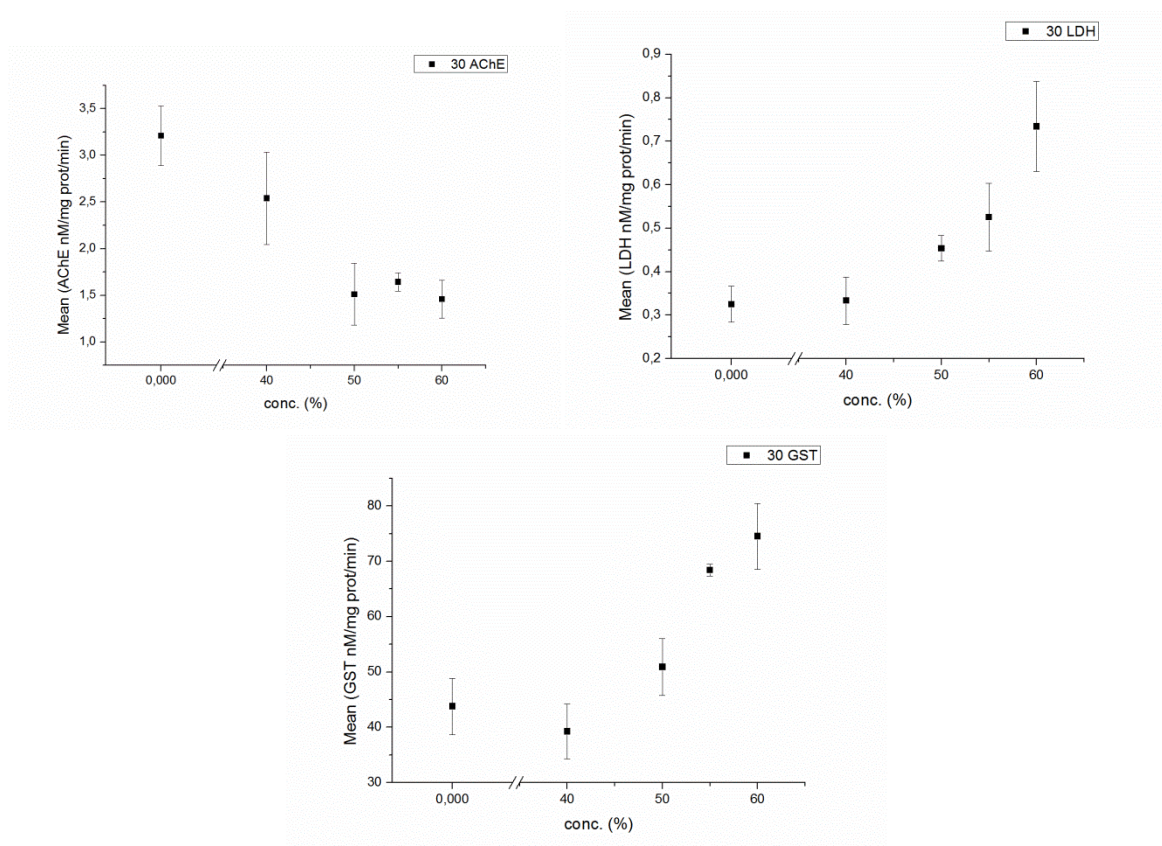
Az enzim-aktivitási vizsgálatok által nyert IC₅₀ értékek szintén azonos trendet mutattak a mortalitási és a *V. fischeri* bakteriális tesztek eredményeivel (13. táblázat). A mortalitási tesztekben magasabb toxicitást mutató minták esetében, nem volt minden esetben megfigyelhető szignifikáns dóziszfüggő válasz mindhárom enzim esetében, sőt az EURO 2 környezetvédelmi besorolású motorból származó aeroszol minták még a PAH-okra jellemzően választ adó enzim, a GST esetében sem váltott ki dóziszfüggő enzimaktivitást.

Jellemző volt az enzimaktivitások mérséklődése, megszűnése a magasabb fordulatszám mellett vett minták esetében, hasonlóan a mortalitási tesztek eredményeihez. A kapott IC₅₀ értékek hasonló nagyságrendbe estek a mortalitási tesztek esetében tapasztalhatókkal.

13. táblázat: A minták hatására létrejött enzim-válaszok (↓: enzimrendszerre kifejtett gátló hatás, ↑: enzimrendszerre kifejtett serkentő hatás, -: nem volt mérhető enzimaktivitás változás)

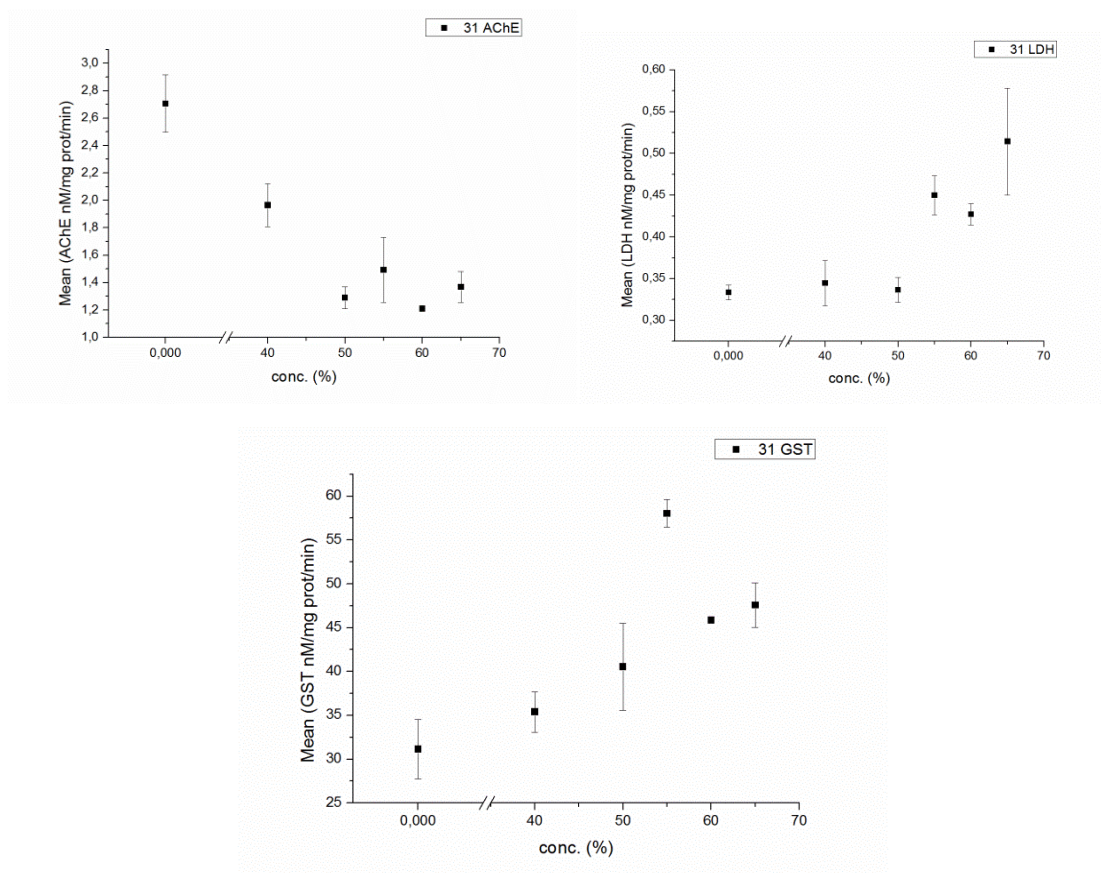
Minta	Modell/Típus	Működés / Fordulatszám	Motor környezetvédelmi besorolása	AChE IC ₅₀ (µg/ml)	SD (µg/ml)	LDH IC ₅₀ (µg/ml)	SD (µg/ml)	GST IC ₅₀ (µg/ml)	SD (µg/ml)
EU0-IK1987-A	IKARUS 26006	alapjárat (600/min)	Euro 0	12,75↓	±0,53	9,12↑	±0,15	12,93↑	±0,22
EU0-IK1987-B		gázfröccs (1500/min)		-	-	-	-	-	-
EU1-IK1997-A	IKARUS 415.26	alapjárat (600/min)	Euro 1	-	-	2,33↑	±0,05	2,33↑	±0,05
EU1-IK1997-B		gázfröccs (1500/min)		-	-	-	-	-	-
EU2-IK2000-A	IKARUS E 95	alapjárat (600/min)	Euro 2	-	-	-	-	-	-
EU2-IK2000-B		gázfröccs (1500/min)		-	-	-	-	-	-
EU3-VO2006-A	VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjárat (600/min)	Euro 3	-	-	26,84↑	±0,13	-	-
EU3-VO2006-B		gázfröccs (1500/min)		85,21↑	±0,47	70,12↑	±0,99	344,76↑	±19,49
EU3-CR2006-A	CREDO EC12	alapjárat (600/min)	Euro 3	180,1↑	±6,79	194,98↑	±2,35	225,35↑	±2,3
EU3-CR2006-B		gázfröccs (1500/min)		296,11↓	±5,265	229,62↑	±4,467	292,69↑	±8,752
EU4-VO2008-A	VOLVO ALFA B12 B Regio	alapjárat (600/min)	Euro 4	262,85↓	±7,63	247,26↑	±2,41	265,95↑	±2,36
EU4-VO2008-B		gázfröccs (1500/min)		279,65↓	±5,27	275,95↑	±5,4	261,56↑	±3,06

Gyakori volt azonban a kevésbé toxikus minták esetében az idegi működés állapotát jelző kolinészteráz enzimrendszerre kifejtett gátló, vagy serkentő hatás megjelenése. Ilyen viselkedést mutattak a tesztek során az EU4-VO2008-A és az EU4-VO2008-B minták, illetve az EU3-CR2006-B minta és az EU0-IK1987-A minta is (13. és 14. ábra, valamint 19. és 20. ábra). Előbbiek ugyanazon gépjárműből származnak és jelentős és szignifikáns kolinészteráz gátlás mellett megfigyelhető volt mind a GST, mind pedig az LDH aktivitás növekedése is. Az LDH aktivitás növekedése sejtkárosodásra, a GST aktivitásának fokozódása pedig a detoxifikációs folyamatok indukciójára utal. Utóbbi két biomarker tekintetében hasonló jelenség volt megfigyelhető az EU3-VO2006-B minta, és az EU3-CR2006-A minta esetében is, azonban a kolinészteráz enzim párhuzamos növekedése az LDH növekedésével erős citotoxikus hatásra utal (Duysen and Lockridge, 2011). Ezen felül hasonló reakciót válthatnak ki szerves foszfátok is szubletális koncentrációk mellett.

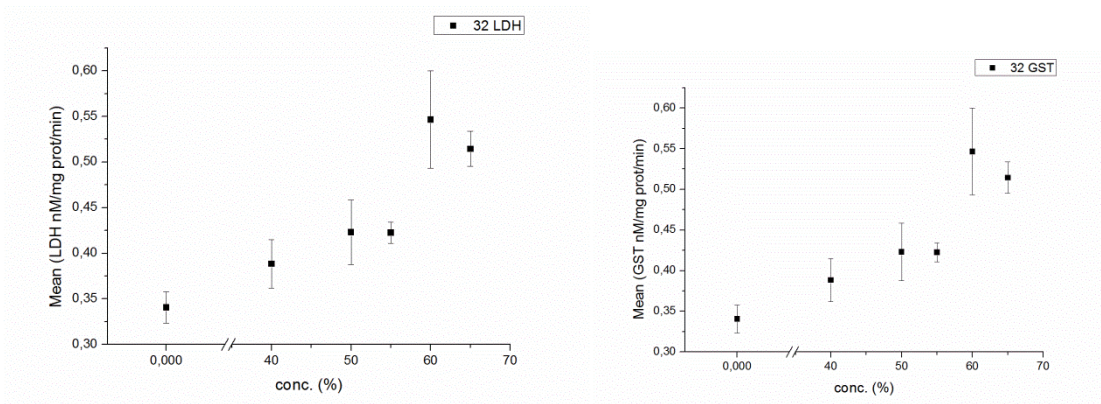


13. ábra. Az EU4-VO2008-A minta hatására adott enzimatisz válaszok az *Artemia salina* tesztszervezeten.

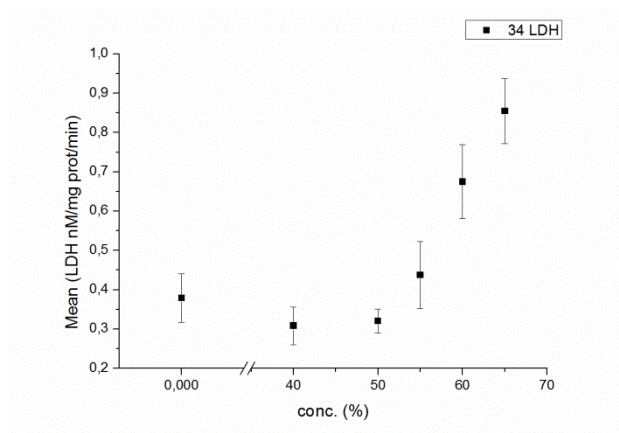
Azon minták esetében, melyek vizsgálata során nem volt mérhető szignifikáns GST és LDH aktivitásváltozás, ugyanakkor magas mortalitási arányt váltottak ki (EU1-IK1997-B, EU2-IK2000-A és az EU2-IK2000-B, illetve az EU0-IK1987-B minták), feltételezhetően a toxikus hatásokért a PAH-októl különböző vegyületek felelősek. Lehetséges továbbá, hogy a magasabb fordulatszám mellett vett minták esetében, a magas hőmérsékleten keletkező PAH-okból származó bomlástermékek okoznak toxikus hatást.



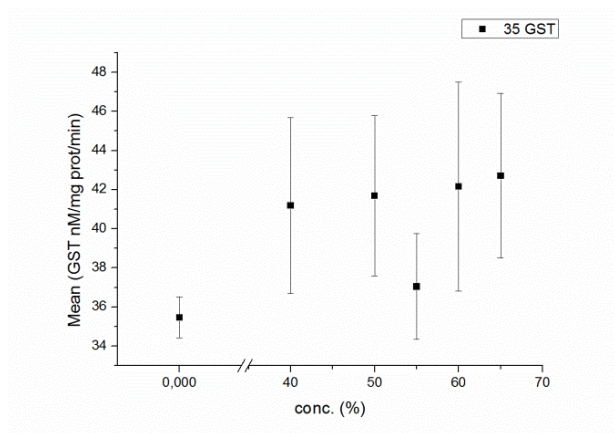
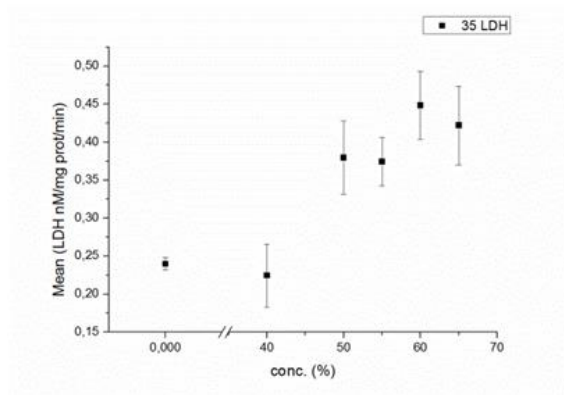
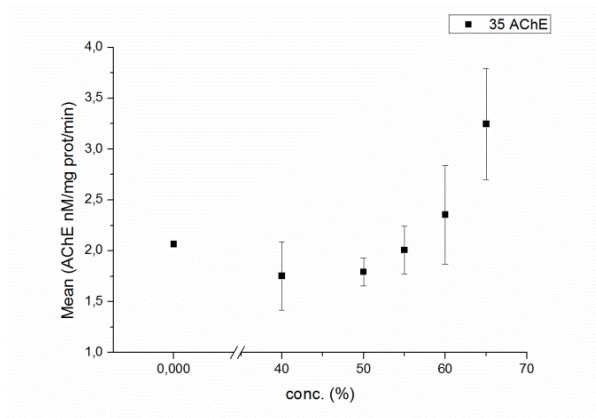
14. ábra: Az EU4-VO2008-B minta hatására adott enzimatikus válaszok az *Artemia salina* testszervezen.



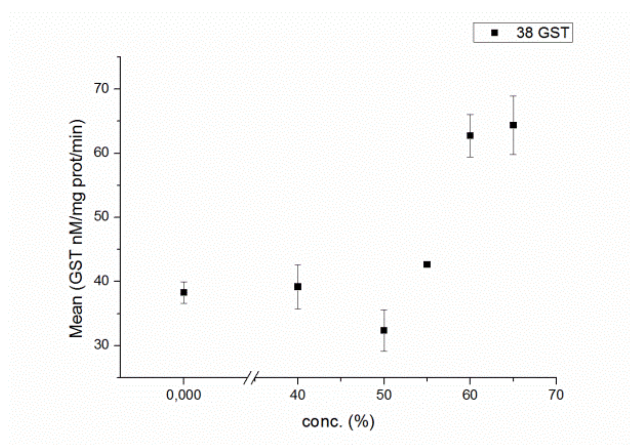
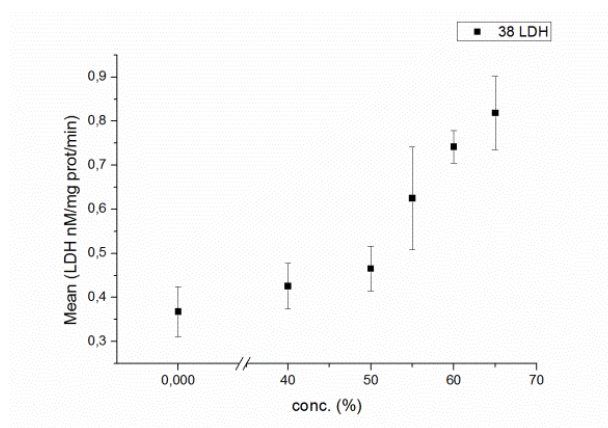
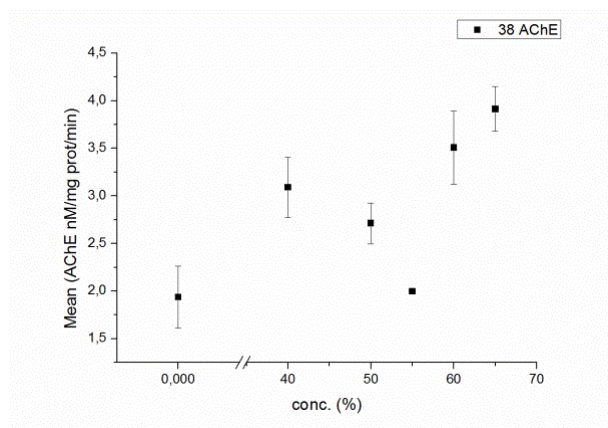
15. ábra: Az EU1-IK1997-A minta hatására adott enzimatisz válaszok az *Artemia salina* tesztszervezeten.



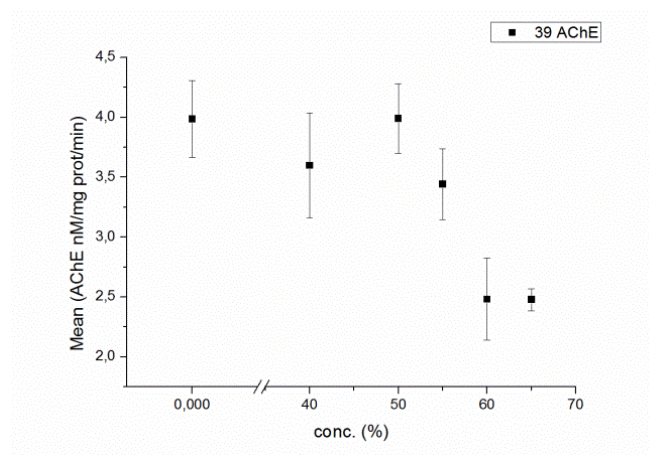
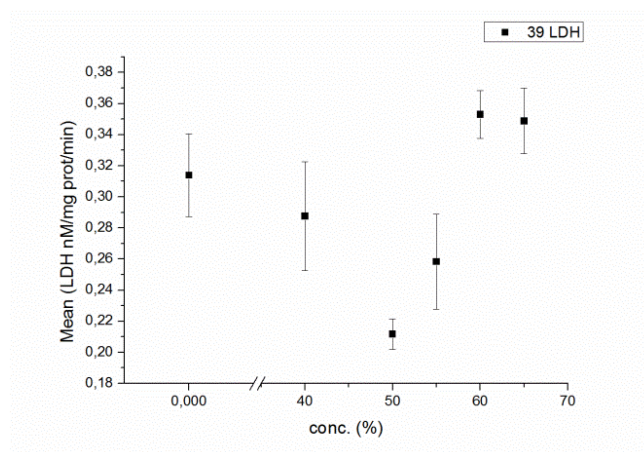
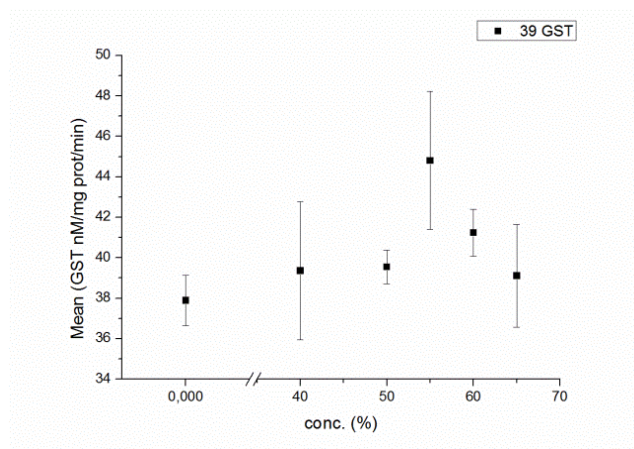
16. ábra: Az EU3-VO2006-A minta hatására adott enzimatisz válaszok az *Artemia salina* tesztszervezeten.



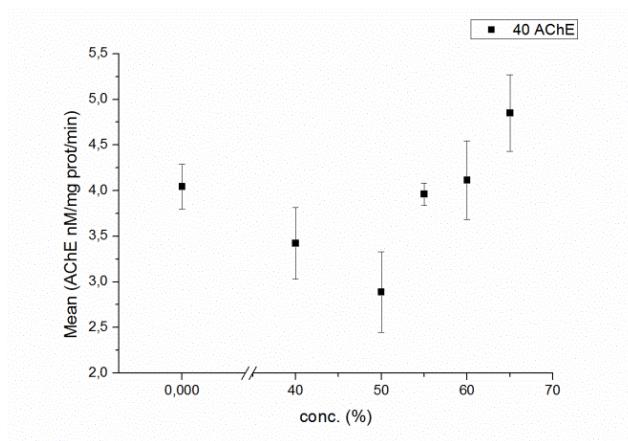
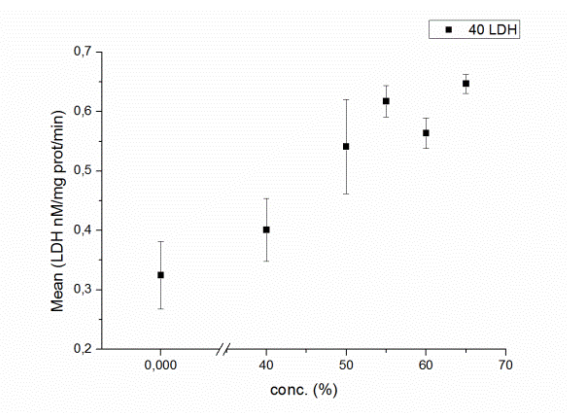
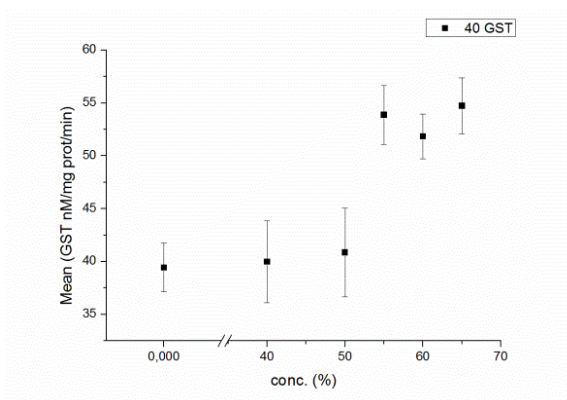
17. ábra: Az EU3-VO2006-B minta hatására adott enzimatiszus válaszok az *Artemia salina* tesztszervezeten.



18. ábra: Az EU3-CR2006-A minta hatására adott enzimatiszus válaszok az *Artemia salina* testszervezetben.



19. ábra: Az EU3-CR2006-B minta hatására adott enzimatisz válaszok az *Artemia salina* testszervezetben.



20. ábra: Az EU0-IK1987-A minta hatására adott enzimatisz válaszok az *Artemia salina* testszervezetén.

4. Eredmények összefoglalása

Munkám során egy új protokollt alkalmaztam (ISO 21338:2010) az aeroszol minták ökototoxicitásának értékelésére, melyet az Ascent luminométerrel (Flash rendszer) végeztem. Továbbá vizsgáltam a teszt alkalmazhatóságát, összehasonlításképpen a ToxAlert luminométert használva, amely egy hazánkban már régóta használt szabványt (MSZ EN ISO 11348- 3:2009) alkalmaz. A két rendszer összehasonlítását PAH mintákon végeztem, melynek során a „standard” rendszer irodalmi ökototoxicitás értékeit vettem össze az általam Flash rendszerrel mért ökototoxicitási értékekkel, melynek során megállapítottuk, hogy nincs nagyságrendi különbség a két módszerrel kapott eredmények között, valamint közepes pozitív korreláció áll fenn az általunk mért eredmények és az irodalmi eredmények között. A ToxAlert®100 luminométer és az Ascent luminométer összevetését aeroszol mintákon is elvégeztem, hogy megbizonyosodjunk a Flash módszer aeroszol mintákon való alkalmazhatóságáról. Eredményeink szerint az általunk alkalmazott protokoll elég érzékenynek bizonyult a különböző aeroszol minták vizsgálatára, továbbá mivel a mérés során az aeroszol részecskék közvetlen érintkeznek a baktériumokkal, egy olyan lehetséges reális expozíciós útvonalat szimulál, amely az aeroszol részecskék és a biológiai rendszerek között bekövetkezik.

Kutatásaink alapján elmondható, hogy a különböző dízel üzemű gépjárművekből és a biomassa füstből származó aeroszol minták bizonyultak leginkább ökotoxikusnak. A dízel emisszió olyan nagy környezeti és egészségügyi kockázatot jelent, amely mielőbbi megoldást követel. Az EURO 0 és EURO 1 emissziós szabvánnyal rendelkező gépjárművek lecserélése EURO 4 szabványú járművekre nagymértékben csökkentené a lehetséges akut egészségügyi és környezeti hatásokat. Eredményeink egyértelműen igazolják annak fontosságát, hogy a szigorúbb kibocsátási előírások bevezetése mielőbb megvalósuljon.

A városi aeroszol minták ökototoxicitásának meghatározása során a téli aeroszol mintákat szignifikánsan toxikusabbnak találtuk ($p = 0,01916$), mint a nyári mintákat.

A Flash rendszerrel mért ökototoxicitás eredményeket összevettem *Artemia salina* héj nélküli kistrákon végzett mortalitás teszt eredményeivel, illetve szintén *A. Salina*

kisrákon végzett enzimikus vizsgálatok eredményeivel, továbbá SOS Chromotesttel mért genotoxicitás eredményekkel. A sórákkal végzett mortalitási teszteredmények is hasonló eredményeket mutattak a Flash rendszeren mérhető eredményekkel, illetve az enzimaktivitási vizsgálatok során kapott eredmények is azonos trendet mutattak a mortalitási és a *V. fischeri* bakteriális tesztek eredményeivel, azonban a tesztrendszerek érzékenysége néhány nagyságrenddel elmaradt a Flash rendszerétől. A genotoxikológiai eredményeink is szignifikáns korrelációt mutattak az ökotoxikológiai eredményeinkkel. Ezek az eredmények megerősítik a Flash rendszer alkalmazhatóságát aeroszol minták ökotoxicitásának elemzésére.

Összefoglalva a kutatási eredményeimet, elmondható, hogy az új protokoll (ISO 21338:2010) jó eredménnyel használható aeroszol minták ökotoxikológiai vizsgálatához, illetve az ennek során alkalmazott saját fejlesztésű mintaelőkészítési eljárás egy nagyon jól alkalmazható mintaelőkészítési módszer az aeroszol minták ökotoxikológiai vizsgálatához.

Irodalomjegyzék

- Aboul-Kassim, T. A. T., Simoneit, B. R. T. (1995) Aliphatic and aromatic hydrocarbons in particulate fallout of Alexandria, Egypt: sources and implications. *Environmental Science & Technology*, 29, 2473–2483.
- Albrecht, B.A. (1989): Aerosols, cloud microphysics, and fractional cloudiness. *Science*, 245, 1227–1230.
- Allen, A. G., Nemitzb, E., Shia, J. P., Harrisona, R. M., Greenwoodc, J. C. (2001): Size distributions of trace metals in atmospheric aerosols in the United Kingdom. *Atmospheric Environment*, 35, 4581–4591.
- Amodio, M., Caselli, M., de Gennaro, G., Tutino, M. (2009): Particulate PAHs in two urban areas of Southern Italy: impact of the sources, meteorological and background conditions on air quality. *Environmental Research*, 109, 812–820.
- Andreae, M. O., Gelencsér, A., (2006): Black carbon or brown carbon? The nature of light-absorbing carbonaceous aerosol. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 6, 3131–3148.
- Andreae, M. O., Rosenfeld, D. (2008): Aerosol–cloud–precipitation interactions. Part 1. The nature and sources of cloud-active aerosols, *Earth-Science Reviews*, 89, 13–41.
- Andreae, M.O., Crutzen, P.J., (1997): Atmospheric aerosols: biogeochemical sources and role in atmospheric chemistry. *Science*, 276, 1052–1058.
- Arsene, F., Tomoyasu, T., Bukau, B. (2000): The heat shock response of *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, 55, 3–9.
- Bagány, M. (2011): Belsőégésű motorok, Typotex Kiadó, Budapest
- Bai, Y, Suzuki, A. K, Sagai, M. (2001): The cytotoxic effects of diesel exhaust particles on human pulmonary artery endothelial cells in vitro: role of active oxygen species. *Free Radical Biology & Medicine*, 30, 555–562.
- Balaton Volán Zrt. (2011): Balaton Volán Zrt. Környezeti Jelentése, Veszprém, pp. 16
- Barakat, A. O. (2002): PAHs and petroleum markers in the atmospheric environment of Alexandria city, Egypt. *Water Air And Soil Pollution*, 139, 289–310.

- Bostrom, C. E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernstrom, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Tornqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R., (2002): Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspectives*, 110, 451-488.
- Bozó, L., Mészáros, E., Molnár, Á. (2006): *Levegőkörnyezet*. Akadémiai Kiadó, Budapest
- Bradford, M. M. (1976): „A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.” *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Brinkmann, M., Hudjetz, S., Kammann, U., Hennig, M., Kuckelkorn, J., Chinoraks, M., Cofalla, C., Wiseman, S., Giesy, J. P., Schäffer, A., Hecker, M., Wölz, J., Schüttrump, H., Hollert, H. (2013): How flood events affect rainbow trout: Evidence of a biomarker cascade in rainbow trout after exposure to PAH contaminated sediment suspensions? *Aquatic Toxicology*, 128– 129, 13– 24.
- Brook, R. D., Brook, J. R., Rajagopalan, S. (2003): Air pollution: the “heart” of the problem. *Current Hypertension Reports*, 5, 32–39.
- Brouwer H., Murphy T., McArdle L., (1990). A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9, 1353-1358.
- Bulich, A., A. (1979): Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In *Aquatic Toxicology*, ASTM 667; Markings, L. L.; Kimerle, R. A., Eds.; American Society for Testing and Materials: Philadelphia, pp. 98-106.
- Cabral, J. P. S. (2010): Water Microbiology. Bacterial Pathogens and Water, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7, 3657-3703.
- Calow, P. (1993): *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Science Ltd.
- Campisi, T., Abbondanzi, F., Casado-Martinez, C., DelValls, T. A., Guerra, R., Iacondini, A. (2005): Effects of sediment turbidity and color on light output measurements for Microtox Basic Solid-Phase Test. *Chemosphere*, 60, 9–15.
- Chang, S. T., Lee, H. J., Gu, M. B. (2004): Enhancement in the sensitivity of an immobilized cell-based soil biosensor for monitoring PAH toxicity. *Sensors and Actuators B*, 97, 272–276.

- Chiang, H-L., Lai, Y-M., Chang, S-Y. (2012): Pollutant constituents of exhaust emitted from light-duty diesel vehicles. *Atmospheric Environment*, 47, 399–406.
- Cho, A. K., Stefano, E., You, Y., Rodriguez, C. E., Schmitz, D. A., Kumagai, Y., Miguel, A. H., Eiguren-Fernandez, A., Kobayashi, T., Avol, E., Froines, J. R. (2004): Determination of four quinones in diesel exhaust particles, SRM 1649, and atmospheric PM_{2.5}. *Aerosol Science and Technology*, 38, 68–81.
- Chow, J. C., Watson, J. G., (2002): Review of PM_{2.5} and PM₁₀ apportionment for fossil fuel combustion and other sources by the chemical mass balance model. *Energy Fuels*, 16, 222–260.
- Chuang, C. C., Penner, J. E., Taylor, K. E., Grossman, A. S., Walton, J. J. (1997): An assessment of the radiative effects of anthropogenic sulfate. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 102, 3761–3778.
- Claeys, M., Graham, B., Vas, Gy., Wang, W., Vermeylen, R., Pashynska, V., Cafmeyer, J., Guyon, P., Andreae, M.O., Artaxo, P., Maenhaut, W., (2004.b): Formation of secondary organic aerosols through photooxidation of isoprene. *Science* 303, 1173–1176.
- Claeys, M., Wang, W., Ion, A.C., Kourtchev, I., Gelencsér, A., Maenhaut, W., (2004.a): Formation of secondary organic aerosols from isoprene and its gas-phase oxidation products through reaction with hydrogen peroxide. *Atmospheric Environment* 38, 4093–4098.
- Claeys, M., Wang, W., Vermeylen, R. Kourtchev, I., Chi, X., Farhat, Y, Surratt, J. D., Gómez-González, Y., Sciare, J., Maenhaut, W.(2010): Chemical characterization of marine aerosol at Amsterdam Island during the austral summer of 2006–2007, *Journal of Aerosol Science*, 41, 13–22.
- Colls, J. (1997): *Air Pollution: An Introduction*. E&FN SPON, Chapman & Hall, London
- Colvile, R.N., Hutchinson, E.J., Mindell, J.S., Warren, R.F. (2001): The transport sector as a source of air pollution. *Atmospheric Environment* 35, 1537-1565
- Council, T. B., Duckenfield, K. U., Landa, E. R., Callender, E. (2004): Tire-wear particles as a source of zinc to the environment. *Environmental Science and Technology*, 38, 4206–4214.

- Curtis, L., Rea, W., Smith-Willis, P., Fenyves, E., Pan, Y. (2006): Adverse health effects of outdoor air pollutants. *International Environment*, 32, 815–830.
- D'Souza, S. F. (2001): Microbial biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 16, 337–353.
- Daresta, B. E., Italiano, F., de Gennaro, G., Trotta, M., Tutino, M., Veronico, P. (2015): Atmospheric particulate matter (PM) effect on the growth of *Solanum lycopersicum* cv. Roma plants. *Chemosphere*, 119, 37–42.
- Dauvin, J.-C. (2010): Towards an impact assessment of bauxite red mud waste on the knowledge of the structure and functions of bathyal ecosystems: The example of the Cassidaigne canyon (north-western Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin* 60, 197-206.
- Davidov, Y., Rozen, R., Smulski, D. R., VanDyk, T. K., Vollmer, A. C., Elsemore, D. A., LaRossa, R. A., Belkin, S. (2000): Improved bacterial SOS promoter::lux fusions for genotoxicity detection. *Mutation Research*, 466, 97–107.
- Day, K. E., Holtze, K. E., Metcalfe-Smith, J. L., Bishop, C. T., Dutka, B. J. (1993): Toxicity of leachate from automobile tires to aquatic biota. *Chemosphere*, 27, 665–675.
- de la Campa, A.M., Pio, C., de la Rosa, J. D., Querol, X., Alastuey, A., González-Castanedo, Y. (2009): Characterization and origin of EC and OC particulate matter near the Doñana National Park (SW Spain). *Environmental Research*, 109, 671–681.
- Decker, T., Lohmann-Matthes, M. L. (1989): A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *Journal of Immunological Methods*, 115, 61-69.
- DeVizcaya-Ruiz, A., Gutiérrez-Castillo, M. E., Uribe-Ramirez, M., Cebrián, M. E., Mugica-Alvarez, V., Sepulvéda, J., Rosas, I., Salinas, E., Garcia-Cuéllar, C., Martínez, F., Alfaro-Moreno, E., Torres-Flores, V., Osornio-Vargas, A., Sioutas, C., Fine, P. M., Singh, M., Geller, M. D., Kuhn, T., Miguel, A. H., Eiguren-Fernandez, A., Schiestl, R. H., Reliene, R., Froines, J. (2006): Characterization and in vitro biological effects of concentrated particulate matter from Mexico City. *Atmospheric Environment*, 40, 583–592.

- Devlin, R. B., Frampton, M.L., Ghio, A. J. (2005): In vitro studies: what is their role in toxicology? *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57, 183–188.
- Diamantino, T. C., Almeida, E., Sores, A. M. V. M., Guilhermino, L. (2001): Lactate dehydrogenase activity as an effect criterion in toxicity tests with *Daphnia magna* straus. *Chemosphere* 45, 553-560.
- Duysen, E. G., Lockridge, O., (2011): Induction of plasma acetylcholinesterase activity in mice challenged with organophosphorus poisons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 255, 214–220.
- EBPI (2009): The SOS-Chromotest kit version 6.4. Instructions for use. Environmental Biodetection Products Inc.
- El-Alawi, Y. S., McConkey, B. J., Dixon, D. G., Greenberg, B. M. (2002): Measurement of short-and long-term toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons using luminescent bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51, 12-21.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, K. D., Featherstone, R. M. (1961): „A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.” *Biochemical Pharmacology* 7, 88–95.
- Elsemore, D. A. (1998): Insertion of promoter region::luxCDABE fusions into the *Escherichia coli* chromosome. *Methods in Molecular Biology*, 102, 97–104.
- Eltzov, E., Pavluchkov, V., Burstin, M., Marks, R. S. (2011): Creation of a fiber optic based biosensor for air toxicity monitoring. *Sensors and Actuators B Chemical*, 155, 859-867.
- Eom, I. C., Rast, C., Veber, A. M., Vasseur, P. (2007): Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 190–205.
- Fairley, D. (1999): Daily mortality and air pollution in Santa Clara County, California: 1989–1996. *Environmental Health Perspectives*, 107,637–641.
- Finney, D. J. (1971): *Probit Analysis*, Third Edition, London: Cambridge University Press.
- Francioni, E., Wagener, A. L. R., Scofield, A. L., Depledge, M. H., Cavalier, B. (2007): Evaluation of the mussel *Perna perna* as a biomonitor of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and effects. *Marine Pollution Bulletin*, 54, 329–338.

- Frasco, M. F., Guilhermino, L. (2002): „Effects of dimethoate and betanaphthoflavone on selected biomarkers of *Poecilia reticulata*.” *Fish Physiology and Biochemistry* 26, 149–156.
- Garg B, Cadle S, Mulawa P, Groblicki P, Laroo C, Parr G (2000): Brake wear particulate matter emissions. *Environmental Science & Technology*, 34, 4463–4469.
- Gelencsér, A. (2004): *Carbonaceous Aerosol, Atmospheric and Oceanographic Sciences Library*, 30, Springer, New York.
- George, S. G. (1994): Enzymology and molecular biology of phaseII xenobiotic-conjugating enzymes in fish. In: Mallins, D.C., Ostrander, G.K.(Eds.), *Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. Lewis Publishers, USA, 37–85.
- Gieré, R., Querol, X. (2010): Solid Particulate Matter in the Atmosphere. *Elements* 6, 215–222.
- Gil, G.-C., Kim, Y.-J., Gu, M.-B. (2002): Enhancement in the sensitivity of a gas biosensor by using an advanced immobilization of a recombinant bioluminescent bacterium. *Biosensors and Bioelectronics*, 17, 427–432.
- Gil, G.-C., Mitchell, R. J., Chang, S.-T., Gu, M.-B. (2000): A biosensor for the detection of gas toxicity using a recombinant bioluminescent bacterium. *Biosensors and Bioelectronics.*, 15, 23–30.
- Graham, B., Mayol-Bracero, O. L., Guyon, P., Roberts, G. C., Decesari, S., Facchini, M. C., Artaxo, P., Maenhaut, W., Köll, P., Andreae M. O. (2002) Water-soluble organic compounds in biomass burning aerosols over Amazonia 1. Characterization by NMR and GC-MS, *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 107, 14-16.
- Griffin, R. J., Cocker, D. R., Seinfeld, J. H. (1999): Incremental aerosol reactivity: application to aromatic and biogenic hydrocarbons. *Environmental Science & Technology*, 33, 2403–2408.
- Gruiz, K., Horváth, B., Molnár, M. (2001): *Környezettoxikológia. Vegyi anyagok hatása az ökoszisztémára*. Műegyetemi Kiadó. Budapest, 1-159.
- Gu, M. B., Chang, S. T. (2001): Soil biosensor for the detection of PAH toxicity using an immobilized recombinant bacterium and a biosurfactant. *Biosensors & Bioelectronics*, 16, 667–674.

- Gualtieri, M., Andrioletti, M., Mantecca, M., Vismara, C., Camatini, C. (2005a): Impact of tire debris on *in vitro* and *in vivo* systems. *Particle and Fibre Toxicology*, 2:1
- Gualtieri, M., Andrioletti, M., Vismara, C., Milani, M., Camatini, M. (2005b): Toxicity of tire debris leachates. *Environment International* 31, 723–730.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., Jakobi, W. B. (1974): Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry* 249, 7130-7139.
- Hallquist, M., Wangberg, I., Ljungstrom, E., Barnes, I., and Becker, K. H. (1999): Aerosol and product yields from NO₃ radical-initiated oxidation of selected monoterpenes. *Environmental Science & Technology*, 33, 553-559.
- Han, L., Zhuang, G., Cheng, S., Wang, Y., Li, J. (2007): Characteristics of re-suspended road dust and its impact on the atmospheric environment in Beijing. *Atmospheric Environment*, 41, 7485-7499.
- Harkey, G. A., Young, T. M. (2000): Effect of soil contaminant extraction method in determining toxicity using the Microtox® assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19, 276–282.
- Hartwell, S. I., Jordahl, D. M., Dawson, E. O. (2000): The effect of salinity on tire leachate toxicity. *Water, Air and Soil Pollution*, 121, 119–131.
- Heinlaan, M., Kahru, A., Kasemets, K., Kurvet, I., Waterlot, C., Sepp, K., Dubourguier, H.-C., Douay, F. (2007): Rapid screening for soil ecotoxicity with a battery of luminescent bacteria tests. *Alternatives to Laboratory Animals*, 35, 101-110.
- Heyder, J., Gebhardt, J., Rudolf, G., Schiller, C. F., Stahlhofen, W. (1986): Deposition of particles in the human respiratory tract in the size range of 0.005–15 mm. *Journal of Aerosol Science*, 17, 811–825.
- Highwood E., J., and Kinnersley (2006): When smoke gets in our eyes: The multiple impacts of atmospheric black carbon on climate, air quality and health. *Environment International* 32, 560–566
- Hinds, W. C. (1982): *Aerosol technology, properties, behaviour and measurement of airborne particles*, John Wiley and Sons, New York

- Hirrmann, D., Loibner, A. P., Braun, R., Szolar, O. H. J. (2007): Applicability of the bioluminescence inhibition test in the 96-well microplate format for PAH-solutions and elutriates of PAH-contaminated soils. *Chemosphere*, 67, 1236–1242.
- Hoffer, A. (2011): A vörösiszap kiporzásából származó aeroszol tulajdonságai és potenciális egészségügyi hatásai. Vörösiszap Katasztrófa Következmények és Tapasztalatok. A Magyar Tudományos Akadémia és a Belügyminisztérium Országos Katasztrófavédelmi Főigazgatóság Konferenciája, Magyar Tudományos Akadémia, 2011. március 1.
- Horvath, H., (1992): Effects on visibility, weather and climate. Atmospheric acidity. Sources, consequences and abatement. In: M. Radojevic, and R. M. Harrison (eds.). Elsevier Applied Science. London and New York. pp. 435-466.
- Hubert, J. J. (1980): Bioassay. Dubuque, Iowa: Kendall/Hunt Publishing
- Hubert, J. J., Shock, J. P. (1984): Probit: an interactive program in BASIC for probit analysis. Statistical Series No. 1984-160, Univ. of Guelph, Ontario, Canada.
- Ikeda, S., Oikawa, M., Sekine, Y. (2009): Biomonitoring of indoor particle contamination by detection of bioluminescence reduction of marine bacterium *Vibrio fischeri*. In ICCAS-SICE, IEEE, 4486-4489.
- Isidori, M., Ferrara, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Parrella, A. (2003): In situ monitoring of urban air in Southern Italy with the tradescantia micronucleus bioassay and semipermeable membrane devices (SPMDs), *Chemosphere*, 52, 121–126.
- ISO (2010): ISO 21338:2010: Water quality - Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* /kinetic luminescent bacteria test/
- Ito, A., Penner, J. E. (2005): Historical emissions of carbonaceous aerosols from biomass and fossil fuel burning for the period 1870-2000. *Global Biogeochemical Cycles* 19, GB2028.
- IUPAC (1997): Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).
- Jaenicke, R. (1978) Über die Dynamik atmosphärischer Aitkenteilchen. *Berichte Bunsengesellschaft Physikalische Chemie* 82, 1198–1202.

- Jakober, C. A., Riddle, S. G., Robert, M. A., Destailats, H., Charles, M. J., Green, P. G., Kleeman, M. J. (2007): Quinone emissions from gasoline and diesel motor vehicles. *Environmental Science & Technology*, 41, 4548–4554.
- Jancsek-Turóczy, B., Hoffer, A., Nyíró-Kósa, I., Gelencsér, A. (2013): Sampling and characterization of resuspended and respirable road dust. *Journal of Aerosol Science*, 65, 69-76.
- Junge, C. E. (1963) *Air chemistry and radioactivity*. Academic Press, New York.
- Kakasi, B. (2012): Dízel üzemű gépjárművek kipufogó gázainak ökotoxikológiai és genotoxikológiai vizsgálata, Szakmai összefoglaló TÁMOP-Tehetség gondozás pályázatra
- Kamens, R., Jang, M., Chien, C.-J., Leach, K. (1999): Aerosol formation from the reaction of α -pinene and ozone using a gas-phase kinetics-aerosol partitioning model. *Environmental Science & Technology*, 33, 1430–1438.
- Kappos, A. D. (2010): Health Risks of Urban Airborne Particles. In: Wiseman, C. L. S., Zereini, F. (Eds): *Urban Airborne Particulate Matter*, Springer, Berlin. 527-553.
- Karoly, E. D., Li, Z., Dailey, L. A., Hyseni, X., Huang, Y. C. (2007): Up-regulation of tissue factor in human pulmonary artery endothelial cells after ultrafine particle exposure. *Environmental Health Perspectives*, 115, 535–540.
- Katsouyanni K, Touloumi G, Samoli E, Petasakis Y, Analitis A, Le Tertre A, Rossi, G., Zmirou, D., Ballester, F., Boumghar, A., Anderson, H.R., Wojtyniak, B., Paldy, A., Braustein, R., Pekkanen, J., Schindler, C., Schwartz, J. (2003): Sensitivity analysis of various models of short-term effects of ambient particles on total mortality in 29 cities in APHEA2. In: *Revised analyses of time-series of Air Pollution and Health. Special Report*, Health Effects Institute, Boston, 157–164.
- Keyword, M., Cope, M., Meyer, C. P. M., Iinuma, Y., Emmerson, K. (2015): When smoke comes to town: The impact of biomass burning smoke on air quality, In press, doi:10.1016/j.atmosenv.2015.03.050
- Kim, B. C., Park, K. S., Kim, S. D., Gu, M. B. (2003): Evaluation of a high throughput toxicity biosensor and comparison with a *Daphnia magna* bioassay. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 821-826.

- Kittelson, D. B., Watts, W. F., Johnson, J. P. (2006): On-road and laboratory evaluation of combustion aerosols—Part1: Summary of diesel engine results. *Aerosol Science*, 37, 913–930.
- Klaver, A., Formenti, P., Caquineau, S., Chevaillier, S., Ausset, P., Calzolari, G., Osborne, S., Johnson, B., Harrison, M., and Dubovik, O. (2011): Physico-chemical and optical properties of Sahelian and Saharan mineral dust: in situ measurements during the GERBILS campaign, *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 137, 1193-1210.
- Kleeman, M., Schauer, J., Cass, G. (2000): Size and composition distribution of fine particulate matter emitted from motor vehicles. *Environmental Science & Technology*, 34, 1132–1142.
- Klippel, N., Nussbaumer, T. (2007): Health relevance of particles from wood combustion in comparison to diesel soot, 15th European Biomass Conference and Exhibition, Berlin, 7–11 May
- Komori, K., Miyajima, S., Tsuru, T., Fujii, T., Mohri, S., Ono, Y., Sakai, Y. (2009): A rapid and simple evaluation system for gas toxicity using luminous bacteria entrapped by a polyion complex membrane. *Chemosphere*, 77, 1106–1112.
- Kováts, N., Ács, A., Kovács, A., Ferincz, Á., Turóczy, B., Gelencsér, A. (2012): Direct contact test for estimating the ecotoxicity of aerosol samples, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 284–287.
- Krifaton, C., Kriszt, B., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Szucs, A., Kukolya, J. (2011): Analysis of aflatoxin-B1-degrading microbes by use of a combined toxicity-profiling method. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 726, 1-7.
- Krifaton, C., Kukolya, J., Szoboszlay, S., Cserhádi, M., Szűcs, Á., Kriszt, B. (2010): Adaptation of bacterial biotests for monitoring mycotoxins. In: Popov, V.; Brebbia, C. A. (Eds), *Environmental toxicology III*, Wessex Institute of Technology, UK, 143-153.
- Kulmala, M., (2003): How particles nucleate and grow? *Science* 302, 1000–1001.

- Kunzli, N., Jerrett, M., Mack, W. J., Beckerman, B., LaBree, L., Gilliland, F., Thomas, D., Peters, J., Hodis, H. N. (2005): Ambient air pollution and atherosclerosis in Los Angeles. *Environmental Health Perspectives*, 113, 201–206.
- Kupiainen K, Tervahattu H, Raeisaenen M, Maekelae T, Aurela M, Hillamo R (2005): Size and composition of airborne particles from pavement wear, tires, and traction sanding. *Environmental Science & Technology*, 39, 699–706.
- Künzli, N., Kaiser, R., Medina, S., Studnicka, M., Chanel, O., Filliger, P., Herry, M., Horak Jr., F., Puybonnieux-Textier, V., Quenel, P., Schneider, J., Seethaler, R., Vergnaud, J.-C., Sommer, H., (2006): Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet* 356, 795–801.
- Lappalainen, J., Juvonen, R., Nurmi, J., Karp M. (2001): Automated color correction method for *Vibrio fischeri* toxicity test. Comparison of standard and kinetic assays. *Chemosphere* 45: 635-641.
- Lappalainen, J., Juvonen, R., Vaajasaari, K., Karp, M.. (1999): A new flash method for measuring the toxicity of solid and colored samples. *Chemosphere* 38(5): 1069-1083.
- Ledda, C., Rapisarda, V., Bracci, M., Proietti, L., Zuccarello, M., Fallico, R., Fiore, M., Ferrante, M. (2013): Professional exposure to basaltic rock dust: assessment by the *Vibrio fischeri* ecotoxicological test. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 8, 23.
- Lee, H. J., Villaume, J., Cullen, D. C., Kima, B. C., Gu, M.B. (2003): Monitoring and classification of PAH toxicity using an immobilized bioluminescent bacteria. *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 571-577.
- Li, N., Kim, S., Wang, M., Froines, J., Sioutas, C., Nel, A. (2002): Use of a stratified oxidative stress model to study the biological effects of ambient concentrated and diesel exhaust particulate matter. *Inhalation Toxicology*, 14, 459–486.
- Li, N., Sioutas, C., Cho, A., Schmitz, D., Misra, C., Sempf, J., Wang, M., Oberley, T., Froines, J., Nel, A. (2003): Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environmental Health Perspectives*, 111, 455–460.
- Li, N., Venkatesan, M. I., Miguel, A., Kaplan, R., Gujuluva, C., Alam, J., Nel, A. (2000): Induction of heme oxygenase-1 expression in macrophages by diesel exhaust

- particle chemicals and quinones via the antioxidant-responsive element. *Journal of Immunology*, 165, 3393–3401.
- Lighty, J. S., Veranth, J. M., Sarofim, A. F. (2000): Combustion aerosols: factors governing their size and composition and implications to human health. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 50, 1565–1618.
- Lim, M. C. H., Ayoko, G. A., Morawska, L., Ristovski, Z. D., Jayaratne, E. R. (2005): Effect of fuel composition and engine operating conditions on polycyclic aromatic hydrocarbon emissions from a fleet of heavy-duty diesel buses. *Atmospheric Environment*, 39, 7836-7848.
- Lin, T. C., Chao M. R. (2002): Assessing the influence of methanol-containing additive on biological characteristics of diesel exhaust emissions using microtox and mutatox assays. *The Science of the Total Environment*, 284, 61-74.
- Ma, X. Y., Wang, X. C., Ngo, H. H., Guo, W., Wu, M. N., Wang, N. (2014): Bioassay based luminescent bacteria: interferences, improvements, and applications. *Science of The Total Environment*, 468-469, 1-11.
- Magyar, P., 1998. A tüdő és a légzőrendszer anatómiája. Magyar, P., Hutás, I., Vastag, E. (szk.), *Pulmonológia*, 3–13., Medicina, Győr.
- Mahowald, N. M., Kloster, S., Engelstaedter, S., Moore, J. K., Mukhopadhyay, S., McConnell, J. R., Albani, S., Doney, S. C., Bhattacharya, A., Curran, M. A. J., Flanner, M. G., Hoffman, F. M., Lawrence, D. M., Lindsay, K., Mayewski, P. A., Neff, J., Rothenberg, D., Thomas, E., Thornton, P. E., Zender, C. S. (2010): Observed 20th century desert dust variability: impact on climate and biogeochemistry, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 10, 10875-10893.
- Mantecca, P., Gualtieri, M., Andrioletti, M., Bacchetta, R., Vismara, C., Vailati, G., Camatini, M. (2007): Tire debris organic extract affects *Xenopus* development. *Environment International*, 33, 642–648.
- Marigómez, I., Soto, M., Cancio, I., Orbea, A., Garmendia, L., Cajaraville, M. P. (2006): Cell and tissue biomarkers in mussel and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). *Marine Pollution Bulletin*, 53, 287–304.

- Marwood, C., McAtee, B., Kreider, M., Ogle, R. S., Finley, B., Sweet, L., Panko, J. (2011): Acute aquatic toxicity of tire and road wear particles to alga, daphnid, and fish. *Ecotoxicology*, 20, 2079–2089.
- Mazzarella, G., Ferraraccio, F., Prati, M. V., Annunziata, S., Bianco, A., Mezzogiorno, A., Liguori, G., Angelillo, I. F., Cazzola, M. (2007): Effects of diesel exhaust particles on human lung epithelial cells: An in vitro study. *Respiratory Medicine*, 101, 1155–1162.
- Merck (2000): ToxAlert® 100 Operating Manual, Darmstadt, Germany
- Mészáros, E. (1997): *Levegőkémia*, Veszprémi Egyetemi Kiadó
- Mészáros, E. (2001): *A környezettudomány alapjai*. Akadémiai Kiadó
- Minjares, R., Blumberg, K., Sanchez, F. P. (2013): Alignment of policies to maximize the climate benefits of diesel vehicles through control of particulate matter and black carbon emissions, *Energy Policy*, 54, 54–61.
- Mitra, A.P., Morawska, L., Sharma, C., Zhang, J., (2002): Chapter two: methodologies for characterisation of combustion sources and for quantification of their emissions. *Chemosphere* 49, 903–922.
- Molnár, Á., Gácsér, V. (2011): Látótávolság és légszennyezettség, *Repüléstudományi közlemények különszám 2011/2*, 2011. április 15.
- Moosmüller H., Gillies J., Rogers C., DuBois D., Chow J., Watson J., Langston R. (1998): Particulate emission rates for unpaved shoulders along a paved road. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 5, 398–407.
- Moriarty, F., (1983): *Ecotoxicology*. Second Edition. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publishers.
- Mortimer, M., Kasemets, K., Heinlaan, M., Kurvet, I., Kahru, A. (2008): High throughput kinetic *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for study of toxic effects of nanoparticles. *Toxicology in Vitro*, 22, 1402-1417.
- Mostafa, A. R., Hegazi, A. H., El-Gayar, M. S., Andersson, J. T. (2009) Source characterization and the environmental impact of urban street dusts from Egypt based on hydrocarbon distributions. *Fuel*, 88, 95–104.

- MSZ EN ISO 11348- 3:2009: Vízminőség. Vízminták gátló hatásának meghatározása a *Vibrio fischeri* fénykibocsátására (lumineszcensbaktérium- teszt). 3. rész: Vizsgálat fagyasztva szárított baktériumokkal szabványok alapján)
- MSZ EN ISO 11348-1:2009: Vízminőség. Vízminták gátló hatásának meghatározása a *Vibrio fischeri* fénykibocsátására (lumineszcensbaktérium- teszt). 1. rész: Vizsgálat frissen előkészített baktériumokkal
- MSZ EN ISO 11348-2:2009: Vízminőség. Vízminták gátló hatásának meghatározása a *Vibrio fischeri* fénykibocsátására (lumineszcensbaktérium- teszt). 2. rész: Vizsgálat folyadékból szárított baktériumokkal
- Mulawa P, Cadle S, Knapp K, Zweidinger R, Snow R, Lucas R, Goldbach J (1997): Effect of ambient temperature and E-10 fuel on primary exhaust particulate matter emissions from light-duty vehicles. *Environmental Science & Technology*, 31, 1302–1307.
- Nagy, G. (2009): Bioszenzorok, a szelektív kémiai érzékelők ígéretes csoportja. Fejlődésük, alkalmazásuk lehetőségei és korlátai. In: Nagy Endre (Ed) et al., Műszaki Kémiai Napok 2009 konferencia kiadvány, Veszprém, 2009. április 21-23., Pannon Egyetemi Kiadó, 2-3.
- Nahrgang, J. Camus, L., Gonzalez, P., Goksøyr, A., Christiansen, J.B., Hope, H. (2009): PAH biomarker responses in polar cod (*Boreogadus saida*) exposed to benzo(a)pyrene. *Aquatic Toxicology*, 94, 309–319.
- Nelson, S. M., Mueller, G., Hemphill, D. C. (1994): Identification of tire leachate toxicants and a risk assessment of water quality effects using tire reefs and canals. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52, 574–581.
- Nicholson K, Branson J, Giess P, Cannell R (1989): The effects of vehicle activity on particle resuspension. *Journal of Aerosol Science* 20, 1425–1428.
- Nishioka M. G., Petersen B., Lewtas J. (1983): Comparison of nitro-aromatic content and direct-acting mutagenicity of passenger car engine emissions, in: D. Rondia (Ed.), *Mobile Source Emissions Including Polycyclic Organic Species*, D. Reidel Publishing Co., Dordrecht; 197-210.
- Nylund L, Hakala E, Sorsa M. (1992): Application of a semi-automated SOS chromotest for measuring genotoxicities of complex environmental mixtures containing

- polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 276, 125–132.
- Oberdörster, G., Oberdörster, E., Oberdörster, J. (2005): Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives* 113, 823–839.
- Ondov, J. M.; Biermann, A.-H. (1980): Physical and chemical characterization of aerosol emissions from coal-fired power plants. *Environmental and Climate Impact of Coal Utilization, Aerosol Emissions from coal Plants* (eds.: Sigh J. J. and Deepak A), pp. 1-17., Academic Press, New York
- Pacyna, J. M., (1998): Source inventories for atmospheric trace metals. In: *Atmospheric Particles*, Harrison, R. M. and Grieken, R. V. Eds. Wiley, Chichester UK, 385 – 424.
- Papadimitriou, C. A., Haritou, I., Samaras, P., and Zouboulis, A. I.: Evaluation of leaching and ecotoxicological properties of sewage sludge-fly ash mixtures, *Environ. Res.*, 106, 340–348, 2008.
- Patra, A., Colville, R., Arnold, S., Bowen, E., Shallcross, D., Martin, D., Price, C., Tate, J., ApSimon, H., Robins, A. (2008) On street observations of particulate matter movement and dispersion due to traffic on an urban road. *Atmospheric Environment*, 42, 3911-3926.
- Peakall, D. (1992): *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*. Chapman & Hall, London.
- Perrone, M.G., Gualtieri, M., Ferrero, L., Porto, C.L., Udisti, R., Bolzacchini, E., Camatini, M., (2010): Seasonal variations in chemical composition and in vitro biological effects of fine PM from Milan. *Chemosphere*, 78, 1368–1377.
- Peters, A., Dockery, D., Muller, J., Mittleman, M. A. (2001): Increased particulate air pollution and the triggering of myocardial infarction. *Circulation*, 103, 2810–2815.
- Peters, A., Wichmann, H. E., Tuch, T., Heinrich, J., Heyder, J. (1997): Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 155, 1376–1383.
- Pilinis, C., Pandis, S. N., and Seinfeld, J. H., (1995): Sensitivity of direct climate forcing by atmospheric aerosol to aerosol-size composition. *Journal of Geophysical Research*, 100, 18739–19754.

- Polichetti, G., Cocco, S., Spinali, A., Trimarco, V., Nunziata, A. (2009): Effects of particulate matter (PM₁₀, PM_{2.5} and PM₁) on the cardiovascular system. *Toxicology*, 261, 1–8.
- Pollumaa, L., Kahru, A., Eisentrager, A., Reiman, R., Maloveryan, A., Ratsep, A. (2000): Toxicological investigations of soils with the solid-phase Flash assay: comparison with other ecotoxicological tests. *Alternatives to Laboratory Animals*, 28, 461-472.
- Pollumaa, L., Kahru, A., Manusadzianas, L. (2004): Biotest- and chemistry-based hazard assessment of soils, sediments, and solid wastes. *Journal of Soils and Sediments*, 4, 267-275.
- Preuss, R., Angerer, J., Drexler, H. (2003): Naphthalene—an environmental and occupational toxicant. *International Archives for Occupational and Environmental Health*, 76, 556–576.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., Lamantia, A. S., McNamara, J. O., (2004). In D. Purves, G. J. Augustine, D. Fitzpatrick, W. C. Hall, A. S. Lamantia, J. O. McNamara, *Neuroscience (Third Edition)* (129-135 pp). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Quillardet P, Huisman O, D’Ari R, Hofnung M. (1982): SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proceedings of National Academy Science of the USA*, 79, 5971 – 5975.
- Raes, F, Dingenen R..V., Vignati, E., Wilson, J., Putaud J. P., Seinfeld, J. H., Adams, P (2000): Formation and cycling of aerosols in the global troposphere. *Atmospheric Environment* 34, 4215–4240.
- Ramanathan, V., Crutzen, P. J., Kiehl, J. T., Rosenfeld D. (2001): Aerosols, climate, and the hydrological cycle. *Science*, 294, 2119-2124.
- Regional Office for Europe, Copenhagen, DK
- Ripp, S., Nivens, D. E., Werner, C., Sayler, G. S. (2000): Bioluminescent most-probable-number monitoring of a genetically engineered bacterium during a long-term contained field release. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 736–741.
- Rogge W, Hildemann L, Mazurek M, Cass G, Simoneit B (1993b): Sources of fine organic aerosol: 3. Road dust, tire debris, and organometallic brake lining dust: roads as sources and sinks. *Environmental Science & Technology*, 27, 1892–1904.

- Rogge, W. F., Hildemann, L., Mazurek, M. A., Cass, G. R., Simoneit, B. R. T. (1993a): Sources of fine organic aerosol: 2. Non-catalyst and catalyst-equipped automobiles and heavy duty diesel trucks. *Environmental Science and Technology* 27, 636-651.
- Rogge, W. F., Mazurek, M. A., Hildemann, L. M., Cass, G. R., Simoneit, B. R. T. (1993): Quantification of urban organic aerosols at a molecular level: Identification, abundance and seasonal variation *Atmospheric Environment*, 27 A, 1309–1330.
- Roig, N., Sierra, J., Rovira, J., Schuhmacher, M., Domingo, J.L., Nadal, M. (2013). In vitro tests to assess toxic effects of airborne PM₁₀ samples. Correlation with metals and chlorinated dioxins and furans. *Science of the Total Environment*, 443, 791–797.
- Rosen, H., Hansen, A. D. A., Gundel, L., Novakov, T. (1978): Identification of the optically absorbing component in urban aerosols, *Applications of Interval Computations*, 17, 3859–3861.
- Rothen-Rutishauser, B., Blank, F., Mühlfeld, C., Gehr, P. (2008): In vitro models of the human epithelial airway barrier to study the toxic potential of particulate matter. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 4, 1075–1089.
- Sagebiel J, Zielinska B, Walsh P, Chow J, Cadle S, Mulawa P, Knapp K, Zweidinger R (1997): PM-10 exhaust samples collected during IM-240 dynamometer tests of in service vehicles in Nevada. *Environmental Science & Technology*, 31, 75–83.
- Saleh, R., Robinson, E. S., Tkacik, D. S., Ahern, A. T., Liu, S., Aiken, A. C., Sullivan, R. C., Presto, A. A., Dubey, M. K., Yokelson, R. J., Donahue, N. M., Robinson, A. L., (2014): Brownness of organics in aerosols from biomass burning linked to their black carbon content. *Nature Geoscience* 7, 647-650.
- Sayler, G. S., Cox, C. D., Burlage, R., Ripp, S., Nivens, D. E., Werner, C., Ahn, Y., Matrubutham, U. (1999): Field application of a genetically engineered microorganism for polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation process monitoring and control. In: Fass, R., Flashner, Y., Reuveny, S. (Eds.), *Novel Approaches for Bioremediation of Organic Pollution*. Kluwer Academic/Plenum Press, NewYork, 241–254.
- Schauer J, Rogge W, Hildemann L, Mazurek M, Cass G, Simoneit B (1996): Source apportionment of airborne particulate matter using organic compounds as tracers. *Atmospheric Environment*, 30, 3837–3855.

- Schauer, J. J., Kleeman, M. J., Cass, G. R., Simoneit, B. R. (2001): Measurement of emissions from air pollution sources. 3. C1-C29 organic compounds from fireplace combustion of wood. *Environmental Science & Technology* 35, 1716-1728.
- Schauer, J. J., Kleeman, M. J., Cass, G. R., Simoneit, B. R. (2002): Measurement of emissions from air pollution sources. 5. C1-C32 organic compounds from gasolinepowered motor vehicles. *Environmental Science & Technology* 36, 1169-1180.
- Schauer, J. J., Rogge, W. F., Hildemann, L. M., Mazurek, M. A., Cass, G. R. (1996): Source apportionment of airborne particulate matter using organic compounds as tracers. *Atmospheric Environment*, 30, 3837–3855.
- Schuetzle, D., Lee, F. S., Prater, T. J. (1981): The identification of polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) derivatives in mutagenic fractions of diesel particulate extracts. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 9, 93–144.
- Schultz, T. W., Cronin, M. T. D., Walker, J. D., Aptula, A. O. (2003): Quantitative structure-activity relationship (QSARs) in toxicology: a historical perspective. *Journal of Molecular Structure-Theochem*, 622, 1–22.
- Schwartz, J. (1994): Air pollution and daily mortality: a review and meta analysis. *Environmental Research*, 64, 36–52.
- Seinfeld, J. H., Pandis, S. N. (2006): *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*, 2nd edition. John Wiley and Sons, New York
- Seinfeld, J. H., Pandis, S. N., (1998): *Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change*, 1st edition. John Wiley and Sons, New York.
- Silva, V., Pereira, J. L., Campos, I., Keizer, J. J., Gonçalves, F., Abrantes, N. (2014): Toxicity assessment of aqueous extracts of ash from forest fires. In press. doi:10.1016/j.catena.2014.06.021
- Sioutas, C., Delfino, R. J., Singh, M. (2005): Exposure assessment for atmospheric ultrafine particles (UFPs) and implications in epidemiologic research. *Environmental Health Perspectives*, 113, 947–955.
- Smith, S. J., Aardenne, J., Klimont, Z., Andres, R. J., Volke, A., Arias, S.D. (2011): Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11, 1101-1116.

- Snyder, D. C., Rutter, A. P., Worley, C., Olson, M., Plourde, A., Bader, R. C., Dallmann, T., Schauer, J. J., (2010): Spatial variability of carbonaceous aerosols and associated source tracers in two cities in the Midwestern United States. *Atmospheric Environment*, 44, 1597–1608.
- Solomon, P. A., Sioutas, C. (2008): Continuous and semicontinuous monitoring techniques for particulate matter mass and chemical components: a synthesis of findings from EPA's particulate matter supersites program and related studies. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 58, 164–195.
- Sternbeck J, Sjodin A, Andreasson K (2002): Metal emissions from road traffic and the influence of resuspensions. Results from two tunnel studies. *Atmospheric Environment*, 36, 4735–4744.
- Suter, G.W.,(1993): *Ecological risk assessment*. Lewis Publishers.
- Takada, H., Onda, T., Harada, M., Ogura, N. (1991): Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in street dust from the Tokyo Metropolitan area. *Science of the Total Environment*, 107, 45–69.
- Triolo, L., Binazzi, A., Cagnetti, P., Carconi, P., Correnti, A., DeLuca, E., DiBonito, R., Grandoni, G., Mastrantonio, M., Rosa, S., Schimberni, M., Uccelli, R., Zappa, G., (2008): Air pollution impact assessment on agroecosystem and human health characterisation in the area surrounding the industrial settlement of Milazzo (Italy): a multidisciplinary approach. *Environmental Monitoring and Assessment*, 140, 191–209.
- Tung, K. K., Scheibner, B., Miller, T., Bulich, A. A., (1990): A new method for testing soil and sediment samples. Presented at the SETAC Conference
- Twomey, S.A. (1974): Pollution and the planetary albedo. *Atmospheric Environment*, 8, 1251–1256.
- Urakawa H., Garcia, J. C., Barreto, P. D., Molina, G. A., Barreto, J. C. (2012): A sensitive crude oil bioassay indicates that oil spills potentially induce a change of major nitrifying prokaryotes from the archaea to the bacteria. *Environmental Pollution*, 164, 42–45.
- Urbanczyk, H., Ast, J. C., Higgins, M. J., Carson, J. & Dunlap, P. V. (2007): Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio*

- wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57(12): 2823-2829.
- Utell, M. J., Frampton, M. W. (2000): Toxicologic methods: controlled human exposures. *Environmental Health Perspectives*, 108, 605–613.
- Valdman, E., Gutz, I. G. R. (2008): Bioluminescent sensor for naphthalene in air: Cell immobilization and evaluation with a dynamic standard atmosphere generator. *Sensors and Actuators, B* 133, 656–663.
- Valdman, E., Valdman, B., Battaglini, F., Leite, S. G. F. (2004): On-line detection of low naphthalene concentrations by a bioluminescent sensor. *Process Biochemistry*, 39, 1217–1222.
- Vassault, A. (1983): Lactate dehydrogenase. In: Bergmeyer, M.O. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis, Enzymes: Oxireductases, Transferases*, vol.3. Academic Press, New York, 118–126.
- Vassault, A. (1983): *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press
- Verma, V., Rico-Martinez, R., Kotra, N., Rennolds, C., Liu, J., Snell, T. W., Weber, R. J. (2013): Estimating the toxicity of ambient fine aerosols using freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* (Rotifera: Monogononta). *Environmental Pollution*, 182, 379-384.
- Vollmer, A. C., Belkin, S., Smulski, D. R., VanDyk, T. K., LaRossa, R. A. (1997): Detection of DNA damage by use of *Escherichia coli* carrying *recA::lux*, *uvrA::lux*, or *alkA::lux* reporter plasmids. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 2566–2571.
- Vouitsis, E., Ntziachristos, L., Pistikopoulos, P., Samaras, Z., Chrysikou, L., Samara, C., Papadimitriou, C., Samaras, P., Sakellaropoulos, G., (2009): An investigation on the physical, chemical and ecotoxicological characteristics of particulate matter emitted from light-duty vehicles. *Environmental Pollution* 157, 2320-2327.
- Wenger, D., Gerecke, A. C., Heeb, N. V., Hueglin, C., Seiler, C., Haag, R., Naegeli, H., Zenobi, R., (2009): Aryl hydrocarbon receptor-mediated activity of atmospheric particulate matter from an urban and a rural site in Switzerland. *Atmospheric Environment*, 43, 3556-3562.

- Whitby, K. T. (1978) The physical characteristics of sulfur aerosols. *Atmospheric Environment* 12, 135-159.
- WHO (2005): Air quality guidelines—global update 2005. World Health Organisation-
- WHO (World Health Organization) (2006): Air quality guidelines global update 2005. Accessed 2 July 2009.
- Wik, A., Dave, G. (2005). Environmental labeling of car tires toxicity to *Daphnia magna* can be used as a screening method. *Chemosphere*, 58, 645–651.
- Wik, A., Dave, G. (2006). Acute toxicity of leachates of tire wear material to *Daphnia magna* - Variability and toxic components. *Chemosphere*, 64, 1777–1784.
- Wik, A., Dave, G. (2009): Occurrence and effects of tire wear particles in the environment – A critical review and an initial risk assessment. *Environmental Pollution*, 157, 1–11.
- Woodcock, A. H. (1953): Salt nuclei in marine air as a function of altitude and wind force. *Journal of Meteorology*., 10, 362–371.
- Yao, Z., Shen, X., Ye, Y., Cao, X., Jiang, X., Zhang, Y., He, K. (2015): On-road emission characteristics of VOCs from diesel trucks in Beijing, China. *Atmospheric Environment*, 103: 87-93.
- Ye, Z., Zhao, Q., Zhang, M., Gao, Y. (2011): Acute toxicity evaluation of explosive wastewater by bacterial bioluminescence assays using a freshwater luminescent bacterium, *Vibrio qinghaiensis* sp. Nov. *Journal of hazardous materials*, 186, 1351–4.
- Zhang, M., Wang, X., Chen, J., Cheng, T., Wang, T., Yang, X., Gong, Y., Geng, F., Chen, C. (2010): Physical characterization of aerosol particles during the Chinese New Year's firework events. *Atmospheric Environment*, 44, 5191–5198.
- Zhang, Y. L., Cao, F. (2015): Is it time to tackle PM_{2.5} air pollutions in China from biomass-burning emissions?, *Environmental Pollution*, 202, 217-219.
- Zhao, Y., Lin, Z., Jia, R., Li, G., Xi, Z., Wang, D. (2014): Transgenerational effects of traffic-related fine particulate matter (PM_{2.5}) on nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Hazardous Materials*, 274,106–114.

Tézisek

1. A munkacsoportunk által kifejlesztett direkt kontakt tesztet alkalmaztam szilárd fázisú aeroszol minták közvetlen ökotoxicitásának elemzésére. A teszt a szilárd és/vagy színes minták elemzésére kidolgozott ISO 21338:2010: Water quality - Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* /kinetic luminescent bacteria test/ szabványon alapul. Megállapítottam, hogy a protokoll alkalmas a különböző aeroszol minták vizsgálatára, így jól alkalmazható különböző környezeti aeroszol minták ökotoxicitásának elemzésére.
2. Összevettem PAH mintákon mért irodalmi ökotoxikológiai adatokat (Eom et al., 2007) az általam alkalmazott Ascent Luminométerrel (Flash rendszer) mért ökotoxikológiai adatokkal. Az eredmények alapján nincs nagyságrendi különbség a két módszerrel kapott eredmények között, tehát a Flash rendszer megfelelően érzékenynek bizonyult. A két módszert statisztikailag is értékeltem, melynek során közepes pozitív korreláció ($r = 0,57$, $p = 0,15$) találtam a két *V. fischeri* alkalmazó módszer között.
3. Összevettem aeroszol mintákon az általam alkalmazott Ascent Luminométert (Flash rendszer), ToxAlert luminométerrel, mely egy hazánkban már régóta használt szabványt (MSZ EN ISO 11348- 3:2009) alkalmaz. Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a Flash rendszer alkalmas arra, hogy a minta színéből, illetve zavarosságából eredő hamis toxicitást kiküszöbölje.
4. Dízel üzemű személygépjárművek és autóbuszok kibocsátásból származó aeroszol minták Flash rendszerrel mért ökotoxicitás értékeit összevettem a mintákon SOS Chromotesttel mért genotoxicitás eredményekkel. A személygépkocsik esetében az öko- és genotoxicitási eredmények között korreláció volt megfigyelhető. Az

autóbuszok esetében az ökotoxikológiai és genotoxikológiai eredményeknél ($r = 1$, $p < 0,001$) nagyon szoros pozitív, szignifikáns korreláció mutatkozott.

5. A Flash rendszerrel mért ökotoxicitás eredményeket összevettem *Artemia salina* héj nélküli kistrákon végzett mortalitás teszt eredményeivel, illetve szintén *A. salina* kistrákon végzett enzimikus vizsgálatok eredményeivel. A Flash rendszerrel mért eredmények és a mortalitás teszt eredmények között ($r = 0,842$, $p = 0,004$) szoros pozitív, szignifikáns kapcsolatot találtunk. Az enzim-aktivitási vizsgálatok által nyert eredmények azonos trendet mutattak a mortalitási és a *V. fischeri* bakteriális tesztek eredményeivel.
6. A Flash rendszerrel alkalmazott protokoll rendkívül kis mintamennyiségekkel dolgozik, így lehetővé vált akár egyedi gépjárművek kibocsátásának gyors ökotoxikológiai elemzése is.

Theses

1. I used the direct contact test developed by our research team for the ecotoxicity analysis of solid phase aerosol samples. The test is based on the ISO 21338:2010: Water quality - Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* /kinetic luminescent bacteria test/, developed for the analysis of solid and/or coloured samples. I found that the protocol is suitable for testing a variety of aerosol samples, and thus it is adaptable for the ecotoxicity analysis of different environmental aerosol samples.
2. I compared the literature ecotoxicological data measured using PAH samples (Eom et al., 2007) with the ecotoxicological data measured using the Ascent Luminometer (Flash system) I used. According to the results there is no significant difference in the results gained from the two methods, so the Flash System proved to be sensitive. The two methods were statistically evaluated as well, in which medium positive correlation ($r = 0.57$, $p = 0.15$) was found between the two methods using *V. Fischeri*.
3. I compared the Ascent Luminometer (Flash System) I used on aerosol samples with the ToxAlert luminometer, which has long been using a standard (ISO 11348-3: 2009) in our country. Based on the results, I concluded that the Flash system is capable of eliminating the false toxicity arising from the colour or the turbidity of the sample.
4. The ecotoxicity values of aerosol samples from the emissions of diesel powered passenger vehicles and buses, measured in a Flash system, were compared with the genotoxicity results of the samples measured with SOS Chromotest. In the case of passenger cars there was a correlation observed between the ecotoxicity and genotoxicity results. In the case of buses a very close positive, significant

correlation was found between the ecotoxicological and genotoxicological results ($r = 1$, $p < 0.001$).

5. The ecotoxicity results measured using the Flash system were compared to the results of the mortality test carried out on the *Artemia salina* small-sized cyst, and also with the results of the enzymatic examinations carried out on the *A. salina* small-sized cyst. We found a strong positive, significant correlation between the results measured with a Flash system and mortality test results ($r = 0.842$, $p = 0.004$). The results obtained by enzyme activity assays showed a similar trend with the results of mortality tests as well as *V. fischeri* bacterial tests.
6. The protocol using the Flash system works with an extremely small amount of sample, thus allowing fast ecotoxicological analysis of individual motor vehicle emissions.

Tudományos tevékenységek

A disszertációmban felhasznált impakt faktoros publikációk

- ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A., TURÓCZI, B., GELENCSÉR, A., KISS, GY., KOVÁTS, N. (2013): Ecotoxicological characterisation of exhaust particulates from diesel-powered light-duty vehicles, *Central European Journal of Chemistry*, 11 (12), 1954-1958. **(IF= 1,167)**
- KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A., HORVÁTH, E., KAKASI, B., TURÓCZI, B., GELENCSÉR, A. (2013): Ecotoxicity and genotoxicity assessment of exhaust gases from diesel-powered buses, *Environmental Monitoring and Assessment*, 185 (10), 8707-8713. **(IF= 1,592)**
- TURÓCZI, B., HOFFER, A., TÓTH, Á., KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A., GELENCSÉR, A. (2012): Comparative assessment of ecotoxicity of urban aerosol, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12: 7365-7370. **(IF=5,52)**
- KOVÁTS, N., ÁCS, A., KOVÁCS, A., FERINCZ, Á., TURÓCZI, B., GELENCSÉR, A. (2012): Direct contact test for estimating the ecotoxicity of aerosol samples, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 284–287. **(IF=1,378)**
- GELENCSÉR, A., KOVÁTS, N., TURÓCZI, B., ROSTÁSI, Á., HOFFER, A., IMRE, K., NYÍRŐ-KÓSA, I., CSÁKBERÉNYI–MALASICS, D., TÓTH, Á., CZITROVSZKY, A., NAGY, A., NAGY, SZ., ÁCS, A., KOVÁCS, A., FERINCZ, Á., HARTYÁNI, ZS, PÓSFAL, M. (2011): The Red Mud Accident in Ajka (Hungary): Characterization and Potential Health Effects of Fugitive Dust, *Environmental Science and Technology*, 45 (4), 1608–1615. **(IF=4,63)**

A disszertációban fel nem használt impakt faktoros publikációk

KOVÁCS, A., ABDEL-HAMEID, N.A., ÁCS, A, FERINCZ,Á., KOVÁTS, N. (2012): Novel protocol for assessing aquatic pollution, based on the feeding inhibition of *Daphnia magna*, Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems, 404, Paper 07, 7 p, **(IF=0,304)**

PAULOVITS, G., KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A., KAKASI, B., NAGY, SZ., KISS, GY. (2012): Ecotoxicological characterisation of sedimentation in the Kis-Balaton Water Protection System, Acta Biologica Hungarica, 63, 268-276. **(IF=0,793)**

Egyéb publikációk

KAKASI, B., KOVÁCS, A., KOVÁTS, N., HORVÁTH, E., ÁCS, A., FERINCZ, Á., TURÓCZI, B. (2012): Dízel üzemű gépjárművek kipufogó gázainak ökotoxikológiai és genotoxikológiai vizsgálata, VIII. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia, 254-259.

KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A., KAKASI, B.(2012): Lumineszcens-baktérium teszt egyes változatainak alkalmazása üledéktoxicitás vizsgálatára, Hidrológiai Közlöny 92 (6), 35-38.

KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á., KOVÁCS, A. (2011): Szilárd fázisú minták ökotoxicitásának becslése Flash rendszerrel, Laboratóriumi Információs Magazin, 20 (3), 10-11.

KOVÁCS, A., KOVÁTS, N., ÁCS, A., FERINCZ, Á, BEATRIX TURÓCZI (2011): Ecotoxicological analysis of aerosol samples – methodological approach IN: Mócsy et al. VII. Kárpát-Medencei Környezettudományi Konferencia, I. kötet, 400-404.

KOVÁTS, N., **KOVÁCS, A.**, ABDEL-HAMEID, N-A., ÁCS, A., KÁRPÁTI, Á. (2010). Alternatív Daphnia teszt szennyvíz toxicitásának becslésére. Hidrológiai Közlöny 91 (6), 55-57.

Prezentációk

- 2012.** Kakasi, B., **Kovács, A.**, Kováts, N., Nagy, Sz. T., Ács, A., Ferincz, Á., Gelencsér, A., Turóczy, B.: Ecotoxicity and genotoxicity assessment of diesel engine emission. 6th SETAC world congress, Berlin, Németország, 2012. május 22-24 (**poszter**)
- 2012.** Kakasi, B., **Kovács, A.**, Kováts, N., Horváth, E., Ács, A., Ferincz, Á., Turóczy, B.: Dízel üzemű gépjárművek kipufogó gázainak ökotoxikológiai és genotoxikológiai vizsgálata, VIII. Kárpát-medencei Környezettudományi Konferencia, Veszprém, 2012.április 18-21. (**előadás**)
- 2011.** Kováts, N., Ferincz, Á., Ács, A. **Kovács, A.**, Paulovits, G.: Lake Balaton and it's aliens - Settimana clima conference, Villino Campi, Riva del Garda, Olaszország (**előadás**)
- 2011.** **Kovács, A.**, Kováts, N., Ács, A., Ferincz, Á., Beatrix Turóczy: Ecotoxicological analysis of aerosol samples – methodological approach, VII. Kárpát-Medencei Környezettudományi Konferencia, Kolozsvár, Románia (**előadás**)
- 2011.** Gelencsér, A., Kováts, N., Turóczy, B., Rostási, Á., Hoffer, A., Imre, K, Nyíró-Kósa, I., Tóth, Á., Czitrovsky, A., Nagy, A., Nagy, Sz., Ács, A., **Kovács, A.**, Ferincz, Á., Hartyáni, Zs, Pósfai, M. (2011): Ajka (Hungary): characterization and potential health effects of fugitive dust from red mud Environmental. Asia-Pacific Workshop – Bauxite Residue and High Silica Bauxites Perth 23 Marc, Australia (**előadás**)
- 2010.** Kováts, N., Ács, A., **Kovács A.**, Kárpáti, Á.: Alternatív Daphnia teszt szennyvíz toxicitásának becslésére; LII Hidrobiológus Napok, Tihany (**poszter**)

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Kováts Nórának mindig hasznos tanácsaiért, türelméért, odaadó figyelméért, a számtalan emberi és szakmai segítségéért, hogy bármilyen helyzetben számíthattam útmutató meglátásaira.

Köszönöm témavezetőmnek Dr. Nagy Szabolcs Tamásnak, a munkám során nyújtott segítségét, továbbá, hogy megkönnyítette a beilleszkedésemet PhD hallgatóként.

Külön köszönettel tartozom Dr. Ferincz Árpádnak és Dr. Ács Andrásnak a mérések elvégzésében és a munkám különböző szakaszaiban nyújtott segítségükért, tanácsaikért.

Köszönet illeti Dr. Gelencsér Andrást, Dr. Jancsek-Turóczi Beatrixot, és Gallóné Békefi Katalint az analitikai eredményekért, amelyek eredményeim értékelését segítették.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Horváth Eszternek a munkám alatt nyújtott emberi és szakmai segítségéért.

Köszönettel tartozom Végvári Zsuzsának a német fordításban való segítségéért és a számtalan baráti és lelki támogatásáért.

Köszönetet mondok mindazon munkatársaimnak és barátaimnak, akik tanácsaikkal, észrevételeikkel segítettek az értekezés elkészítése során.

Szeretnék köszönetet mondani Férjemnek, türelméért, kitartásáért és megértésért, Édesanyámnak végtelen szeretetéért, támogatásáért és a tanulmányaimat végigkísérő rengeteg segítségéért, köszönöm Férjem Édesanyjának a sok időt, amit arra áldozott, hogy nekem segítsen, hogy zavartalanul írhattam a disszertációm, nélkületek ez a doktori disszertáció nem készülhetett volna el. Köszönet illeti Férjem Édesapját emberi és anyagi támogatásáért.