

ISSN 1336-300X



Acta Facultatis Ecologiae



Journal of Faculty of Ecology and Environmental Sciences
Technical University in Zvolen

Volume 37
2017 – 2

PŮVODNÉ VEDECKÉ PRÁCE / ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

FARSANG, Á., KOVÁTS, N., HORVÁTH, B., MOLNÁR, P., BÉRES, Cs. & RÉTFALVI, T.
TOXICITY TESTING OF RAW AND FILTERED WASTEWATER SAMPLES BY MICROTOX® INHIBITION
AND CHEMICAL ANALYSIS 7

FORTIAKOVÁ, P., SCHWARZ, M., KOČAN, A. & ČONKA, K.
ANALÝZA POLYCHLÓROVANÝCH DIBENZO-p-DIOXÍNŮV, DIBENZOFURÁNŮV A DIOXÍNŮV PŘÍBUZNÝCH
POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLOV V POTRAVINÁCH
ANALYSIS OF POLYCHLORINATED DIBENZO-p-DIOXINS, DIBENZOFURANS AND DIOXIN LIKE POLYCHLORINATED
BIPHENYLS IN FOODS..... 17

SMUTNÁ, S. & ZACHAROVÁ, A.
FLÓRA A VEGETÁCIA OSÍDEJÚCA BANSKÚ HALDU NA LOKALITE NOVÁ ŠACHTA PRI BANSKEJ ŠTIAVNICI
FLORA AND VEGETATION OCCURRING MINE WASTE HEAP CALLED NOVÁ ŠACHTA NEAR BANSKÁ ŠTIAVNICA 31

PREHLADOVÉ PRÁCE – REVIEWS

SCHWARZ, M., DADO, M., SALVA, J. & FRIČ, M.
SYNERGISM OF OTOTOXIC SUBSTANCES AND NOISE IN THE OCCUPATIONAL ENVIRONMENT 41

INŠTRUKCIE AUTOROM PRE PUBLIKOVANIE V ACTA FACULTATIS ECOLOGIAE

Acta Facultatis Ecologiae je vedecký časopis Fakulty ekológie a environmentalistiky Technickej univerzity vo Zvolene, ktorý vychádza ako periodikum a od roku 2007 je členený na dve sekcie: ekologickú a environmentálnu. Uverejňuje **pôvodné** recenzované vedecké práce tematicky zamerané v **sekcii Ekológie** na krajinnú ekológiu, krajinné plánovanie a tvorbu krajiny, ekológiu populácií a v **environmentálnej sekcii** na problematiku antropogénnych vplyvov na prostredie, ako aj filozofické aspekty vzťahov človeka a prírody. Okrem **vedeckých prác** je v časopise možné publikovať teoretické a syntetické práce, **Prehľadové články (reviews)** a **Recenzie** knižných publikácií z uvedených oblastí.

Príspevky na uverejnenie schvaľuje redakčná rada, ktorá zároveň určuje recenzentov príspevkov. Recenzent zhodnotí obsah práce, jej prínos a formálne náležitosti a odporúča príspevok na publikovanie. V prípade nesúhlasu autora s posudkom recenzenta rozhoduje o uverejnení príspevku redakčná rada.

Všeobecné pokyny

1. Príspevok musí byť svojim zameraním v **súlade s obsahovým zameraním časopisu**.
2. Vedecký príspevok musí byť **pôvodnou prácou**, t.j. nesmie byť publikovaný alebo zaslaný na publikovanie do inej redakcie. Za pôvodnosť práce i za vecnú správnosť zodpovedá autor.
3. Cieľ práce má byť jasne formulovaný. Príspevok má tvoriť ucelený, logicky usporiadaný prehľad nových pôvodných poznatkov a ich kritické hodnotenie s konkrétnymi závermi.
4. Experimentálny alebo teoretický prístup má byť primeraný. Pracovný postup má byť opísaný spôsobom, umožňujúcim jeho reprodukciu. Experimentálne údaje majú byť stanovené so spoľahlivosťou zodpovedajúcou súčasnej technike a majú byť správne interpretované.
5. Rozsah práce má zodpovedať jej vedeckému prínosu a **nemal by prekročiť 15 strán A4** napísaných v textovom editore podľa predlohy, vrátane tabuliek a grafov. Ilustrácie a tabuľky majú byť úsporné a výstižné, pričom rovnaké údaje nemožno uvádzať duplicitne v oboch formách.
6. **Príspevok** môže byť napísaný v slovenskom, českom alebo v anglickom jazyku. Za úroveň jazyka zodpovedá autor. **Abstrakt** sa uvádza vždy v anglickom jazyku. **Súhrn** je uvedený v slovenskom jazyku, len ak je celý príspevok napísaný v anglickom jazyku.

Rukopis príspevku ako i konečná verzia príspevku (t.j. rukopis po recenznom a redakčnom pripomienkovaní a následnom spracovaní pripomienok autorom) musia byť zaslané v tlačenej forme a zároveň doručené v elektronickej podobe, resp. zaslané e-mailom na journalafezv@gmail.com, resp. výkonným alebo technickým redaktorom príslušnej sekcie (viď. web stránku http://www.tuzvo.sk/sk/organizacna_struktura/fakulta_ekologie_a_environmentalistiky/veda_a_vyskum/acta_facultatis_ecologiae/acta_facultatis_ecologiae.html)
Termín dodania rukopisov je 31. január a 15. júl príslušného roku.
Recenzie je možné zasielať priebežne. Publikované budú v najbližšom čísle časopisu.

Acta Facultatis Ecologiae

Journal of Faculty of Ecology and Environmental Sciences
Technical University in Zvolen

Volume 37
2017

Editorial Board

Editor-in-Chief
Michal Wiezik

Vice-Editor-in-Chief
Dagmar Samešová

Executive Editor
Andrea Diviaková – Ecological Section
Andrea Zacharová – Environmental Section

Technical Editors
Anna Ďuricová, Miroslav Vanek

Members

Magdaléna Bálintová, Barbara Bialecka, Ján Gáper, František Hnilička, László Miklós,
Volodymyr Nykyforov, Branislav Olah, Peter Ondrišík,
Andrej Oriňák, František Petrovič, Magdaléna Pichlerová, Artur Radecki-Pawlik, Tamás Rétfalvi,
Dagmar Samešová, Marián Schwarz, Branko Slobodník, Slavomír Stašiov,
Jaroslava Vrábliková

List of Reviewers Acta Facultatis Ecologiae 37

Andrea Diviaková, František Kačík, Pavol Liptai, Miroslav Němec, Hana Ollerová, Peter Oswald,
Dagmar Samešová

© Technická univerzita vo Zvolene

ISSN 1336-300X

Všetky práva vyhradené. Nijaká časť textu ani ilustrácie nemôžu byť použité na ďalšie šírenie akoukoľvek formou bez predchádzajúceho súhlasu autorov alebo vydavateľa.

OBSAH / CONTENT

PÔVODNÉ VEDECKÉ PRÁCE / ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

FARSANG, Á., KOVÁTS, N., HORVÁTH, B., MOLNÁR, P., BÉRES, Cs. & RÉTFALVI, T.
Toxicity testing of raw and filtered wastewater samples from sewage treatment plant.....7

FORTIAKOVÁ, P., SCHWARZ, M., KOČAN, A. & ČONKA, K.
Analýza polychlórovaných dibenzo-p-dioxínov, dibenzofuránov a dioxínom príbuzných
polychlórovaných bifenylov v potravinách
Analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin like polychlorinated
biphenyls in foods17

SMUTNÁ, S. & ZACHAROVÁ, A.
Flóra a vegetácia osídľujúca banskú haldu na lokalite Nová šachta pri Banskej Štiavnici
Flora and vegetation occurring mine waste heap called Nová šachta near Banská Štiavnica31

PREHEADOVÉ PRÁCE – REVIEWS

SCHWARZ, M., DADO, M., SALVA, J. & FRIČ, M.
Synergism of ototoxic substances and noise in the occupational environment41

PÔVODNÉ VEDECKÉ PRÁCE
ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

TOXICITY TESTING OF RAW AND FILTERED WASTEWATER SAMPLES FROM SEWAGE TREATMENT PLANT

Á. FARSANG^{1*} – N. KOVÁTS² – B. HORVÁTH³ – P. MOLNÁR⁴ – Cs. BÉRES¹
– T. RÉTFALVI⁵

¹ Institute of Chemistry, Eötvös Loránd University, 4. Károlyi Gáspár Square, Szombathely, H-9700, Hungary; e-mail adress: horvathne.farsang.agota@sek.elte.hu; phone: 06/94/504-310; *Corresponding author

² Institute of Environmental Sciences of the University of Pannonia, 10 Egyetem Street, Veszprém, H-8200, Hungary

³ Institute of Mathematics, Budapest University of Technology and Economics, 1. Egy József Street, Budapest, H-1111, Hungary

⁴ Institute of Biology, Eötvös Loránd University, 4. Károlyi Gáspár Square, Szombathely, H-9700, Hungary

⁵ Institute of Chemistry, University of West Hungary, 4. Bajcsy-Zsilinszky Street, Sopron, H-9400, Hungary

ABSTRACT

Farsang, Á., Kováts, N., Horváth, B., Molnár, P., Béres, C., Rétfalvi, T.: **Toxicity testing of raw and filtered wastewater samples from sewage treatment plant.**

Main objective of this manuscript is to analyse the cleaning efficiency of a regional wastewater treatment plant through monitoring its the change of ecotoxicological properties. The other aim of this research was the comparative analysis of the sensitivity of the protocol using filtered and unfiltered wastewater samples based on correlation with analytical parameters. Whole effluent samples were collected at the municipal wastewater treatment plant of Szombathely and were tested with the Microtox® 100 according to the respective standard protocols (Microtox, ISO 11348-3 protocol). The samples were evaluated parallel with both chemical and analytical (metals, BOD₅/COD) analysis methods.

The results proved that the plant operates with good cleaning efficiency even under extreme weather conditions. The role of total and dissolved metals in the toxicity of the samples was small. Measurements on the samples using the Microtox luminometer according to conventional methods on the unfiltered and filtered samples correlated strongly with the amount of measured toxic organic compounds (COD / BOD₅) and the filtered samples also represented the meteorological conditions well. Measurement on raw samples might overestimate the toxicity in the case of highly turbid samples. However, filtering removed a portion of particle-bound contaminants.

Keywords: *Vibrio fischeri*, Microtox, wastewater, ecotoxicity, metals

INTRODUCTION

Wastewater treatment plants are complex systems, with different physicochemical and biological phenomena taking place simultaneously. Wastewater collected from municipalities and communities must ultimately be returned to receiving waters. Whole effluent toxicity (WET) testing poses a great challenge in environmental protection, due to the wide variety of possible contaminants and the dynamic nature of wastewaters. Monitoring requires a reliable, sensitive and

cost-effective test. The assay based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri* fulfills these requirements and is probably the most widely applied bacterial test in WET assessment (principles and new developments were reviewed by Ma et al. 2014, commercially available test systems were reviewed by Kokkali and van Delft, 2014). *V. fischeri* is considered 'the most sewage-sensitive organism' (Papa et al., 2016).

For water and wastewater samples, the ISO 11348 standard (Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the

light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) applies. The Microtox system, which follows this standard, has been the most thoroughly investigated tool for wastewater toxicity evaluation (reviewed by Ren, 2004). Dalzell et al. (2002) measured the toxicity of metals, organic pollutions and industrial wastewater using Microtox®. The most sensitive bioassay was *Vibrio fischeri*. Mendonca et al. (2008) analyzed samples of wastewater for ecotoxicological and physicochemical parameters. The Microtox test proved to be the most sensitive and showed good correlation with organic pollutions. (BOD₅/COD). For municipal wastewater samples Kováts et al. (2012) compared the effectiveness of the traditional and the kinetic protocols developed for the testing of solid and / or colored samples. Toxicity values measured with the conventional protocol were higher than those with the kinetic protocol for most samples. The cause of the erroneous over-representation of toxicological data was the discoloration and turbidity of the samples in the case of unfiltered samples, and the discoloration of the samples in the case of filtered samples. However, with analytical measurements these conclusions could not be proved.

The objective of the manuscript was to monitor the cleaning efficiency of a regional wastewater treatment plant through sampling at four major sampling points of the plant using a *Vibrio fischeri* test organism. By using both toxicological and

analytical examinations in parallel, we got a comprehensive picture of the operation of the plant. Further aims of the study were to find out whether turbidity and/or color of municipal wastewater really cause virtual toxicity reading in case of the ISO 11348-3 protocol, and also to assess how filtering affects toxicity in case of Microtox measurements.

2 MATERIALS AND METHODS

Research was performed at the regional municipal wastewater treatment plant (WWTP) in Szombathely. The WWTP was designed as 225.000 population equivalent. The wastewater and the rainwater arrives from a combined system drainage from the downtown area, while the recently built parts already use a separated system. The peak plan capacity is 1500 m³/h with an average daily flow rate of 19600 m³/day. The wastewater treatment follows the traditional steps (Fig. 1.): pre-treatment with mechanical removal, primary treatment to remove suspended solids, secondary treatment (biological treatment) by activated sludge process which performs carbon, nitrogen and phosphorus removal. After the secondary clarifiers the effluent flows into the Perint rivulet. The samples were taken (Fig. 1.) on nine occasions between 06.2012 and 12.2012. from (1.) raw wastewater, (2.) sedimented water from primary clarifiers, (3.) biological treated water from aerobic reactor and (4.) effluent water.

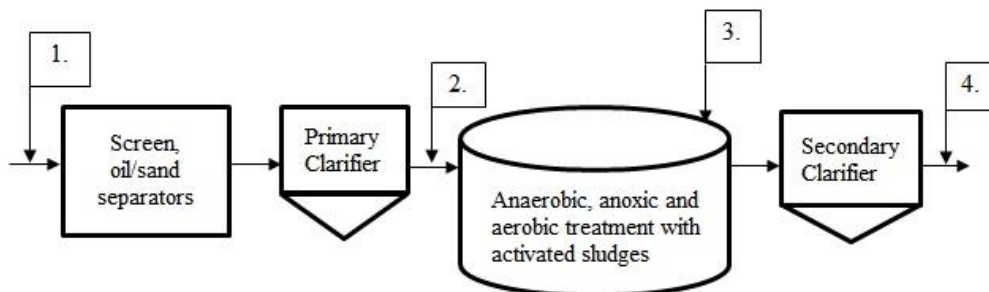


Fig. 1. Schematic diagram of the treatment processes at Szombathely WWTP and sampling points

Samples were used immediately (within 24 hours) for toxicity measurements, whereas they were stored in a freezer at -30° C for elemental analysis. Before each sampling we recorded the average temperature and the amount of rainfall during the last 24 hours. The other abiotic parameters (rainfall, temperature) were based on

the data of the National Meteorological Service (Table 1.). With samples taken at different meteorological conditions, the wastewater cleaning efficiency can be analyzed.

Tab. 1 Temperature and rainfall data

Date of sampling	Average temperature (°C)	Wet (mm)
25.06.2012.	18	0
10.07.2012.	24,5	3
25.07.2012.	22	24
22.08.2012.	26	0
09.10.2012.	14	2
25.10.2012.	9,5	0
06.11.2012.	6	43
07.12.2012.	-5	0
10.12.2012.	-4	0
22.02.2013.	-4	5

2.1 Toxicity bioassays

For ecotoxicity testing, assays were performed as described by the Microtox® 100 Operating Manual (in compliance with ISO 11348-3 protocol). The *Vibrio fischeri* test bacteria were delivered lyophilized in frozen state by LabSysWare Ltd. (Budapest, Hungary) to our laboratory. The amount of the active sludge in the samples increased from the influent to the biological reactors, causing the turbidity of the samples. ISO 11348-3 requires that turbid samples should be filtered prior to measurement. According to Microtox's conventional protocol, the sample had been filtered through a 0.45 µm filter prior to measurement. For the last 6 sampling occasions a comparative analysis was performed on filtered and unfiltered samples. Hereinafter, all results are either referred to as 'Microtox conventional protocol' or 'Microtox raw EC50'.

2.2 Chemical measurements

The pH was measured on an Orion™ 3-Star Plus Benchtop pH Meter. Determination of the metal content was performed according to MSZ 1484-3: 2006 standard (Testing of waters. Part 3: Determination of dissolved, suspended and total metals in water by AAS and ICP OES) For the preparation of the samples a Mars microwave di-

gestion apparatus was used. The element analysis was performed on a Spectro Genesis ICP-OES instrument. All standards and reagents were of analytical grade (highest purity available), suitable for elemental analysis. The samples were measured for dissolved and total metal content. For the calculation of the total metal content the sample was disrupted without filtration using chemicals from the standard specification. For the calculation of the dissolved metal content the samples were filtered before quantification using a 0,45µm syringe filter. For the measurements ultra pure water (Zeener Power I. Water Purification System) were used. Chemicals and standards used for sample preparation and measurements were supplied by WWR International Ltd. (Debrecen, Hungary). Chemical oxygen demand (COD) and 5 days of biological oxygen demand (BOD₅) were received from the WWTP laboratory.

2.3 Statistical analysis

The statistical analysis was implemented using IBM SPSS Statistics. The correlation of several datas was examined by calculating the Pearson and Spearman correlation coefficients.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Toxicity of samples

Toxicity was measured with the Microtox Luminometer on 40 samples collected at 10 occasions (4 samples each, between 25.06.2012 and 22.02.2013) filtered (per protocol) (Fig. 2.) and at 6 occasions (09.10.2012.-22.02.2013.) they were also measured without filtering. It should be noted that high EC50 values mean low toxicity. For the Microtox luminometer the highest measurable effect (reduced light emittance) was below 15% for the 50% diluted samples in the effluent. If the software could not determine EC50 value the next measurement started with 80% dilution in the case of the filtered samples.

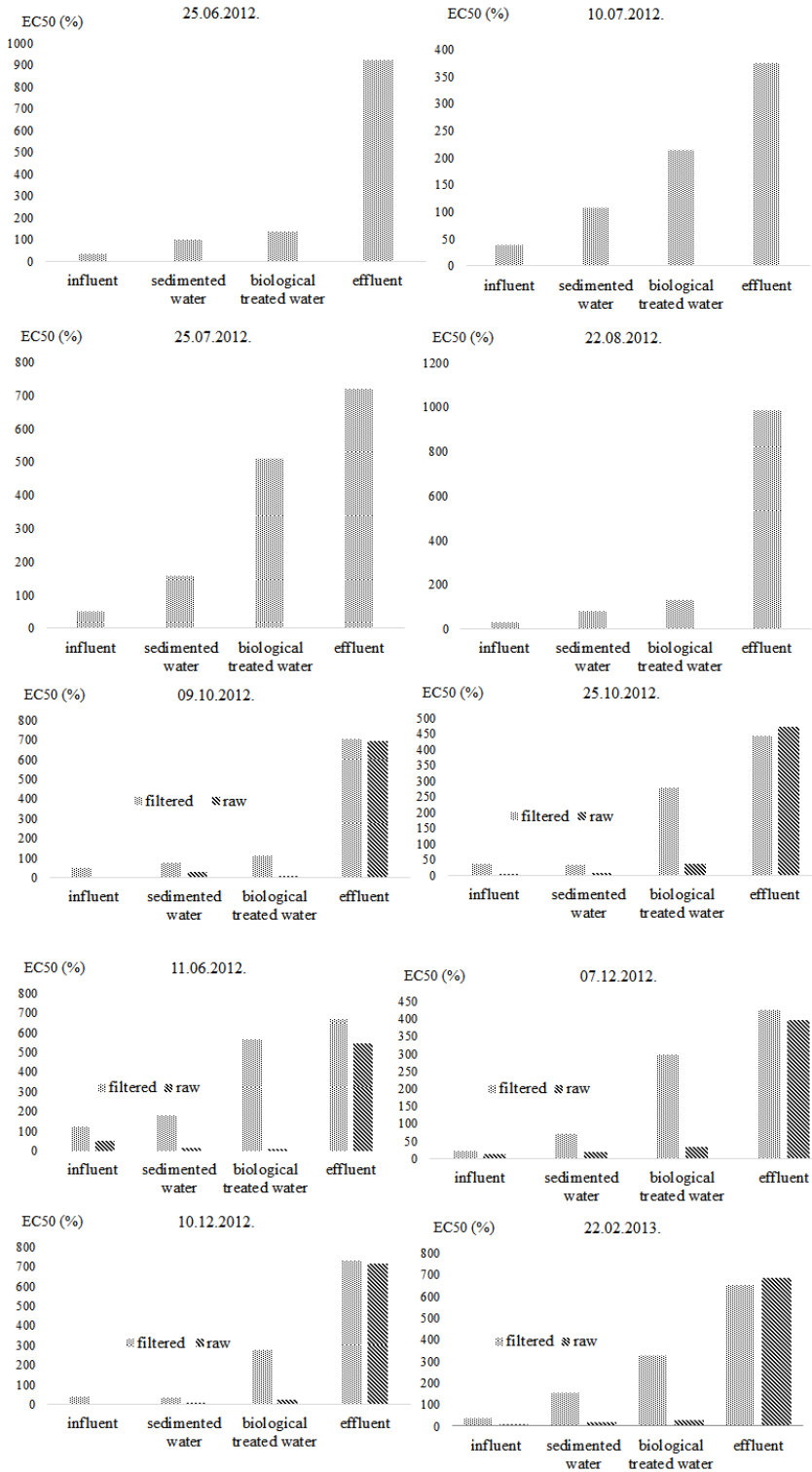


Fig. 2. Toxicity of the wastewater samples (06.2012 - 02.2013.)

For each of the ten sampling occasions, toxicity decreased from the influent to the effluent. While the influent was always toxic, sedimented wastewater was only moderately toxic or non-toxic, and samples taken from the biological reactor and the effluent were both unlikely to be toxic. Unfiltered samples had lower EC50 values due to sludge turbidity. Turbidity at the four sampling sites varied, but had an identical pattern during sampling times. From the influent to the biological pool turbidity of the samples increased continuously due to the increased presence of live sludge. The effluent sample was almost completely clean after post-settling and contained no flocculants. On the other hand, filtration removed the solid particles and also removed the potential toxic effects associated with them. We used analytical measurements to find an answer for the toxicity. Wastewater is a complex chemical and biological system with regard to its composition. Inorganic (metals, etc.) and organic pollutants (derivatives of drugs, cosmetics, etc.) both play an important role in its toxicity.

3.2. Toxic metals in the waste water

Many researchers investigated the sensitivity of *Vibrio fischeri* bacteria to metals. Compared with other test organisms the bacteria were found to be less sensitive (Teodovic et al., 2009; Pardos et al. 1999; Kungolos et al., 2004). Guéguen et al. (2004) examined the toxicity of samples taken from a river contaminated with metals using *Vibrio fischeri* and also an algae test (*Pseudokirchneriella subcapitata*). The dissolved,

colloidal and total metal content of the samples was also compared to the toxicity data. The algae test was found to be more sensitive to metallic contamination of the samples. While this might be explained by their high metal concentrations, no correlation between metal concentrations and toxicity was observed, suggesting that metal speciation in the truly dissolved fraction may be more important than the absolute metal concentration. The combined presence of metals and organic pollutants in the samples further modifies the toxic effect.

According to Microtox's conventional protocol, the sample had been filtered through a 0.45 µm filter prior to measurement. Therefore, dissolved metal concentrations were compared to the toxicity readings of the Microtox luminometer on the 40 samples. No correlation was found between dissolved metal concentrations and the complete data set or the data sorted per objects. Concentrations of dissolved metals in the influent varied between 0 and 218 µg / l. In the effluent the concentrations of the detected metals decreased slightly, ranging from 0 to 87 µg / l. According to the literature, the measured metal concentrations were way below the effective concentrations of the *Vibrio fischeri* test (Teodovic et al. 2009; Fulladosa et al. 2005; Mortimer et al., 2008; Abbondanzi et al. 2003; Geuguen et al. 2004; Hsieha et al. 2004; Kurvet et al. 2011). Thus, it can be assumed that the role of dissolved metals in the toxicity of the samples was negligible (Table 2).

Tab. 2 Dissolved metal concentration during the ten sampling times (Min: the lowest metal concentration, Max: the highest metal concentration, Med: median concentration)

	influent			sedimented water			biological treated water			effluent		
	Concentration (µg/l)			Concentration (µg/l)			Concentration (µg/l)			Concentration (µg/l)		
	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med
Al	0	218	40	12	230	48	0	381	44	0	71	0
Cd	0	24	2	0	8	2	0	24	0	0	12	0
Co	0	14	5	0	20	2	0	20	4	0	10	1
Cr	0	46	9	0	46	5	0	21	2	0	14	4
Cu	0	24	8	0	24	7	0	58	10	0	44	10
Mn	0	24	12	0	24	12	3	87	26	0	51	6
Ni	0	24	10	0	34	5	0	57	22	0	21	4
Pb	0	71	13	0	52	9	0	63	22	0	55	4
Sn	0	41	13	0	34	6	0	44	10	0	34	3
Zn	0	124	35	0	57	29	0	345	37	0	87	17

Total metal content, in addition to the dissolved metal forms, includes flakes in the suspended state and the biologically inactive non-free forms. The EC50 values of the 24 unfiltered samples indicated an increase in toxicity from the influent to the biological pool, which is consistent with the values of the increasing metal concentrations that we have measured (Table 3.). However, the turbidity caused by the active sludge present in the samples should be taken into account. We compared the data of filtered and unfiltered samples. Strong correlation was found between the EC50 values of filtered and unfiltered samples measured on Microtox ($r = 0.913$; $\rho = 0.85$). The strong correlation shows that virtual toxicity caused by turbidity is the primary cause of the close relationship between sample pairs. However, other compounds that bind to solid particles also play a lesser role in toxicity.

The incoming metals are concentrated in the sludge during wastewater treatment, similarly to toxic organic materials. Metals in wastewater are incorporated into biomass through biological processes (biosorption, bio-accumulation) (Kaur et

al. 2002). By co-precipitation, in oxidative environments, heavy metals are adsorbed and deposited to precipitating iron hydroxide flakes (Koppe et al., 2008). There is no accurate information on the proportion of the biologically inactive and suspended parts in the undissolved metal fraction. However, it can be assumed based on metal concentrations and toxicity data that the biologically bound (inactive) form is in a higher proportion in the samples, because the toxicity of suspended metals should have been significant (Heinlaan et al 2008, Mortimer et al., 2008). Total metal concentrations were decreasing from the influent to the effluent. The amount of aluminum, zinc and lead decreased the most, since they had the highest median concentrations in the influent (1183 $\mu\text{g/l}$, 320 $\mu\text{g/l}$, 144 $\mu\text{g/l}$). Total metal concentrations of the effluent water fulfilled the strictest requirements of the corresponding regulations (Zn<1000 $\mu\text{g/l}$; Cu, Ni<500 $\mu\text{g/l}$; Cr<200 $\mu\text{g/l}$; Pb<50 $\mu\text{g/l}$). Based on our results, it could be concluded that the role of dissolved and total metal content in toxicity was low in the samples taken at the Szombathely wastewater treatment plant.

Tab. 3 The total metal concentration during the ten sampling times (Min: the lowest metal concentration, Max: the highest metal concentration, Med: median concentration)

	influent Concentration ($\mu\text{g/l}$)			sedimented water Concentration ($\mu\text{g/l}$)			biological treated water Concentration ($\mu\text{g/l}$)			effluent Concentration ($\mu\text{g/l}$)		
	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med
Al	335	7984	1183	340	16963	1626	70600	145463	117119	56	126	98
Cd	0	27	7	0	21	8	0	175	0	6	13	7
Co	0	33	0	0	15	0	0	200	0	9	12	11
Cr	0	115	30	9	123	21	0	1075	531	12	72	15
Cu	11	151	74	16	234	41	950	2625	1381	14	21	18
Mn	10	294	70	55	226	86	650	2688	1631	24	95	39
Ni	6	69	34	15	65	23	0	1075	531	16	114	18
Pb	10	316	145	19	138	44	950	2625	1381	21	34	27
Sn	26	108	62	19	56	29	113	425	300	28	34	33
Zn	113	16141	320	179	2440	378	11363	34588	15225	31	108	71

3.3 Toxic organic pollutants

Biological degradation of some organic contaminants of communal wastewaters is fast, whereas degradation of other compounds is more difficult. Easily degradable substances include carbohydrates, alcohols, organic acids, proteins and fats, which could be found in municipal

wastewaters at high concentrations. Slowly degradable organic pollutants are harmful at lower concentrations ($\mu\text{g/l}$), and they exert their effects mostly through their toxic, carcinogenic, accumulative properties. Organic substances in water can be very diverse and abundant and in many cases the qualitative / quantitative determination of all compounds is not possible. Therefore, organic

matter content is characterized by so-called sum parameters (COD: Chemical Oxygen Demand, BOD: Biological Oxygen Demand). Nowadays the focus of organic analytical research are: cosmetics (Szymanski et al. 2000; Traczyk et al. 2005; Eriksson et al. 2003), derivatives of drugs (Farré et al. 2001; Kasprzyk-Hordern et al. 2008; Schultz et al 2008; Sim et al 2011) and insectici-

des (Bester 2005; Ahmed et al 2011). Yu X. et al. (2014) studied drug effluents with *Vibrio fischeri*. Bacterial toxicity correlated well with the COD data. Mendonca et al (2009) also found the correlation appropriate between the BOD₅ and COD data and the EC50 value measured by the *Vibrio fischeri* test for municipal effluent and influent wastewater treatment plants.

Tab. 4 The toxicity values and the organic sum parameters of the samples

Sampling point	EC50 (%) filtered	EC50 (%) raw	BOD ₅ (mg/l)	COD (mg/l)
influent	38,07	–	432	870
sedimented water	98,88	–	220	800
effluent	925	–	2,5	15
influent	38	–	222	360
sedimented water	107	–	200	320
effluent	375	–	2,5	15
influent	50,32	–	69	109
sedimented water	157	–	148	230
effluent	720	–	2,5	15
influent	34,36	–	222	350
sedimented water	83,95	–	284	430
effluent	987	–	2,5	15
influent	50,28	7,16	310	460
sedimented water	79,02	29,8	380	770
effluent	708,1	698	2,5	31
influent	37,77	6,2	279	490
sedimented water	35,55	11,2	238	460
effluent	445,54	475	2,5	15
influent	122	50,9	127	201
sedimented water	182,6	17,7	228	302
effluent	670	545	2,5	15
influent	22,13	14,5	258	450
sedimented water	73,21	19,4	288	470
effluent	427	398	2,5	15
influent	41,01	5,5	310	490
sedimented water	38,57	8,4	380	550
effluent	731	718	2,5	15
influent	38,91	11	320	510
sedimented water	153,3	16	203	310
effluent	657	687	5	15

The relationship between the Microtox raw and filtered data, the COD and BOD₅ values was analyzed using the influent, sedimented, and effluent wastewater. Microtox filtered EC50 had a strong negative relationship with BOD₅ and COD (COD: $r=-0.75$; $\rho=-0.81$ and BOD: $r=-0.80$; $\rho=-0.78$). Microtox raw EC50 had a stronger negative relationship with BOD₅ and COD (COD: $r=-0.85$; $\rho=-0.78$ and BOD : $r=-0.89$; $\rho=-0.78$). Negative correlation arises because high EC50 values implicate low toxicity. Based on the data

series it can be concluded that the toxicity of the wastewater samples can be primarily related to organic pollutants. COD and BOD₅ measurements were performed on unfiltered samples in an accredited laboratory. This caused the stronger negative relationship for raw samples, indicating that during the filtration we removed some of the toxic materials that are attached to the flakes. Organic compounds were rapidly degraded or adsorbed to the sludge during the purification process. In proportion to their decreasing amounts, their EC50

values increased drastically (the toxicity decreased). The influent and the primary clarifiers were the most toxic and analogically, they contained the most organic substances. The effluent contained a small amount of organic pollutants based on the total organic parameters and its toxicity could not be detected in any of the cases.

3.4 Effects of meteorological factors

The effect of high intensity rainfall was investigated on the toxicity of the filtered samples taken at different objects. Prior to the sampling there were significant amount and high intensity rainfalls on two occasions: on July 25th and November 6th, 2012. During the summer sampling, 24 mm and in autumn sampling, 43 mm rain dropped off the day before the sampling. Due to the falling rain in July, the stormwater tank reached only 65%, so no direct wastewater went into the Perint rivulet. The fallen rain had no effect on the toxicity of the influent wastewater because the hydraulic pressure has already left the channel. The dilution effect could not be observed at the primary clarifier, either, due to the short (some

hours) residence time. The biological reactor is a large object, with multiple days of residence time, the effect of summer rainstorm was detectable in the measured EC50 values (Fig. 3.). In November, nearly twice the amount of rainfall dropped compared to July. At this occasion the plant was almost washed away by a sudden rain. The stormwater tank became full and a portion of the diluted wastewater flew from the plant to the Perint rivulet. The EC50 values were clearly higher at the effluent (135%), primary clarifier (182%) and biological reactor (570%). During the sampling, the dilution effect reached the primary clarifier which had short (some hours) residence time and the biological reactor, with a residence time of several days. In February next year (22.02.2013), a slow thawing caused by winter snow reached the plant. Due to the high amount of wastewater, the stormwater tank reached 54%, butso no direct wastewater reached Perint rivulet. The effect of melting snow was significant on the samples taken from the primary clarifier (EC50 = 153.3) and the biological pool (EC50 = 325). For the effluent, toxicity wasn't detected.

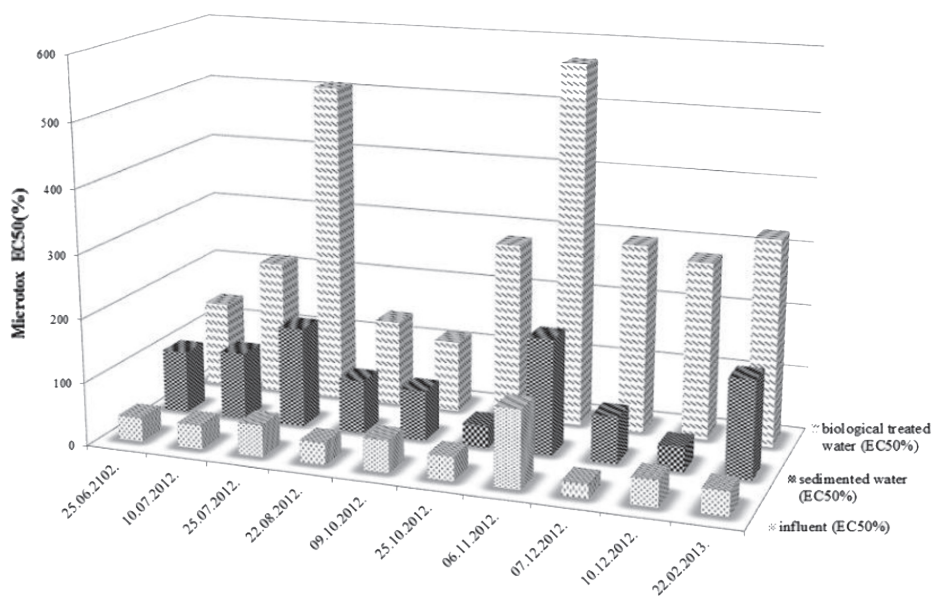


Fig. 3. EC50 data of the wastewater samples for three objects

4 CONCLUSIONS

The cleaning efficiency of the wastewater treatment plant was sufficient, based on the data measured by the Microtox Luminometer. From the influent to the effluent, the level of toxicity was

decreasing, even under extreme weather conditions. Role of dissolved and total metal content in toxicity was low in the samples. Significant correlation was found between the amount of oxidisable organic pollutants and Microtox EC50 valu-

es. In the wastewater samples containing complex pollutants, most likely organic compounds contributed to the measured ecotoxic effects. One of the main questions of the work was how filtering affects the toxicity of the sample. It was found that filtering reduced the toxicity of the sample, raising the question, if this reduced toxicity was due to the actual removal of toxic particles or removal of turbidity. However, the fact that Microtox raw EC50 had a stronger negative correlation with BOD₅ and COD than filtered EC50, might lead to the conclusion that filtering did remove a portion of particle-bound contaminants. Strong correlation of Microtox values with organic pollutants and the clear pattern which reflected meteorological conditions might favor the application of the conventional protocol (ISO 11348-3:2010) for WET assessment.

REFERENCES

- ABBONDANZI, F., CACHADA, A., CAMPISI, T., GUERRA, R., RACCAGNI, M., LACONDINI, A. 2003.
- Optimisation of a microbial bioassay for contaminated soil monitoring: bacterial inoculum standardisation and comparison with Microtox assay. In *Chemosphere*. 53,8, s. 889–897.
- AHMED, S., RASUL, M.G., BROWN, R., HASHIB M.A. 2011. Influence of parameters on the heterogeneous photocatalytic degradation of pesticides and phenolic contaminants in wastewater: a short review. In *Journal of Environmental Management*. 92, 3, s. 311–330.
- BESTER, K. (2005): Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters. In *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 49, s. 9–17.
- DALZELL, D. J. B., ALTE, S., ASPICHUETA, E., DE LA SOTA, A., ETXEBARRIA, J., GUTIERREZ, M., HOFFMANN, C.C., SALES, D., OBST, U., CHRISTOFI, N. 2002. A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge. In *Chemosphere*. 47, 5, s. 535–45.
- ERIKSSON, E., AUFFARTH, K., EILERSEN, A-M., HENZE, M., LEDIN A. 2003. Household chemicals and personal care products as sources for xenobiotic organic compounds in grey wastewater. In *Water SA*. 29, 2, s. 135–146.
- FARRÉ, M., FERRER, I., GINEBREDÀ, A., FIGUERAS, M., OLIVELLA, L., TIRAPUC, L., VILANOVAC, M., BARCELO, D. 2001. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. In *Journal of Chromatography A*. 938, 1–2, s. 187–197.
- FULLADOSA, E., MURAT, J.C., MARTINEZ, M., VILLAESCUSA, I. 2005. Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fischeri* bacteria. In *Chemosphere*. 60, 1, s. 43–48.
- GUÉGUEN, C., GILBIN, R., PARDOS, M. & DOMINIK, J. (2004). Water toxicity and metal contamination assessment of a polluted river: The Upper Vistula River (Poland). In *Applied Geochemistry*. 19, s. 153–162.
- HEINLAAN, M., IVASK, A., BLINOVA, I., DUBOURGUIER, HC., KAHRU, A. 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. In *Chemosphere*, 71, 7, s. 1308–1316.
- HSIEHA, C.-Y., TSAIB, M.-H., RYANC, D. K., PANCORBO, O. C. 2004. Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fischeri* in the Microtox® chronic toxicity test. In *The Science of the Total Environment*. 320, s. 37–50.
- ISO 11348–3:2007, Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3: Method using freeze-dried bacteria
- KASPRZYK–HORDERN, B., DINSDALE, R., M., GUWY, A., J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. In *Water Research*. 42, 13, s. 3498–3518.
- KAUR, I., BHATNAGAR, A. K., 2002. Algae-dependent bioremediation of hazardous wastes. In *Biotransformations: Bioremediation Technology for Health and Environmental Protection*. 36, s. 461–516.
- KOKKALI, V., VAN DELFT, W. 2014. Overview of commercially available bioassays for assessing chemical toxicity in aqueous samples. In *Trends in Analytical Chemistry*. 61, s. 133–155.
- KOPPE, P., A. STOZEKAND, V. NEITZEL. 2008. Municipal Wastewater and Sewage Sludge. In *Biotechnology Environmental Processes, Rehm, H. J. and Reed G. (Eds.)* s. 159–189.
- KOVÁTS, N., REFAEY, M., VARANKA, B., REICH, K., FERINCZ, Á., ÁCS, A., 2012. Comparison of conventional and *Vibrio fischeri* bioassays for the assessment of municipal wastewater toxicity. In *Environmental Engineering and Management Journal*. 11, 11, s. 2073–2076.

- KUNGOLOS, A., HADJISPYROU, S., PETALA, M., TSIRIDIS, V., SAMARAS, P.G., SAKELLARO-POULOS, P. 2004.
- Toxic Properties of Metals and Organotin Compounds and Their Interactions on *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. In *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*. 4, 4, s. 101–110.
- KURVET, K., IVASK A., BONDARENKO, O., SIHTMÄE, M., KAHRU, A. 2011. LuxCDABE–Transformed Constitutively Bioluminescent *Escherichia coli* for Toxicity Screening: Comparison with Naturally Luminous *Vibrio fischeri*. In *Sensors*. 11, s. 7865–7878.
- 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. In *Science of the Total Environment*. 468–469, s. 1–11.
- MENDONÇA, E., PICADO, A., PAIXÃO, S.M., SILVA, L., 2009. Ecotoxicity tests in the environmental analysis of wastewater treatment plants: Case study in Portugal. In *Journal of Hazardous Materials*. 163, 2–3, s. 665–670.
- 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. In *Toxicology in Vitro*. 22, s. 1412–1417.
- PAPA, M., CERETTI, E., VIOLA, G.C.V., FERETTI, D., ZERBINI, I., MAZZOLENI, G., 2016. The assessment of WWTP performance: Towards a jigsaw puzzle evaluation?. In *Chemosphere*. 145, s. 291–300.
- PARDOS, M., BENNINGHOFF, M., GUÉGUENA, C., THOMASA, R., DOBROWOLSKIB, J., DOMINIKA, J. 1999. Acute toxicity assessment of Polish (waste) water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox test. In *The Science of the Total Environment*. 243/244, s. 141–148.
- REN, S., 2004. Assessing wastewater toxicity to activated sludge: recent research and developments. In *Environment International*. 30, s. 1151–1164.
- SCHULTZ, M.M., FURLONG, E.T. 2008. Trace analysis of antidepressant pharmaceuticals and their select degradates in aquatic matrixes by LC/ESI/MS/MS. In *Analytical Chemistry*. 80, 5, s. 1756–62.
- SIM, W. J., LEE, J.W., LEE, E.S., SHIN, S.K., HWANG, S.R., OH, J.E. 2011. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. In *Chemosphere*. 82, 2, s. 179–186.
- SZYMANSKI, A., WYRWAS, B., SWIT, Z., JAROSZYNSKI, T., LUKASZEWSKI, Z. 2000. Biodegradation of fatty alcohol ethoxylates in the continuous flow activated sludge test. In *Water Research*. 34, 16, s. 4101–4109.
- TEODOROVIC, I., PLANOJEVIC, I., KNEZEVIC, P., RADAK, S., NEMET, I. 2009. Sensitivity of bacterial vs. acute *Daphnia magna* toxicity tests to metals. In *Central European Journal of Biology*. 4, 4, s. 482–492.
- TRACZYK, L., SZYMANSKI, A., WYRWAS, B., JAROSZYNSKI, T., LUKASZEWSKI, Z. 2005. Efficiency of Non-Ionic Surfactant Removal in Biological Sewage Treatment Plants. In *Polish Journal of Environmental Studies*. 15, 3, s. 493–499.
- YU, X., ZUO, J., TANG, X., LI, R., LI, Z., ZHANG, F., 2014. Toxicity evaluation of pharmaceutical wastewaters using the alga *Scenedesmus obliquus* and the bacterium *Vibrio fischeri*. In *Journal of Hazardous Materials*. 266, s. 68–74.
- YUAN, N., WANG, C., PEI, Y., 2016. Bacterial toxicity assessment of drinking water treatment residue (DWTR) and lake sediment amended with DWTR. In *Journal of Environmental Management*. 182, s. 21–28.

ANALÝZA POLYCHLÓROVANÝCH DIBENZO-*p*-DIOXÍNOV, DIBENZOFURÁNOV A DIOXÍNOM PRÍBUZNÝCH POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLOV V POTRAVINÁCH

PETRA FORTIAKOVÁ¹ – MARIÁN SCHWARZ¹ – ANTON KOČAN² – KAMIL ČONKA³

¹ Katedra environmentálneho inžinierstva, Fakulta ekológie a environmentalistiky, Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, e-mail: ing.fortiakova@gmail.com, schwarz@tuzvo.sk

² Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí – Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Brno, Kamenice 753/5, 625 00 Brno e-mail: kocan@recetox.muni.cz

³ Oddelenie toxických organických polutantov, Národné referenčné centrum pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratornej medicíny, Slovenská zdravotnícka univerzita, Limbová 14, 833 03 Bratislava, e-mail: kamil.conka@szu.sk

ABSTRACT

Fortiaková P., Schwarz M., Kočan A., Čonka K.: **Analysis of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin like polychlorinated biphenyls in foods**

Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDD) and polychlorinated dibenzofurans (PCDF) represent a group of persistent organic pollutants (POPs), toxic substances which occur in natural environment including human bodies. Presented chlorinated aromatic compounds (also dioxin-like PCBs, DL-PCBs) were analyzed by high resolution gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry operating at a mass resolution $R = 10\,000$ (10% valley definition) in food samples (chicken egg, meat of carp, cow's and sheep's milk and lard) originated from different areas in Slovakia. Toxic equivalent of food samples was determined. Values of TEQ were compared with maximum levels setting in Commission Regulation (EC) No 1881/2006 and action levels setting in Commission Recommendation 2011/516/EU.

Key words: persistent organic pollutants, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, polychlorinated biphenyls, food

ÚVOD

Perzistentné organické polutanty (POPs) sú skupina látok, ktoré majú schopnosť transportovať sa v prostredí, dlhodobo v ňom pretrvávajú a akumulovať sa v rastlinných a živočíšnych tkanivách. Do tejto skupiny látok zaraďujeme okrem iných aj halogénované (najčastejšie polychlorované) dibenzodioxíny (PCDD), dibenzofurány (PCDF), bifenyly (PCB) a organochlórové pesticídy. Transportom cez vzduch alebo vodu môžu POPs prekonať vzhľadom na miesto ich vzniku veľké vzdialenosti. Po depozícii napr. na listoch rastlín sa následne akumulujú v tkanivách zvierat, človeka nevynímajúc, v koncentráciách, ktoré môžu mať vplyv na zdravie populácie. Kumuláciou v tukových tkanivách matiek kontaminujú

materské mlieko, cez ktoré môžu prenikať do tiel dojčených detí (DÖMÖTÖROVÁ, et al., 2012; KOČAN et al., 2000). Bola zistená súvislosť medzi expozíciou POPs a poškodením zdravia. Zdravotné účinky spájané s POPs závisia od celého radu faktorov: predovšetkým od úrovne ich množstva (koncentrácie), ale aj od dĺžky a frekvencie expozície. Vplyvom dlhodobej expozície sú pozmenené imunitné funkcie organizmu, porušený vývoj nervového systému, objavujú sa funkčné abnormality štítnej žľazy a pečene. Vyššie koncentrácie dioxínov spôsobujú reprodukčné poruchy, cukrovku, príp. rakovinu, kožné ochorenia, psychické poruchy, negatívne ovplyvňujú vývoj mozgu atď. (CHRIAŠTEL et al. 2003; LANGER et al., 2007; HERTZ-PICCIOTTO, et al., 2008). U viacerých PCDD/F a dioxínom

podobných DL-PCB bolo opísané poškodenie kochleárných vlásokových buniek (ototoxicita) (SISTO et al., 2015).

Kontaminácia potravinového reťazca sa u väčšiny POPs začína cez ovzdušie inhalačnou cestou. Rovnako významnou cestou vstupu je aj ingescia a transdermálny vstup. Ku kontaminácii potravinového reťazca dochádza cez ostatné zložky životného prostredia (ovzdušie, vodný sediment, pôda) a do úvahy pripadá aj kontaminácia pri výrobe potravín, napr. použitie kontaminovaného oleja, sušenie/údenie kontaminovaným drevom a pod. Odhaduje sa, že až 90 % profesionálne neexponovanej populácie je exponovaná POPs alimentárne (LANGER, et al., 2008; HERTZ-PICCIOTTO et al., 2008).

Vo vzorkách zo životného prostredia, krmív, potravín a ľudskej populácie možno detegovať sedem toxických PCDD substituovaných v polohe 2, 3, 7 a 8 zo 75 teoreticky možných kongenéro PCDD, desať 2,3,7,8-substituovaných PCDF zo 135 teoreticky možných kongenéro PCDF a dvanásť DL-PCB vykazujúcich dioxínovú toxicitu z 209 teoreticky možných kongenéro PCB. Pre porovnanie toxickej dávky bol zavedený tzv. toxikologický ekvivalent (TEQ) vyjadrujúci koncentráciu príslušného kongeneru, ktorá má analogický toxický účinok ako najtoxickéjší 2,3,7,8-TCDD. V praxi sa celkové TEQ vypočíta ako súčet koncentrácií jednotlivých kongenéro vynásobených príslušnými faktormi ekvivalentnej toxicity. V roku 1999 bol stanovený Svetovou zdravotníckou organizáciou (WHO) akceptovateľný denný príjem TEQ v rozsahu od 1 do 4 pg. kg⁻¹ telesnej hmotnosti. Tento rozsah predstavuje medzinárodne uznávanú referenčnú expozičnú dávku, ktorá je považovaná za bezpečnú úroveň expozície.

Vysoká chemická a metabolická stabilita, rozpustnosť týchto zlúčenín v tukoch spôsobuje ich celoživotnú akumuláciu v živých organizmoch. Odhadovaný polčas rozkladu v ľuďskom tele je 7 až 11 rokov. Najlepší spôsob prevencie alebo redukcie ľudskej expozície je ich priame meranie u zdroja napr.: striktnou kontrolou priemyselných procesov za účelom redukcie tvorby dioxínov (WHO 2016, WHO 2016a). V súčasnosti sa PCDD, PCDF a DL-PCB vyskytujú takmer všade. PCDD sú uvoľňované najmä pri spaľovacích procesoch (spaľovanie komunálneho, nebezpečného, priemyselného, nemocničného odpadu, ale aj vykurovanie domácností, emisie zo spaľovacích motorov a fajčenie) (SALAY and

GARABRANT 2009). Vzhľadom k ich ubikvitnému rozšíreniu a nebezpečným vlastnostiam predovšetkým na ľudské zdravie je tejto problematike venovaná zvýšená pozornosť (ČONKA et al., 2015). V literatúre (KOVÁČ et al. 2011; JACOBSON and JACOBSON, 1996; FEELEY and BROUWER, 2000) je opisovaný celý rad zdravotiu škodlivých účinkov týchto látok: kardiovaskulárne (získaná progresívna artérioskleróza príp. myokardiálne poruchy), respiračné (dyspnoe); gastrointestinálne (nauzea, vomitus, pankreatitída); hepatálne (hepatocelulárna porucha vrátane hepatomegálie a enzýmových abnormalít); dermatologické (fotosenzitivita s následným vznikom chlórakné, kožná fragilita a hirsutizmus, neskorá kožná porfýria a/alebo hyperpigmentácia); muskuloskeletálne (myalgia a bolesť svalov); neurologické (polyneuropatia, poškodenie funkcie mozgu, mentálne zmeny, dystónia a bolesť hlavy); psychologické (únava, asténia a posttraumatické stresové poruchy); metabolické (tvorba cytochrómu P-4501A1 a P-4501A2, hyperlipidémia, hypovitaminózy); imunologické (imunopresia); urogenitálne (hemoragická cistitída); hematologické (pokles protrombínu); endokrinologické (poruchy tolerancie glukózy a poruchy funkcie štítnej žľazy a jej hormónov); reprodukčné (vrodené anomálie, tetratogenita, vrátane porúch vývoja štítnej žľazy, kongenitálne anomálie CNS, aborty, rôzne poruchy gravidity, endometrióza, zaostávanie vo vývoji, kvalitatívne a kvantitatívne zmeny v spermiiach, abnormality v sexuálnych funkciách, zmeny v hormonálnych hladinách (znižená hladina testosterónu, disruptory estrogénov), impotencia), ototoxicita (strata sluchu) (TRNOVEC et al., 2010).

EXPERIMENTÁLNA ČASŤ MATERIÁL A METÓDY

Analýza PCDD, PCDF a dioxínom príbuzných PCB (DL-PCB) bola uskutočnená plynovou chromatografiou v spojení s vysoko rozlišovacou hmotnostnou spektrometriou (GC-HRMS) v Národnom referenčnom centre pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny, Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave. Analyzovaných bolo celkovo 16 vzoriek potravinových komodít pochádzajúcich z veľkochovov a prídomových chovov rôznych oblastí SR (Tab. 1).

Tab. 1 Zoznam a označenie analyzovaných vzoriek

Tab. 1 List and labeling of analysed samples

Označenie vzorky	Druh komodity	Lokalita	Označenie vzorky	Druh komodity	Lokalita
VZ1 ^a	Bravčová masť	Dubová – Nemecká	VZ9 ^b	Ovčie mlieko	Krompachy – Hrišovce
VZ2 ^a	Bravčová masť	Starina – Príslop	VZ10 ^b	Ovčie mlieko	Dubová – Jasenie
VZ3 ^a	Bravčová masť	Bardejov – Hertník	VZ11 ^b	Ovčie mlieko	Dubová – Predajná
VZ4 ^a	Kravské mlieko	Dubová – Zámotie	VZ12 ^b	Slepačie vajcia	Starina – Topoľa
VZ5 ^a	Kravské mlieko	Starina – Jalová	VZ13 ^a	Slepačie vajcia	Šaľa – Močenok,
VZ6 ^a	Kravské mlieko	Starina – Jalová	VZ14 ^a	Kapor	Šaľa – Selice, Téglaš ^c
VZ7 ^a	Kravské mlieko	Košice – Veľká Ida	VZ15 ^a	Kapor	Šaľa – Močenok-Dlhá ^c
VZ8 ^b	Ovčie mlieko	Krompachy – Slatvina	VZ16 ^a	Kapor	Šaľa – Tešedíkovo, Telektó ^c

^a prídomy chov ^b veľkochov ^c názov rybníka

PRÍSTROJE A VYBAVENIE

Na spracovanie vzoriek potravín boli použité nasledujúce zariadenia: lyofilizátor Heto LyoPro 3000 (Heto-Holten, Dánsko), zariadenie pre urýchlenú extrakciu rozpúšťadlom ASE 300 (Dionex, USA), vákuový rotačný odparovák (Heidolph, Germany), zariadenie na odparovanie TurboVap II (Zymark, USA), poloautomatické zariadenie na čistenie a frakcionáciu vzoriek Power-Prep™ (FMS Ltd., USA).

Na spektrometrické stanovenie PCDD, PCDF a DL-PCB bol použitý vysoko rozlišovací plynový chromatograf (Hewlett-Packard 6890, USA) s vysoko rozlišovacím hmotnostným spektrometrom MAT 95XP (Thermo Finnigan, Germany, HRGC-HRMS). Analýza prebehla za nasledujúcich podmienok:

- elektrónová energia 48 eV,
- hmotnostné rozlíšenie 10 000, detekčný a kvantifikačný režim MID, ióny $[M+2]^+$, M^+ alebo $[M+4]^+$ pre každý analyt,
- HRGC: čistota nosného plynu He 4.6 99,996 %, splitless dávkovanie, konštantný prívod plynu.

Na separáciu kongenénov PCDD/F a PCB sa použila kolóna DB–5ms (60m x 0,25 mm ID x 0,25 μ m, J&W Scientific, USA):

- prietok nosného plynu 0,8 ml.min⁻¹
- vstrekaný objem extraktu 4 μ l
- teplotný program: 120 °C (1,5 min), 30 °C.min⁻¹, 200 °C, 3 °C.min⁻¹, 287 °C, 10 °C.min⁻¹, 325 °C (20 min).
- nosný plyn He

Na separáciu kongenénov PCDD/F obzvlášť vo vzorke rýb z hľadiska presnejšej kvantifikácie

na DB–5ms kolóna koelujúcich zlúčenín sa dodatočne použila kolóna Rtx–2330 (60m x 0,25 mm ID x 0,1 μ m, Restek, USA):

- prietok nosného plynu 1 ml.min⁻¹
- vstrekaný objem extraktu 5 μ l
- teplotný program: 120 °C (1,5 min), 30 °C.min⁻¹, 200 °C, 2 °C.min⁻¹, 260 °C (20 min).
- nosný plyn He.

Používané sklo bolo opláchnuté toluénom, umyté horúcim vodným roztokom saponátu, opláchnuté horúcou vodou, metanolom a na záver destilovanou vodou. Umyté sklo sa ponechalo vysušiť odkvapkaním na filtračný papier. Ďalej sa sklo čistilo vypálením vo vysokoteplotnej sušiarňi pri teplote 400 °C počas 8 hodín. Čisté a suché sklo sa uzatvorilo hliníkovou fóliou a skladovalo sa až do doby použitia na bezprašnom mieste.

PRÍPRAVA VZORIEK

Jednotlivé označené vzorky kravského a ovčieho mlieka, bravčovej masť, rýb a slepačích vajec boli pred samotnou úpravou uskladnené v mrazničke. Rozmrazené vzorky rybieho mäsa boli nakrájané a zhomogenizované pomocou laboratórneho nožového mlyna Grindomix GM 200. Z rozmrazených rýb boli odstránené hlava, vnútornosti a koža. Približne 200 g z každej vzorky sa rozotrela v lyofilizačnej miske. Zo slepačích vajec bol na ďalšie spracovanie oddelený žltok, ktorý sa po homogenizácii sklenenou tyčinkou vylial rovnomerne po celej ploche lyofilizačnej misky. Takto pripravené vzorky sa lyofilizovali približne 48 hodín. Diferenciálnym vážením bol zistený obsah sušiny (%) vo vzorke. Extrakcia rybiech vzoriek sa vykonala pomocou extrakčné-

ho zariadenia Dionex ASE300. Vysušená vzorka sa preniesla do vyčistenej extrakčnej patróny, na ktorej dno sa vopred zatlačil filtračný papier. Na vrch náplne v ASE patrónke boli pridané izotopicky značené extrakčné štandardy a prečistený filtračný papier. Na extrakciu tuku zo vzoriek rybieho mäsa sa použila zmes organických rozpúšťadiel n-hexán : acetón (4:1, v/v) v dvoch cykloch pri teplote 100 °C (5 min).

Vzorky bravčovej masti sa nelyofilizovali a neextrahovali sa z nich tuk, spracovávali sa rovnakým spôsobom ako tuky izolované z iných typov vzoriek. Tuk z lyofilizovaného vaječného žltka sa extrahoval na kolóne s vnútorným priemerom 15 mm, do ktorej sa nasyalo presné množstvo vzorky homogénne zmiešanej s bezvodým síranom sodným. Tuk sa eluoval zmesou dichlórmetán : cyklohexán (1:1, v/v) do vopred odváženej sklenej skúmavky koncentrátora TurboVap a získaný extrakt sa odparil takmer do sucha v koncentrátore TurboVap II. Pred zvážením sa vzorka kvôli odpareniu posledných zvyškov organického rozpúšťadla vložila na 60 min do sušiarne vyhriatej na 103 °C. Diferenčným vážením sa zistila hmotnosť tuku.

Rozklad živočíšnych tukov prebiehal na kolóne plnenej silikagélom modifikovaným s H_2SO_4 . Do vyčistenej 100 ml banky bolo navážené presné množstvo tuku. K obsahu banky boli pridané izotopicky značené extrakčné štandardy. Do vzorky bol pridaný n-hexán a obsah banky sa krúživými pohybmi zamiešal. Do vyčistenej sklenej kolóny s vnútorným priemerom 16 mm sa uložila prečistená sklenená vata a poklepkávaním sa postupne nasykali sorbenty: silikagél, 44% H_2SO_4 na silikagéli, 22% H_2SO_4 na silikagéli, bezvodý Na_2SO_4 . Takto naplnená kolóna sa premyla n-hexánom a po jeho vsiaknutí sa ihneď pridala vzorka tuku. PCDD, PCDF a DL-PCB vyeluovali z kolóny v rámci jednej frakcie.

Z jednotlivých mliečnych vzoriek sa odobralo 50 ml do deliaceho lievika. Po pridaní izotopicky značených (^{13}C) extrakčných štandardov bola mliečna vzorka zaliata horúcim šťaveľanovým roztokom spolu s dietyléterom, etanolom a n-hexánom. Po pretrepaní a odstáťi sa v deliacom lieviku vytvorilo ostré rozhranie, spodná vrstva bola zachytená do kadičky a opätovne extrahovaná rovnakou zmesou rozpúšťadiel. Organická (horná) vrstva sa odparila na rotačnom vákuovom odparovači a nechala odstáť do druhého dňa v banke umiestnenej v digestórii pre odparenie posledných zvyškov organických rozpúšťadiel. Vzorka mliečného tuku bola odvážená a pre vlastnú analýzu sa odobralo 20 – 200 mg. Odvážené množ-

stvo vzorky bolo rozpustené v n-hexáne a ďalej spracované na kolónkach plnených silikagélom modifikovaným s H_2SO_4 .

Čistenie extraktov vzoriek a frakcionácia sledovaných analytov sa uskutočnila pomocou poloautomatického zariadenia FMS Power-Prep™. Na prečistenie zakoncentrovaných vzoriek boli použité rozpúšťadlá: n-hexán, dichlórmetán, toluén, benzén, etylacetát. Hadičky ponorené vo fľašiach príslušných rozpúšťadiel nesmeli prísť do kontaktu s kontaminujúcimi predmetmi. Teflónové kolóny boli vybrané z obalov tesne pred použitím a namontované na paneloch pre kolóny. Oddelené frakcie PCDD + PCDF a DL-PCB boli zachytené v TurboVap skúmavkách, pričom na elúciu PCDD/F sa použil toluén a na elúciu PCB zmes n-hexán : dichlórmetán (1:1, v/v). Hexánový (DL-PCB) a toluénový (PCDD, PCDF) eluát v TurboVap skúmavke obohatený o ochranné rozpúšťadlo (nonán) v objeme 10 μ l bol zakoncentrovaný pomocou TurboVapu prúdom N_2 na objem 0,5 ml (eluát sa nesmel odpariť do sucha). Oblasť kónusu TurboVap skúmaviek sa vyčistenou Pasteurovou pipetou obmyla hexánom, a po obmytí sa rezíduá preniesli priamo do 1,1 ml kónických vialiek. Po prenosení rezíduí sa skúmavka obmyla hexánom tou istou pipetou asi 10-krát a aj tento oplach sa preniesol do pôvodnej kónickej vialky. Takto prenosená vzorka, dobre uzavretá, sa skladovala do GC analýzy v chladničke. Rezíduá v kónickej vialke sa nakoniec zriedili presným objemom roztoku príslušného dávkovacieho štandardu (interný štandard) piestikovou mikropipetou. Vzorka nariadená dávkovacím štandardom sa ponechala fortifikovať 1 hodinu a potom sa nadávkovala do GC.

STANOVENIE PCDD, PCDF A DL-PCB VO VZORKÁCH POTRAVÍN

Stanovenie PCDD, PCDF a DL-PCB vo vzorkách potravín prebiehalo izotopovou zriedňovacou metódou pomocou HRGC/HRMS v režime MID (z anglického multiple ion detection). Kongénovo-špecifické stanovenie PCDD/F a PCB bolo vykonané podľa metódy USEPA 1613, USEPA 1668. Koncentrácia spomenutých zlúčenín je vyjadrená ako TEQ. Na výpočet TEQ sa použili faktory ekvivalentnej toxicity (TEF). Celková $TEQ_{PCDD/F+PCB}$ koncentrácia sa vypočítala sčítaním koncentrácií 17 jednotlivých 2,3,7,8-substituovaných PCDD/F a 12 DL-PCB vynásobených príslušnými TEF.

POŽIADAVKY NA IDENTIFIKÁCIU A STANOVENIE

Aspoň dva ióny z molekulového izotopového zväzku každého 2,3,7,8-chlórs substituovaného kongeneru PCDD/F a PCB sa musia zaznamenávať tak v prípade prirodzených, ako aj pridaných kongenerov označených $^{13}\text{C}_{12}$ (extrakčný štandard a dávkovací štandard). Kongenér sa považuje za pozitívne identifikovaný, ak sú splnené nasledujúce podmienky:

- Pomer izotopov medzi dvoma sledovanými iónmi sa musí zhodovať s teoretickou hodnotou s maximálnou odchýlkou uvedenou v USEPA 1613 resp. USEPA 1668.
- Retenčný čas prirodzeného 2,3,7,8-chlórs substituovaného izoméru PCDD/F a PCB sa musí nachádzať v časovom intervale uvedenom v normovaných metódach založenom na retenčnom čase príslušného izoméru označeného $^{13}\text{C}_{12}$ vo vzorke (US EPA 1994, US EPA 2008).
- Okrem požiadaviek na identifikáciu, sa musia splniť aj nasledujúce požiadavky na stanovenie:
- V súčasnosti neexistuje chromatografická kolóna, ktorá dokáže oddeliť všetky 2,3,7,8-chlórs substituované kongenéry PCDD/F od všetkých ostatných, iných než 2,3,7,8-chlórs substituovaných kongenerov. Úplná separácia sa môže

docieľiť opakovanou analýzou vzorky na rozdielnych kolónach s rozdielnymi vlastnosťami (polaritou).

- Plynovochromatografická separačná kolóna musí oddeliť 2,3,7,8-chlórs substituované kongenéry PCDD/F od rušiacich kongenerov na úrovni 90 % údolia vzťahovaného k najvyššiemu píku. 2,3,7,8-TCDF sa musí separovať od všetkých ostatných rušiacich kongenerov na úrovni 25 % údolia pod vrcholom menšieho píku vo vzťahu k výške tohto píku.
- Výťažnosť každého jednotlivého 2,3,7,8-chlórs substituovaného PCDD/PCDF a PCB z extrakčných štandardov v každej vzorke musí vyhovovať kritériám zakotveným v normovaných metódach US EPA 1613/US EPA 1668.
- Pomer signálu kongenerov označených $^{13}\text{C}_{12}$ a non-orto-, mono-orto-PCB použitých na kvantifikovanie k signálu šumu musí byť $> 10 : 1$.
- Vyžaduje sa analýza slepej extrakčnej vzorky. Hladiny všetkých 2,3,7,8-chlórs substituovaných kongenerov a PCB v slepej vzorke musia byť rovné alebo menšie ako medza detekcie metódy (zistené hladiny týchto kongenerov musia byť najmenej desaťkrát nižšie než najnižšie namerané koncentrácie v sérii vzoriek (US EPA 1994, US EPA 2008).

V tabuľke 2 sú uvedené hmotnosti monitorovaných iónov m/z v režime MID.

Tab. 2 Hmotnosti monitorovaných iónov PCDD,PCDF a PCB (US EPA 1994)

Tab. 2 Mass of monitored ion PCDD, PCDF and PCB (US EPA 1994)

Analyt	Prsná m/z	Typ m/z	Analyt	Prsná m/z	Typ m/z
TCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4\text{O}$)	303,9016	M	TriCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_7^{35}\text{Cl}_3$)	255,9613	M
TCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{ClO}$)	305,8987	M+2	TriCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_7^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$)	257,9584	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ TCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4\text{O}$)	315,9419	M	$^{13}\text{C}_{12}$ TriCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_7^{35}\text{Cl}_3$)	268,0016	M
$^{13}\text{C}_{12}$ TCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{ClO}$)	317,9389	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ TriCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_7^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}$)	269,9986	M+2
TCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4\text{O}_2$)	319,8965	M	TetraCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_6^{35}\text{Cl}_4$)	289,9224	M
TCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{ClO}_2$)	321,8936	M+2	TetraCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_6^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}$)	291,9194	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ TCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4\text{O}_2$)	331,9368	M	$^{13}\text{C}_{12}$ TCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_6^{35}\text{Cl}_4$)	301,9626	M
$^{13}\text{C}_{12}$ TCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{ClO}_2$)	333,9339	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ TCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_6^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}$)	303,9597	M+2
PeCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{ClO}$)	339,8597	M+2	PeCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}$)	325,8804	M+2
PeCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	341,8567	M+4	PeCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_5^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2$)	327,8775	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ PeCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{ClO}$)	351,9000	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ PeCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}$)	337,9207	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ PeCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	353,8970	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ PeCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_5^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2$)	339,9178	M+4
PeCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{ClO}_2$)	355,8546	M+2	HxCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}$)	359,8415	M+2
PeCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	357,8516	M+4	HxCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2$)	361,8385	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ PeCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{ClO}_2$)	367,8949	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ HxCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}$)	371,8817	M+2

Pokračovanie Tab. 2

Analyt	Presná m/z	Typ m/z	Analyt	Presná m/z	Typ m/z
$^{13}\text{C}_{12}$ PeCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	369,8919	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ HxCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_4^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2$)	373,8788	M+4
HxCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{ClO}$)	373,8208	M+2	HpCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}$)	393,8025	M+2
HxCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	375,8178	M+4	HpCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2$)	395,7995	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ HxCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{ClO}$)	385,8610	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ HpCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}$)	405,8428	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ HxCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	387,8580	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ HpCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_3^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2$)	407,8398	M+4
HxCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	389,8157	M+2	OctaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}$)	427,7635	M+2
HxCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	391,8127	M+4	OctaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2$)	429,7606	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ HxCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	401,8559	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ OctaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}$)	439,8038	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ HxCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	403,8529	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ OctaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2$)	441,8008	M+4
HpCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{ClO}$)	407,7818	M+2	NonaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_1^{35}\text{Cl}_8^{37}\text{Cl}$)	461,7246	M+2
HpCDF ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	409,7789	M+4	NonaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_1^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_2$)	463,7216	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ HpCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{ClO}$)	419,8220	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ NonaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_1^{35}\text{Cl}_8^{37}\text{Cl}$)	473,7648	M+2
$^{13}\text{C}_{12}$ HpCDF ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	421,8191	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ NonaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_1^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_2$)	475,7619	M+4
HpCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	423,7766	M+2	DecaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_8^{37}\text{Cl}_2$)	497,6826	M+4
HpCDD ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	425,7737	M+4	DecaCB ($^{12}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_3$)	499,6797	M+6
$^{13}\text{C}_{12}$ HpCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	435,8169	M+2	$^{13}\text{C}_{12}$ DecaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_8^{37}\text{Cl}_2$)	509,7229	M+4
$^{13}\text{C}_{12}$ HpCDD ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	437,8140	M+4	$^{13}\text{C}_{12}$ DecaCB ($^{13}\text{C}_{12}\text{H}_2^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_3$)	511,7199	M+6
OCDF ($^{12}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{ClO}$)	441,7428	M+2			
OCDF ($^{12}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2\text{O}$)	443,7399	M+4			
OCDD ($^{12}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	457,7377	M+2			
OCDD ($^{12}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	459,7348	M+4			
$^{13}\text{C}_{12}$ OCDD ($^{13}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_7^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	469,7779	M+2			
$^{13}\text{C}_{12}$ OCDD ($^{13}\text{C}_{12}^{35}\text{Cl}_6^{37}\text{Cl}_2\text{O}_2$)	471,7750	M+4			

KALIBRÁCIA GC/MS SYSTÉMU

Kalibrácia sa vykonáva analýzou kalibračných roztokov podľa metódy (US EPA 1994, US EPA 2008). Kalibračné roztoky obsahujú každý kongenér, ktorý má byť stanovený. Každý z piatich kalibračných roztokov obsahuje natívne kongenéry a $^{13}\text{C}_{12}$ kongenéry používané ako extrakčné a dávkovacie štandardy. Pri vyhodnocovaní kalibračných štandardov sa zmerajú plochy a vypočítajú relatívne odozvové faktory pre každý sledovaný kongenér k jeho izotopicky značenému ekvivalentu. Tieto odozvové faktory sa používajú spolu s extrakčnými kongenérmi označenými $^{13}\text{C}_{12}$ pridanými do vzorky na stanovenie množstva prirodzených PCDD/F a PCB izotopovou zriedňovacou metódou.

KALIBRAČNÉ ROZTOKY A EX-TRAKČNÉ ŠTANDARDY PCDD, PCDF A DL-PCB

Faktor toxicity – TEF je stanovený pre každú zo zlúčenín patriacu do skupiny POPs, na ktorú sa vzťahuje európska legislatíva. Aby bolo možné určiť mieru toxicity týchto látok, bol zavedený už spomínaný toxický ekvivalent – TEQ. Základom stupnice faktora toxicity je 2,3,7,8-TCDD, ktorého faktor ekvivalentnej toxicity je 1. Pre výpočet TEQ je potrebné hmotnostné koncentrácie 2,3,7,8-substituovaných PCDD/F a DL-PCB vynásobiť príslušnými faktormi toxickej ekvivalencie TEF (Eur-Lex 2014).

V Tab. 3 sú uvedené hodnoty WHO-TEF (faktor toxicity podľa svetovej zdravotníckej organizácie) u 17 toxikologicky významných PCDD/F a 12 DL-PCB.

Tab. 3 Faktory ekvivalentnej toxicity (TEF) pre PCDD, PCDF a DL-PCB ustanovené WHO-v roku 1998)
Tab. 3 Toxicity equivalent factors of PCDD, PCDF and DL-PCBs according WHO in 1998

2,3,7,8-substituované dibenzo-<i>p</i>-dioxíny (PCDD)		non-orto substituované DL-PCB	
Kongenér	Hodnota TEF	Kongenér	Hodnota TEF
2,3,7,8-TCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0001		
2,3,7,8-substituované dibenzofurány (PCDF)		mono-orto substituované DL-PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Kalibračné roztoky boli pripravené sériou zodpovedajúcich riedení v piatich koncentráciách. Koncentrácie kalibračných roztokov boli riedené niekoľko násobne podľa potreby do oblasti nižších koncentrácií v porovnaní s metódou (US EPA 1994, US EPA 2008).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Nariadením komisie (EÚ) č. 1881/2006 sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách, maximálne hodnoty dioxínom nepodobných PCB, dioxínov a furánov a celková suma dioxínov, furánov a dioxínom podobných PCB v určitých potravinách (od roku 2012 je platné nové nariadenie EÚ č. 1259/2011). V odporúčaní komisie 2011/516/EÚ o znížení prítomnosti PCDD, PCDF a PCB v krmivách a potravinách sa stanovili akčné hladiny s cieľom stimulovať proaktívny prístup k znižovaniu prítomnosti PCDD, PCDF a dioxínom podobných PCB v potravinách. Tieto akčné hladiny slúžia príslušným orgánom a hospodárskym subjektom ako nástroj na vymedzenie prípadov, v ktorých je žiadúce zistiť zdroj kontaminácie a prijať opatrenia na jeho obmedzenie alebo

odstránenie. Vzhľadom na to, že PCDD a dioxínom podobné PCB majú rôzne zdroje, je vhodné stanoviť pre dioxíny a dioxínom podobné PCB rôzne akčné hladiny. V nariadení komisie (ES) č. 1883/2006, ktorým sa ustanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na úradnú kontrolu hladiny dioxínov a dioxínom podobných PCB v určitých potravinách, sa stanovujú osobitné ustanovenia týkajúce sa postupu odberu vzoriek a analytických metód, ktoré sa majú uplatňovať pri úradnej kontrole. Aktualizované Nariadenie komisie (EÚ) č. 252/2012 bolo v roku 2014 nahradené Nariadením komisie (EÚ) č. 589/2014, ktorým sa stanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na kontrolu hladín dioxínov, dioxínom podobných PCB a dioxínom nepodobných PCB v určitých potravinách (Eur-Lex 2006, Eur-Lex 2014).

Z celkového počtu 16 vzoriek boli analyzované tri vzorky bravčovej masti (VZ1-3), štyri vzorky kravského (VZ4-7) a ovčieho mlieka (VZ8-11), dve vzorky slepačích vajec (VZ12, 13) a tri vzorky rybieho mäsa z kapra (VZ14-16) z rôznych oblastí SR. Výsledky analýz sú uvedené v Tabuľke 4.

Tab. 4 Obsah PCDD/F a DL-PCB v bravčovej masťi, kravskom a ovčom mlieku, slepačích vajciach (pg/g tuku) a kaprovi (pg/g čerstvej hmotnosti)
 Tab. 4 Content of PCDD/F and DL-PCB in lard, cow's and sheep's milk, chicken eggs (pg/g fat) and in meat of carp (pg/g fresh weight)

Komodita	Bravčová masť					Kravské mlieko					Ovčie mlieko					Slepačie vajcia					Kapor						
	VZ1	VZ2	VZ3	VZ4	VZ5	VZ6	VZ7	VZ8	VZ9	VZ10	VZ11	VZ12	VZ13	VZ14	VZ15	VZ16	VZ17	VZ18	VZ19	VZ20	VZ21	VZ22	VZ23	VZ24	VZ25	VZ26	
Označenie vzorky																											
2378-TCDD	<0,092	<0,027	<0,026	0,07	<0,005	<0,005	0,11	0,16	0,62	<0,008	<0,006	<0,020	<0,012	0,002	0,009	<0,016											
12378-PeCDD	<0,024	0,022	<0,022	0,19	<0,010	<0,01	0,36	0,42	2,77	<0,008	<0,006	<0,022	<0,011	0,003	0,019	<0,013											
123478-HxCDD	<0,065	<0,064	<0,067	0,04	<0,023	<0,02	0,16	0,17	1,43	<0,036	<0,026	<0,060	<0,035	<0,004	0,016	<0,034											
123678-HxCDD	0,16	<0,065	<0,071	0,09	0,097	0,11	0,49	0,33	2,72	<0,036	0,078	0,22	<0,038	<0,004	0,026	<0,035											
123789-HxCDD	<0,065	<0,061	<0,067	<0,01	<0,019	<0,02	<0,032	0,076	0,49	<0,031	<0,024	<0,058	<0,033	<0,004	0,005	<0,033											
1234678-HpCDD	4,00	0,20	0,66	0,09	<0,007	<0,02	0,59	0,22	1,23	<0,023	<0,014	0,58	0,25	<0,001	0,030	<0,012											
OCDD	150	0,78	2,61	nk	0,080	0,09	0,30	0,34	0,44	<0,041	<0,023	0,96	0,52	<0,003	0,025	0,035											
2378-TCDF	<0,036	0,23	<0,069	0,47	<0,006	0,03	0,25	<0,009	<0,014	<0,010	0,35	0,64	0,20	0,024	0,30	0,31											
12378-PeCDF	<0,068	<0,064	<0,070	0,10	<0,024	<0,03	<0,041	0,112	0,42	<0,040	<0,031	0,36	<0,043	<0,004	0,038	<0,035											
23478-PeCDF	0,19	0,22	0,040	2,47	0,72	0,43	2,5	1,245	0,678	0,57	1,09	0,65	0,24	0,014	0,088	0,099											
123478-HxCDF	0,088	0,11	<0,049	0,20	0,2	0,12	1,16	0,54	4,96	<0,031	0,22	0,42	0,13	<0,003	0,014	<0,015											
123678-HxCDF	0,085	0,053	<0,051	0,19	0,17	0,12	1,18	0,451	3,07	0,087	0,14	0,26	<0,030	<0,003	0,015	<0,016											
123789-HxCDF	<0,054	<0,043	<0,056	<0,02	<0,013	<0,02	<0,043	<0,026	<0,041	<0,036	<0,020	<0,075	<0,036	<0,003	<0,003	<0,020											
234678-HxCDF	<0,059	<0,047	<0,061	0,21	0,17	0,14	1,2	0,54	3,27	0,075	0,099	0,3	0,072	<0,003	0,010	<0,022											
1234678-HpCDF	0,53	0,1	0,090	<0,01	0,078	<0,02	0,75	0,35	2,77	<0,020	<0,015	0,2	<0,021	<0,001	0,005	<0,013											
1234789-HpCDF	<0,041	<0,024	<0,033	<0,01	<0,013	<0,02	0,13	<0,018	0,79	<0,027	<0,018	<0,051	<0,032	<0,002	<0,002	<0,015											
OCDF	0,41	0,053	nk	nk	<0,007	<0,02	<0,042	0,073	0,74	<0,033	<0,019	<0,048	<0,037	<0,002	<0,003	<0,009											
PCB-77	1,44	2,08	0,11	9,64	2,11	1,62	6,96	4,33	5,45	3,85	9,38	20,04	10,47	0,43	5,36	13,3											
PCB-81	0,21	0,23	0,064	7,63	1,25	0,80	3,33	2,62	4,92	1,63	2,53	7,89	1,23	0,076	0,58	1,13											
PCB-126	3,53	1,55	0,13	37,09	6,24	4,59	17,69	16,07	52	11,05	18,87	7,89	1,96	0,21	1,26	2,17											
PCB-169	0,91	0,96	0,14	3,40	0,74	0,74	2,82	4,78	39,62	2,14	3,44	1,23	0,4	0,079	0,28	0,19											
PCB-105	77,79	54,82	4,83	516,44	135,01	92,04	238,84	82,32	180,69	132,63	194,12	193,14	69,37	5,63	29,09	45,26											
PCB-114	6,21	4,75	0,65	39,89	5,81	9,01	19,96	12,55	44,16	13,72	22,76	9,09	5,08	0,50	1,13	2,51											
PCB-123	2,28	1,35	nk	45,99	6,99	3,38	7,97	1,76	3,29	2,31	3,64	7,54	2,19	0,40	0,96	1,75											
PCB-118	440,64	319,84	27,70	2200,67	949,38	487,46	962,97	210,22	375,88	298,27	484,18	734,69	287,89	17,53	106,89	199,03											
PCB-156	215,48	209,40	14,96	434,69	338,62	57,47	299,34	75,30	249,40	191,42	327,37	302,17	77,49	4,37	31,81	62,86											
PCB-157	19,76	14,87	2,03	61,70	24,35	9,71	32,72	18,21	77,42	28,95	50,89	22,40	8,83	0,77	3,39	5,86											
PCB-167	75,56	79,52	3,15	304,95	150,00	32,37	148,60	31,52	51,34	48,87	92,97	142,69	41,60	3,37	21,75	43,45											
PCB-189	27,62	42,40	2,19	46,61	37,27	5,52	40,92	13,65	80,96	23,21	38,49	45,70	12,05	0,83	5,79	11,02											

nk – nekvantifikované

Najnižšiu hladinu zo skupiny PCDD kongenéro a zároveň aj celkovú minimálnu koncentráciu spomedzi všetkých sledovaných kongenéro vo vzorkách bravčovej masti vykázal 1,2,3,7,8-PeCDD (0,022 pg.g⁻¹ tuku, VZ2 a < 0,022 pg.g⁻¹ tuku, VZ3). Kongenér OCDD vo vzorke VZ1 s preukázanou koncentráciou 149,931 pg.g⁻¹ tuku jednoznačne dominoval v skupine PCDD. V skupine PCDF kongenéro bola preukázaná najnižšia koncentrácia u OCDF (VZ3), kde obsah spomenutého kongeneru vykazoval hodnotu pod medzou detekcie. Ďalšia najnižšia koncentrácia v poradí bola zistená u 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF (VZ2), a to menej než 0,024 pg.g⁻¹ tuku. Najvyššia koncentrácia zo skupiny PCDF kongenéro bola nameraná u 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF (0,53 pg.g⁻¹ tuku, VZ1). Pokiaľ ide o skupinu kongenéro DL-PCB, o najnižšej preukázanej koncentrácii môžeme hovoriť v prípade kongeneru PCB-123, ktorého obsah vo vzorke bol pod medzou detekcie. Ďalšia najnižšia koncentrácia v poradí bola preukázaná u PCB-81 (0,064 pg.g⁻¹ tuku, VZ3). Maximálny obsah u DL-PCB a zároveň aj celková najvyššia koncentrácia vo všetkých sledovaných skupinách kongenéro z odobratých vzoriek bravčovej masti, bola dokázaná u PCB-118, a to 440,64 pg.g⁻¹ tuku (VZ1), čo predstavuje približne 3-krát vyššiu koncentráciu oproti koncentrácii OCDD a až 831-krát vyšší obsah ako u 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF. V značne vysokých koncentráciách sa vyskytol nielen spomínaný kongenér PCB-118, ale aj PCB-156 (215,48 pg.g⁻¹ tuku, VZ1). Ide o kongenéry s najvyššou koncentráciou v rámci všetkých sledovaných skupín kongenéro vo vzorkách bravčovej masti, kongenér PCB-118 vykazoval približne 20 029-krát vyššiu koncentráciu než najnižšie zistené koncentrácie ostatných kongenéro. Pre každý kongenér bola určená miera toxicity.

Výsledky vo vzorkách kravského mlieka sú nasledovné. Koncentráciu pod limitom detekcie vykazovali dva kongenéry, OCDD (VZ4) v skupine dioxínov a OCDF (VZ4) v skupine furánov. Najnižšiu detegovateľnú koncentráciu dioxínov a zároveň aj ostatných skupín kongenéro vykázal 2,3,7,8-TCDD, a to menej ako 0,005 pg.g⁻¹ tuku (VZ5, VZ6). Minimálna koncentrácia v skupine PCDF bola zistená u 2,3,7,8-TCDF (< 0,006 pg.g⁻¹ tuku, VZ5). Najvyššia koncentrácia v skupine PCDD kongenéro bola nameraná u 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (0,59 pg.g⁻¹ tuku, VZ7), ktorá bola v porovnaní s najvyššou koncentráciou u 2,3,4,7,8-PeCDF (2,5 pg.g⁻¹ tuku, VZ7) približne 4-krát vyššia. Značný rozdiel nameraných

minimálnych a maximálnych koncentrácií je vo vzorkách kravského mlieka práve v skupine DL-PCB v porovnaní s ostatnými komoditami a skupinami kongenéro. Až 2200,67 pg.g⁻¹ tuku bolo detegovaných vo vzorke VZ4 pre kongenér PCB-118, čo predstavuje maximálnu zistenú koncentráciu spomedzi všetkých kongenéro u sledovaných komodít. Najnižšia koncentrácia bola preukázaná u PCB-169 (0,74 pg.g⁻¹ tuku, VZ5 a VZ6).

Vo vzorkách ovčieho mlieka boli minimálne hladiny zaznamenané u 2,3,7,8-TCDD (VZ11) a 1,2,3,7,8-PeCDD (VZ11) na úrovni menšej ako 0,006 pg.g⁻¹ tuku. Najvyššia zistená hladina v skupine PCDD kongenéro bola približne až 462-násobne väčšia oproti najnižším hladinám, a to u 1,2,3,7,8-PeCDD (2,77 pg.g⁻¹ tuku, VZ9). Porovnaním jednotlivých koncentrácií v skupine PCDF kongenéro sme zistili, že najnižšia nameraná hodnota bola u 2,3,7,8-TCDF (menej ako 0,009 pg.g⁻¹ tuku, VZ8), a to približne 551-krát ako najvyššia nameraná koncentrácia (4,96 pg.g⁻¹ tuku u 1,2,3,4,7,8-HxCDF, VZ9). Pre skupinu DL-PCB kongenéro sa opäť predpokladalo širšie rozpätie nameraných hodnôt oproti hladinám PCDD/F kongenéro. Rozdiel najnižšej koncentrácie u PCB-81 (1,63 pg.g⁻¹ tuku, VZ10) a najvyššej nameranej u PCB-118 (484,18 pg.g⁻¹ tuku, VZ11) bol takmer 300-násobný.

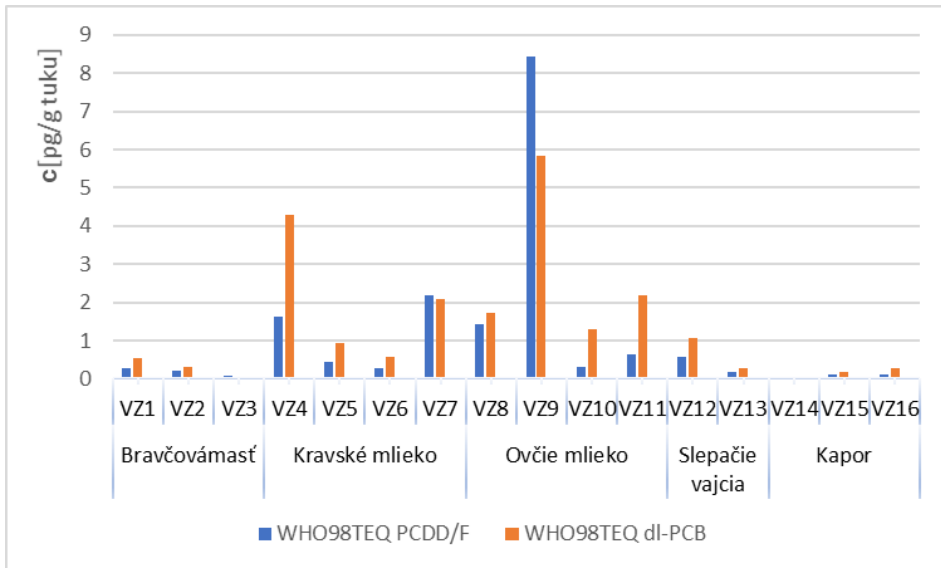
Vo vzorkách slepačích vajec boli zistené nasledovné koncentrácie. Najnižší obsah v skupine PCDD kongenéro vykazoval 1,2,3,7,8-PeCDD (menej ako 0,011 pg.g⁻¹ tuku, VZ13) a najvyšší bol zistený u OCDD (0,96 pg.g⁻¹ tuku, VZ12). Pokiaľ ide o koncentráciu furánov v slepačích vajciach, tak najnižšia nameraná koncentrácia bola u 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF (menej ako 0,021 pg.g⁻¹ tuku, VZ13) a najvyššia u 2,3,4,7,8-PeCDF (0,65 pg.g⁻¹ tuku, VZ12), rozdiel koncentrácií bol približne 31-násobný. V skupine DL-PCB kongenéro bol približne 1837-násobný rozdiel najnižšej koncentrácie (PCB-169, 0,4 pg.g⁻¹ tuku, VZ13) oproti najvyššej (PCB-118, 734,69 pg.g⁻¹ tuku, VZ12).

Vo vzorkách kapra bola zistená najnižšia koncentrácia v skupine dioxínov, a to menej než 0,001 pg.g⁻¹ čerstvej hmotnosti u 1,2,3,4,6,7,8,-HpCDD (VZ14), ktorá bola oproti najvyššej zistenej koncentrácii u OCDD (0,035 pg.g⁻¹ čerstvej hmotnosti, VZ16) 35-násobne nižšia. Najvyššiu koncentráciu v skupine furánov dosiahol kongenér 2,3,7,8-TCDF, a to 0,31 pg.g⁻¹ čerstvej hmotnosti (VZ16), ktorá je oproti najnižšej nameranej menej ako 0,001 pg.g⁻¹ čerstvej hmotnosti u 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF (VZ14)

310-krát vyššia. Z hľadiska zastúpenia DL-PCB kongenénov dominoval PCB-118 s koncentráciou 199,03 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvej hmotnosti (VZ16), oproti PCB-81 (0,076 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ čerstvej hmotnosti, VZ14), rozdiel koncentrácií bol približne 2619-násobný.

Suma dioxínov a furánov vyjadrená ako $\text{WHO}_{98}\text{TEQ PCDD/F}$, tzn. miera toxicity (pozri obr. 1) bola najvyššia spomedzi všetkých komodít v ovčom mlieku (VZ9), a to na úrovni 8,45 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, ktorá prekračuje takmer 3-násobne maximálnu prípustnú hodnotu obsahu sumy PCDD/F podľa Nariadenia (ES) č. 1881/2006 (3,0 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$

tuku). Podľa Odporúčania č. 516/2011 EÚ (1,75 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku) stanovená koncentrácia prekračila akčnú hladinu PCDD/F takmer 5-krát. Ostatné vzorky ovčieho mlieka spĺňajú maximálne prípustné hladiny podľa oboch právnych predpisov. Bravčová masť stanovenými koncentraciami neprekračuje ani v jednom prípade či už podľa Nariadenia (ES) č. 1881/2006 (1,00 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku) alebo Odporúčania č. 516/2011 EÚ (1,00 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku) maximálne prípustné hladiny.



Obr. 1 Porovnanie $\text{WHO}_{98}\text{TEQ PCDD/F}$ a DL-PCB v jednotlivých komoditách
Fig. 1 Comparison of $\text{WHO}_{98}\text{TEQ PCDD/F}$ and DL-PCB in food samples

Vo vzorkách kravského mlieka neboli prekročené maximálne prípustné hladiny podľa Nariadenia č. 1881/2006, ale akčná hladina stanovená podľa Odporúčania č. 516/2011 EÚ bola prekročená u VZ7 o 0,42 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku. Podľa oboch právnych predpisov neboli prekročené maximálne prípustné koncentrácie ani u jednej vzorky slepačích vajec a kapra.

Suma dioxínom podobných polychlórovaných bifenyllov vyjadrená ako $\text{WHO}_{98}\text{TEQ DL-PCB}$ dosiahla najvyššiu hladinu spomedzi všetkých komodít v ovčom mlieku (VZ9), a to na úrovni 5,85 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku. Podľa Nariadenia č. 1881/2006 je prekročená maximálna hodnota obsahu sumy dioxínov, furánov, DL-PCB (6,0 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku) takmer 2,4-násobne (14,3 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, VZ9) a akčná hladina pre DL-PCB (2,0 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku) je prekročená o 3,85 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku (5,85 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku, VZ 9). Ostatné vzorky ovčieho mlieka okrem

VZ11 (prekročenie akčnej hladiny o 0,2 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku), neprekročili stanovené maximálne prípustné hladiny. Vo vzorkách bravčovej masť neboli prekročené v žiadnom prípade maximálne prípustné hladiny podľa oboch právnych predpisov. Vo vzorke s označením VZ3 (bravčová masť) a VZ14 (kapor) bola dosiahnutá najmenšia hodnota $\text{WHO}_{98}\text{TEQ DL-PCB}$ spomedzi všetkých komodít. Vo vzorkách kravského mlieka neboli prekročené maximálne prípustné hladiny podľa Nariadenia č. 1881/2006, ale v porovnaní s limitmi podľa Odporúčania č. 516/2011 EÚ boli prekročené prípustné hladiny u dvoch vzoriek (4,3 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku – VZ4 a 2,10 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$ tuku – VZ7). Vo vzorkách slepačích vajec neboli prekročené maximálne prípustné hladiny, rovnako ako aj u vzoriek z rybieho mäsa podľa oboch právnych predpisov.

ZÁVER

Svetová zdravotnícka organizácia v r. 1998 určila, že denný príjem človeka počas jeho priemernej dĺžky života by nemal prekročiť 1 až 4 pg TEQ na kg telesnej hmotnosti (WHO 1998). V r. 2001 Vedecký výbor pre potraviny Európskej komisie stanovil 14 pg TEQ na 1 kg telesnej hmotnosti ako tolerovateľný týždenný príjem (EC SCF 2001). Spoločný odborný výbor FAO a WHO pre potravinárske prídavné látky (JEFCA) v tom istom roku stanovil 70 pg TEQ na 1 kg telesnej hmotnosti ako tolerovateľný mesačný príjem (FAO/WHO 2001). Vychádzajúc z týchto odporúčaní Európska komisia určila maximálne hodnoty obsahov (ML) PCDD/F a PCDD/F/DL-PCB v potravinách ako aj akčné hodnoty. Tieto hodnoty TEQ sú založené na TEF publikovaných WHO v r. 1998, ktoré boli v r. 2005 modifikované (aktuálne platné odporúčanie EÚ má číslo 2014/663/EU). Cieľom akčných hodnôt (AL) je upozorniť príslušné orgány a producentov, v ktorých prípadoch je vhodné identifikovať zdroj kontaminácie a uskutočniť opatrenia na jeho potlačenie alebo odstránenie (KOČAN et al., 2000).

V nami sledovaných vzorkách potravín bola zistená prítomnosť najtoxického kongenéru 2,3,7,8-TCDD (TEF = 1) v intervale hodnôt od 0,002 pg.g⁻¹ tuku (kapor) po 0,62 pg.g⁻¹ tuku (ovčie mlieko). Nariadenie komisie (ES) č. 1881/2006 a Odporúčanie komisie EÚ č. 516/2011 vychádzajú z analýz WHO. Zo zistených výsledkov vyplynulo, že akčné hladiny PCDD a PCDF boli prioritne prekročené vo vzorkách ovčieho mlieka (VZ9), až 2,8-násobne v porovnaní s Nariadením č. 1881/2011, v prípade porovnania s akčnými hladinami ide až o takmer 5-násobné prekročenie maximálnej odporúčanej hladiny. Rovnako vo vzorkách kravského mlieka (VZ7) bola prekročená odporúčaná hladina o 0,42 pg.g⁻¹ tuku. Akčné hladiny stanovené pre DL-PCB boli obzvlášť prekročené vo vzorkách ovčieho mlieka (VZ9), a to takmer 3-násobne a menej významne v prípade VZ11 bola prekročená prípustná koncentrácia o 0,2 pg.g⁻¹ tuku. V kravskom mlieku bola prekročená akčná hladina pre DL-PCB v dvoch vzorkách, vo vzorke VZ4 bola stanovená koncentrácia približne 2-násobne vyššia ako je odporúčaná hladina a vo vzorke VZ7 bol rozdiel medzi povoleným limitným množstvom a stanovenou koncentráciou 0,1 pg.g⁻¹ tuku.

Častá konzumácia potravín obsahujúcich nadlimitné hladiny PCDD/F a/alebo DL-PCB môže predstavovať zvýšené riziko poškodenia zdravia.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-21-004205. Táto publikácia bola vytvorená realizáciou projektu „Centrum excelentnosti environmentálneho zdravia“, ITMS č. 26240120033, na základe podpory operačného programu Výskum a vývoj, financovaného z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

LITERATÚRA

- ČONKA K. – FABIŠIKOVÁ A. – CHOVANCOVÁ J. – STACHOVÁ SEJÁKOVÁ Z. – DÖMÖTÖROVÁ M. – DROBNÁ B. – KOČAN A. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in food samples from areas with potential sources of contamination in Slovakia *Journal of Food and Nutrition Research* Vol. 54, 2015, No. 1, pp. 50–61
- DÖMÖTÖROVÁ, M., SEJÁKOVÁ ZS, KOČAN A, ČONKA K, CHOVANCOVÁ J, FABIŠIKOVÁ A. 2012. *PCDDs, PCDFs, dioxin-like PCBs and indicator PCBs in soil from five selected areas in Slovakia*. *Chemosphere*. 2012, 89(4):480-5. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.05.106.
- Ekotox 2016: *POPs a Štokholmský dohovor* [online]. [cit. 29.10.2016]. Dostupné na internete: <<http://www.ekotox.sk/pops-a-ctokholmskhovor-mainmenu-227>>
- Eur-Lex 2014. *Nariadenie komisie (EÚ) č. 589/2014, ktorým sa ustanovujú metódy odberu vzoriek a analýzy na kontrolu hladín dioxínov, dioxinom podobných PCB a dioxinom nepodobných PCB v určitých potravinách a ktorým sa zrušuje nariadenie (EÚ) č. 252/2012. EUR-Lex*. [online]. [cit. 21.11.2016] Dostupné na internete: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R0589&from=SK>>
- EUR-Lex 2006. *Nariadenie komisie (EÚ) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách*. [online]. [cit. 21.11.2016]. Dostupné na internete: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:SK:PDF>>.
- FEELEY M., BROUWER A. 2000. *Health risks to infants from exposure to PCBs, PCDDs and PCDFs. In Food additives & Contaminants* [online]. NCBI. [cit. 04.11.2016] Dostupné na internete: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/026520300283397>>. Vol. 17, Iss.4.
- HERTZ-PICCIOTTO, I., PARK, H.Y., DOSTÁL, M., KOČAN, A., TRNOVEC, T., SRAM, R.

2008. Prenatal exposures to persistent and non-persistent organic compounds and effects on immune system development. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 102, 2008, pp. 146–154. DOI: 10.1111/j.17427843.2007.00190.x.
- HONG, B. UM SPH 2007. *Impact of the changes in WHO TEF values from 1998 to 2005 on the total TEQ values in serum, household dust and soil*. 2007. [online]. [cit. 05.12.2016]. Dostupné na internete: <http://www.sph.umich.edu/dioxin/PDF/Tokyo/Tokyo_04_TEQ_talk_Hong%20August%2027.pdf>.
- CHRIAŠTEĽ, R. et al. 2003: *Monitoring perzistentných organických látok v Slovenskej republike*. Počiatková pomoc Slovenskej republiky pri plnení záväzkov vyplývajúcich zo Štokholmského dohovoru o perzistentných organických látkach (POPs). Technická správa č. 2, časť 1 [online]. [cit. 25.10.2016]. Dostupné na internete: <http://www.shmu.sk/File/SLO01G31/1TR2_Monit.pdf>. ISBN 80-88907-35-7.
- JACOBSON, J.L., JACOBSON, S.W. 1996. *Intellectual Impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero*. In *The New England Journal of Medicine*. Vol. 335, No. 11, p. 783 – 789. [online]. [cit. 04.11.2017] Dostupné na internete: <<http://www.nchh.org/Portals/0/Contents/Article0357.pdf>>.
- KOČAN, A. *Dioxíny a dioxínom podobné PCB v potravinách živočíšneho pôvodu v Slovenskej republike – stanovisko*. Národné referenčné centrum pre dioxíny a príbuzné zlúčeniny Slovenská zdravotnícka univerzita Bratislava [online]. [cit. 8.12.2016]. Dostupné na internete: <https://zenodo.org/record/819651#_wrljXkx2w>
- KOČAN, A., PETRÍK, J., CHOVANCOVÁ, J., DROBNÁ, B. 2000. Dioxíny a príbuzné zlúčeniny v materskom mlieku z vybraných okresov SR, anotácia výskumného projektu, 5/2000, Ústav preventívnej a klinickej medicíny (ÚPKM) – Národné referenčné centrum pre dioxíny a podobné zlúčeniny, Bratislava.
- KOČAN, A. et al. *PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in ambient air in Slovakia* [USB] Bratislava: Slovak Medical University, Department of Toxic Organic Pollutants.
- KOČAN, A. et al. 1998: *Zaťaženie životného prostredia a ľudskej populácie v oblasti kontaminovanej polychlórovanými bifenyli. Správa za 1. rok riešenia*. [USB] Bratislava : ÚPKM, 1998.
- KOVÁČ, J. et al. 2011: *Účinky dioxínov a PCB na ľudský organizmus, ich vplyv na vývoj zubov pri deťoch dojčených materským mliekom* HYGIENA 2011, 56(4), 116–126. [cit. 02.11.2017]. Dostupné na internete: <<http://apps.szu.cz/svi/hygiena/archiv/h2011-4-03-full.pdf>>
- LANGER, P. B., GAŠPERÍKOVÁ, D., ŠEBÖKOVÁ, E., KLIMEŠ, I. 2008. Increased thyroid volume, prevalence of thyroid antibodies and impaired fasting glucose in young adults from organochlorine cocktail polluted area: Outcome of transgenerational transmission? *Chemosphere*, 73, 2008, pp. 1145–1150. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.067.
- LANGER, P. – KOČAN, A. – TAJTÁKOVÁ, M. – PETRÍK, J. – CHOVANCOVÁ, J. – DROBNÁ, B. – JURSA, S. – RÁDIKOVÁ, Ž. – KOŠKA, J. – KŠINANTOVÁ, L. – HUČKOVÁ, M. – IMRICH, R. – WIMMEROVÁ, S. – GAŠPERÍKOVÁ, D. – SHISHIBA, Y. – TRNOVEC, T. – ŠEBÖKOVÁ, E. – KLIMEŠ, I.: Fish from industrially polluted freshwater as the main source of organochlorinated pollutants and increased frequency of thyroid disorders and dysglycemia. *Chemosphere*, 67, 2007, pp. 379–385. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.05.132.
- MŽP SR 2016: *Štokholmský dohovor*. [online]. [cit. 27.10.2016]. Dostupné na internete: <<http://www.minzp.sk/files/press/stokholmsky-dohovor-o-perzistentnych-organickych-latkach.pdf>>
- SALAY, E., GARABRANT, D. 2009. Polychlorinated biphenyls and thyroid hormones in adults: A systematic review appraisal of epidemiological studies. In *Chemosphere*. 2009, vol.74, no.11, p.1413-1419.
- SISTO, R. – MOLETI, A. – PALKOVIČOVÁ MURÍNOVÁ, E. – WIMMEROVÁ, S. – LANCZ, K. – TIHÁNYI, J. – ČONKA, K. – ŠOVČÍKOVÁ, E. – HERTZ-PICCIOTTO, I. – JUSKO, T. A. – TRNOVEC, T. Environmental exposure to organochlorine pesticides and deficits in cochlear status in children. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015 Oct; 22(19): 14570–14578. doi: 10.1007/s11356-015-4690-5
- TRNOVEC, T., ŠOVČÍKOVÁ, E., PAVLOVČINOVÁ, G., JAKUBÍKOVÁ, J., JUSKO, T., HUŠŤÁK, M., JUREČKOVÁ, D., PALKOVIČOVÁ, E., KOČAN, A., DROBNÁ, B., LANCZ, K., WIMMEROVÁ, S. 2010. Serum PCB concentrations and cochlear function in 12-year-old children. *Environmental Science and Technology*, 44, 2010, pp. 2884–2889. DOI: 10.1021/es901918h.
- US EPA 1994. *Method 1613. Tetra – through Octa Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS*. [online]. U.S. EPA. 1994. [cit. 05.12.2016]. Dostupné na internete: <<http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/organics/dio>

- xins/ upload/2007_07_10_methods_method_dioxins_1613.pdf>.
- US EPA 2008. *Method 1668B Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, Biosolids and Tissue by HRGC/HRMS*. [online]. U.S. EPA. 2008. [cit. 05.12.2016]. Dostupné na internete: <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2009_01_07_methods_method_1668.pdf>.
- WHO 2016: *Dioxins and their effects on human health*. [online]. World Health Organization [cit. 25.10.2016]. Dostupné na internete: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/>>
- WHO 2016a: *Health and sustainable development. Air pollution impacts*. [online]. World Health Organization [cit. 27.10.2016]. Dostupné na internete: <<http://www.who.int/sustainable-development/health-sector/health-risks/air-pollution/en/>>.

FLÓRA A VEGETÁCIA OSÍDLUJÚCA BANSKÚ HALDU NA LOKALITE NOVÁ ŠACHTA PRI BANSKEJ ŠTIAVNICI

SIMONA SMUTNÁ¹ – ANDREA ZACHAROVÁ²

¹ Jesenského 2149/49, 96001 Zvolen, email: simona.smutna4@gmail.com

² Katedra environmentálneho inžinierstva, Fakulta ekológie a environmentalistiky, Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, andrea.zacharova@tuzvo.sk

ABSTRACT

Smutná, S., Zacharová, A.: **Flora and vegetation occurring mine waste heap called Nová šachta near Banská Štiavnica**

Waste heap Nová šachta (near Banská Štiavnica) was created by the accumulation of mining waste after the extraction of polymetallic ores. Unlike other ore waste heaps in the region, it was partially recultivated and it is currently a part of a settlement for marginalized inhabitants. These factors caused the formation of relatively atypical vegetation at the waste heap. Plant communities were studied in the sense of Zurich-Montpellier School of Phytosociology. Unlike other heaps, there is no typical lichens and mosses layer on the heap and dominant species in the herb layer are nitrophilous species such as *Urtica dioica* and *Galium aparine* agg.. Other grasses include *Elytrigia repens*, *Festuca rubra* agg. and *Poa trivialis*. An invasive plant species *Fallopia japonica* also occurs at the waste heap. Communities are still not fully developed. The most common is the community with *Urtica dioica*.

Key words: mining, waste heap, vegetation, plant communities, Nová šachta, Banská Štiavnica (Šobov)

ÚVOD

Banské haldy predstavujú špecifické ekologické a mikroklimatické podmienky hlavne pre rastliny. Často sú to substráty s vysokým obsahom skeletu (až do 87 %). Expozícia a sklon haldového kopca určujú množstvo slnečného žiarenia, ktoré dopadá na haldový materiál. Práve preto sú haldy často veľmi suché a veterné stanovištia s nedostatkom živín. Extrémnymi stanovišťami sú najmä rudné haldy, ktoré majú na rozdiel od uhoľných v sebe veľké množstvo ťažkých kovov a skeletu. Hodnoty týchto prvkov v substráte sú v mnohých prípadoch extrémne vysoké a preto vytvárajú vhodné podmienky pre existenciu len obmedzenému množstvu rastlinných druhov. Pôsobením týchto rizikových, a často toxických prvkov je sukcesia na týchto lokalitách oveľa dlhší proces (Prach, 2006).

Typický príklad vegetácie osídľujúcej rudné haldy uvádzajú Turisová et al. (2016) a Banášová (1976) z medených hald na Starých Horách a v Španej Doline. Potvrdzujú pomalý nástup

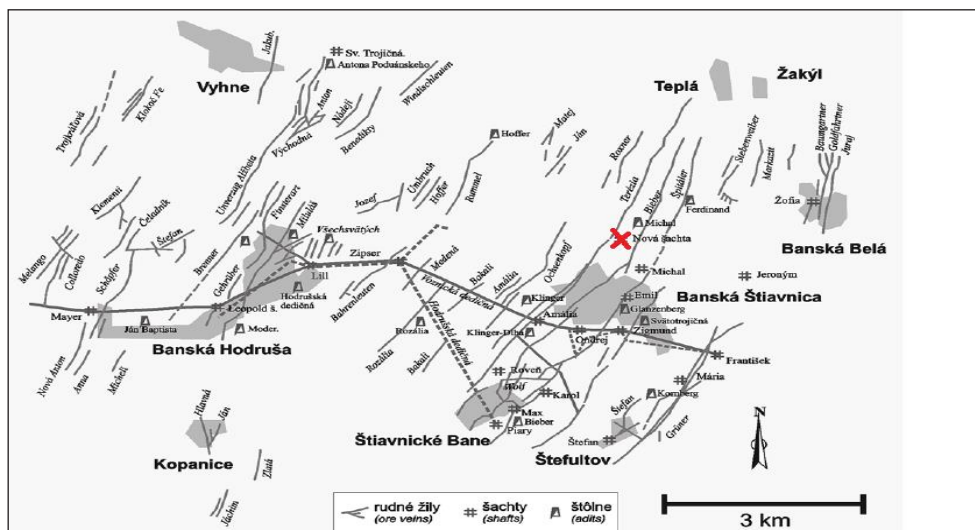
vegetácie a spomalenie sukcesie vďaka zvýšenej koncentrácii medi. Prvotným štádiom je obsadenie plochy lišajníkmi a machmi. Ich výlučky v podobe kyselín a odumreté stielky prispôbujú nehostinné podmienky ďalším druhom. Najbežnejším druhom, ktorý je schopný sa uchýtiť na staršom ale pevnom haldovom materiáli je dutohlávka (*Cladonia mitis*). Tento lišajník spolu s machom *Ceratodon purpureus* a ďalším lišajníkom *Stereocaulon incrustatum* vytvára mozaikovitú porast. Na rozdiel od uhoľných hald tu zaznamenávame nižšiu diverzitu vyšších rastlín. Flóra medených hald je charakterizovaná asociáciou *Cladonio-Silenetum (inflatae)*. Pokiaľ sa stihla vytvoriť dostatočná vrstva pôdy, uchytávajú sa druhy spoločenstva s *Arrhenatherum elatius*. Neskoršie štádiá vývoja sú v veľkej časti ovplyvňované okolitou vegetáciou. Spoločenstvá rudných hald sa často dostávajú do sub-klimaxového sukcesného štádia s dominanciou *Calamagrostis epigejos* alebo *Avenella flexulosa* (Marušková, 2011).

Cieľom našej práce bolo zhodnotiť charakter flóry a vegetácie na halde Nová šachta. Táto halda bola ako jedna z mála rudných hald aspoň čiastočne zrekultivovaná a oblasť má veľmi špecifické využitie územia (sídliisko), čím sa odlišuje od všetkých ostatných skúmaných hald na Slovensku.

CHARAKTERISTIKA LOKALITY

Skúmaná lokalita halda Nová šachta (685 – 715 m n. m.) vyplňa údolie medzi vrchmi Glanzenberg a Šobov. Šachta bola budovaná v rokoch

1964 - 1973 na dobývanie polymetalického ložiska Banská Štiavnica. Spolu s ňou bola postavená oceľová ťažná veža, flotačná úpravňa a drievareň rudy. Počas jej fungovania sa ťažilo z troch žíl: Bieber, Špitáľer a Terézia. Po roku 1993 sa začala likvidácia bane jej opustením a v roku 1995 bola uvedená do zabezpečovacieho režimu, kedy boli ukončené všetky práce v šachte (<http://bs.dku-binsky.sk/pamiatky/technickepamiatky/sobov>). Halda má niekoľko etáží a zloženie haldového materiálu je veľmi pestré. V halde sa nachádza aj hydrokvarcit, ktorý sa využíva na výrobu dínasu a filtračných zmesí (Andraš et al., 2010).



Obr. 1 Mapa štôlní a šacht v Štiavnicko-hodrušskom rudnom revíre (Sombathy, 1981)

Pozn.: Nová šachta – Šobov je označená X

Fig. 1 The map of mines in Štiavnicko-hodrušský mining area (Sombathy, 1981)

Note: Nová šachta – Šobov marked by X

Lokalita sa nachádza v mierne teplom, vlhkom, vrchovinovom klimatickom okrsku s menej ako 50 letnými dňami v roku a júlovými teplotami 16 °C a vyššími (Lapin et al., 2002). Priemerná teplota vzduchu v januári predstavuje -4 °C (Šťastný et al, 2002). Priemerný ročný úhrn zrážok je na úrovni 800 mm (Faško, Šťastný, 2002). Oblasť Štiavnických vrchov odvodňujú povodia Hronu a Ipľa. Väčšie je povodie Hrona, ktoré je zbernicou vody na severe, západe, juhu a rieka Ipľ odvádza vodu z juhovýchodu.

Z fytogeografického hľadiska patrí Banská Štiavnica do Holarktickej oblasti, Eurosibirskej podoblasti, stredoeurópskej provincie. Z pohľadu lesov, ktoré zaberajú skoro 70 % z rozlohy Štiav-

nických vrchov, patrí územie do dubovo-bukovej zóny a sopečnej oblasti. Potenciálna prirodzená vegetácia predstavuje karpatské dubovo-hrabové lesy (*Carici pilosae-Carpinetum*) a dubové, cervo-dubové lesy (*Quercetum petraeae-cerris*) (Maglocký, 2002).

METODIKA

Údaje boli získané z terénneho výskumu z lokality Šobov – Nová šachta. V teréne, na povrchu haldy, sme si vytýčili 26 plôch s veľkosťou 25 m², a to v závislosti od charakteru a homogennosti porastu. Výskum v teréne bol realizovaný v mesiacoch júl a august 2016. Taxonomické názvy

jednotlivých druhov sú uvádzané podľa Marholda a Hindáka (1998).

Pri terénnom výskume sme zvolili postup podľa Zürriško-montpelierskej školy a pokrývnosť jednotlivých druhov bola stanovená odhadom v zmysle 7-člennej kombinovanej stupnice početnosti a pokrývnosti podľa Braun-Blanqueta (1964).

Ekologickú analýzu spoločenstiev osídľujúcich haldu Nová šachta sme spravili v zmysle Ellenberga (1974).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Halda Novej šachty prešla po ukončení ťažby v roku 1993 čiastočnou rekultiváciou, kedy bol banský odpad na väčšine haldy prekrytý zeminou. K výsadbe vegetácie však nedošlo. Vegetáciu výrazne ovplyvňuje aj skutočnosť, že administratívne budovy patriace bývalej banskej prevádzke

v súčasnosti slúžia ako (sociálne) byty pre marginalizované skupiny obyvateľstva. V oblasti sa občas vyskytujú problémy s kanalizáciou a všeobecne s (biologickým) odpadom.

Vegetácia nezrekultivovaných rudných hald má v zmysle Jurka (1990) metaheerobný charakter, keďže sa viaže na plochy s minimálnymi biogénnymi procesmi. Vďaka prekrytiu haldového materiálu zeminou a súčasným využitím územia má vegetácia Novej šachty charakter polyheerobný až euhemerobný. Môžeme ho síce charakterizovať ako prírode vzdialený (Jurko, 1990), ale na rozdiel od metaheerobného porastu sa vyvíja na plochách silne zásobených živinami, čo je spôsobené vyššie spomínanými skutočnosťami.

Na území Novej šachty sme vykonali 26 fytoocenologických zápisov, rozmiestnených po celej halde (obr. 2), tak aby boli zápisy reprezentatívne pre daný porast.



Obr. 2 Mapa lokality Nová šachta s vyznačenými zápsami (zdroj: vlastné vypracovanie podľa Google Earth).
Fig. 2 Map of Nová šachta with marked relevé plots (source: processed according to Google Earth)

Fytoocenologické pomery na halde Nová šachta charakterizujú zápisy 1 – 26. Ide o druho-vo chudobné spoločenstvá, bez vyvinutej etáže E_0 .

Zápis č.1: plocha 25 m², pokrývnosť E1: 100 %, E3: 5 %, počet druhov: 7, dátum: 15. 6. 2016

Urtica dioica 4, *Elytrigia repens* 2, *Galium aparine* agg. 2, *Dactylis glomerata* agg. 1, *De-*

schampsia caespitosa 1, *Cirsium vulgare* +, *Sam-
bucus nigra* r

Zápis č. 2: plocha 25 m², pokrývnosť E1: 100 %, počet druhov: 6, dátum: 15. 6. 2016

Arrhenatherum elatius 3, *Elytrigia repens* 2, *Galium aparine* agg. 2, *Poa trivialis* 2, *Dactylis glomerata* agg. 1, *Urtica dioica* r

Zápis č. 3: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 90 %, E3: 10 %, počet druhov: 7, dátum: 15. 6. 2016

Arrhenatherum elatius **2**, *Urtica dioica* **2**, *Convolvulus arvensis* **1**, *Crataegus laevigata* **1**, *Galium aparine* agg. **1**, *Salix alba* **1**, *Equisetum arvense* +

Zápis č. 4: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 80 %, E3: 20 %, počet druhov: 10, dátum: 15. 6. 2016

Galium aparine agg. **r**, *Convolvulus arvensis* +, *Rubus fruticosus* +, *Urtica dioica* **1**, *Crataegus laevigata* +, *Symphytum officinale* agg. **r**, *Arrhenatherum elatius* **2**, *Artemisia vulgaris* agg. **r**, *Populus tremula* **r**, *Cirsium vulgare* **r**

Zápis č. 5: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 70 %, E2: 40 %, počet druhov: 9, dátum: 15. 6. 2016

Urtica dioica **4**, *Fallopia japonica* **2**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Carduus crispus* **1**, *Artemisia vulgaris* agg. +, *Convolvulus arvensis* +, *Pastinaca sativa* +, *Verbascum densiflorum* +, *Daucus carota* **r**

Zápis č. 6: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 90 %, E3: 10 %, počet druhov: 4, dátum: 15. 6. 2016

Urtica dioica **5**, *Galium aparine* agg. **1**, *Elytrigia repens* **1**, *Sambucus nigra* **r**

Zápis č. 7: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 3, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **4**, *Elytrigia repens* **2**, *Galium aparine* agg. **1**

Zápis č. 8: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 5, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **3**, *Festuca rubra* agg. **2**, *Dactylis glomerata* agg. **1**, *Elytrigia repens* **1**, *Galium aparine* agg. **1**

Zápis č. 9: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 4, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **5**, *Galium aparine* agg. **2**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Elytrigia repens* **1**

Zápis č. 10: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 5, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **4**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Elytrigia repens* **1**, *Galium aparine* agg. **1**, *Poa trivialis* +,

Zápis č. 11: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 5, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **4**, *Galium aparine* agg. **2**, *Arrhenatherum elatius* +, *Convolvulus arvensis* +, *Poa trivialis* +

Zápis č. 12: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **4**, *Galium aparine* agg. **1**, *Poa trivialis* +, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Dechampsia caespitosa* +, *Elytrigia repens* **r**

Zápis č. 13: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 9, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **3**, *Elytrigia repens* **2**, *Arrhenatherum elatius* **2**, *Achillea millefolium* agg. **1**, *Galium aparine* agg. **1**, *Tanacetum vulgare* **1**, *Vicia cracca* agg. **1**, *Arctium lappa* +, *Silene latifolia* **r**

Zápis č. 14: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 90 %, E2: 5 %, počet druhov: 13, dátum: 16. 6. 2016

Galium aparine agg. **2**, *Artemisia vulgaris* agg. **1**, *Cirsium vulgare* **1**, *Poa trivialis* **1**, *Tanacetum vulgare* **1**, *Vicia cracca* agg. **1**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Convolvulus arvensis* **1**, *Achillea millefolium* agg. +, *Solidago gigantea* **r**, *Euphorbia cyparissias* +, *Viola tricolor* agg. **r**, *Rosa canina* **1**,

Zápis č. 15: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, E2: 5 %, E3: 5 %, počet druhov: 8, dátum: 16. 6. 2016

Elytrigia repens **2**, *Urtica dioica* **2**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Artemisia vulgaris* agg. **1**, *Galium aparine* agg. **1**, *Sambucus nigra* **r**, *Symphytum officinale* agg. **r**, *Rubus fruticosus* +

Zápis č. 16: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 60 %, E2: 35 %, E3: 5 %, počet druhov: 13, dátum: 16. 6. 2016

Fallopia japonica **3**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Poa trivialis* **1**, *Tanacetum vulgare* +, *Sambucus nigra* **r**, *Urtica dioica* +, *Arctium lappa* +, *Galium aparine* agg. +, *Artemisia vulgaris* agg. +, *Achillea millefolium* agg. +, *Aegopodium podagraria* +, *Tussilago farfara* +, *Equisetum arvense* **r**

Zápis č. 17: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, E3: 5 %, počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Aegopodium podagraria **2**, *Urtica dioica* **2**, *Elytrigia repens* +, *Lamium purpureum* +, *Galium aparine* agg. +, *Sambucus nigra* **r**

Zápis č. 18: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 % E3: 20 % , počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **5**, *Sambucus nigra* **r**, *Betula pendula* **1**, *Galium aparine* **1**, *Calamagrostis epigejos* +, *Elytrigia repens* +

Zápis č. 19: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **3**, *Festuca rubra* **1**, *Galium aparine* **1**, *Calamagrostis epigejos* +, *Deschampsia caespitosa* +, *Poa trivialis* +

Zápis č. 20: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 7, dátum: 16. 6. 2016

Elytrigia repens **2**, *Deschampsia caespitosa* **1**, *Festuca rubra* **1**, *Poa trivialis* **1**, *Urtica dioica* **1**, *Galium aparine* +, *Geranium pyrenaicum* **r**

Zápis č. 21: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Festuca rubra **3**, *Poa trivialis* **1**, *Artemisia vulgaris* +, *Arrhenatherum elatius* +, *Hypericum perforatum* +, *Galium aparine* +

Zápis č. 22: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, E3: 10 %, počet druhov: 11, dátum: 16. 6. 2016

Poa trivialis **3**, *Arrhenatherum elatius* **2**, *Urtica dioica* **1**, *Tanacetum vulgare* +, *Artemisia vulgaris* agg. +, *Carex hirta* +, *Dactylis glomerata* agg. +, *Galium aparine* agg. +, *Sambucus nigra* **r**, *Geranium pyrenaicum* +, *Cirsium vulgare* +

Zápis č. 23: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, E2: 10 %, počet druhov: 11, dátum: 16. 6. 2016

Arrhenatherum elatius **2**, *Galium aparine* **2**, *Convolvulus arvensis* **1**, *Rosa canina* **1**, *Silene latifolia* **1**, *Rubus fruticosus* **1**, *Urtica dioica* **1**, *Vicia cracca* agg. **1**, *Achillea millefolium* agg. +, *Linaris vulgaris* +, *Viola tricolor* **r**

Zápis č. 24: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, počet druhov: 8, dátum: 16. 6. 2016

Arrhenatherum elatius **2**, *Elytrigia repens* **2**, *Tanacetum vulgare* **2**, *Urtica dioica* **2**, *Poa trivialis* **1**, *Galium aparine* agg. **1**, *Convolvulus arvensis* **1**, *Potentilla anserina* +

Zápis č. 25: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 90 % E2: 5 % E3: 5 %, počet druhov: 6, dátum: 16. 6. 2016

Arrhenatherum elatius **2**, *Galium aparine* agg. **2**, *Poa trivialis* **2**, *Rosa canina* **1**, *Viola tricolor* +, *Sambucus nigra* **r**

Zápis č. 26: plocha 25 m², pokryvnosť E1: 100 %, E2: 5 %, E3: 5 %, počet druhov: 7, dátum: 16. 6. 2016

Urtica dioica **3**, *Poa trivialis* **2**, *Arrhenatherum elatius* **1**, *Festuca rubra* agg. **1**, *Rubus fruticosus* **1**, *Capsella bursa pastoris* +, *Fraxinus excelsior* **r**

Z fytoecologických zápisov je zrejmé, že porast na halde je druhovo chudobný. Priemerne sa v zápisoch vyskytovalo 7 druhov, pričom maximálne to bolo 13 druhov (v zápisoch 14 a 16). Pokryvnosť E₁ sa pohybuje od 60 do 100 %. Dreviny sme zaznamenali v 14 zápisoch, pričom pokryvnosť E₂ dosahovala 5 – 40 % a pokryvnosť E₃ 5 – 30 %.

Dominantnými druhmi, vyskytujúcimi sa vo viac ako 50 % zápisoch, sú *Urtica dioica*, *Arrhenatherum elatius*, *Galium aparine* a *Elytrigia repens*. Krovitú a stromovú etáž zastupujú druhy *Sambucus nigra*, *Rosa canina*, *Crataegus laevigata*, *Salix alba*, *Populus tremula*, *Betula pendula*, *Fraxinus excelsior* a *Rubus fruticosus*. Spomenuté druhy drevín sa však vyskytujú na lokalite s malou pokryvnosťou a väčšinou ide len o pár jedincov druhu.

Vegetácia haldy Nová šachta sa odlišuje od spoločenstiev bežne osidlujúcich rudné haldy. Vývoj vegetácie nezačína prvými sukcesnými iniciálnymi štádiami ako je to typické pre haldy po ťažbe rudy, kde je zvyčajne silne vyvinutá machová a lišajníková etáž. Na pyritových a medených haldách dominujú najmä *Lecanora subaurea*, *Lecidea inops*, *Stereocaulon dactylophyllum*, *Cladonia arbuscula* subsp. *mitis*, *Cladonia gracilis*, *Pycnothelia papillaria*, *Cetraria islandica*, rod *Cladonia*, rody *Dicranum*, *Polytrichum* (Banášová et al., 1996; Aschenberenner 2012). Bylinná etáž je na týchto lokalitách tvorená druhmi ako *Agrostis capillaris*, *Acetosella vulgaris*, *Gypsophila muralis*, *Silene dioica* a *Calluna vulgaris* (Banášová et al., 1993), *Agrostis stolonifera*, *Acetosella vulgaris*, *Poa pratensis*, *Achillea millefolium*, *Arabidopsis arenosa*, *Silene dioica*. Prítomné sú aj druhy *Avenella flexuosa*, *Dianthus carthusianorum*, *Thymus pulegioides* a *Viola tricolor* (Banášová, 2006). Podľa Aschenberennera (2012) na haldách v Španej Doline, Pieskoch a Richtárovej má vegetácia hald nízku pokryvnosť. Extrémne podmienky skúmaných hald vy-

tvárajú podmienky len pre tolerantné druhy ako *Agrostis capillaris*, *Arabidopsis arenosa*, *Silene dioica* a *Acetosella vulgaris*. Jedince drevín sa vyskytujú ojedinele a často sú zakrpatené.

Iniciálne štádium porastu opisuje Chomová (2001) na halde v obci Dolné Strháre. Halda je stále zasypávaná hlušinou a preto sa tu nachádzajú mladé spoločenstvá druhov ako *Echinochloa crus-galli*, *Tussilago farfara*, *Equisetum arvense*, *Artemisia vulgaris* a *Cichorium intybus*. Na halde sa začínajú uchytávať jedince invázneho druhu *Robinia pseudoacacia*.

Vyššie spomínaní autori sa zmieňujú aj o expanzívnom šírení *Calamagrostis epigejos*. Na halde Novej šachty sme ho zaznamenali len v 2. zápise a aj to len v nízkej pokrývnosti. Na druhej strane sme na Novej šachte zaznamenali invázny druh *Fallopia japonica*. Vyskytoval sa taktiež v 2 zápisoch s pokrývnosťou 20 – 50 %. Práve expanzívne šírenie tohto druhu by v budúcnosti mohlo negatívne ovplyvniť diverzitu a progres spoločenstiev.

Lokalitu Novej Šachty skúmala vo vegetačnom období roku 1999 vo svojej práci Danáková (2000). Zaznamenala rôznorodý porast, druhovo celkom odlišný od vegetácie vyskytujúcej sa na halde dnes. Identifikovala väčšie množstvo druhov zo stromovej etáže, s vyššou pokrývnosťou. Na jednotlivých stupňoch haldy sa vyskytovali *Picea abies*, *Picea omorica*, *Pinus nigra*, *Salix caprea* a *Betula pendula*. Veľké zastúpenie majú druhy tráv a bylín podobne ako sme zaznamenali aj my - *Agrostis tenuis*, *Festuca rubra* agg., *Arrhenatherum elatius*, *Achillea millefolium*, *Tussilago farfara*, *Acetosella vulgaris*, *Hypericum perforatum*, *Viola tricolor*. Zaznamenala aj výskyt zhlukov krov ako sú druhy rodu *Rubus* sp. Celkovo na halde identifikovala 144 druhov vyšších rastlín. Z uvedeného môžeme konštatovať, že na halde sa vtedy vytvorilo druhovo oveľa bohatšie spoločenstvo s vyšším podielom drevín.

Nitrofilné porasty u nás reprezentujú hlavne vysokobylinné nivy, lemové a rumoviskové spoločenstvá. Lemové nitrofilné ruderalné spoločenstvá predstavuje trieda *Galio-Urticetea*. Typickými zástupcami tejto triedy sú z čeľade *Apiaceae*, *Chelidonium majus*, *Alliaria petiolata*, *Viola odorata*, na vlhkejších miestach často dominuje *Aegopodium podagraria*, *Urtica dioica* a *Heraclium sphondylium*. Trieda je u nás zastúpená 4 zväzmi:

- zväz *Galio-Alliarion* – teplomilné a suchomilné lemové spoločenstvá,
- zväz *Impatiens moli-tangere-Stachyon sylvaticae* – spoločenstvá lesných lemov a rúbansk,

- zväz *Aegopodium podagrariae* - vlhkomilné spoločenstvá širokolistých bylín,
- zväz *Carduo-Urticion dioicae* - ruderalné spoločenstvá vo vyšších a chladnejších polohách (Atlas biotopov Slovenska).

Spoločenstvá na Novej šachte nevieme bližšie zaradiť do žiadnej z nižších syntaxonomických jednotiek. Ide o spoločenstvá veľmi druhovo chudobné a nevyvinuté (prechodné). Dominantnými druhmi skúmanej lokality sú *Urtica dioica*, *Galium aparine* agg., *Arrhenatherum elatius*. Tieto tri druhy sa nachádzajú vo viac ako polovici fytoecologických zápisov s rôznou pokrývnosťou. *Urtica dioica* je typickým nitrofilným ruderalným druhom, vyskytujúcim sa na neutrálnych pôdach. Tieto atribúty sú dôležitým faktorom, vďaka ktorému sa na našej lokalite vyskytuje v takmer každom zápise s vysokou pokrývnosťou. Pokrývnosť vyššiu ako 5 % dosahuje v 15 zápisoch, pričom pokrývnosť nad 25 % dosahuje v 12 zápisoch. Ďalšie dva druhy, ktoré sme si stanovili za dominantné majú podobne ako *Urtica dioica* vysoké nároky na obsah živín v pôde, s neutrálnym až mierne kyslým pH.

Podľa Jarolímková et al. (1997) by sme spoločenstvá zápisov (1, 5 - 12, 18, 19 a 26) mohli identifikovať ako spoločenstvo s *Urtica dioica*. Konštantnými sprievodnými druhmi tohto spoločenstva sú *Urtica dioica* (dominantný druh.), *Aegopodium podagraria*, *Galium aparine* a *Geum urbanum*. Spoločenstvo tvorí husté, zapojené, niekedy dvojvrstvové porasty hemikryptofytných bylín, ktoré zjednocuje *Urtica dioica*. Floristická skladba týchto spoločenstiev je veľmi variabilná. Vyskytujú sa na výslunných až tienistých ruderalných stanovištiach, na čerstvo vlhkých až vysychavých, živinami (a osobitne dusíkatými látkami) dobre zásobených antropogénnych pôdach.

Uvedená charakteristika úplne korešponduje s našimi zisteniami. Na základe ekologickej analýzy môžeme spoločenstvá považovať za svetlomilné, osídľujúce mierne teplé a čerstvo vlhké stanovište. Nároky druhov na pôdu sú v intervale kyslého až neutrálného pH. Spoločenstvá si vyžadujú pôdy bohaté na dusík. Druhy chudobných pôd predstavujú len 7 % podiel a sú to napr. druhy *Deschampsia caespitosa*, *Equisetum arvense*, *Daucus carota*, *Tithymalus cyparissias* a *Hypericum perforatum*. Ekologická analýza spoločenstiev osídľujúcich iné rudné haldy ukazuje na druhy s nárokmi na suché až svieže stanovištia, chudobné, alebo len stredne zásobené dusíkom (Marušková, 2011).

ZÁVER

Banská halda Nová šachta (pri Banskej Štiavnici) vznikla hromadením banského odpadu po ťažbe polymetalických rúd. Na rozdiel od ostatných rudných hald v regióne, bola čiastočne zrekultivovaná a v súčasnosti sa toto územie využíva ako sídlisko pre marginalizované skupiny obyvateľov. Tieto faktory spôsobili, že sa na halde vytvoril úplne netypický porast pre rudné haldy.

Vegetácia na halde má polyhemeróbný až euhemeróbný charakter. Na halde nie je vyvinutá typická lišajníkovno-machová etáž. Dominantnými druhmi bylinnej etáže sú *Urtica dioica*, *Galium aparine* agg. a *Arrhenatherum elatius*. Z ďalších tráv sa tu vyskytujú aj *Elytrigia repens*, *Festuca rubra* agg. a *Poa trivialis*. Na halde sme zaznamenali aj výskyt invázneho druhu *Fallopia japonica*. Spoločenstvá sú druhovo chudobné a nevyvinuté (prechodné). Najčastejšie sa vyskytuje spoločenstvo s *Urtica dioica* (v zmysle Jarolímková et al., 1997). Z hľadiska ekologických nárokov sú to svetlomilné spoločenstvá osídľujúce mierne teplé a čerstvo vlhké stanovišťa s pôdami mierne kyslými až neutrálnymi a bohatými na dusík.

LITERATÚRA

- ANDRÁŠ, P. a kol. 2010. Lúhovanie sedimentov hald a odkalísk v oblasti banskoštiavnického rudného poľa s dôrazom na biodostupnosť vybraných prvkov. In *Acta universitatis Matthiae Belii*. ISSN 1338-4430, roč. 12, č. 2
- Atlas biotopov Slovenska*. X3 Nitrofilná ruderalná vegetácia mimo sídiel [online]. 2007. [cit. 13.2.2017]. <http://www.sbs.sav.sk/atlas/index.php?biotop=X3-Nitrofilna-ruderalna-vegetaciamicmo-sidiel>
- ASCHENBRENNER, Š. 2012. *Flóra a vegetácia haldoých polí na vybraných lokalitách*. Dizertačná práca, Banská Bystrica : Univerzita Mateja Bela. 143 s.
- BANÁSOVÁ, V. 1976. *Vegetácia medených a antimónových hald*. Biologické práce, 1. vyd. Bratislava: Veda, 109 s.
- BANÁSOVÁ, V. 1996. Rastliny na substrátoch s vysokým obsahom ťažkých kovov. In *Zborník zo seminára „Ťažké kovy v ekosystéme“*, Košice, s. 81-87.
- BANÁSOVÁ, V. a kol. 2006. The vegetation of metalliferous and non-metalliferous grasslands in two former mine regions in Central Slovakia. In *Biologia* 61/4, s. 433-439.
- BRAUN-BLANQUET, J., 1964. *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde*. 3.vyd., Wien : Aufl. Springer Verlag. 865 s.
- DANÁKOVÁ, A. 2000. *Vegetácia na banských haldách v okolí Banskej Štiavnice*. Dizertačná práca, Bratislava : Univerzita J. A. Komenského. 82 s.
- ELLENBERG, H., 1974. Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. In *Scripta Geobotanica IX*. Göttingen : Verlag Erich Goltze, 97 s.
- FAŠKO, P., ŠŤASTNÝ, P., 2002. Priemerné úhrny zrážok v januári. In *Atlas krajiny Slovenskej republiky*, 1. vyd., Bratislava : Ministerstvo životného prostredia SR, 344 s.
- CHOMOVÁ, L. 2001. Príspevok k vegetácii hald po ťažbe hnedého uhlia pri Veľkom Krtíši. In *Bulletin Slovenskej Botanickéj spoločnosti* 23. s. 149-156
- JAROLÍMEK, I., ZALIBEROVÁ, M., MUCINA, L., MOCHNACKÝ, S. (eds.), 1997. *Vegetácia Slovenska. Rastlinné spoločenstvá Slovenska. 2. Synantropná vegetácia*. Bratislava : VEDA, 420 s.
- JURKO, A. 1990. *Ekologické a socioekonomické hodnotenie vegetácie*. Príroda, 189 s. ISBN 80-0700391-6
- LAPIN, M., FAŠKO, P., MELO, M., ŠŤASTNÝ, P., TOMLAIN, J., 2002. Klimatické oblasti. In *Atlas krajiny Slovenskej republiky*, 1. vyd., Bratislava : Ministerstvo životného prostredia SR, 344 s.
- MAGLOCKÝ, Š., 2002. Prirodzená potenciálna vegetácia. In : *Atlas krajiny Slovenskej republiky*, 1. vyd., Bratislava : Ministerstvo životného prostredia SR, 344 s.
- MARHOLD, K., HINDÁK, F. (eds.), 1998. *Zoznam nižších a vyšších rastlín Slovenska*. Bratislava : Veda, 688 s.
- MARUŠKOVÁ, A. 2011. *Flóra a vegetácia na pôdach starých environmentálnych zátaží v regióne Banská Štiavnica*. Dizertačná práca. Zvolen : Technická univerzita Zvolen. 123 s.
- PRACH, K. 2006. Ekologie obnovy jako mladý obor a uplatnění botaniky v něm. In : *Zprávy české botanické společnosti, materiály* 21. s. 13-21
- ŠŤASTNÝ, P., NIEPLOVÁ, E., MELO, M., 2002. Priemerná teplota vzduchu v januári. In *Atlas krajiny Slovenskej republiky*. 1. vyd., Bratislava : Ministerstvo životného prostredia SR, 344 s.
- TURISOVÁ, I. a kol. 2016 Analyses of floristic composition of the abandoned Cu-dump field Piesky (Staré Hory Mountains, Slovakia). *Web Ecology* 16.1 (2016): 97-111.

PREHLADOVÉ ČLÁNKY
REVIEWS

SYNERGISM OF OTOTOXIC SUBSTANCES AND NOISE IN THE OCCUPATIONAL ENVIRONMENT

MARIÁN SCHWARZ¹⁾, MIROSLAV DADO²⁾, JOZEF SALVA¹⁾, MARTIN FRIČ³⁾

¹⁾ Department of Environmental Engineering, Faculty of Ecology and Environmental Sciences, Technical University in Zvolen, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, +421 455 206 496, schwarz@tuzvo.sk

²⁾ Department of Production Engineering and Quality Management, Faculty of Environmental and Manufacturing Technology, Technical University in Zvolen, T. G. Masaryka 24, 960 53 Zvolen, +421 455 206 864, dado@tuzvo.sk

³⁾ Department of Chemical Analyses, Regional Authority of Public Health Banská Bystrica, Cesta k nemocnici 1, 975 56 Banská Bystrica, tel.+421 484 367 724, martin.fric@vzbb.sk

ABSTRACT

Hearing loss is currently one of the most significant occupational diseases. This contribution describes the general principle of hearing at the biological level and its potential damage in the context of occupational activities. A wide range of chemicals and compounds with proven or potential ototoxic effects and subsequent processing release of these substances into the occupational environment are used in the manufacturing industry. The contribution describes currently known types of substances of confirmed or suspected ototoxic effects. The different types of ototoxic substances are further specified in separate sections of this contribution. The Authors refer to studies involving experimentally obtained data on animals, respectively on human subjects. They also describe selected measures to minimize the synergic effect of ototoxic substances and noise.

Key words: hearing loss, noise, occupational environment, ototoxic substances, synergism

INTRODUCTION

Hearing loss accounts for approximately one-third of all recorded occupational diseases within Europe [1]. This contribution focuses on the synergistic interaction of ototoxic substances and noise as risk factors in the occupational environment. The aim of this contribution is therefore to specify the currently known ototoxic substances and to point out the synergistic effects of noise and ototoxic substances in the industry, which devotes more and more attention to the diseases of the auditory apparatus. The authors aim is to point out that occupational hearing damage can not be linked solely to the effects of physical factors and that the simultaneous impact of chemical factors should not be underestimated.

MECHANISM OF SYNERGY OF NOISE AND OTOTOXIC SUBSTANCES

Studies dealing with the synergistic effects of noise and ototoxic substances indicate that sev-

eral substances which naturally occur in industrial processes can demonstrably interact with the noise emitting from these activities or have the potential for potentiating of hearing loss due to the exposure of workers to noise pollution. However, in most cases where a synergistic or potentiating effect was envisaged, it was not possible to clearly determine and demonstrate this interaction due to the current lack of toxicological information [2].

Extensive ototoxicological studies in animals are available but are limited in the following areas in spite of the general good representability to human metabolism [3]:

- lack of detailed exposure records,
- the presence of other influencing factors (medicines, tobacco, alcohol consumption, aging, exposure away from workplace etc.);
- exposure scenarios used in experimental studies are qualitatively different from actual working conditions.

Human ability to hear depends on a series of events that occur in the ear organ. Sound waves in the air are transmitted as pressure changes (or vi-

brations) through a series of structures (see Figure 1) to the receptor for hearing, the organ of Corti, which is located in the inner ear. Inside the organ of Corti, the pressure changes are detected by sensory hair cells, and these changes of pressure force are transformed to electric signal. Nerves

transport this electric signal to the brain, where they are interpreted as a sound. Sounds of different frequencies stimulate hair cells in different parts of the organ of Corti, allowing us to perceive the different volume levels [1, 4].

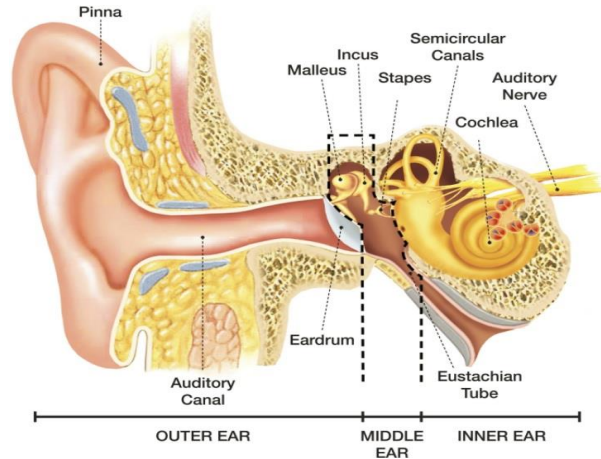


Fig. 1 Anatomy of the auditory organ [Source: <http://thesistut.com/human-inner-ear-anatomy.html>]

The principle of separate effect of noise as a physical factor is currently very well documented [5] and is almost exclusively a mechanical disruption of highly sensitive cochlear cells [1]. Depending on the duration of noise exposure and the intensity level, the noise in occupation can be a source of harassment, fatigue, or workers hypertension. Such exposure to noise often causes an irreversible hearing disorder [3].

The effects of hearing-damaging substances are probably the first to be highlighted by the Persian philosopher and doctor Avicenna in his *Canon Medicinæ* published in 11th century, pointing to the headless use of mercury vapor for removing aphids and to lose hearing. During the 19th century, after extensive introduction of antibiotic therapy (especially streptomycin and gentamycin), and quinine pharmacists for the treatment of malaria and salicylates with anti-inflammatory action (aspirin), the evidence of hearing loss related to the ototoxicity of these drugs rapidly increased [1, 6, 7].

On the basis of medical records, it is possible to state that as a cause of a large number of auditory diseases, in addition to the noise itself as the physical factor in occupation, the substances with ototoxic effect (chemical factors) can be considered. According to [4], ototoxic substances

are substances that could affect the structure and / or function of the inner ear (affecting the hearing and vestibular apparatus). In the literature, more than 800 substances having more or less confirmed ototoxic effects, have been described so far. The effect of ototoxic agents may, in addition to chemical damage to cochlear cells, also be seen in damage to the vestibulo-cochlea, the eighth cranial nerve, or central nervous system damage. Depending on the site of action (anatomy of the target organ), ototoxic substances are further subdivided into cochleotoxic and vestibulotoxic group [1].

Transit of cochleotoxic substances from the blood into the inner ear's cochlear fluids causing particularly the damage of the cochlear hair cells but the spiral (cochlear) ganglion cells of the protruding auditory nerve are also damaged. The symptoms of cochlear damage are tinnitus and various levels of hearing loss, which may be temporary, or permanent in the case of severe damage. The first symptoms appear on Corti's external hair cells and this means a loss of perception of high tones and later even at lower frequencies. Typical cochleotoxic substances include anti-tumour drugs [1, 8, 9], aminoglycosides [1, 10], diuretics [1, 11] and salicylic acid [1, 12].

Vestibulotoxic substance interferes with the structure and also can affect the function of the

vestibular organ of the inner ear, which is mainly due to loss of spatial orientation, body balance and vertigo, but it can also cause visual damage (nystagmus - rapid involuntary eye movements). Such substances include some antibiotics (e.g. streptomycin and gentamicin [1, 13]) or nitriles [1, 14].

Interaction between noise and ototoxic substance and their combined effect on hearing is a complex problem. Under real operating conditions, workers are often exposed to noise and at the same time mixtures of various dangerous ototoxic substances, which causes considerable difficulty in assessing the impact of individual substances on the auditory apparatus. Many of the current epidemiological studies conducted on humans are limited precisely because of insufficient characterization of levels of exposure to chemicals and noise, and lack of detail as to whether and how other risk factors have been taken into account [3, 15].

The ototoxic effect may be evaluated by medical examination, which often reveals a much higher incidence of hearing impairment. Subjective investigative methods include PTA (Pure Tone Audiometry) and its High Frequency Audiometry (HFA) or Speech Reception Threshold (SRT). Strictly objective investigation methods include OAEs - Otoacoustic Emissions [1].

Ototoxic substances are those which, according to statistics, cause hearing damage from 3 cases per 1000. The most important factor in potential of inner ear damage is the concentration of the ototoxic agent in it, which depends on the length, the method and the repetition of the exposure, the dose size, the rate of excretion and

the state of health (in particular, the status of the excretory system and the liver), age, genetic predispositions, previous kidney disease, dehydration, septicaemia, and the like. According to the American Speech-Language-Hearing Association (ASHA), ototoxicity was defined as reducing the audible threshold of pure tones at one frequency by more than 20 dB (at two neighboring frequencies by more than 10 dB), or loss of auditory response at three successive test frequencies. The level of auditory damage can be categorized into four degrees, whereby the therapeutic intervention (e.g. cochlear implant) is indicated [1].

GENERAL OVERVIEW OF OTOTOXIC SUBSTANCES

A large number of chemicals have the potential to produce toxic reactions within the inner ear structure, resulting in irreversible loss of hearing. Ototoxic compounds may be of organic or inorganic origin and may occur in all three states. Many of these substances are industrially used chemicals and are produced in huge quantities (e.g. organic solvents), others are widely used as pharmaceuticals (e.g. antibiotics, diuretics, anti-neoplastics, anaesthetics, etc.). A summary of the most significant groups of substances with ototoxic effect is documented in Table 1.

The substances for which the ototoxic effect was confirmed are generally classified into three main groups: solvents, heavy metals and asphyxiants. Other ototoxic substances (mainly pharmaceuticals) are among the indefinitely named "other ototoxic substances" [15].

Tab. 1 Overview of ototoxic groups [1, 15, 16]

Group	Examples of substances	
Solvents	toluene, p-xylene, styrene, methylstyrene, trichlorethylene, ethylbenzene, n-propylbenzene, allylbenzene, n-hexane, carbon disulfide, trichlorethylene, carbon disulfide, ethanol, n-heptane	
Metals	mercury (CH ₃ HgCl, HgS), lead and its compounds, tin (organic compounds Sn), germanium (GeO ₂), arsenic, cadmium (CdCl ₂), manganese, cobalt, copper, zinc, lithium	
Asphyxiants	hydrogen cyanide, carbon monoxide, nitric oxide, acrylonitrile, organophosphates, paraquat	
Salts	cyanides, bromates	
Antibiotics	aminoglycoside	amycacine, kanamycin, gentamicin, tobramycin, capreomycin, dihydrostreptomycin, framycetin, vancomycin, neomycin, paromyomycin viomycin, polymyxin (B and E), ristocetin, netilmicin, streptomycin, neomycin, arbekinin, rhodostreptomycin, apramycin
	macrolide	azithromycin, erythromycin, clarithromycin, clindamycin, lincomycin
	glycopeptide	vancomycin, teicoplanin
	other	doxycycline, minocycline, metronidazole, chloramphenicol, furazolidone, sulfonamide, nalidixic acid, ampicillin, cefalexin, cotrimoxazole

Group	Examples of substances
Diuretics	furosemide, etakryn acid, bumetanide, piretanide, torasemide
Anxiolytics, hypnotics and antidepressants	diazepam, flurazepam, lorazepam, triazolam, brotizolam, imipramine, doxepine, amitriptyline, lithium, mianserin, nortriptyline, tranlycypromine
Antiepileptics	carbamazepine, tiagabine, avalproic acid, vigabatrin, zonisamide
Salicylates	acetylsalicylic acid, indomethacin
Antimalarials	quinine, chloroquine, hydroxychloroquine, pyrimethamine, primachine
Antineoplastic cytostatics	bleomycin, platinum, carboplatin, cisplatin, oxaliplatin, vincristine nitrogen mustard, misonidazole, cyclophosphamide, ifosfamide, methotrexate, dactinomycin, droloxifene, vinblastine, bromocryptine
Beta-adrenergic blockers	propranolol, practolol
Antivirals	cidofovir, didanosine, estavudine, lamivudine, zidovudine
Other pharmaceuticals	dextropropfen, dexipropoxy, naproxen, nortriptyline, imipramine, quinidine, dantrolene, sulfamethoxazole, ticlopidine, flecainide, lidocaine, colistin, norfloxacin, sulfametazoline, ketoconazole, aminocaproic acid, mesalazine, indomethacin, diclofenac, phenylbutazone, flurbiprofen, ibuprofen, ketoprofen, Ketorolac, nabumetone, naproxen, piroxicam, sulindac, tolmetin, dapsone, atovaquone, acitretine, carbimazole, kapreomycin, famotidine, omeprazole, diclofenamide, homatropine, sildenafil, tadalafil, vardenafil, etidronate, clomiphene, danazol, tacrolimus, baclofen, ciproheptadine, atropine, bupropion, cinarizine, deferiprone, deferoxamine, interferon, mannitol, oxazepam, thietylperazine, amlodipine, cilazapril, diltiazem, nicardipine, nifedipine, nimodipine, nitrendipine, verapamil, enalapril, lisinopril, chlorhexidine
Anesthetics (epidural, local, lumbar)	bupivacaine, mechanical ventilation with positive pressure, oxygen therapy in the hyperbaric chamber

In Table 1 are mainly listed substances for which ototoxicity is good information obtained from at least two documented animal studies in several research centers (human toxicity data prevail over animal). In the absence of human data, the species specificity in the extrapolation of animal-to-human data should not show significant differences. In addition to substances with confirmed ototoxic effect, a few substances that are only suspected of ototoxicity are documented in Table 1, particularly in cases of conflicting results or in the absence of reliable confirmatory information. We include some metals and metalloids (e.g. Cd, As and their compounds), alkali metal bromates, tobacco smoke or some pesticides (PCB, HCB, hexabromocyclododecane, tetrabromobisphenol, etc.). The last group consists of substances with only a slight evidence of ototoxicity, e.g. in the indication limited to only a small number of observations (case studies), insufficient data, when it is not possible to exclude side factors. This group includes some insecticides (pyrethroids, organophosphates), alkylated substances (4-tertbutyltoluene, butylnitrite, n-heptane) and manganese [1].

ASPHYXIANTS

Asphyxiants are chemicals that prevent the body from using oxygen, which basically in-

cludes all the gases that reduce the actual oxygen concentration in the air, e.g. nitrogen, hydrogen, gaseous oxides etc. Among the asphyxiants with an ototoxic effect include carbon monoxide and hydrogen cyanide [17, 18]. Carbon monoxide is a part of the exhaust gas generated by incomplete combustion processes, e.g. it is generated in vehicles engines or in poorly ventilated tiles and furnaces, in acetylene welding and also found in cigarette smoke, volcanic gases, coal-gas, generator and water gases, etc. In the atmosphere, carbon dioxide is photolysis by ultraviolet radiation. Unlike carbon dioxide, it is lighter than air, and in enclosed spaces (mines, tunnels) can accumulate in the upper layers. Cyanides are used as an intermediate product in the organic synthesis of carboxylic acids, pharmaceuticals, dyes and pesticides. A relatively large amount is also used for surface treatment of metals, galvanization and industrial hydrometallurgical processes for leaching (extraction) by a cyanide method, in particular for the recovery of precious metals (Au, Ag).

By the interaction of noise and the aforementioned asphyxiants, it was found that the hearing loss studied in laboratory animals was higher compared to cases without the presence of asphyxiants [19, 20]. According to Nylén, [21] this is a typical example of coalism (one of the synergy possibilities) when none of the acting agents themselves will cause exceeding the hear-

ing loss threshold, but only when combined. Such amplification of the effect of noise is caused by a decrease in hair cell repair capacity [22] with the presence of the asphyxiant. This is evidenced by the results of a study [23] in which 9 396 audiograms of the workers in the noisy occupational environment were assessed in Quebec between 1983 and 1996. In this study, individual cases were correlated to carbon monoxide concentrations. The analysis confirmed significantly higher hearing thresholds at higher frequencies (3, 4 and 6 kHz) in the group exposed to both noise and carbon monoxide, while the increasing exposure duration (15 to 20 years) also increasing the magnitude of the effects.

The mentioned asphyxiants showed reversible acoustic effects at low concentrations, which were appearing mainly in the high frequency range. While cyanide caused in particular *Stria vascularis* dysfunction [24], the effect of carbon monoxide was manifested by excessive release of glutamate in the synaptic area of internal hair cells (so-called glutamatergic excitotoxicity) [25].

Other asphyxiants include nitric oxide representing a signal molecule that has been identified in the inner ear as well as in other tissues as a molecule involved in various processes, e.g. in the transmission of nerve impulses and their modulation. This highly diffusible molecule, well soluble in both aqueous and hydrophobic environments, is involved in several processes relevant for cell protection or, conversely, at high concentrations it can also participate in their destruction. The cellular mechanism of NO formation and its role in disbalance in the organs of the inner ear, as well as the effect on hearing loss and deafness, is dealt with by an article [26] which evaluates the results obtained from experimental animal models and discusses their application in human therapy.

METALS AND METAL COMPOUNDS

In the group of metals and their compounds listed in Table 1 their ototoxic properties were demonstrated with high reliability only for Pb [27], Hg [28], Sn [29] and Ge [30], with lower reliability for As [31] and Cd [32] (suspected ototoxicity). Questionable remains the ototoxicity connected with Mn [33] and Co, for which there is at least evidence of ototoxicity.

For Pb its ototoxicity explained by the neurotoxic mechanism, although there are studies that did not confirm the loss of hearing for exposed

children [34]. Toxicological tests were in majority carried out on animals, e.g. studies with organic compounds of Hg and Sn, but also the results of epidemiological studies were obtained in professional exposures of people employed in risky areas for hearing impairment, e.g. workers exposed to trimethyltin [35] or manganese [33], or children exposed to arsenic in areas loaded with coal combustion [36].

The most loaded industrial areas by ototoxic metals and their compounds connected with Pb include the production of lead accumulators, the production of pigments, explosives (azide, trinitroresorcinate and lead picrate) and plastics, in the past also the production of petrol (anti-knock additives - tetraethyl and tetramethylol), in the metallurgical industry metal production and processing (refining, melting, welding), metal surface treatment (grinding, cutting, galvanizing, etc.).

Mercury is widely used in the chlor-alkali industry (production of NaOH, Cl₂, and H₂ by amalgam electrolysis). Mercury compounds can be used in batteries (mercury oxide), in the production of pigments, catalysts, explosives (mercury fulminate), in laboratory research (polarography) and in some pharmaceutical applications. An unforgettable part of the exposure represents Hg as a part of some medical devices (thermometers, pressure gauges), but also in fluorescent lamps or UV lamps in germicidal radiation.

The ototoxicity of Sn is most common with its organic compound (tri-n-alkyltin), which is used as a pesticide for its strong bactericidal and fungicidal effects.

Arsenic is widely used in the manufacture of semiconductors, in the galvanic and metallurgical industries, also in the manufacture of pesticides and pigments (in particular as a part of wood coatings as a protection against rotting).

Manganese is used in the production of steel alloys, dry batteries and electric coils, ceramics, glass, dyes, fertilizers, welding wires, and to produce chemicals, e.g. KMnO₄ with oxidizing properties.

ANTIBIOTICS

The ototoxic effect of antibiotics has been known for nearly 70 years, and it was described for the first time in the treatment of tuberculous patients with streptomycin after its discovery in 1944. The most numerous group of ototoxic antibiotics are aminoglycosides [37] which represent molecules with altered glycoside component by

amine. They are the product of bacteria from the genus *Streptomyces* and then have the addition of -mycin or from the genus *Micromonospora* and then have the addition -micin [38] (examples given in Table I). Aminoglycoside antibiotics are effective in treating infections caused, in particular, by aerobic gram-negative bacteria and some species of mycobacteria, including tuberculosis-causing species. They are most often indicated for the treatment of extensive septic infections, complicated infections (including nosocomial) which occur in the abdomen, airways, endocardium or urinary tract, and are often combined for synergistic effects with other antibiotics, especially beta-lactam (e.g. during pseudomonasal infections).

The effect of aminoglycosides on the vestibular and cochlear systems is quite distinct, e.g. kanamycin, amikacin, neomycin and streptomycin are preferably cochleotoxic, gentamicin has the same effect on the cochlear and vestibular system [39]. The symptoms of cochlear damage are tinnitus and various levels of hearing loss. These may occur subsequently after termination of treatment without warning signs of toxicity during treatment because aminoglycosides are degraded more slowly from inner ear fluids than from serum. On contrary, vestibular toxicity (e.g., after treatment with gentamicin or tobramycin) may be disabling for patients, and is manifested by headache, dizziness, nausea and nystagmus. In addition to cochleovestibular system damage, which is usually irreversible and occurs in 2-10% of patients, most aminoglycosides also cause kidney toxicity with an increase in plasma creatinine up to 50% and a decrease in glomerular filtration. There is no clear correlation between the level of nephrotoxicity and ototoxicity; in addition, a neuromuscular blockade that is manifested by dilated pupils, respiratory depression and paralysis may occur as an undesirable effect.

The incidence of ototoxicity, which may be caused by local ear application of the aminoglycosides, is uncommon in neonates and young children as compared to adult patients, as opposed to antineoplastic agents (see below). For the long-term cochlear and vestibulotoxic effects, it is important to continue to monitor the patient for up to 6 months after termination of treatment with aminoglycosides.

Consumption of antibiotics has a globally rising trend, although it is oscillating in several countries and even beginning to decline in some of them. However, the general problem of the present as a real public health threat remains that

a large proportion of antibiotics are used excessively and often unnecessarily, which contributes to increasing the resistance of bacteria and to the emergence of new antibiotic-resistant bacteria (so called "*Super Bug*"). This global problem lies in the loss of antibiotic efficiency, which is growing more rapidly than the introduction of new antibiotics into clinical practice. According to Krčméry [40], the prescription of antibiotics in respiratory infections is up to 50-80% irrational, because the clinical course of the disease affects only minimally, if at all.

Medical research is focused to clarifying the mechanism of ototoxic effect at the molecular level - by disrupting mitochondrial protein synthesis and activating terminal kinase, caspase and nuclease to free oxygen radical formation. It has been confirmed that aminoglycosides have a direct effect on cell membrane potential through interactions with potassium channels, and the formation of free radicals is enhanced in the presence of transition metals, e.g. iron and copper.

Lower ototoxic effects in comparison with aminoglycosides are attached to other antibiotics, of which we mention only the most important: macrolide antibiotics are erythromycin, azithromycin and clarithromycin with a wide use in clinical medicine (especially in the treatment of pulmonary inflammation and other atypical pneumonia caused, e.g. by legionella, streptococci and pneumococci) because they were generally considered to be safe medicaments. Clinically significant loss of hearing caused by these antibiotics occurs sporadically and is usually reversible. From glycopeptide antibiotics, a unique occurrence of ototoxicity was reported for vancomycin alone, but only in cases of combination therapy with other antibiotics when increased surveillance is required.

DIURETICS

Diuretics as urine-enhancing substances (diuresis) include a few chemicals, of which a significant group are so-called loop diuretics (these diuretics act on Henle's loop in renal system), e.g. sulfonamides, phenoxyacetic acid derivatives and heterocyclic compounds. Diuretics are used to treat hypertension, renal failure, cirrhosis and congestive heart failure. Examples of loop diuretics listed in Table 1 are the most effective and widely used diuretics whose ototoxic effect is caused by changes in ionic gradients between the perilymph and the endolymph of the inner

ear (see Figure 1), resulting in edema of the Stria vascularis epithelium [41]. Hearing loss is dose-dependent and usually reversible, although irreversible damage has been reported in neonates and young children. The incidence of ototoxicity is in the range of 6–7 % of patients taking loop diuretics, but frequent side effects include tinnitus and loss of balance. Hearing impairment occurs particularly in patients receiving high doses of diuretics or co-treated with other ototoxic drugs, e.g. aminoglycoside antibiotics. The prevention of ototoxicity consists in the use of the lowest therapeutically effective dose and the exclusion of the above-mentioned risk factors.

ANTINEOPLASTIC AGENTS

Antineoplastic agents (often also called cytostatics) are anticancer drugs whose platinum derivatives are important, such as cisplatin or carboplatin. Since these substances are determined to destroy tumor cells, they also have a few side-effects, of which the nephrotoxic and ototoxic effects are very important, and they limit their dosing to a great extent. The mentioned effect is manifested by the loss of hair cells and spiral ganglion cells in the cochlea as well as by the degeneration of Stria vascularis [42]. The mechanism of ototoxic effect after cisplatin exposure is explained by the production of free peroxy radicals, catalysed by NADPH-oxidase in cochlear hair cells [43]. Cisplatin is well distributed in body tissues (the highest concentrations are found in the kidneys, liver and prostate) and irreversibly binds to plasma proteins, unlike carboplatin, which is not bound to proteins and is more easily eliminated by the kidneys.

The incidence and severity of ototoxicity depend on the dose, the infusion rate and the number of the therapeutic cycles, the renal condition and the concomitant medication of other ototoxic agents. A higher incidence and severity is seen in the pediatric population (hearing loss is reported in up to 61% of children treated with platinum cytostatics) [44] and in head and neck radiotherapy. Hearing damage is usually bilateral, perceptual, irreversible and progressive, and another side effect is tinnitus.

An audiographic examination of patients is important not only before and during treatment but also 6 months after the termination of treatment due to significant and long-term retention of cytostatic agents in the organism, when it is emphasized to avoid exposure to excessive

noise. Recent studies have confirmed the bio-protective effect of hearing impairment of such substances as, e.g. α -tocopherol (vitamin E), D-methionine derivatives (amino acids), iron chelates, N-acetylcysteine (antioxidant), caspase and calpain inhibitors, and as a prevention, gene therapy is recommended [45].

OTHER PHARMACEUTICALS

Of the other ototoxic pharmaceuticals with reliably confirmed ototoxicity, a significant group is salicylates, of which the acetylsalicylic acid (aspirin) is the most common. It is widely used for its anti-inflammatory, antipyretic and analgesic effects. Aspirin also acts as a platelet aggregation inhibitor and is used to treat transient ischemic attacks and prevent stroke and myocardial infarction. Salicylic acid as the active metabolite of aspirin rapidly penetrates the cochlea, where it reaches relatively fast serum levels in the perilymph what resulting in tinnitus and mostly reversible bilateral symmetric hearing loss occurring in approximately 1 % of patients (most commonly in the elderly and dehydrated patients) treated with higher doses (up to 2.5 g.day⁻¹). The exact mechanism of salicylate-induced auditory disorder has not yet been fully clarified, but apparently results from the association of multiple reversible disorders at cochlea level [46].

Similar effects are also reported for quinine as a in the past widely used medicament in the treatment of malaria, limb cramps and antipyretic effects (currently part of tonic and energy drinks as a flavour and stimulant). In this case, hearing loss is only perceptual and reversible, although occasional hearing loss has been reported. Other side effects include tinnitus, dizziness, headache, nausea and even loss of vision.

Ototoxic characteristics shows gentian violet [47] as a triphenylmethane dye with excellent antiseptic and antifungal effects in the past, widely used in paediatrics for the treatment of candidiasis in the oral cavity and ear inflammation. In this application, the authors draw attention to the inappropriate use of gentian violet because of its ototoxicity and good resorbability to serum fluids of the inner ear especially in very young children.

OTHER OTOTOXIC SUBSTANCES

Of the other substances with a confirmed ototoxic effect, the nitriles which are commercially widely used as solvents (acetonitrile), initiators for the preparation of melamine resins (benzotrile), monomers to produce plastics (acrylonitrile), in the preparative synthesis of carboxylic acids and other special organic substances (3,3-iminodipropionitrile, 3-butenenitrile, cis-2-pentenenitrile, cis-crotonitrile). Permanent and transient hearing impairment, together with loss of balance, were monitored for exposure to the above-mentioned nitrile in the organs of the inner ear of rats, mice, guinea pigs and frogs, where, as with most ototoxic agents, hearing loss was first detected in the high frequency band [48, 49]. The ototoxicity of inorganic nitriles (cyanides) is mentioned in the chapter which describes asphyxiants (see text above).

Another group consists of bromates (potassium or sodium), which have been shown to have a serious ototoxic effect causing very rapid permanent hearing impairment due to organ of Corti damage, but only at high doses [50]. For long-term exposure to low doses, caution should be exercised when extrapolating the results from animal studies to humans, because ototoxicity thresholds have not yet been established. A group of halogenated hydrocarbons, including polychlorinated biphenyls, tetrabromobisphenol, hexabromocyclododecane and hexachlorobenzene is a group with a lower level of ototoxicity. On the other hand, this group of substances was widely used as cooling liquids, solvents, propellants, intermediates for the synthesis of organic substances, anaesthetics, pesticides or as flame retardants or inhibitors. Animal studies suggest that hearing damage is caused by thyroid disorder due to exposure to halogenated hydrocarbons [51].

Recently, epidemiological evidence of the ototoxic effect of tobacco smoke [52], which includes the aforementioned asphyxiants (CO and HCN), is accumulated, although other studies have no direct relationship between smoking and hearing impairment. These studies rather point to indirect effects in the combination with other factors such as blood pressure, increased use of painkillers or high blood cholesterol, and blood flow disorders that cause reduced oxygen supply to the cochlea [53].

Relatively weaker proofs exist in the evidence of ototoxicity for a group of pesticides (pyre-

throids and organophosphates) [54] and some of the hydrocarbons and their derivatives (n-heptane [55], butyl nitrite [56], 4-tertbutyltoluene [57]).

VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS

In this group include the whole range of solvents listed in Table 1, which may be present in several industrial processes (particularly in the wood-processing industry). Volatile Organic Compounds means any organic compound or mixture of organic compounds, except for methane, at a temperature of 20 °C (293.15 K) having a vapor pressure of 0.01 kPa or more.

The ototoxic (irreversible) effect of aromatic hydrocarbons has been demonstrated by a few experimental experiments with animals (especially rats), where cochlear hair cells have been identified as the target tissue for these substances. Due to their metabolism, rats are considered to be a suitable model for monitoring ototoxic effects of aromatic hydrocarbons on humans [58].

It has been determined that the solvents (at the same time also asphyxiants) in terms of the principle of effect are distorting the internal defences to oxidation what causes that hearing organ is vulnerable to exposure to physical agents such as noise [15, 59]. Research indicates that ototoxic solvents are capable to modify the membrane structures of the external hair cells, what causes their fragility and vulnerability. Thus, with the same acoustic energy, coexposure to ototoxic solvents can significantly impair hearing damage. The solvent may also reduce the protective role of the middle ear, which allows for greater acoustic energy to penetrate and thereby cause further hearing damage [15, 59, 60]. Solvents, such as toluene or styrene, have been found to affect hearing by chemical damage to hair cells, leading to disorganization of their membrane structures. Acute effect may be due to a direct impact of the solvent on the cells of the organ of Corti, while chronic ototoxic effects can be explained by the formation of chemically and biologically reactive intermediates. These intermediates include reactive oxygen substances which can initiate the destruction of these cells [3, 15].

In the article [61], studies have been compared in the field of research into the synergistic effects of noise and styrene. In particular, five human data studies (glass fibres workers) were compared, where in 4 of them was determined some levels of auditory dysfunction of the investigated

subjects (always a sample of more than 300 workers). In one case, the study did not show convincing evidence for the synergistic effect of styrene and noise at the workplace, but it was the study with the smallest sample of examined subjects (consist only of 28 workers [62]) [61].

Exposure to high concentrations of trichlorethylene has been shown to disrupt cochlear sensory hair cells and spiral ganglion cells as well as auditory neural pathways in the cochlea [3,15].

MEASURES TO REDUCE THE EFFECT OF OTOTOXIC SUBSTANCES AND NOISE

Most of ototoxic substances belong to the group of pharmaceuticals (see Table 1) and therefore considerable attention is paid to the elimination of ototoxicity as an undesirable side effect of these medicaments. In treatment practice with cisplatin or gentamicin, the protective effect of certain substances, e.g. Argon (Ar), where by the examination of organ of Corti in rats was found the damage of hair cells under normal conditions and in nitrogen hypoxia (5 % CO₂ and 95 % N₂), however under argon hypoxia conditions (5 % CO₂ and 95 % Ar) was found about 25 % lower induction of damage [63]. Among the other otoprotective agents, promising results were obtained with vitamin E, alpha-lipoic acid, ebselen, D-methionine derivatives and other free radical inhibitors and active forms of oxygen such as iron chelates, N-acetylcysteine, ginkgo biloba etc. However, additional clinical studies are needed to determine whether the protective mechanisms demonstrated in animal studies can be replicated to humans while maintaining the therapeutic effects of the medicaments.

Other occupational measures to reduce the effects of ototoxic substances, especially in combination with noise exposure, include general rules for preventive occupational medicine based on either dose reduction and/or exposure reduction (duration, repetition, and frequency). Collective measures involving technical and organizational measures are applied first. Technical measures include the modification of the technological process, replacing the ototoxic substance with a less toxic, more efficient local suction of vapour or total space ventilation, hermitization of the machine or, in the case of solvents, using of automatic painting lines without operator attendance, careful maintenance of equipment, technological control etc. As an organizational measure include

reduction in the number of employees and their regular substitution in hazardous environment, the correct working and rest regime - frequent breaks outside the risk areas, regular control of pollutant concentrations in the occupational environment, health surveillance, and others. Secondly, substitute (individual) measures are applied when the primary measures are not effective and otherwise exposure reduction cannot be achieved, e.g. use personal protective equipment (respiratory masks or respirators with an effective filter to capture the specified pollutant, gloves, eyeglasses, etc.).

CONCLUSION

At present, hearing loss is one of the most significant occupational diseases [64] in the world, whether due to noise alone as a physical factor or in association with chemical (ototoxic) factors. Since hearing disorders and hearing loss are a major global problem, the attention of major health institutions (World Health Organization - WHO, International Labor Organization - ILO, European Agency for Safety and Health at Work - EU-OSHA, UN Environment Program, etc.) to reveal the causes and consequences, in particular, of the exposure to the combined effect of noise/vibration and ototoxic substances [65] or synergism in the exposure of multiple chemicals simultaneously, ethylbenzene and mixtures of xylene isomers [66]. The issue of exploring synergistic effects in combining multiple factors simultaneously is complicated by the fact that the number of experimental groups in the study of all possible multiple influence interactions at different levels increases equally exponentially with the increasing number of agents used [67]. Therefore, in the assessment of the risk of combined exposure, it is necessary to use more efficient statistical methods with graduated approach using mechanical models so that singular endpoints representative of specific damage (deterioration of perception, hearing loss, damage to balance, etc.), including its mechanism and use of molecular markers. In addition to the well-established ototoxicity of known substances, such as some antibiotics and organic solvents, the demand for cross-sectional dose-effect epidemiological studies also increases for a wide range of substances with insufficiently confirmed or suspected ototoxicity. All these efforts ultimately result in legislative measures reducing the limit values for the occurrence of those hazardous substances in the occupational environment in order to reduce the risk of harm to a minimum.

Acknowledgment

The authors have to express their thanks to the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic and the Slovak Academy of Sciences for the support of the scientific grant project VEGA 1/0377/17.

REFERENCES

- [1] SCHWARZ, M.; DADO, M.; HNILICA, R. *Ototoxické látky: časť 1*. Časopis výzkumu a aplikaci v profesionální bezpečnosti [online]. 2014, roč. 7, č. 4. Available at: <<http://www.bozpinfo.cz/josra/ototoxicke-latky-cast-1>>. ISSN 1803-3687.
- [2] VYSKOCIL, A.; LEROUX, T.; TRUCHON, G.; LEMAY, F.; GAGNON, F.; GENDRON, M.; BOUDJERIDA, A.; EL-MAJIDI, N.; VIAU, C. *Effect of Chemical Substances on Hearing – Interactions with noise*. Studies and Research Projects – Report R-747 [online]. Montréal: IRSST, 2012. Available at: <<https://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/R-747.pdf>>
- [3] CAMPO, P.; MORATA, T. C., HONG, O. *Chemical exposure and hearing loss*. Article in Disease a month, 2013, pp. 122-139.
- [4] CAMPO, P.; MAGUIN, K.; GABRIEL, S.; MOLLER, A.; NIES, E.; DOLORES, M.; GOMEZ, S.; TOPPILA, E. *Combined exposure to Noise and Ototoxic Substances*. EU-OSHA, Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities, 2009.
- [5] GRAVENDEEL, D.W.; PLOMP, R. *The relation between permanent and temporary noise dips*. A.M.A. Arch. Otolaryngol, 1959, Vol. 69, pp. 714-719.
- [6] SCHACHT, J.; HAWKINS, J. E. *Sketches of oto-history: part II: ototoxicity: drug-induced hearing loss*. Audiol. Neurotol, 2006, Vol. 11, pp 16.
- [7] BERGSTRÖM, B.; NYSTRÖM, B. *Occupational noise-induced hearing loss is still responsible for the majority of occupational noise: a 20-year follow-up study*. Scand Audiol., 1986, Vol. 15, No. 4, pp. 227-234.
- [8] MACDONALD, M.R.; HARRISON, R. V.; WAKE, M.; BLISS, B.; MACDONALD, R. E. *Otototoxicity of carboplatin: comparing animal and clinical models at the hospital for sick children*. J. Otolaryngol, 1994, Vol. 23, pp. 151-159.
- [9] HAMERS, F. P.; WIJBENGA, J.; WOITERS, F. L. C.; KLIS, S. F. L.; SLUYTER, S.; SMOORENBURG, G. F. *Cisplatin ototoxicity involves organ of Corti, stria vascularis and spiral ganglion: modulation by alphaMSH and ORG 276*. Audiol. Neurootol, 2003, Vol. 8, pp. 305-315.
- [10] FORGE, A.; SCHACHT, J. *Aminoglycoside antibiotics*. Audiol. Neurootol. 2000, Vol. 5, PP. 3-22.
- [11] SELIMOGLU, E.; KALKANDELEN, S.; ERDOGAN, F. *Comparative vestibulotoxicity of different aminoglycosides in the guinea pigs*. Yonsei Med. J. 2003, Vol. 44, pp. 517-522.
- [12] SOLER-MARTÍN, C.; DIEZ-PADRISA, N.; BOADAS-VAELLO, P.; LLORENS, J. *Behavioral disturbances and hair cell loss in the inner ear following nitrile exposure in mice, guinea pigs, and frogs*. Toxicol. Sci., 2007, Vol. 96, pp. 123-132.
- [13] FORGE, A. *A tubulo-cisternal endoplasmic reticulum system in the potassium transporting marginal cells of the stria vascularis and effects of the ototoxic diuretic ethacrynic acid*. Cell Tissue Res, 1982, Vol. 226, pp. 375-387.
- [14] BONDING, P. *Critical bandwidth in patients with a hearing loss induced by salicylates*. Audiol., 1979, Vol. 18, pp. 133-144.
- [15] SHEIKH, M. A.; WILLIAMS, W.; CONNOLLY, R. *Exposure to ototoxic agents and noise in workplace – a literature review*. Acoustic, 2016, pp. 10.
- [16] Lieky poškodzujúce sluch. *Audiosvet: portál pre rodičov sluchovo postihnutých detí* [online]. Dostupný na WWW: <<http://audiosvet.com/2013/07/04/lieky-poskodzujuce-sluch/>>.
- [17] LEATHER, P.; BEALE, D.; SULLIVAN, L. Noise, psychosocial stress and their interaction in the workplace. *J. Env. Psych.*, 2003, Vol. 23, pp. 213-222.
- [18] SCHWARZ, M.; DADO, M.; HNILICA, R. *Ototoxické látky: časť 2*. Časopis výzkumu a aplikaci v profesionální bezpečnosti [online]. 2014, roč. 7, č. 4. Available at: <<http://www.bozpinfo.cz/josra/ototoxicke-latky-cast-2>>. ISSN 1803-3687.
- [19] CHEN, G. D.; FECHTER, L. D. *Potentialiation of octave-band noise induced auditory impairment by carbon monoxide*. Hear. Res., 1999, Vol. 132, pp. 149-159.
- [20] FECHTER, L. D.; CHENG, G. D.; RAO, D. *Characterising conditions that favour potentiation of noise induced hearing loss by chemical asphyxiants*. Noise Health, 2000, Vol. 3, pp. 11-21.
- [21] NYLÉN, P. R. Organic solvent toxicity in the rat with emphasis on combined exposure interactions in the nervous system. *Arbete & Hälsa*, 1994, Vol. 3, pp. 1-50.
- [22] CHEN, G. D.; McWILLIAMS, M. L.; FECHTER, L. D. Intermittent noise-induced hearing loss and the influence of carbon monoxide. *Hear. Res.*, 1999, Vol. 138, pp. 181-191.
- [23] LACERDA, A.; LEROUX, T.; GAGN, J. P. The combined effect of noise and carbon monoxide on hearing thresholds of exposed workers. *J. Acoust. Soc. Am.*, 2005, Vol. 117, p. 2481.
- [24] TAWACKOLI, W.; CHEN, G. D.; FECHTER, L. D. Disruption of cochlear potentials by chemical asphyxiants: cyanide and carbon monoxide. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2001, Vol. 23, pp. 157-165.
- [25] LIU, Y.; FECHTER, L. D. MK-801 protects against carbon monoxide induced hearing loss. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1995, Vol. 132, pp.196-202.

- [26] ULF-RÜDIGER, H.; KAI, H. Nitric oxide: a versatile key player in cochlear function and hearing disorders. *Nitric Oxide*, 2012, Vol. 27, pp. 106-116.
- [27] BLEECKER, M. L. ...[et al.]. Association of chronic and current measures of lead exposure with different components of brainstem auditory evoked potentials. *Neurotoxicology*, 2003, Vol. 24, pp. 625-631.
- [28] CHUU, J. J.; HSU, C. J.; LIN-SHIAU, S. Y. Abnormal auditory brainstem responses for mice with mercurial compounds: involvement of excessive nitric oxide. *Toxicology*, 2001, Vol. 162, pp. 11-22.
- [29] CLERICI, W. J.; ROSS, B.; FECHTER, L. D. Acute ototoxicity of trialkyltins in the guinea pig. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1991, Vol. 109, pp. 547-556.
- [30] YAMASOBA, T. ...[et al.]. Cochlear damage due to germanium-induced mitochondrial dysfunction in guinea pigs. *Neurosci. Lett.*, 2006, Vol. 395, pp. 18-22.
- [31] BENCKO, V.; SYMON, K. Test of environmental exposure to arsenic and hearing changes in exposed children. *Environ. Health Perspect.*, 1977, Vol. 19, pp. 95-110.
- [32] OZCAGLAR, H. U. ...[et al.]. Effect of cadmium on the hearing system. *Acta. Otolaryngol.*, 2001, Vol. 121, pp. 393-397.
- [33] NIKOLOV, Z. Hearing reduction caused by manganese and noise. *J. Fr. Otorhinolaryngol. Audiophonol. Chir. Maxillofac.*, 1974, Vol. 23, pp. 231-234.
- [34] COUNTER, S. A. ...[et al.]. High lead exposure and auditory sensory-neural function in Andean children. *Environ. Health Perspect.*, 1997, Vol. 105, pp. 522-526.
- [35] BESSER, R. ...[et al.]. Acute trimethyltin limbic-cerebellar syndrome. *Neurology*, 1987, Vol. 37, pp. 945-950.
- [36] BENCKO, V. ...[et al.]. Health aspects of burning coal with a high arsenic content II.: hearing changes in exposed children. *Environ. Res.*, 1977, Vol. 13, pp. 386-395.
- [37] KAHLMETER, G.; DAHLAGER, J. I. Aminoglycoside toxicity: a review of clinical studies published between 1975 and 1982. *J. Antimicrob. Chemother., Suppl. A*, 1984, pp.9-22.
- [38] DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach*. 3rd ed. Wiley, 2009. ISBN 0-470-74167-8.33.
- [39] MONSELL, E. M.; CASS, S. P.; RYBAK, L. P. Therapeutic use of aminoglycosides in Ménière's disease. *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 1993, Vol. 26, 737746.
- [40] KRČMĚRY, V.; KULKOVÁ, N.; SOKOLOVÁ, J. Prečo je spotreba antibiotík na Slovensku vyššia v porovnaní s Českou republikou? *Lekárnik* [online], 2013, roč. 18, s. 22. Available at: <http://www.sssf.sk/media/pdf/Lekarnik_02_2013.pdf>.
- [41] MARTÍNEZ-RODRÍGEZ, R. ...[et al.]. Loop diuretics and ototoxicity. *Actas Urol. Esp.*, 2007, Vol. 31, pp. 11891192.
- [42] HAMERS, F. P. ...[et al.]. Cisplatin ototoxicity involves organ of Corti, stria vascularis and spiral ganglion: modulation by alphaMSH and ORG 2766. *Audiol. Neurootol.*, 2003, Vol. 8, pp. 305-315.
- [43] RYBAK, L. P.; WHITWORTH, C. A. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today*, 2005, Vol. 10, pp. 1313-1321.
- [44] KNIGHT, K. R.; KRAE MER, D. F.; NEUWELT, E. A. Ototoxicity in children receiving platinum chemotherapy: underestimating a commonly occurring toxicity that may influence academic and social development. *J. Clin. Oncol.*, 2005, Vol. 23, pp. 8588-8596.
- [45] RYBAK, L. P.; KELLY, T. Ototoxicity: bioprotective mechanisms. *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2003, Vol. 11, pp. 328-333.
- [46] Stypulkowski P. H.: Mechanisms of salicylate ototoxicity. *Hear. Res.* 1990, Vol. 46, pp. 113-146.
- [47] HIGUCHI, H. ...[et al.]. Ototoxicity of gentian violet on the Guinea pig cochlea. *Otol. Neurotol.*, 2014, Vol. 35, pp. 743-747.
- [48] FECHTER, L. D. ...[et al.]. Acrylonitrile produces transient cochlear function loss and potentiates permanent noise-induced hearing loss. *Toxicol. Sci.*, 2003, Vol. 75, pp. 117-123.
- [49] BALBUENA, E.; LLORENS, J. Comparison of cis- and trans-crotononitrile effects in rat reveals specificity in the neurotoxic properties of nitrile isomers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2003, Vol. 187, pp. 89-100.
- [50] CAMPBELL, K. C. M. Bromate-induced ototoxicity. *Toxicology*, 2006, Vol. 221, pp. 205-211.
- [51] ZOELLER, R. T. Environmental chemicals as thyroid hormone analogues: new studies indicate that thyroid hormone receptors are targets of industrial chemicals? *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2005, Vol. 242, pp. 10-15.
- [52] WILD, D. C.; BREWSTER, M. J.; BANERJEE, A. R. Noise-induced hearing loss is exacerbated by long-term smoking. *Clin. Otolaryngol.*, 2005, Vol. 30, pp. 517-520.
- [53] PALMER, K. T. ...[et al.]. Cigarette smoking, occupational exposure to noise, and self reported hearing difficulties. *Occup. Environ. Med.*, 2004, Vol. 61, pp. 340-344.
- [54] TEIXEIRA, C. F. Occupational exposure to insecticides and their effects on the auditory system. *Noise Health*, 2002, Vol. 4, pp. 31-39.
- [55] SIMONSON, L.; LUND, S. P. Four weeks inhalation exposure to n-heptane causes loss of auditory sensitivity in rats. *Pharmacol. Toxicol.*, 1995, Vol. 76, pp. 41-46.

- [56] FECHTER, L. D. ...[et al.]. Disruption of auditory function by acute administration of a „room odorizer“ containing butyl nitrite in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1989, Vol. 12, pp. 56-61.
- [57] LAM, H. R. ...[et al.]. Four weeks inhalation exposure of Long Evans rats to 4-tert-butyltoluene: effect on evoked potentials, behaviour, and brain neurochemistry. *Pharmacol. Toxicol.*, 2000, Vol. 87, pp. 11-17.
- [58] CAMPO, P.; MAGUIN, K.; GABRIEL, S.; MOLLER, A.; NIES, E.; DOLORES, M.; GOMEZ, S.; TOPPILA, E. *Combined exposure to Noise and Ototoxic Substances*. EU-OSHA, Luxembourg. Office for Official Publications of the European Communities, 2009.
- [59] MORATA, T.C. 2012. *Ototoxicants in the workplace: implications for hearing loss prevention*, Proceedings of the AIOH Conference, Sydney, Australia.
- [60] HODGKINSON L, PRASHER D. *Effects of industrial solvents on hearing and balance: a review*. Noise Health, 2006, Vol. 8., pp. 114-133.
- [61] PLEBAN, F.; OKETOPE, O.; SHRESTHA, L. *Occupational Styrene Exposure on Auditory Function Among Adults: A Systematic Review of Selected Workers*. Safety and Health at Work 2017, Vol. 8, pp. 130-142.
- [62] SISTO, R., CERINI, L.; GATTO, M. P.; GHERARDI, M.; GORDIANI, A.; SANJUST, F.; PACI, E.; TRANFO, G.; MOLETI, A. *Otoacoustic emission sensitivity to exposure to styrene and noise*. J Acoust Soc Am 2013; 134:3739e48.
- [63] YARIN, Y. M. ...[et al.]. Argon protects hypoxia-, cisplatin- and gentamycin-exposed hair cells in the newborn rat's organ of Corti. *Hear. Res.*, 2005, Vol. 201, pp. 1-9.
- [64]. European Agency for Safety and Health at Work. Noise in Figures: Risk Observatory Thematic Report 2006 [online]. EU-OSHA, 2006. Dostupné na WWW:<<http://osha.europa.eu/en/publications/reports/6905723>>.
- [65]. SUTINEN, P. ...[et al.]. Vibration-induced hearing loss: mechanical and physiological aspects. *Otol. Neurotol.*, 2007, Vol. 28, pp. 171-177.
- [66]. GAGNAIRE, F. ...[et al.]. Ototoxicity in rats exposed to ethylbenzene and two technical xylene vapours for 13 weeks. *Arch. Toxicol.*, 2007, Vol. 81, pp. 127-143.
- [67]. JONKER, D. ...[et al.]. Safety evaluation of chemical mixtures and combinations of chemical and non-chemical stressors. *Rev. Env. Health*, 2004, Vol. 19, pp. 83-139.

SÚHRN

Strata sluchu predstavuje približne jednu tretinu zo všetkých evidovaných chorôb z povolania v Európe. Tento prehľadový článok sa zaoberá ototoxicitou ako vlastnosťou chemických látok, ktoré sú schopné vyvolať poškodenie a stratu sluchu. Ototoxické látky sú široko používané, napr. v celom rade priemyselných činností, v medicíne pri liečbe viacerých chorôb, sú komponentom farieb a riedidiel a pod.. V úvode príspevku je priblížený historický vývoj látok poškodzujúcich sluch a mechanizmus sluchového aparátu človeka s dôrazom na spôsob účinku týchto chemických faktorov. Príspevok poukazuje na synergické pôsobenie viacerých faktorov v pracovnom prostredí súčasne (hluk spolu s prítomnosťou ototoxických látok) a odbornej verejnosti približuje možné spôsoby zníženia ototoxických účinkov. V rámci príspevku je k dispozícii prehľad o najdôležitejších skupinách ototoxických látok a to konkrétne štyroch základných skupín, t.j. asfyxianty, rozpúšťadlá, ťažké kovy a ich zlúčeniny a skupinu ostatné ototoxické látky, medzi ktoré zaradíme predovšetkým široké spektrum farmaceutických produktov. Tieto sú následne bližšie špecifikované, vrátane uvedenia typických zástupcov z každej skupiny, v samostatných častiach tohto príspevku.

Acta Facultatis Ecologiae, Volume 37, 2017 – 2

Vydanie I. december 2018 – Vydala Technická univerzita vo Zvolene, T. G. Masaryka 2117/24, 960 53 Zvolen, IČO 00397440 – Počet strán 53 – 4,85 AH, 4,96 VH – Náklad 170 výtlačkov – Tlač a grafická úprava Vydavateľstvo TU vo Zvolene – Vydanie publikácie schválené v Edičnej rade TU dňa 20. 3. 2017, číslo EP 85/2017 – Evidenčné číslo MK SR 3859/09 – Periodikum s periodicitou dvakrát ročne – Za vedeckú úroveň tejto publikácie zodpovedajú autori a recenzenti – Rukopis neprešiel jazykovou úpravou.

ISSN 1336-300X