

Az F034714 KM2 KUTATÁSI TÉMA ZÁRÓJELENTÉSE

Témavezető neve: Dr.Kiss Attila

A téma címe: Növényvédőszeres fotokatalizált degradációjának vizsgálata

A kutatás időtartama: 2001. március 1 –2005. március 1.

Célkitűzés, feladatmeghatározás

A nagy mennyiségben alkalmazott, káros mellékhatásokkal bíró, minden bizonnyal toxikus metabolitokra bomló növényvédőszeres degradációjának vizsgálata napjaink egyik legsürgetőbb feladata. Ezek környezetterhelő hatása bizonyított ugyan, de a reakciómechanizmusok feltárása terén lényegi előrelépést nem tudtak felmutatni sem a hazai, sem a nemzetközi szakirodalomban. A **fotodegradáció mechanizmusának tanulmányozásának** szükségességét tehát **környezetvédelmi, illetve biológiai vonatkozások** is alátámasztják.

A talajdegradációs folyamatok környezeti faktorai és ennek talaj állapotával, főbb jellemzőivel, a modellek alkotásával, illetve a folyamatok előrejelezhetésével való összefüggései mindig a talajtudományi kutatások középpontjában Vizsgálataink ezen területhez kapcsolódnak, hiszen a talajdegradációs folyamatok jelentős mértékű fokozódásához a növényvédőszeres alkalmazása, és azok bioszférába történő bejutása nagyban hozzájárul. A növényvédőszeres – hazai viszonylatban is legáltalánosabban felhasznált – csoportjai (s-triazin származékok, karbamidok, tiokarbamátok, benzimidazolok acetamidok, foszforsav-észterek) esetében a fotokatalizált bomlási folyamatokat tanulmányoztuk az alábbi növényvédő szeres esetében: **atrazin, prometrin, terbutrin, simazin, metribuzin, EPTC, izofluometuron, pendimetalin, acetoklór, karbendazim, diuron és klórpiprifosz.**

Munkánk fő célkitűzése tehát a mindennapi gyakorlatban is széles körben felhasznált **növényvédőszeres fotokatalizált bomlási mechanizmusának** megismerése, a **köztitermékek azonosítása és toxicitásának vizsgálata volt.**

A talajdegradáció megértése és elemzése nélkül nem valósítható meg a termőföldek minőségi változásainak előrejelzése, felbecsülése és ellenőrzése, illetve a modern környezetvédelmi normáknak való megfelelés sem. Ezért tartjuk kiemelkedő fontosságúnak a **talajdegradáció különböző részfolyamatainak elemzését, azok megértését,** illetve a talajdegradációt kiváltó komponensek beható tanulmányozását. A talajdegradáció kialakuláshoz hozzájárul, hogy a peszticidek, és azok bomlástermékei telítik a talajban levő adszorpciós kötőhelyeket, a szerves komponensek nagy részével kölcsönhatásba lépnek, így csökkentik a pufferkapacitást, gátolják a talajban lejátszódó természetes polimerizációs folyamatokat, illetve a talajéletben kulcsfontosságú élőlények életfolyamatait is.

Az alkalmazott peszticidek toxicitása ismert, de nagyon kevés adat áll rendelkezésre azok természetben lejátszódó bomlási folyamatairól, a bomlástermékek szerkezetéről, biológiai hatásáról. A három fő bomlási típus közül (biológiai, kémiai és fotokémiai

degradáció) mi az utóbbi szerepét szándékoztuk tisztázni modellkísérleteink által. Munkánk fő célkitűzése a mindennapi gyakorlatban is széles körűen felhasznált növényvédőszeres fotokatalizált bomlási mechanizmusának megismerése, a köztitermékek azonosítása és toxicitásának a vizsgálata volt. Azok a szerves növényvédőszeresek, melyek jól oldódnak vízben, gyorsan hidrolizálnak és általában könnyebben, gyorsabban lebomlanak. A növényvédőszeresek degradációja eredményeképpen többnyire toxikus metabolitok keletkeznek, melyek környezetterhelő hatása jelentős.

A peszticidek további veszélye, hogy az **ökoszféra szennyezése** folytán az ökorendszer egyensúlyának felbomlását okozhatja. Az agroökoszisztémákban a peszticidek hatásának **egyik része előnyös**, előre megtervezett (a herbicid, fungicid, inszekticid stb. hatás), hiszen ez az alkalmazás célja is. A **hatás másik része kevésbé kiszámítható**, a biocönózis valamennyi alkotóját érintheti és így sérülhet a tápláléklánc, amely már komolyabb következményekkel is jár. Az **ökotoxikológiai kártétel** a másodlagos kártételek közé sorolható, hatása megnyilvánulhat akár valamilyen foglalkozási betegségben, akár élő rendszerek pusztulásában is.

A szerves mikroszennyezők, így a peszticidek többsége is káros hatással van az élő szervezetekre, azonban a **bomlástermékek** is jelentősen hozzájárulhatnak a **toxikus hatás felerősödéséhez**, tekintve, hogy reaktívabb, mobilisabb és vízdékonyabb molekulák keletkezését is valószínűsíthet. Mivel ilyen irányú kutatások a bomlástermékek analizálására és a lehetséges élettani hatás felmérésére, illetve modellezésére csak igen érintőlegesen történtek, az **általunk végzett vizsgálatok jelentős hiátust pótolnak**.

Az alapvegyületek és **köztitermékek toxicitásának a vizsgálatát mikrobiológiai modelkísérletekkel valósítottuk meg**, melynek során **reprezentatív mikroorganizmusokban** a peszticidszármazékok hatására fellépő gátló hatást vizsgáltuk. A kutatási terület jelentőségét az is tágabb dimenzióba helyezi, hogy a peszticidek, valamint azok bomlástermékeinek a bioszférába, valamint az élelmiszerekbe történő bejutásával számolnunk kell, ezen hatások felmérése azonban várat magára.

A fentieken túlmenően modellezni kívántuk azt is, hogy a peszticidek degradációját, illetve a bomlástermékek és az alapvegyület felvehetőségét hogyan befolyásolják a talaj fémionjai. Reprezentatív példaként a simazin esetében **feltártuk a talaj Cu-ionjaival létesülő kölcsönhatások mértékét HPLC-s vizsgálatainkkal**.

A vizsgálati módszerek

Vizsgálataink során spektrofotometriás módszert alkalmaztunk a reakció nyomon követése, a degradáció előrehaladásának igazolása céljából. Az UV spektrumokat Jasco V-530 típusú spektrométerrel 200-300 nm közötti hullámhossz tartományban vettük fel, mivel későbbi besugárzásaink 254 nm-es hullámhosszúságon történtek.

A millipore gyártmányú 15 W teljesítményű bemelegítő UV-fényforrás 254 nm hullámhosszúságú fényt bocsájt ki, mely elégségesnek bizonyult a degradáció kiváltásához. A besugárzást 1 m/m %-os oldatokban, vízben, illetve butanolban végeztük, mivel a vízdékonysága a vizsgált vegyületeknek nem mindig volt megfelelő. A besugárzás megkezdését követően 10 percenként, majd 1 óra elteltével óránként vettünk mintát, és spektrofotometriás, valamint gázkromatográfiás módszerrel figyelemmel kísértük a változásokat. Amennyiben a degradáció láthatólag megszűnt, tehát sem az UV-VIS spektrumban, sem a gázkromatográfiás kromatogrammon nem volt megfigyelhető változás, tehát új speciesz keletkezése, a besugárzást megszüntettük.

A degradációs termékek elválasztását HPLC technika alkalmazásával hajtottuk végre, míg ezek azonosítását GC-MS vizsgálati berendezéssel végeztük. Vizsgálatainkhoz egy Perkin Elmer Autosystem XL GC típusú gázkromatográfot Perkin Elmer Turbo Mass Spectrometer

típusú tömegspektrométerhez kapcsoljuk. A termékek identifikálása a tömegspektrumok alapján történt, és a fotodegradációs reakciómechanizmusok felállítása így lehetővé vált.

A besugárzás során óránként kivett minták **gázkromatográfiás analízise** a bomlástermékek azonosítása mellett alapjául szolgált az egyes **degradációs termékek arányának** megállapításának, így a fotobomlás **kinetikai viszonyai feltárásának**.

A vizsgált peszticidek fotokatalizált degradációjának folyamatát vékonyréteg-kromatográfiásan követtük, a degradáció pontos mértékét a GC-kromatogramok felhasználásával állapítottuk meg. A besugárzás során óránként vett minták GC-kromatogramján az alapvegyületek intenzitásából számoltuk a **peszticidek bomlásának százalékos mértékét**.

A mikrobiológiai vizsgálatokhoz egy Gram-pozitív (*Bacillus subtilis*), egy Gram-negatív (*Pseudomonas fluorescens*) baktériumfajt és egy *Trichoderma harzianum* fonalas gombafajt használtunk tesztmikroorganizmusként. A baktériumokra gyakorolt toxicitást Nutrient táptalajon, a gomba érzékenységét pedig Sabouraud-dextróz agaron mértük fel. [47.] Az autoklávban 121 °C-on 20 percen át sterilizált táptalajokat 90 mm átmérőjű Petri-csészébe öntöttük. A szilárd táptalajok felületére az egyes mikrobák sejtszuszpenziójából 0,1-0,1 cm³-et szélesztettünk. A tenyészeteket 26 °C-os hőmérsékleten 48 órán át inkubáltuk. Az ezt követő értékelésnél gátlási zónák kialakulását kerestük. A gátlási zónák átmérőjét a Petri-csésze hátoldalán vonalzóval mértük meg két, egymásra merőleges átmérő mentén.

Eredmények

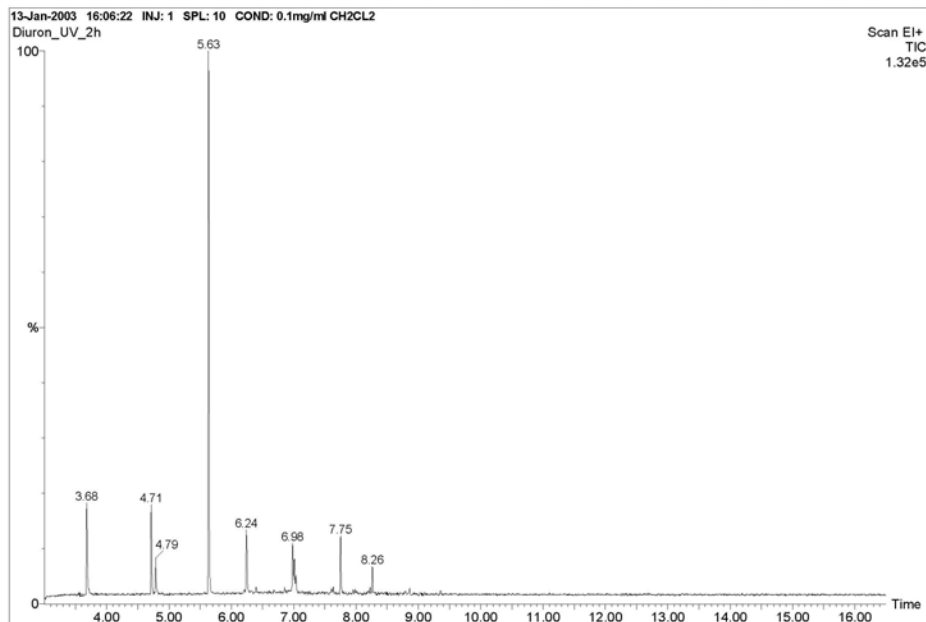
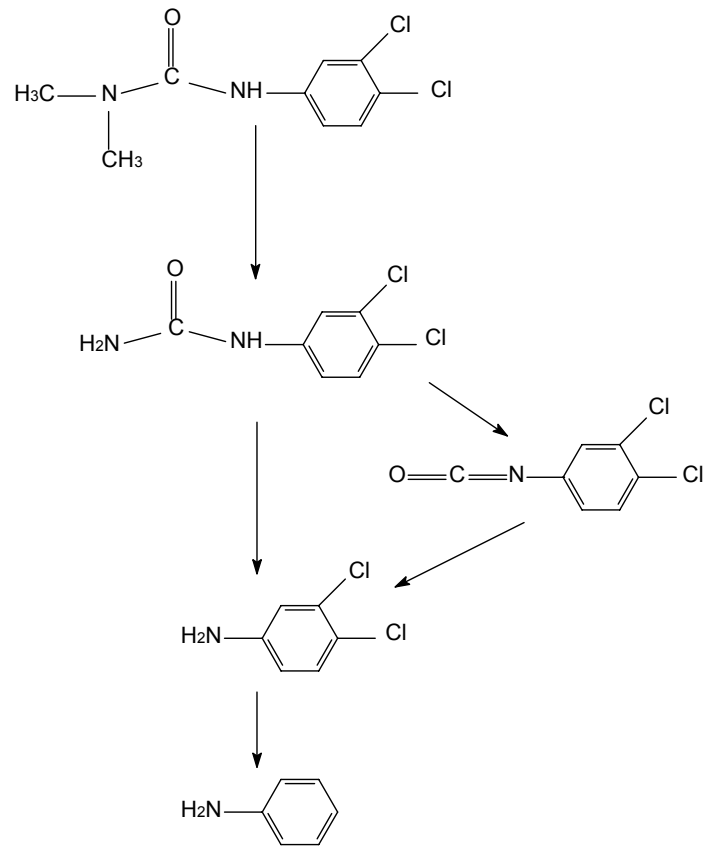
Összesen 12 peszticidet vizsgálva 10 esetben térképeztük fel teljesen a fotobomlás részlépéseit, tártuk fel a peszticidek fotodegradációs mechanizmusát. A vizsgált peszticidek a következők voltak: **atrazin, prometrin, terbutrin, simazin, metribuzin, EPTC, acetoklór, karbendazim, diuron és klórpifosz**. Így, különböző elválasztási és szerkezetazonosítási technikákat alkalmazva (oszlopkromatográfia, illetve GC-MS-vizsgálatok), kémiai sajátágaikat és szerkezetüket tekintve lényegesen különböző peszticidek fényérzékenységét és fotodegradációját tudjuk összehasonlítani. **Az izofluometuron és pendimetalin inertnek mutatkozott fotoimpulzusokra.**

1. Fotolitikus degradációs mechanizmusok feltárása

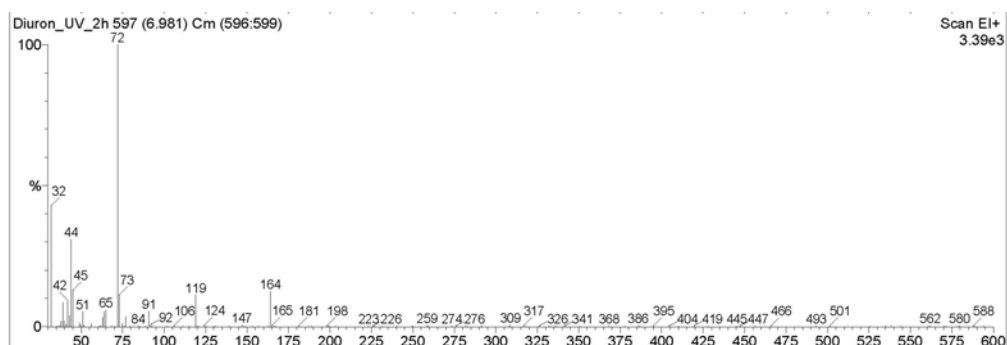
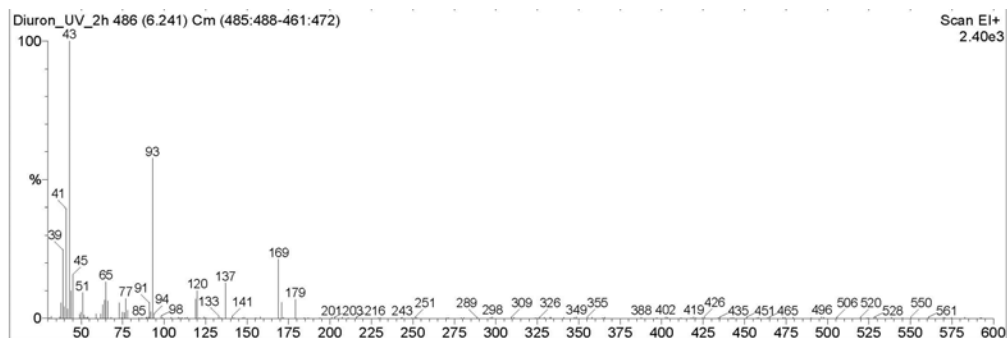
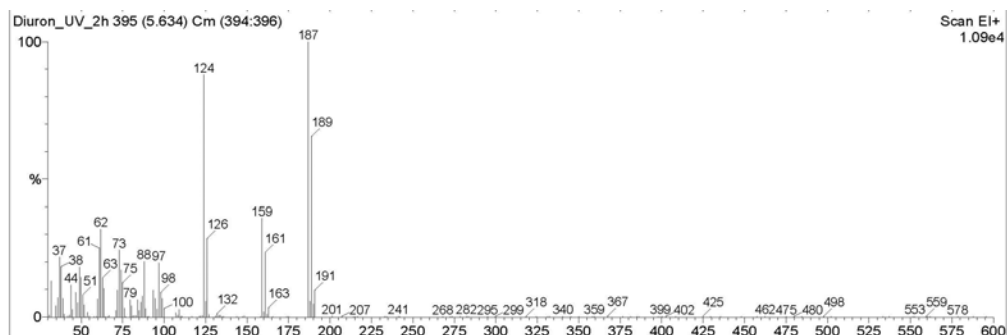
a) A diuron fotolitikus átalakulása

A diuron fotodegradációjának kezdeti reakciólépése az N-terminális molekulavégen történő átalakulás: a kettő N-metil kötés felhasadása és a metil-csoportok eltávozása. Ezt követően vagy a stabilabbnak mutató 3,4-diklor-anilin keletkezik köztiterméként, vagy mód nyílik jóval kisebb mennyiségben 1-izocianát-3,4-diklor-benzol keletkezésére is, ami meglepő észlelés, és a toxicitást minden bizonnyal lényegesen befolyásoló faktor. Ez az izocianát-származék is átalakul 3,4-diklor-anilinné, amely több órás besugárzás hatására képes átalakulni fokozatos klórvesztések által anilinné, ami a fotodegradáció végtermékének tekinthető.

Az alábbiakban tekinthető meg a diuron fotodegradációjának reakciósémája:



A diuron 2 órás UV-besugárzását követően felvett GC-spektruma



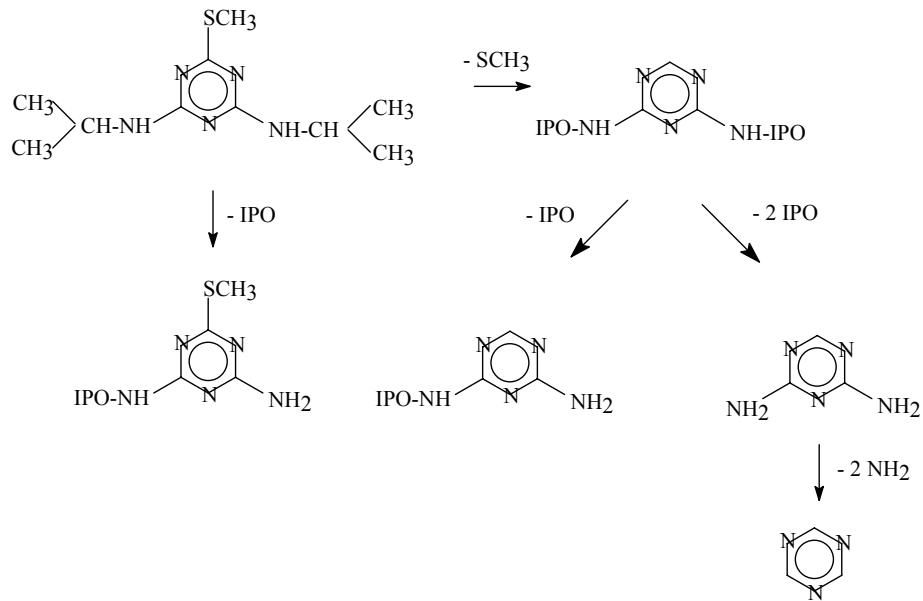
A diuron 2 órás UV-besugárzása által keletkezett három fő degradációs termék tömegspektruma

b) A Prometrin fotodegradációja

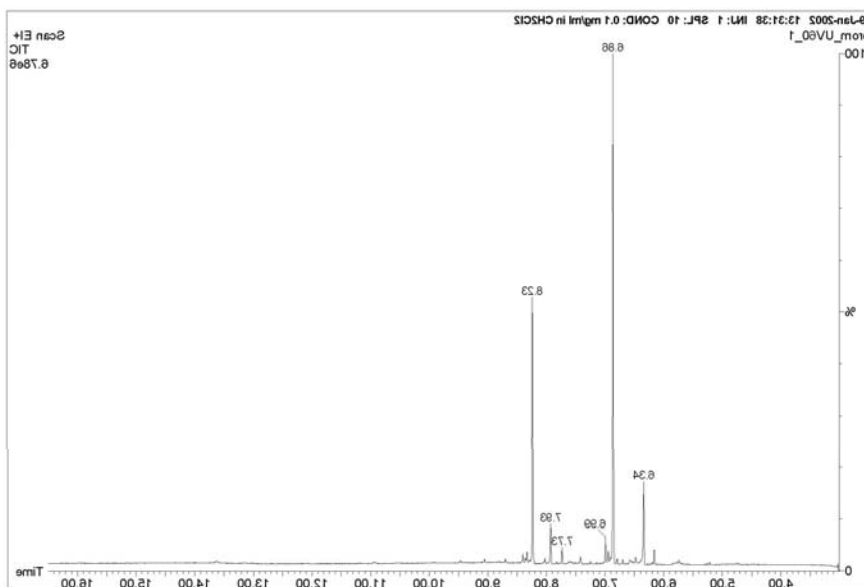
Már a besugárzást követő ötödik percben már számottevő bomlás volt észlelhető, amely az időteltével egyre intenzívebbé vált. A leginkább figyelemre méltó eredmény mégis az, hogy 90 perc elteltével ennél a növényvédőszerrel 100 %-os degradációt tudtunk kimutatni. A prometrin esetében két fő és több kisebb mennyiségű degradációs terméket azonosítottunk vékonyréteg kromatográfiai módszerrel. Az bomlástermékek szétválasztása és azonosítása után (spektrofotometria) előkészítettük az anyagot GC/MS vizsgálatokhoz.

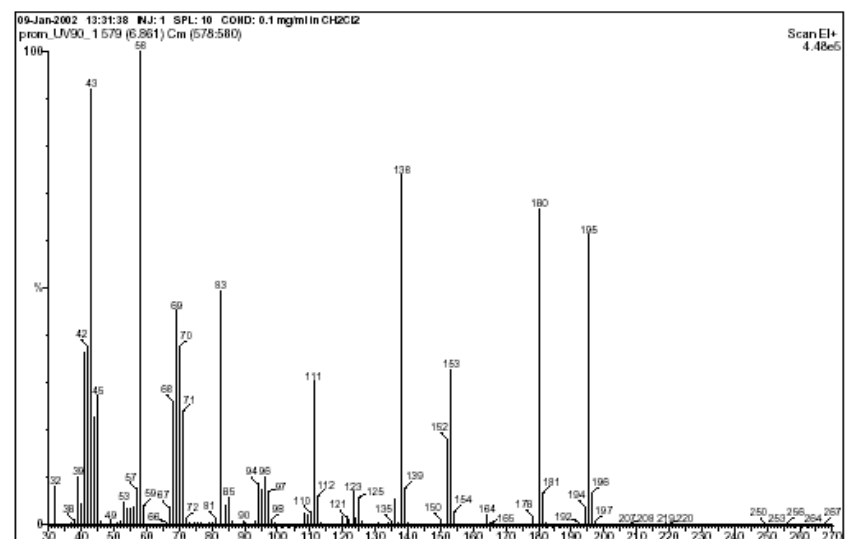
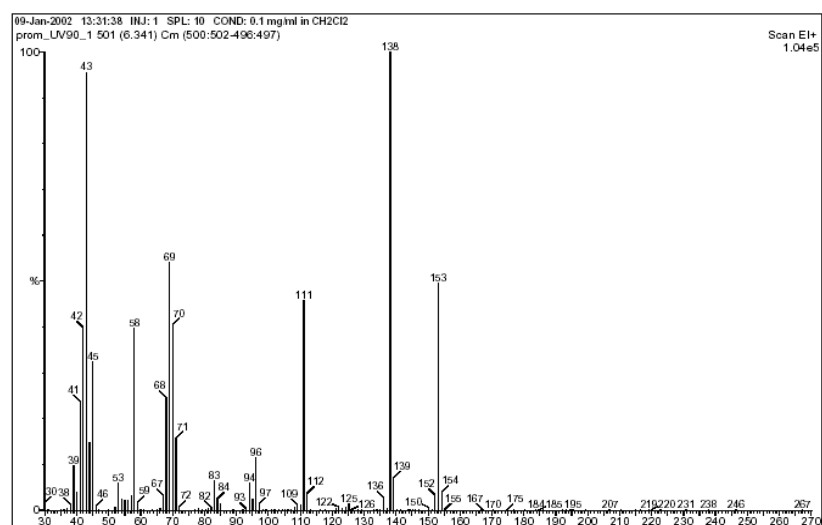
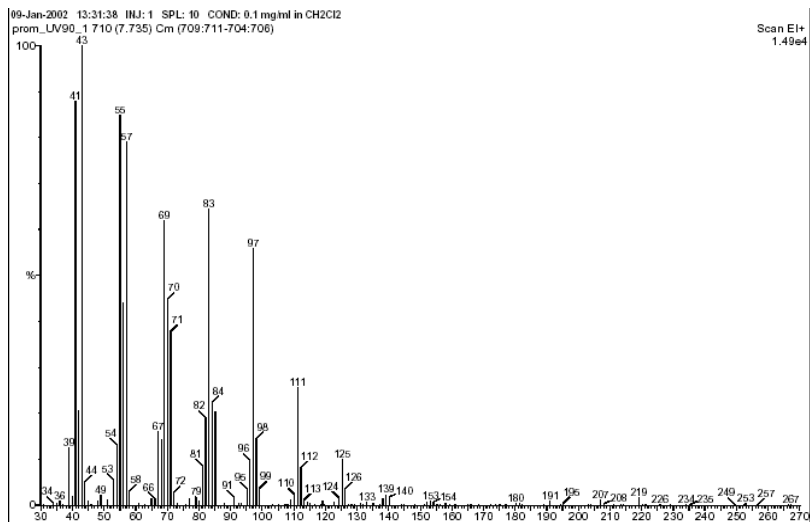
Ahogy a lenti reakciómechanizmus feltárja, 5 különböző bomlástermék létezését nyert bizonyítást a prometrin esetében a tömegspektrometriás analízis alapján.

Prometrin



A tiometil csoport leszakadása a vázmolekula 4-es pozíciójából logikusnak tűnik, ha figyelembe vesszük a tioéter- csoport relatív labilitását a többi kötéshez viszonyítva. Az így kialakult, szimmetrikus 2,6-bisz (izopropil-amin)- 1,3,5-triazin az egyik fő termékünk, ami lépcsőzetes izopropil csoport vesztést szenved és így 2,6- diamin- 1,3,5 -triazin keletkezik igen jelentős arányban. Érdekes, hogy a bomlás nem feltétlenül a tioéter kötés szakadásával iniciálódik, hanem az egyik izopropil csoport eltávozásával is. Ez a forma jelentéktelen súlyt képvisel, így igen gyorsan tiometil- vesztésen megy át, és csatlakozik az iménti reakcióúthoz. A folyamat végterméke az 1,3,5- triazin, mely további fotodegradációnak egyértelműen ellenáll.

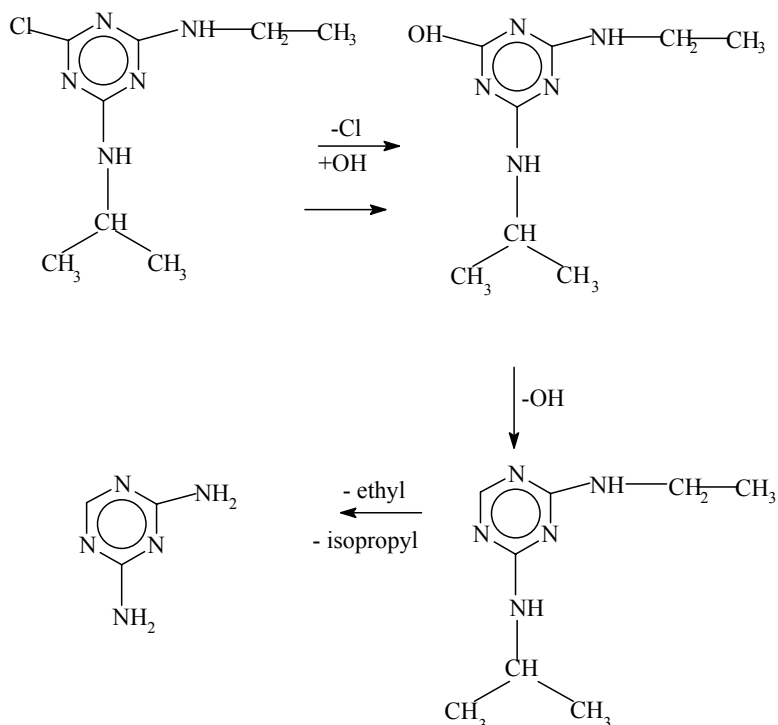




A prometryn 60 perces UV- besugárzással nyert bomlástermékeinek GC-kromatogrammja tömegspektrometriás spektrumai

c) Az Atrazin fotodegradációja

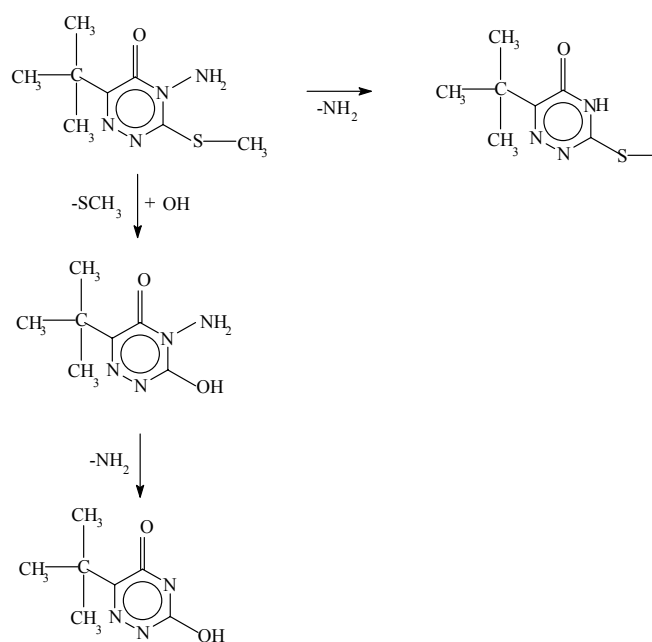
Az atrazin esetében a következő bomlási mechanizmust tártuk fel:



A fotodegradáció során 3 különböző terméket tudunk azonosítani. A bomlás a kloro szubsztituens hasadásával kezdődik, melynek a helyére egy OH-csoport lép be, mely minden bizonnyal a víz fotobomlásából származik. A hidroxil-csoport eltávolítását követően az etil-, és az izopropil-csoportok lehasadásával kell számolnunk, és az N-dezetileződés, illetve az N-dezizopropilezés eredményeképpen 2,4-diamino-1,3,5-triazin keletkezik mint végtermék.

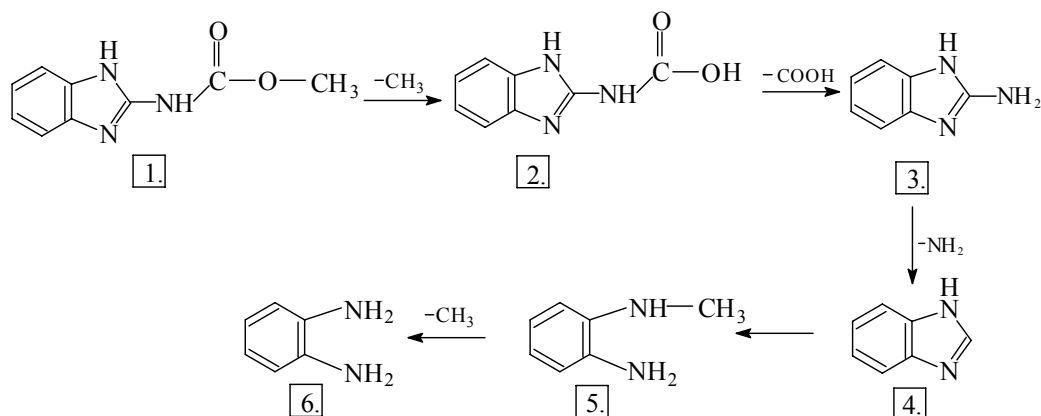
d) A metribuzin fotodegradációja

A metribuzin fotodegradációja esetében két fő bomlási rány figyelhető meg: a mechanizmus egyik lehetséges reakcióútja egy dezaminálási folyamatot jelent, melyben a tiometil csoport érintetlenül marad, míg a másik irányú átalakulás a tiometil csoport leszakadásával indul. Ezt követően a távozó tiometil csoport helyére beléphet egy OH-csoport, mely valószínűleg a víz fotólíziséből származtatható. További besugárzás hatására itt is végbemehet az amino-csoport leszakadása, mely nem jár együtt az OH-csoport és a terc-butil csoportok távozásával. Tartósabb besugárzás sem volt képes ezt a végterméket átalakítani.



e) A karbendazim fotolitikus bomlása

Az alábbiakban a karbendazim fotolitikus degradációjának reakciósémája látható:



A karbendazim fotodegradációjának reakciómechanizmusa

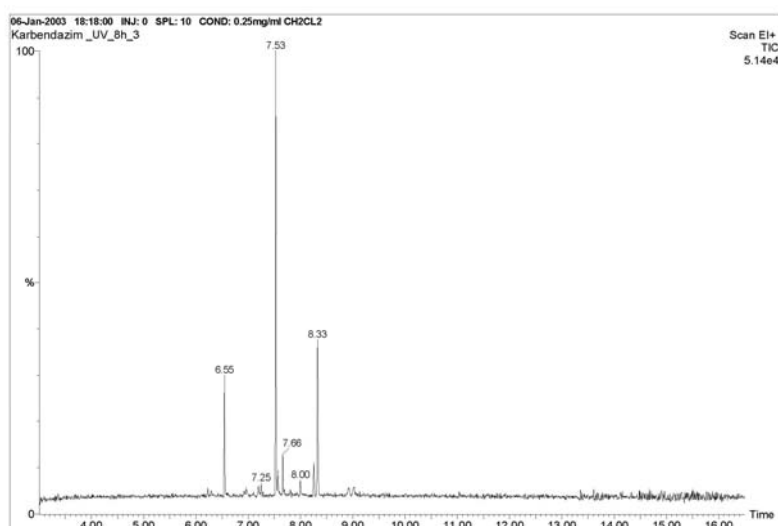
A karbendazim bomlásának reakciómechanizmusa során UV-fotonok hatására aránylag hamar végbemegy az első degradációs folyamat: az O-metil csoport felszakadása és **N-(benzimidazol-2-il)-karbaminsav** keletkezése. Ez a köztitermék igen csekély stabilitásúnak mutatkozott, mivel 30 perc besugárzást követően degradációt szenvedett és továbbalakult **2-amino-benzimidazollá**. Ez a köztitermék az irodalmi adatok szerint megtalálható a hosszú ideig karbendazimmal kezelt növényekben is [62], tehát biológiai bomlás következtében is kialakulhat. Szintén ezt a degradációs terméket kapták a karbendazim 254 nm-en való fototranszformációját tanulmányozó kutatók is, melynek keletkezése a fotehidrolízis mechanizmusával magyarázható [65]. A két órányi UV-foton közlést követő GC/MS vizsgálatok már nem igazolták a 2-benzimidazol-karbaminsav jelenlétét, azonban ez a vegyület az egy órás mintavételnél még kimutatható volt a kapott spektrumokon.

A 2-amino-benzimidazol, mint bomlási köztitermék már stabilabbnak tekinthető, mivel csupán több órányi fotoimpulzus hatására degradálódik, nevezetesen **benzimidazollá**. A keletkezett köztitermékek közül ez a leginkább perzisztens a fényel szemben, ugyanis 6 óra besugárzás volt szükséges ahhoz, hogy az imidazolgyűrű felnyíljon, és **2-metilaminoanilin** keletkezzen. A fotodegradáció végterméke ezt követően alakul ki az előbbi vegyület N-metil kötésének felszakadása által, és így **1,2-diaminobenzol** keletkezik, melynek toxikus hatását a mikrobiológiai vizsgálatink is igazolták.

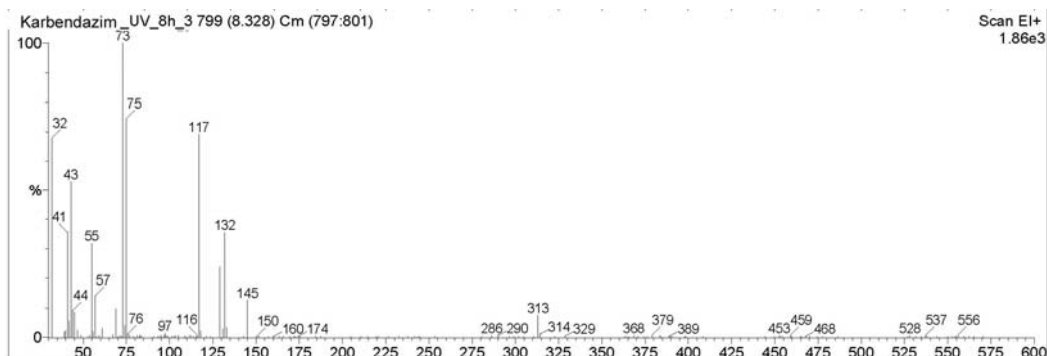
Vizsgálataink alkalmával tehát a kapott öt köztitermék azonosítása mellett a karbendazim bomlási mechanizmusát is megállapítottuk. **Ez új eredmény, mivel a szakirodalmi adatok szerint a 2-amino-benzimidazon kívül más metabolitot eddig nem azonosítottak.**

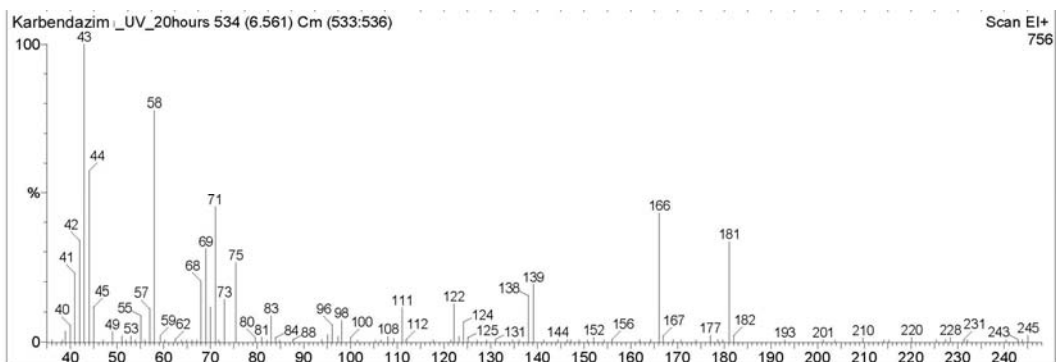
A karbendazim fotolitikus bomlásának köztitermékei, molekulatömegük, valamint a GC-kromatogramokról leolvasható retenció idejük

	Vegyület neve	Molekulatömeg (g/mol)	t _R
1.	metil-(N-benzimidazol-2-ilkarbamát	191	7,530
2.	N-(benzimidazol-2-il)-karbaminsav	177	6,561
3.	2-amino-benzimidazol	133	8,328
4.	Benzimidazol	118	7,662
5.	2-metilaminoanilin	122	8,003
6.	1,2-diaminobenzol	108	7,248



A karbendazim 8 órás UV-besugárzását követően felvett GC-kromatogramja

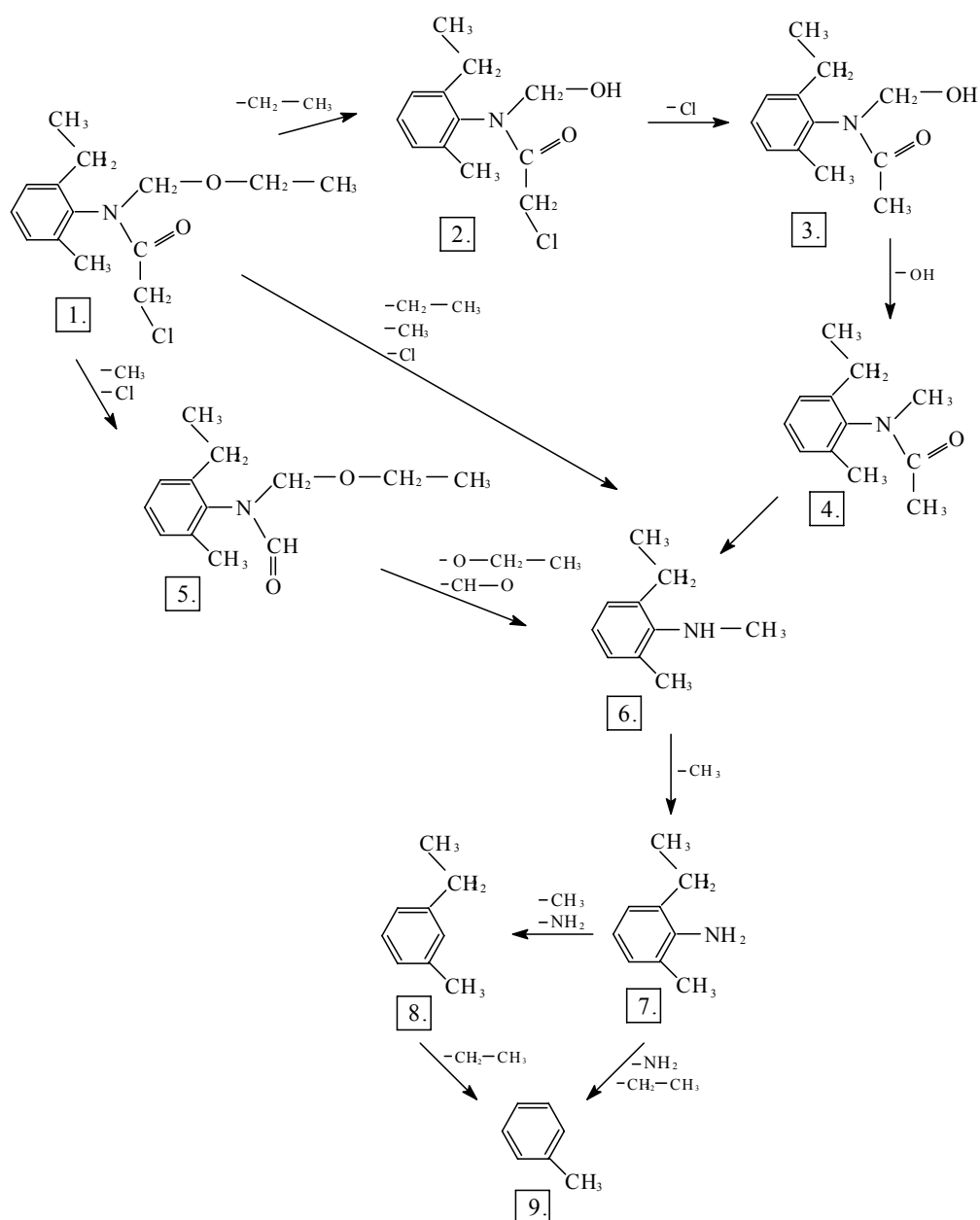




A karbendazim 8 órás UV-besugárzása által keletkezett két fő degradációs termék tömegspektruma

f) Az acetoklór fotolitikus bomlása

Az alábbiakban az acetoklór fotolitikus degradációjának reakciósémája látható:



Az acetoklór fotodegradációjának reakciómechanizmusa

Az **acetoklór** bomlása esetében a **degradáció nem egy kizárólagos úton játszódik le**, mivel degradációja során 2 esetben 2 degradációs alternatíva jelenik meg, és mind a kettő alternatíva megvalósul a kísérleti adatok alapján.

A fotodegradáció kezdetén, egy óra UV- besugárzást követően az N-etoximetil csoport éterkötésének és a $-CH_2-Cl$ kötésnek a felhasadása megy végbe, melynek eredményeképpen vagy direkt módon **N-metil-N-(2-etil-6-metilfenil)-acetamid** keletkezik, vagy megjelenik egy még klórtartalmú, **N-hidroxi-metil köztitermék** is. Ennek a köztiterméknek a jelenlétét igazolták a tömegspektrumok is az első órában, azonban további besugárzást követően átalakul az előbbi vegyületté. A direkt módon létrejött deklórozott és demetoxilezett termék UV- fotonok hatására nagyon rövid időn belül megjelent a spektrumokban, ezért vázolható fel két bomlási alternatíva a fotodegradáció első szakaszában.

A Coleman és munkatársai által feltételezett biodegradációs mechanizmus alapján a biológiai bomlás az N-etoximetil- csoport leszakadásával kezdődik, és így a degradáció első lényeges köztiterméke a CMEPA (2-klór-N-(2-metil-6-etilfenil)-acetamid). Ettől eltérően mi a deklórozást és az éterkötés szakadását igazoltuk a fotokémiai reakció során [80].

A bomlás következő lépcsőjében az N-metil-N-(2-etil-6-metilfenil)-acetamid acetyl csoportja szenved disszociációt, és így már nem acetamid, hanem anilin-származék keletkezik: **2-etil-6-metil-N-metilanilin**. Ez a köztitermék létrejöhet azonban a kiindulási vegyület kloro- valamint metil-csoport leválásával keletkező N-etoximetil-N-(2-etil-6-metilfenil)-formamidból is. Ez tulajdonképpen a bomlás kezdeti szakaszának harmadik alternatívája. A formanilin-származék mennyisége alapján azonban elmondható, hogy ez a reakcióút kisebb hányadát adja az 2-etil-6-metil-N-metilanilin keletkezésének. Valamennyire kézenfekvő az a tény az előbbi molekula szerkezetét és stabilitási viszonyait figyelembe véve, hogy a leginkább labilis N-metil kapcsolat fog megszűnni további UV- besugárzás hatására, ami **2-etil-6-metil-anilin** keletkezését eredményezi. Ez a degradációs termék az acetoklór májmikroszómákon való biodegradációjakor is létrejöhet Coleman feltételezése szerint [80] is. Más vizsgálatok szerint az acetoklór biodegradációjakor dialkylbenzokinon-imin is keletkezhet [90]. Talajból és talajvízből kimutatott acetoklór metabolitokat (oxánsav, szulfonsav, etánszulfonsav, ESA [85]) vizsgálataink során nem kaptunk.

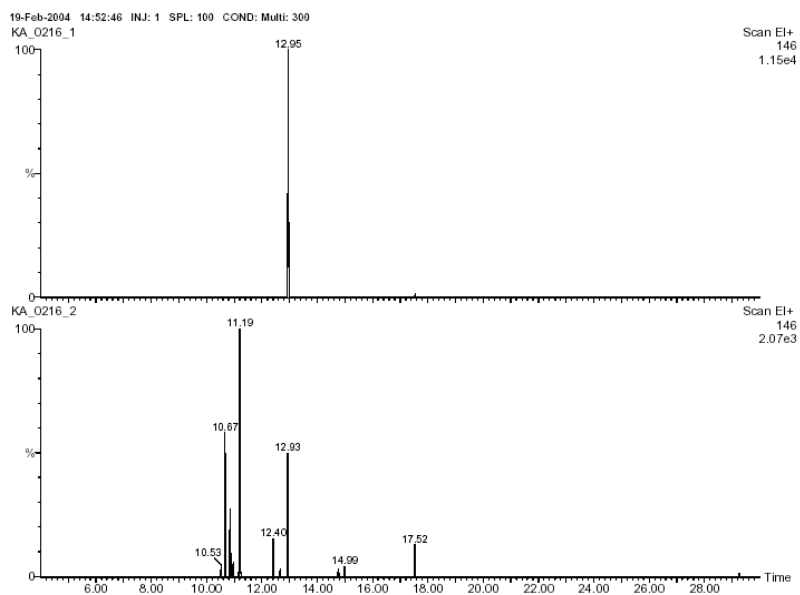
A fotobomlás következő szakaszában a GC/MS spektrumok bizonyossága alapján megjelenik a bomlás végterméke, a **toluol**, azonban lehetséges egy indirekt degradációs útvonal is, mely szerint először **3-etil-toluol** keletkezik, és a fotodegradáció végterméke ebből a vegyületből is származtatható. A toluol, mint egyedüli terminális bomlási vegyület a mikrobiológiai vizsgálatok eredményei szerint is okoz biológiai gátló hatást.

A vizsgálataink során azonosított **fő degradációs termékek** közül hármat az acetoklór biodegradációjára irányuló kutatások alkalmával, valamint egy, az acetoklór fotolitikus degradációját vizsgáló kutatás során is azonosítottak [81], azonban degradációs mechanizmus feltárására nem vállalkoztak. **A további köztitermékek azonosítása és az általunk felállított bomlási mechanizmus azonban nagyban hozzájárul az acetoklór bomlási folyamatának pontos feltárásához.**

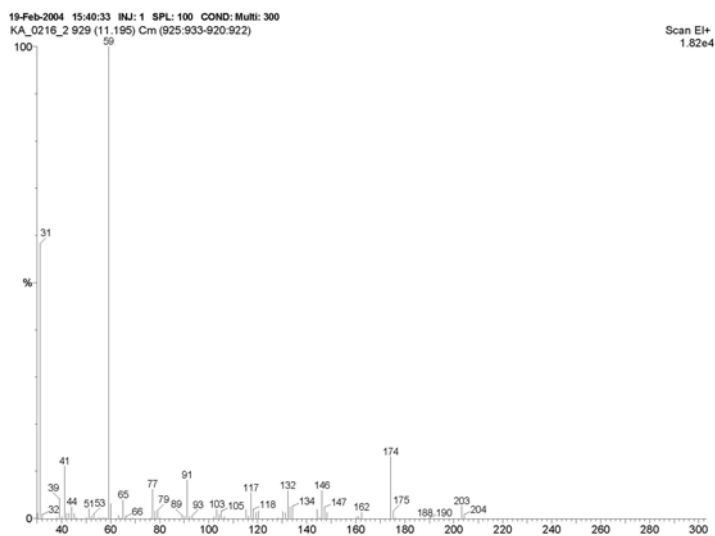
Az acetoklór fotolitikus bomlásának köztitermékei, molekulatömegük, valamint a GC-kromatogramokról leolvasható retenciós idejük

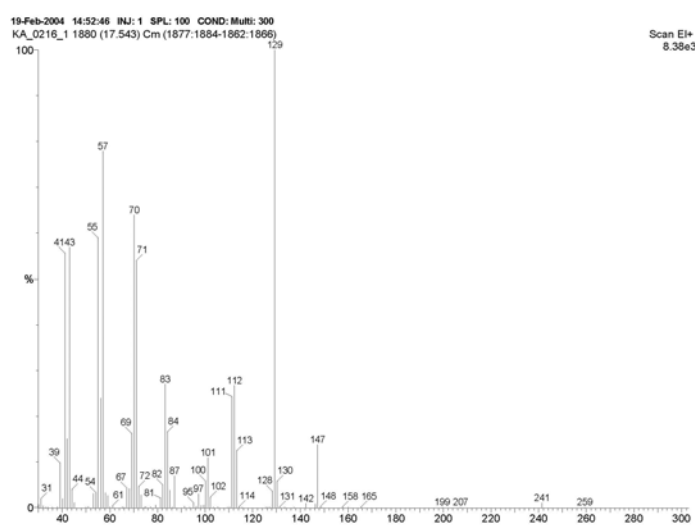
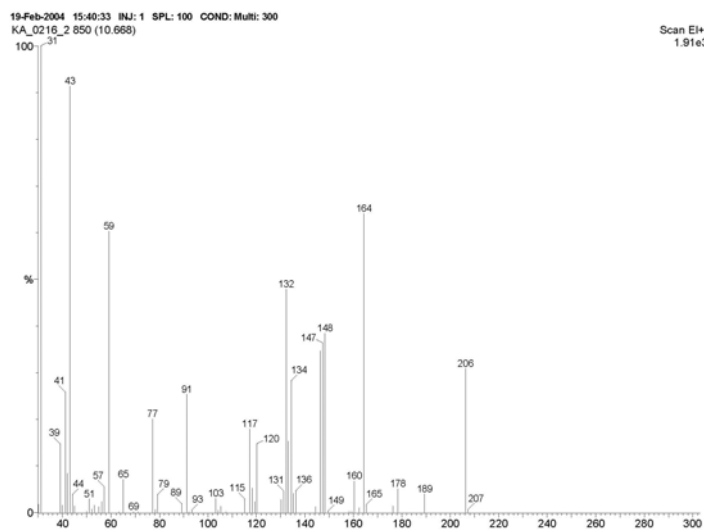
	Vegyület neve	Molekulatömeg (g/mol)	t_R
1.	2-klór-N-(etoximetil)-N-(2-etil-6-metil-fenil)-acetamid	269,5	12,95
2.	2-klór-N-hidroximetil-N-(2-etil-6-metil-fenil)-acetamid	241,5	17,543
3.	N-hidroximetil-N-(2-etil-6-metilfenil)-acetamid	207	10,668
4.	N-metil-N-(2-etil-6-metilfenil)-acetamid	191	11,195
5.	N-etoximetil-N-(2-etil-6-metilfenil)-formamid	177	10,468
6.	2-etil-6-metil-N-metilanilin	149	12,408

7.	2-etil-6-metil-anilin	135	10,530
8.	3-etil-toluol	120	14,99
9.	toluol	92	10,855



Az acetoklór kiindulási vegyület, és annak 3 órás besugárzását követően kapott termékeinek gázkromatográfiás kromatogramja

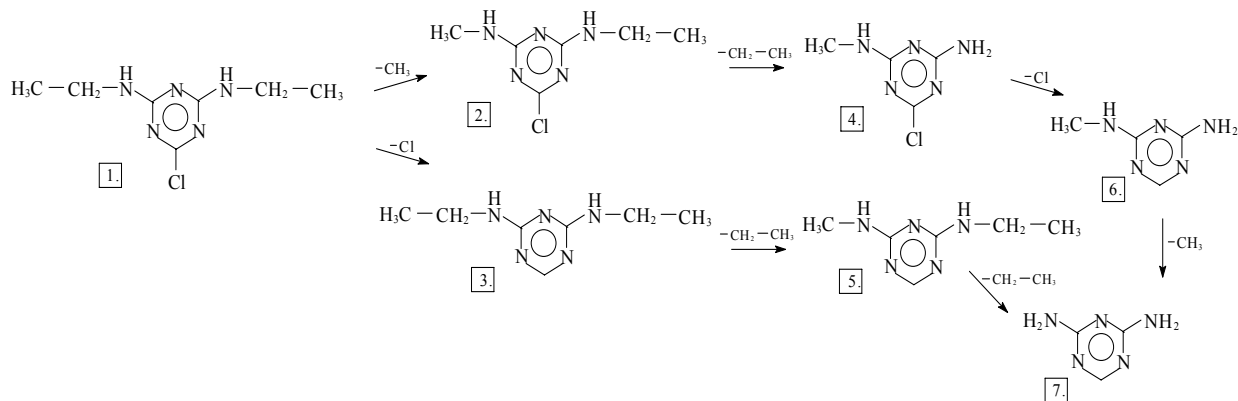




A GC-kromatogramból látható három fő termék tömegspektruma

g) A simazin fotolitikus bomlása

Az alábbiakban a simazin fotolitikus degradációjának reakciósémája látható:



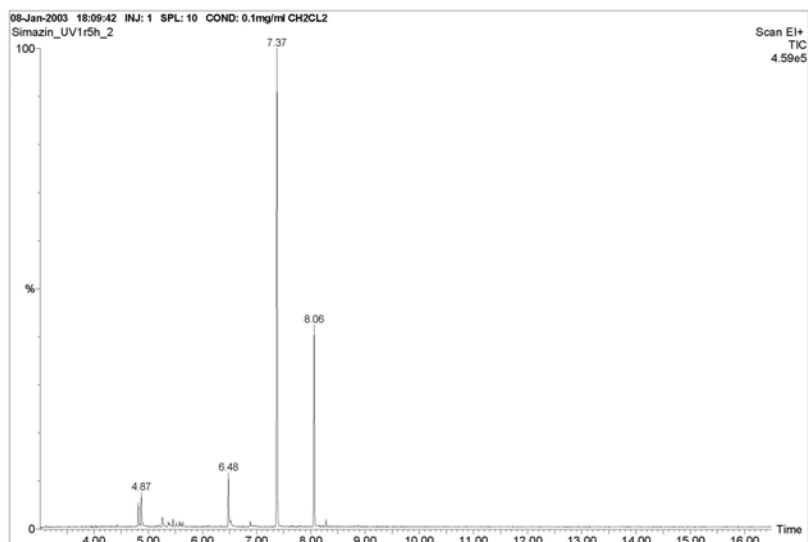
A simazin fotodegradációjának reakciómechanizmusa

A simazin bomlása UV fotonok hatására két párhuzamos reakcióúton mehet végbe. A két alternatív átalakulási módozat létjogosultságát a különböző időpontokban felvett tömegspektrumok igazolták, ugyanis a mechanizmusban feltüntetett párhuzamos reakcióutakon szereplő termékek a degradáció megfelelő stádiumában egymás mellett is megfigyelhetők. A fotodegradáció folyamata vagy egy kloro-csoport leszakadásával és szimmetrikus **2,4-di(etilamino)-1,3,5-triazin** köztitermék keletkezésével indul, vagy egy olyan termék kialakulásával, melyben a kloro-szubsztituens változatlanul megtalálható, azonban az N-etil csoportok változnak. Kezdetben a kiindulási vegyület egyik N-etil-csoportjának a demetilezésével N-metil származék keletkezett. Ily módon a szimmetrikus simazinból egy aszimmetrikus **2-etilamino-4-klór-6-metilamino-1,3,5-triazin** intermedier jön létre. Ezen vegyület N-etil-kötése bomlik fel először, majd az aszimmetrikus molekula további UV-besugárzás hatására klórvesztésen megy keresztül, és **2-amino-4-metilamino-1,3,5-triazin** keletkezik. További besugárzás hatására demetileződik és így egy **szimmetrikus 2,4-diamino-1,3,5-triazin** keletkezik végtermékként. A másik párhuzamos reakcióút első fázisában kialakult deklórozott köztitermék lépcsőzetes etilvesztést szenved, ezáltal két lépcsőben, egy-egy N-etil kötés felszakadásával végtermékként ugyanaz a szimmetrikus **2,4-diamino-1,3,5-triazin** jelenik meg, amelyet a párhuzamos átalakulási módozat eredményeként kaptunk.

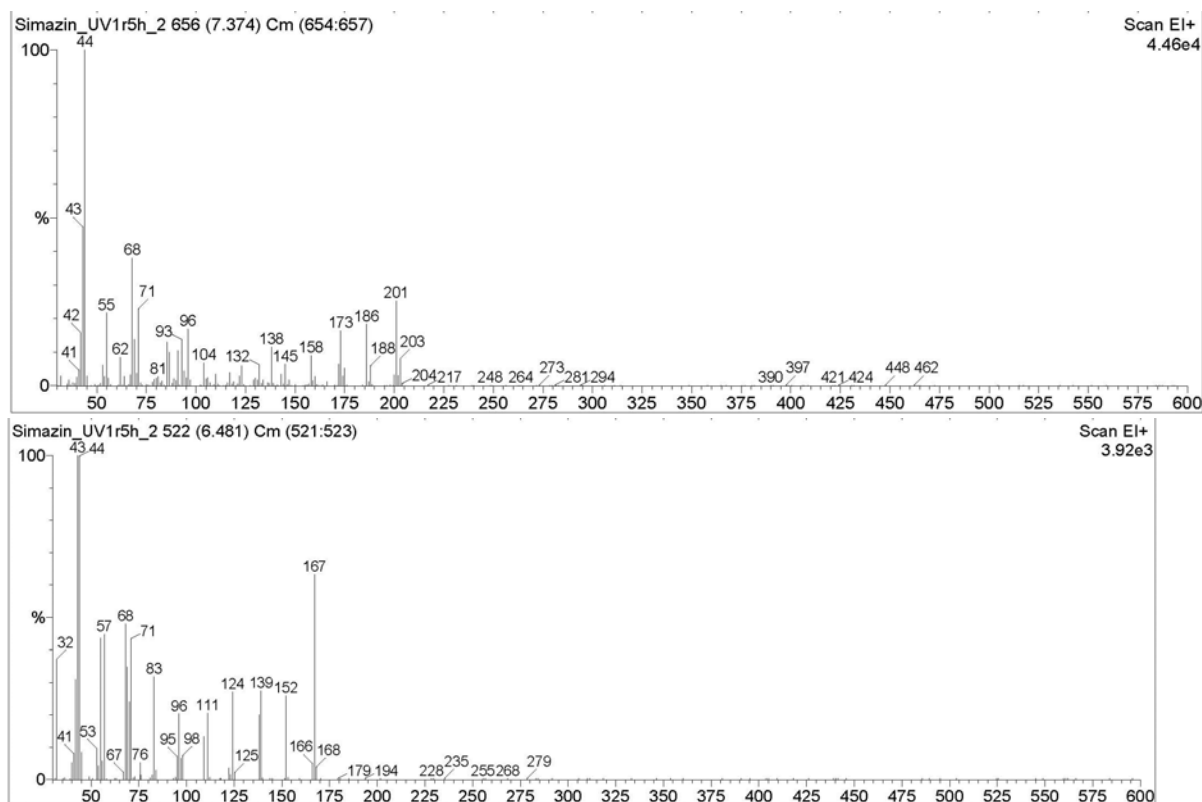
Összegzés: A simazin fotolitikus degradációjára irányuló eddigi kutatások a degradáció tényét állapították meg, valamint az azt befolyásoló tényezőket vizsgálták. A vizsgálataink során kapott degradációs termékek azonosítása és a bomlási mechanizmus felállítása e tekintetben újszerű és tágabb dimenziójú eredménynek számít.

A simazin fotolitikus bomlásának köztitermékei, molekulatömegük, valamint a GC-kromatogramokról leolvasható retenció idejük

	Vegyület neve	Molekulatömeg (g/mol)	t _R
1.	2,6-di(etilamino)-4-klór-1,3,5-triazin	201,7	7,374
2.	2-etilamino-4-klór-6-metilamino-1,3,5-triazin	187,7	8,061
3.	2,4-di(etilamino)-1,3,5-triazin	167,2	6,481
4.	2-amino-4-klór-6-metilamino-1,3,5-triazin	159,7	4,874
5.	2-etilamino-4-metilamino-1,3,5-triazin	139,2	3,774
6.	2-amino-4-metilamino-1,3,5-triazin	125,2	5,321
7.	2,4-diamino-1,3,5-triazin	111,2	4,914



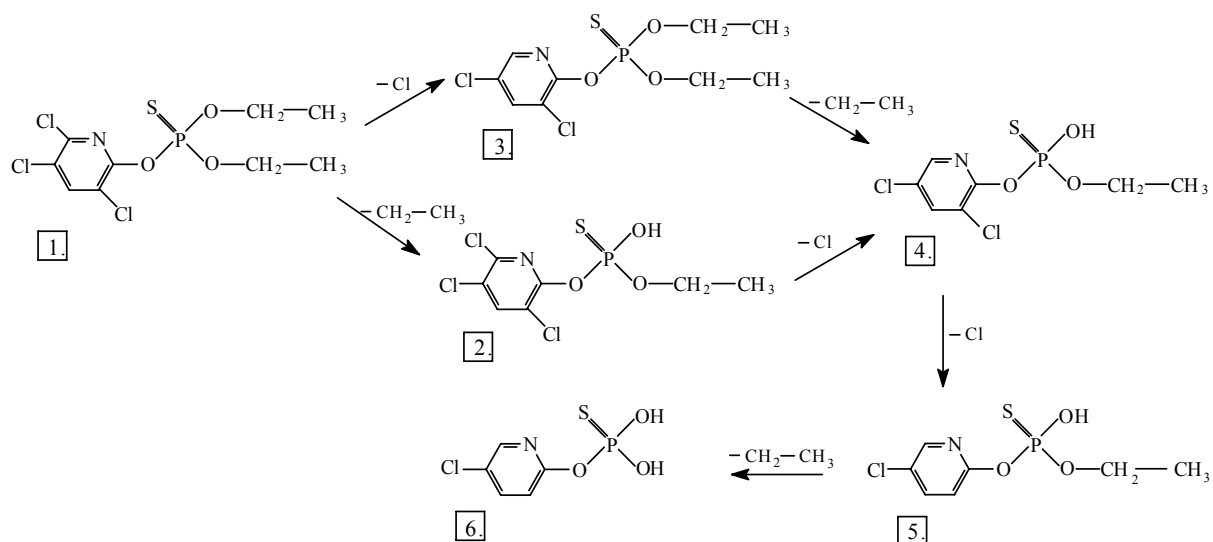
A Simazin másfél órás UV- besugárzását követően felvett GC- kromatogramja, melyben még jelen van a kiindulási anyag és a fő degradációs termékek



A Simazin másfél órás UV- besugárzása által keletkezett két fő degradációs termék tömegspektruma

h) A klórpírifosz fotolitikus bomlása

Az alábbiakban a klórpírifosz fotolitikus degradációjának reakciósémája látható:



A klórpírifosz fotodegradációjának reakciómechanizmusa

A klórpírifosz fotobomlása két reakcióúton valósulhat meg. Kezdődhet egy kloro-csoport leszakadásával vagy egy etil csoport leszakadásával is, ennek megfelelően a kezdetben kapott két bomlástermék a **dietil-(3,5-diklór-2-piridil)-tiofoszfát**, és az **etil-(3,5,6-triklór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfát**. További fotoimpulzusok hatására kloro- illetve etil-csoportok leválásával mindkettő **etil-(3,5-diklór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfáttá** alakul. A degradáció következő lépésében egy újabb kloro-csoport válik le, és **etil-(5-klór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfátot** kapunk. E köztitermék jelenlétét az öt órás tömegspektumok is alátámasztják. A másik etilcsoport leszakadása a bomlás végtermékeként **(5-klór-2-piridil)-dihidrogén-tiofoszfátot** eredményezett. A gázkromatográfiai spektrumok alapján elmondható, hogy 16 órás besugárzást követően a klórpírifosz teljes mértékű fotobomlást szenved, és gyakorlatilag csak a degradáció végterméke van jelen a reakcióterben.

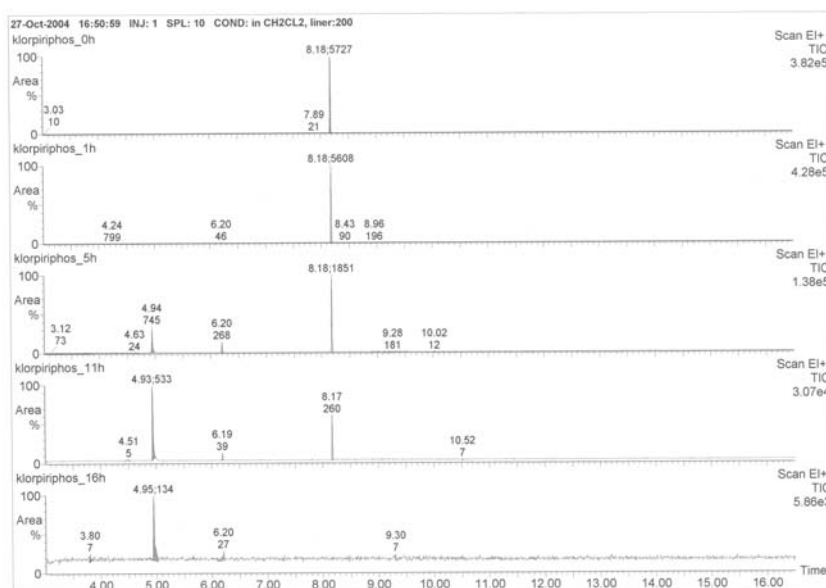
A klórpírifosz biológiai degradációja a mi vizsgálatainktól eltérő metabolitokat eredményezett: **3,5,6-trikloro-piridin-2-ol (TCP)**, **3,5,6-trikloro-2-metoxi-piridin (TMP)** keletkezését mutatták ki megfelelő mikrobák hatására [115]. A döntő különbség a fotokatalitikus reakciók eredményeként kapott degradációs termékekhez viszonyítva az, hogy a biológiai enzimek képesek a P-O kötés hasítására, míg az UV-fotonok ezt nem voltak képesek megbontani. Ez egy igen lényeges különbség a két lebomlási utat figyelembe véve. A fotolitikus degradáció veszélyét fokozza, hogy a peszticidmaradványként megjelenő P-OH kötések a mi vizsgálataink által igazoltan toxikus jelleget kölcsönöznek a terméknek, míg ugyanez a TCP esetében nem áll fenn, itt toxikus hatást nem bizonyítottak.

Az eddigi vizsgálatok a klórpírifosz degradációs termékeit illetően csupán a biodegradációra irányultak. **Az általunk azonosított öt degradációs termék, valamint a megállapított degradációs mechanizmus eddig kevésbé vizsgált és feltárt folyamatrendszer megértéséhez vezet.**

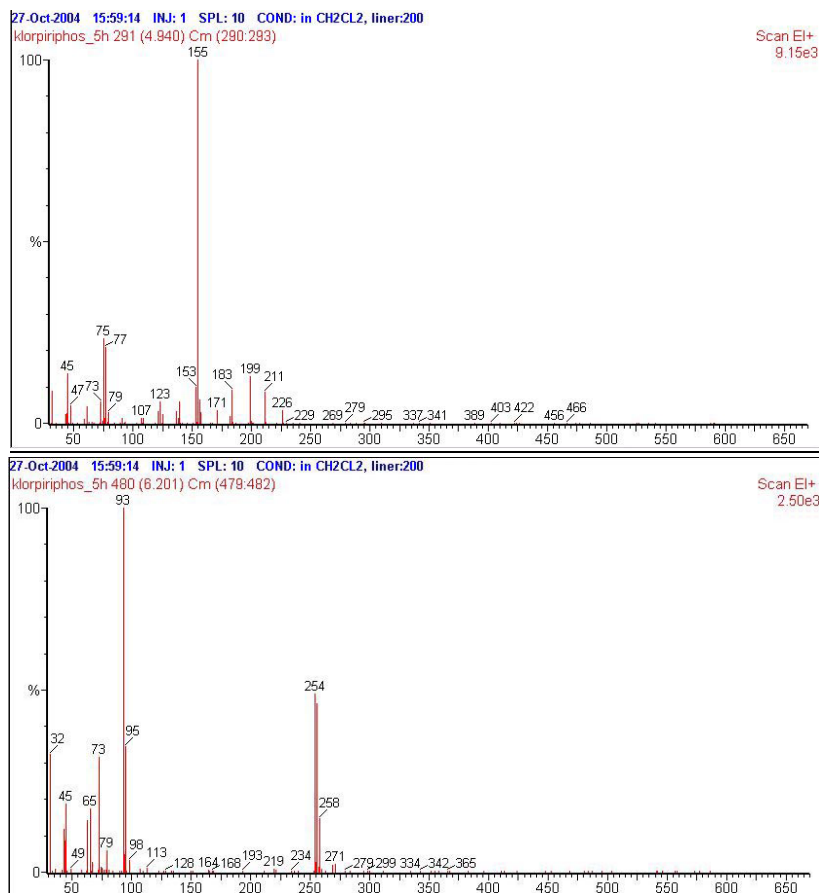
Klórpírifosz fotolitikus bomlásának köztitermékei, molekulatömegük, valamint a GC-kromatogramokról leolvasható retenciós idejük

	Vegyület neve	Molekulatömeg (g/mol)	t _R
1.	dietil-(3,5,6-triklór-2-piridil)-tiofoszfát	351	8,18
2.	etil-(3,5,6-triklór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfát	323	5,861
3.	dietil-(3,5-diklór-2-piridil)-tiofoszfát	316,5	5,71
4.	etil-(3,5-diklór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfát	288,5	6,661

5.	etil-(5-klór-2-piridil)-hidrogén-tiofoszfát	254	6,201
6.	(5-klór-2-piridil)-dihidrogén-tiofoszfát	226	4,940



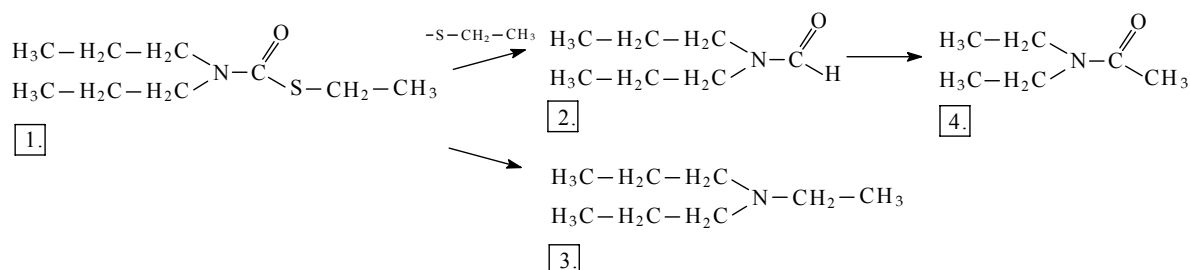
A klórpírifosz kiindulási illetve 16 órás UV- besugárzását követően felvett GC- kromatogramja, melyben látható a kiindulási anyag és a fő degradációs termékek



A klórpírifosz 5 órás UV- besugárzása által keletkezett két fő degradációs termék tömegspektruma

i) Az EPTC fotolitikus bomlása

Az alábbiakban az EPTC fotolitikus degradációjának reakciósémája látható:



Az EPTC fotodegradációjának reakciómechanizmusa

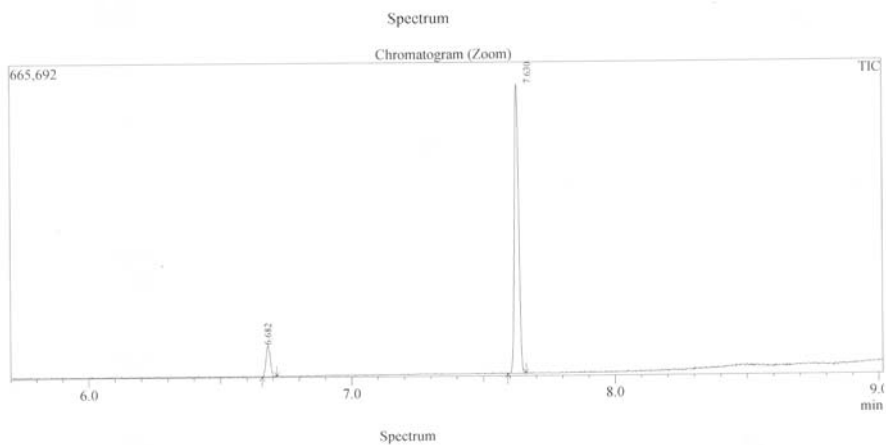
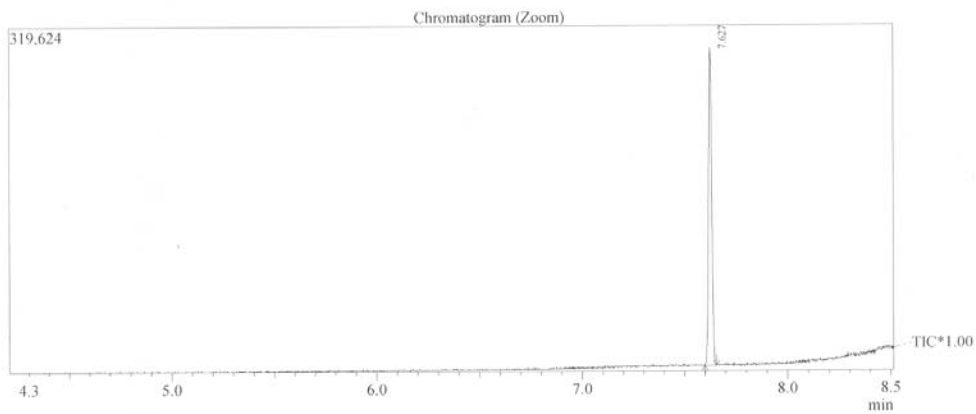
Az EPTC fotolitikus bomlása UV fotonok hatására hamar bekövetkezik, az első degradációs termék megjelenése már a húsz perces besugárzást követően vett mintából kimutatható volt. A degradáció kezdetén két bomlási alternatíva valósulhat meg. A GC-kromatogramok alapján nagyobb mennyiségben az S-etil-csoport leválásával kapott köztitermék, **N,N-dipropil-formamid** keletkezik, melyből további fotoimpulzusok hatására az N-propil csoportok demetileződésével kapjuk végtermékünket az **N,N-diethyl-acetamidot**. Az alapvegyületből kis mennyiségben az N-C kötés felhasadásával illetve egy etil-csoport bekötődésével **dipropil-etil-amin** keletkezik.

Az EPTC biológiai degradációjakor keletkező EPTC-szulfon és EPTC-szulfoxiddal szemben fotodegradációs vizsgálataink során mi az S-etil valamint az N-propil csoportok változását igazoltuk. Az EPTC fotodegradációjára irányuló korábbi kutatások során azonosított köztitermékekkel közös az S- és N-alkil csoportok leválása, azonban a ketoformil és ketokarbonil származékok csak TiO_2 által katalizált fotodegradáció során keletkeznek.

Összegzés: Mint azt az EPTC vizsgálatával kapcsolatos eddigi kutatások eredményei is mutatják, a vizsgálataink során kapott **köztitermékek azonosítása és az EPTC bomlási mechanizmusának feltárása új kutatási eredménynek számít.**

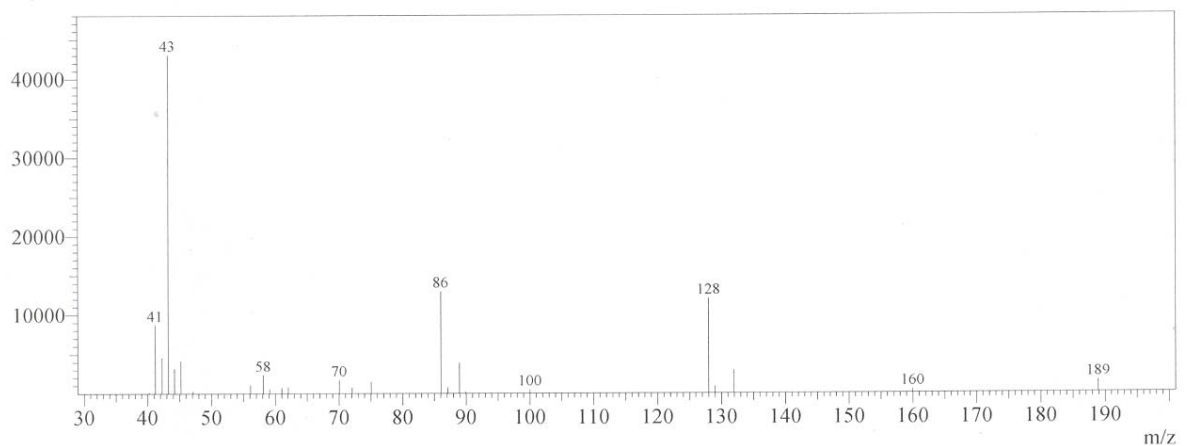
EPTC fotolitikus bomlásának köztitermékei, molekulatömegük, valamint a GC-kromatogramokról leolvasható retenciós idejük

	Vegyület neve	Molekulatömeg (g/mol)	t_R
1.	S-etil-dipropil-tiokarbamát	189,32	7,627
2.	N,N-dipropil-formamid	129	6,682
3.	dipropil-etil-amin	128	5,720
4.	N,N-diethyl-acetamid	115	5,440

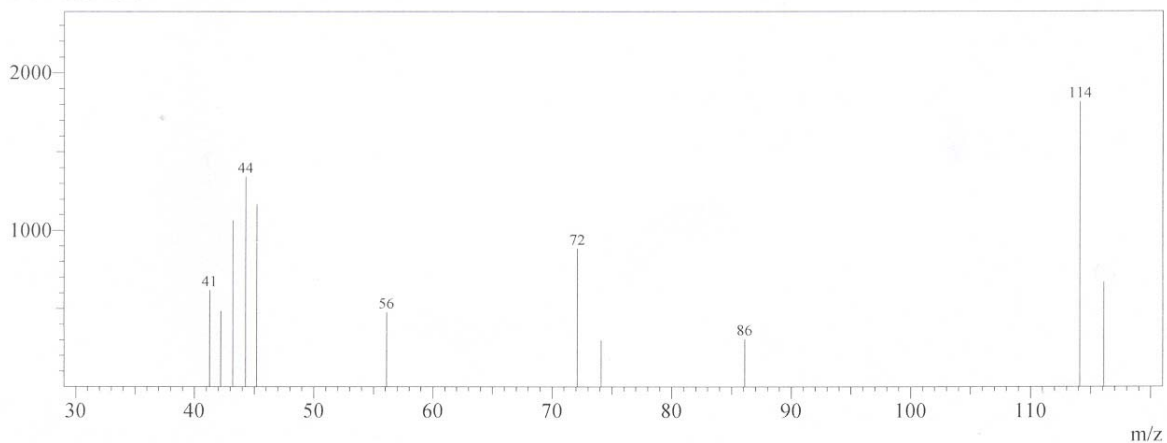


Az EPTC kiindulási illetve 20 perces UV- besugárzását követően felvett GC- kromatogramja, melyben látható a kiindulási anyag és az elsődleges degradációs termékek

Line#:1 R.Time:7.625(Scan#:3376)
 MassPeaks:25
 RawMode:Averaged 7.598-7.648(3360-3390) BasePeak:43.25(43045)
 BG Mode:None



Line#:1 R.Time:5.440(Scan#:2065)
MassPeaks:11
RawMode:Averaged 5.412-5.463(2048-2079) BasePeak:114.10(1816)
BG Mode:None

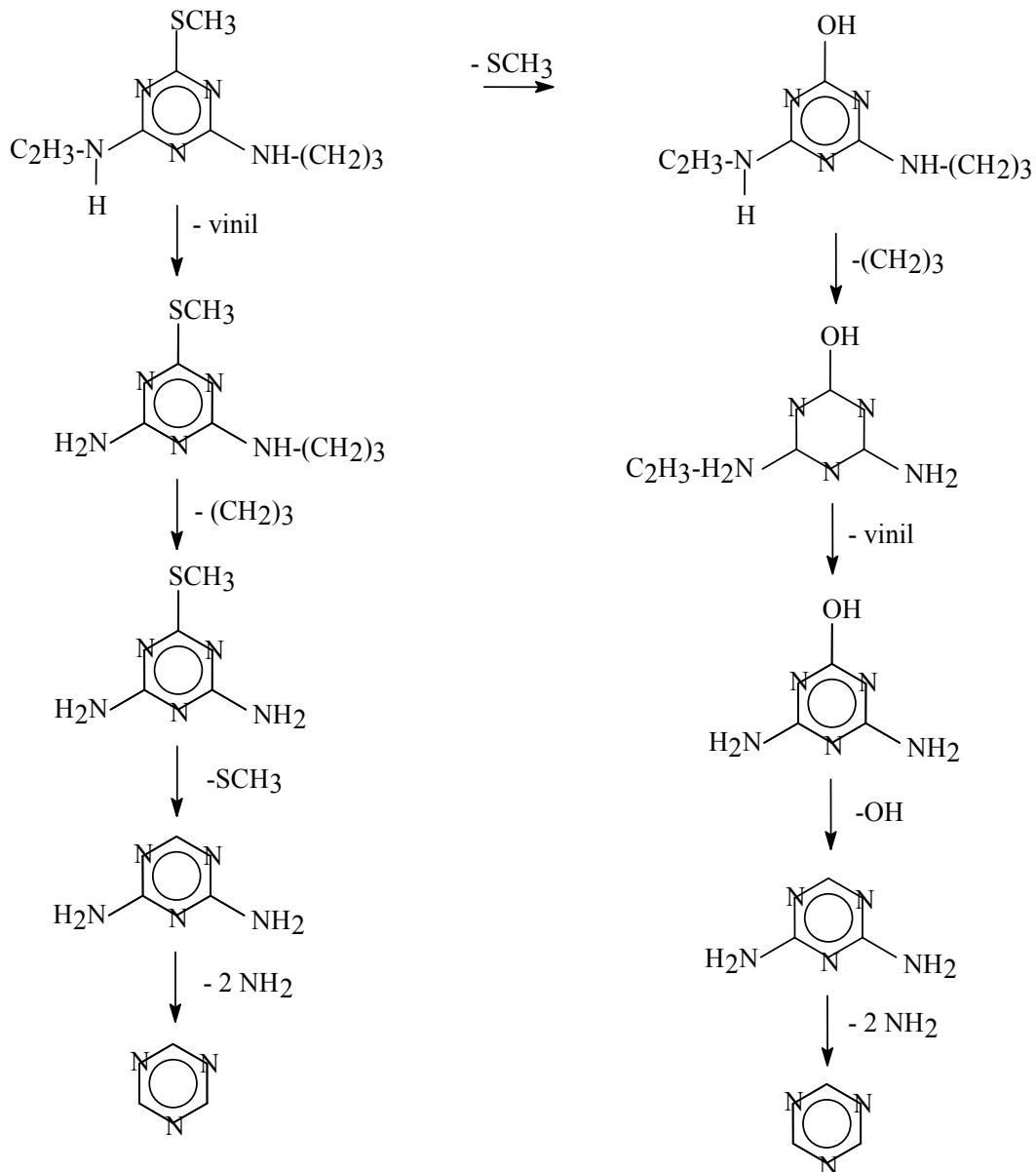


Az EPTC alapvegyülete és UV- besugárzás által keletkezett fő degradációs termékeinek tömegspektruma

j) A terbutrin fotodegradációs mechanizmusa

A terbutrin molekula esetében 2 alternatív reakciómechanizmust is fel tudunk állítani. A két reakcióút párhuzamosan mehet végbe, de jellegzetességük, hogy ugyanazon végtermékek keletkezését eredményezik.

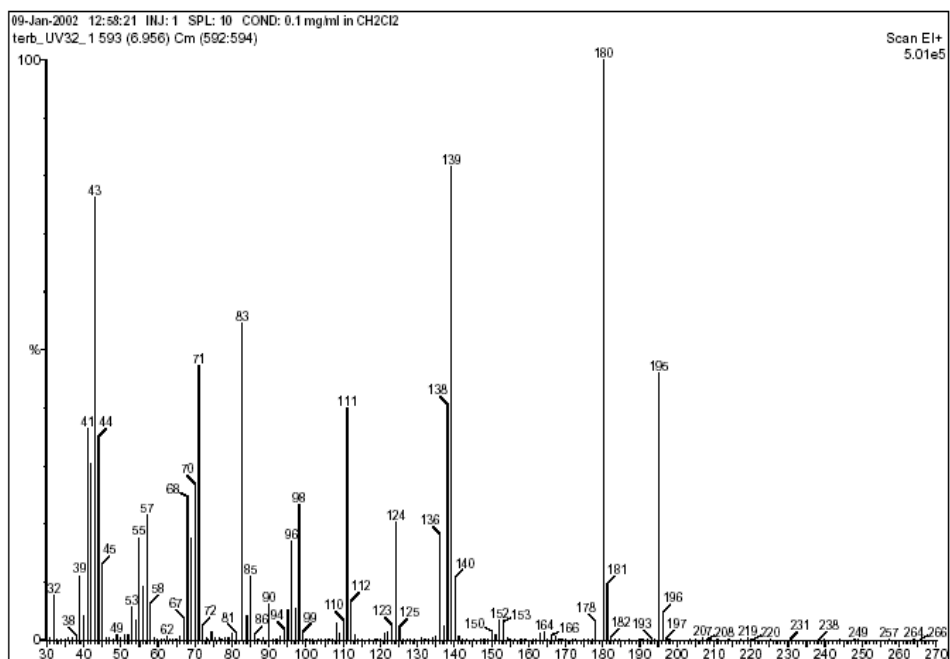
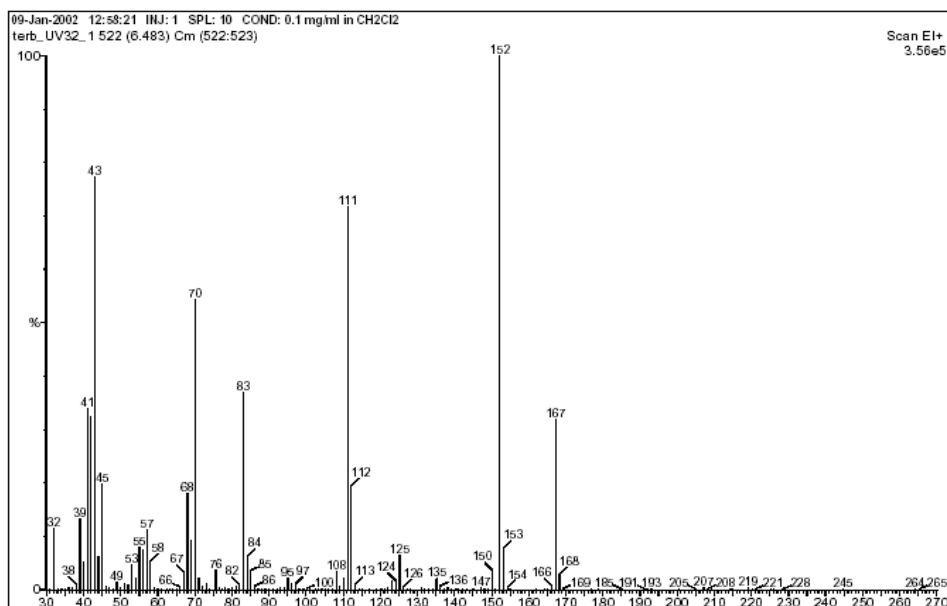
Terbutrin

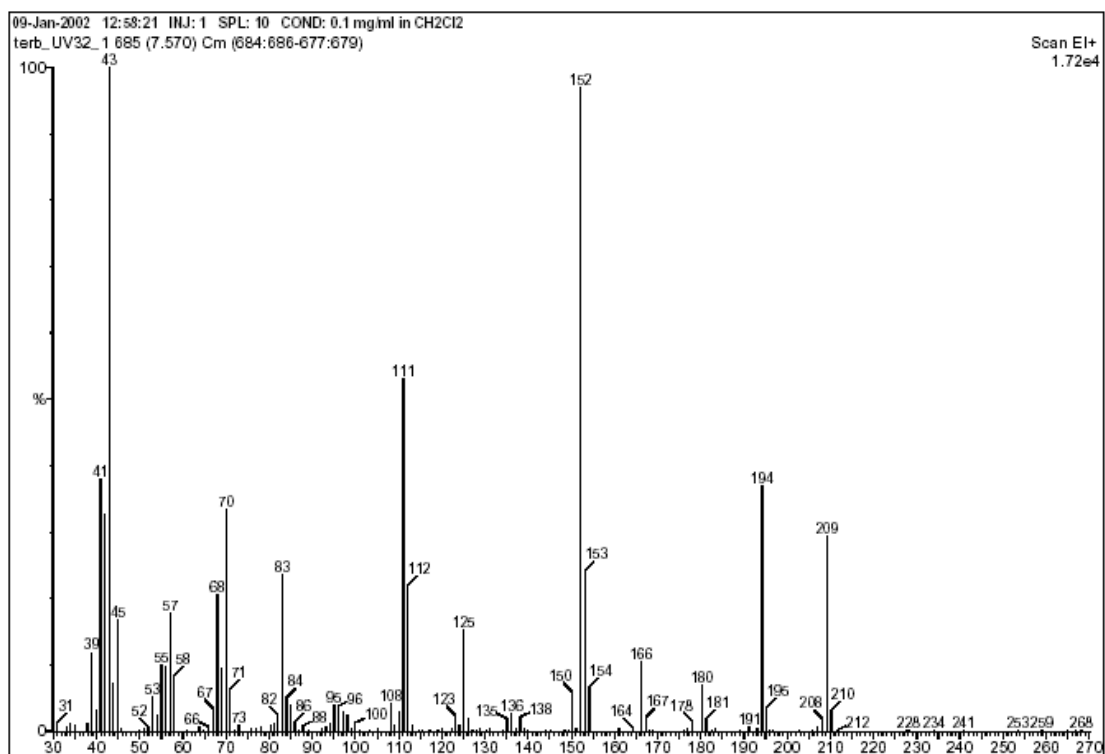


Munkánk egyik legszembetűnőbb és legérdekesebb eredménye az az észlelés, hogy a terbutrin fotolitikus degradációjának első lépése az egyik alternatív reakciómechanizmus szerint a tiometil csoport fenolos hidroxil csoportra történő kicserélődése. Ez a vegyület feltétlenül hozzájárul a bomlástermékek toxicitásának fokozódásához a kiinduló anyaghoz viszonyítva. Ezt a tényt a mikrobiológiai vizsgálatok is megerősítették. Ezt az átalakulást követi a tercier- butil, illetve az etil- csoport eltávolítása a molekuláról. A hidroxil- csoport

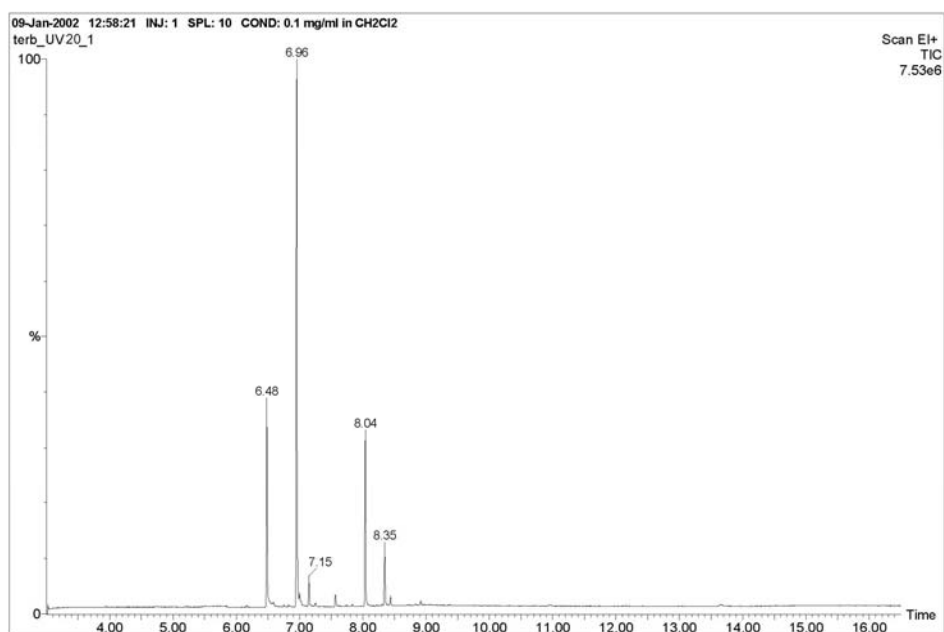
leszakadásával 2,5- diamin- 1,3,5- triazin alakul ki, mely a két amino- csoport lehasadásával 1,3,5- triazinná transzformálódik.

A másik lehetséges reakcióút rávilágít arra, hogy a tioéter- kötés változatlan helyzete mellett a vinil- csoport lehasadásával is kezdődhet a degradáció. Ez az alternatív mechanizmus jelentékenyebb súlyt képvisel, mint az előző. A tercier- butil- csoport leválása után egy szimmetrikus, nagy relatív stabilitással bíró diamino-, tiometil- származék keletkezik (az egyik főtermékünk), mely az orto- helyzetű S-CH₃- csoport elvesztésével ismét 2,6- diamin- 1,3,5- triazinná alakul, mely az előző lehetséges reakciómechanizmusban is szerepelt, és itt is főtermékként van jelen. A két diamino- csoport lehasadása ezután 1,3,5- triazint eredményez, így a két alternatív reakcióút a végén összekapcsolódik.





A terbutrin 32 órás UV- besugárzás után nyert bomlástermékeinek tömegspektrometriás spektrumai



A terbutrin 32 órás UV- besugárzás után nyert bomlástermékeinek gázkromatográfiai spektrumai

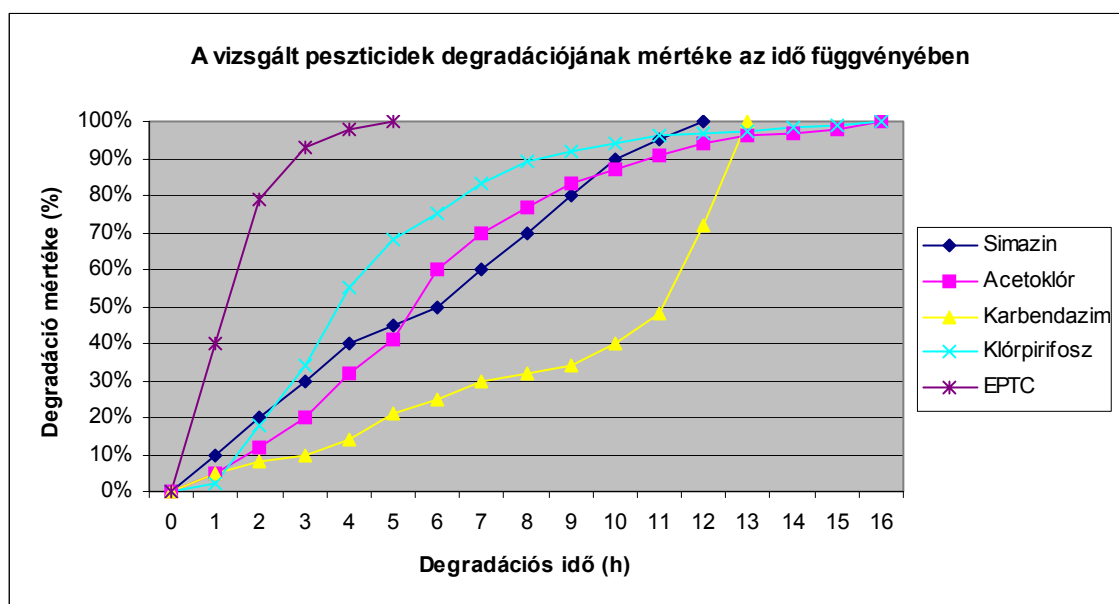
2. Kinetikai vizsgálatok eredményei

A peszticidek degradációjának mértékének megállapításakor a GC-kromatogramok alapján az alapvegyület intenzitásának értékeiből számoltuk a bomlás százalékos értékeit. Valamennyi peszticid esetében ilyen módon jártunk el. Az elemzés eredményeinek interpretálásának módját szemléltetesként a klórpirifosz példáján keresztül mutatjuk be az alábbiakban.

A klórpirifosz bomlásának előrehaladása UV-besugárzás hatására (A GC-kromatogramm Rt=8,18 csúcsa alapján)

A klórpirifosz alapvegyület mennyiségének változása		
Besugárzás időtartama	Intenzitás	Bomlás mértéke
0 h	5727	0 %
0,5 h	5667	1%
1h	5608	2%
2 h	4696	18%
3h	3780	34%
4h	2577	55%
5 h	1851	68%
6 h	1432	75%
7 h	973	83%
8 h	630	89%
9 h	458	92%
11 h	260	96%
13 h	149	97,4%
15 h	68,7	98,8%
16 h	0	100%

Az összehasonlított, egymástól **szerkezetileg jelentősen különböző peszticidek** fotodegradációjának **kinetikája is nagyban eltér** egymástól. A bomlások eltérő kinetikai viszonyait az alábbi ábra szemlélteti, melyből kitűnik az, hogy kémiai szerkezetből adódó differenciák megmutatkoznak az egyes kötések stabilitásában, és így a fotoszenzibilitásban is.



23. ábra: A vizsgált peszticidek degradációjának mértéke az idő függvényében

Az UV-fotonok minden esetben aránylag hamar degradációt váltanak ki, azonban az átalakulás mértéke az első órában maximum 10 %-os mértéket ér el (lásd 23. ábra). A fotobomlás a **simazin** esetében a legegyszerűsebb, a termékek keletkezése majdnem lineárisan változik a besugárzási idővel. Néhány óras kezelést követően itt kaptuk relatíve a legtöbb terméket, míg a többi esetben az átalakulás valamivel lassabban történt. Összességében a fotodegradáció itt fejeződött be leggyorsabban, már tizenkét óras besugárzást követően 100 %-os átalakulást tapasztaltunk.

Az **acetoklór** bomlása tehát **lassabban indul be** (még 2 óras besugárzást követően is csak 10 %-os az átalakulás), azonban öt óras kezelés hatására **intenzifikálódik** a degradáció, mely kilenc órán át történő folyamatos UV-impulzus után 80 %-os átalakulást eredményez. Ezt követően a **fotobomlás utolsó fázisa rendkívül lassúvá válik**, és csak 16 óras kezelés után tekinthetjük teljes mértékűnek az átalakulást. Ezen vegyület teljes degradációja igényelte az egyik leghosszabb idejű besugárzást.

A **karbendazim** teljes mértékű degradációja 13 óra alatt ment végbe, így az UV-fénnyel történő besugárzás időtartama alapján, a fotobomlás kinetikai viszonyait tekintve az előző két vegyület között helyezkedik el. Ez a vegyület átalakulása mutatkozott a **leglassabbnak** a kezelés első és középső szakaszában, mivel még **11 óras besugárzás hatására is csak 40 %-os volt a fotobomlás mértéke**. Ezt követően azonban két órányi további kezelés kiváltotta a teljes degradációt és a végtermék keletkezését.

A **klórpirifosz** bomlásának **első szakasza intenzív**, hat óras besugárzást követően a bomlás mértéke 68%-os, nyolc órányi fotoimpulzus hatására pedig 90%-os. Ezt követően azonban lelassul a bomlási folyamat, a kiindulási vegyület teljes lebomlásához újabb nyolc óras besugárzás volt szükséges. A klórpirifosz **teljes degradációjához tehát 16 óras besugárzásra volt szükség**, mely az általunk vizsgált négy peszticid közül az egyik leghosszabb besugárzási időt jelenti.

Az **EPTC** fotolitikus degradációja a többi általunk vizsgált peszticidhez képest gyorsnak mondható. Az öt óras besugárzást követően vett mintából már nem lehetett kimutatni az alapvegyületet, a teljes degradáció eléréséhez 4-5 óras besugárzás volt szükséges. Ezen a viszonylag rövid besugárzási intervallumon belül is az első szakasz mondható intenzívnek. A bomlás **első két órájában az alapvegyület mintegy 80%-a degradálódott**, a teljes lebomlás az ezt követő három órában valósult meg.

A fentiekből egyértelműen kitűnik az, hogy még az igen eltérő szerkezetű anyagok esetében nagy mértékű eltérés mutatkozik a fotodegradáció kinetikai lefolyásában, így az egyes molekulák egyedi szerkezeti sajátosságainak nagy szerep jut fotolitikus stabilitás biztosításában.

3. A biológiai modellkísérletek (mikrobiológiai vizsgálatok) eredményei és azok értékelése

Az irodalmi áttekintésben szereplő példák is igazolják, hogy nem szabad figyelmen kívül hagyni a herbicidek azon tulajdonságát, hogy közvetlenül vagy közvetve hatással bírnak a különböző biológiai rendszerekre. A talajban élő mikroszervezetek nyilvánvalóan közvetlenül érintettek a peszticidek hatásmechanizmusában, ily módon a talajfolyamatok változásában is kulcsszerepet játszhatnak. A fotodegradációs folyamatok mechanizmusának vizsgálata és kiértékelése után mindenképpen fontosnak tartottuk, hogy az alapvegyület és bomlástermékek biológiai hatásának modellezésére mikrobiológiai vizsgálatok alá vessük a peszticideket, és azok bomlástermékeit. Mikroszervezetek modellrendszerként történő alkalmazását peszticidekkel való közvetlen érintettségük, valamint viszonylag egyszerű laboratóriumi vizsgálatok végrehajtásának a lehetősége erősíti.

A vizsgálatokhoz teszt-mikroorganizmusként hat gyakori talajmikroorganizmust választottunk, három baktériumfajt (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Mycobacterium phlei*) és három gombafajt (*Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Trichoderma harzianum*). A választás elsődleges szempontja az volt, hogy különböző típusú és igen gyakori fajokat tanulmányozzunk.

3.1. Triazin-származékok vizsgálata

A vizsgálatok eredményeként elmondhatjuk, hogy a triazinokat tartalmazó növényvédőszer vizsgálataink során nem voltak gátló hatással a talajban élő *Trichoderma* gomba növekedésére egyik oldási formában sem, vagyis az anyagok toxicitását tolerálják. A két baktériumfajnál azonban már megfigyelhettünk különbségeket. A *Bacillus* faj sem volt érzékeny a T-I, a T-III, és a P-III kezelésekre. Ezek az oldatok tartalmazták a közvetlenül a mezőgazdaságban alkalmazott növényvédőszeret. A P-I, P-II, és a T-II jelzésű anyagoknál viszont határozott gátlási zóna alakult ki. A P-I oldat a tiszta, besugárzás nélküli Prometrin tartalmazta. Ennél az anyagnál kismértékű gátlás észlelhető. A vizsgálatok során a legintenzívebb gátlást a P-II jelölésű, UV-bontáson átesett, tiszta Prometrin hatóanyagot tartalmazó oldat mutatta. Megállapítható, hogy erre a *Bacillus* fajra nagymértékű mérgezőek a Prometrin degradációs termékei. Ugyanakkor a kontroll kezelés alapján azt is kizárhatjuk, hogy a vizsgált anyag erősen savanyú kémhatása okozta volna a gátlást, mivel ott nem tapasztaltuk a mikrobafaj növekedésének gátlását.

A *Pseudomonas* baktérium nem volt érzékeny a vizsgált szerekre. Gátlási zóna csak a pH-kontrollban és a P-II kezeléskor alakult ki, de ezek sem különböztek egymástól szignifikánsan, vagyis nem zárható ki, hogy a vizsgált anyag kémhatása okozta a gátlási zóna megjelenését. Ez esetben pedig arra lehet következtetni, hogy a Gram-negatív baktériumra nincsen gátló hatással sem a Terbutrin, sem a Prometrin sem pedig ezek bomlástermékei.

Mikrobiológiai megfigyeléseink összhangban vannak a szakirodalomban általánosan elfogadottakkal, miszerint a Gram-negatív baktériumok kevésbé érzékenyek a peszticidekre, mint a Gram-pozitív baktériumok. A talaj felső rétegében végbemenő fotodegradáció ily módon jelentősen módosíthatja a talaj mikrobiota összetételét a Gram-pozitív baktériumok háttérbe szorításával.

Vizsgált anyagok	Gátlási zónák átmérője az egyes tesztmikrobáknál (mm)		
	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
T I.	NG	NG	NG
	NG	NG	NG

	NG	NG	NG
T II.	NG	31	NG
	NG	22	NG
	NG	27	NG
T III.	NG	NG	NG
	NG	NG	NG
	NG	NG	NG
P I.	NG	15	NG
	NG	12,5	NG
	NG	15	NG
P II.	NG	23,5	9
	NG	24,5	8
	NG	21,5	7
P III.	NG	NG	NG
	NG	NG	NG
	NG	NG	NG
Kontroll (pH=1,8)	NG	NG	9,5
	NG	NG	NG
	NG	NG	7

- P I: Tiszta hatóanyagú nem besugárzott Prometrin oldat
- P II: Tiszta hatóanyagot tartalmazó, besugárzott Prometrin oldat
- P III: Prometrin hatóanyagot tartalmazó, besugárzás nélküli növényvédőszer (merkazin)
- T I: Tiszta hatóanyagot tartalmazó, nem besugárzott Terbutrin oldat.
- T II: Tiszta hatóanyagot tartalmazó, besugárzott Terbutrin oldat.
- T III: Terbutrin hatóanyagot tartalmazó, besugárzás nélküli növényvédőszer (Igran 500).
- Ph=1,8: Kontrolltenyészet, melyben a hatóanyagokat tartalmazó oldatoknak megfelelő Ph-tartományt állítottuk be.

3.2. Eltérő szerkezetű peszticidek összehasonlító elemzése

a., Karbendazim

Az irodalmi adatok szerint a karbendazim talajban végbemenő biodegradációjában a baktériumoknak van szerepe. Bizonyos mikrobatenyészetek képesek néhány nap alatt teljes mértékben degradálni a karbendazimot. Az általunk vizsgált baktériumok közül a *M. phlei* és a *P. expansum* nem mutatott érzékenységet a kiindulási vegyület, és annak bomlástermékeivel szemben sem. Gyenge gátló hatást tapasztaltunk a 20 órás mintánál a *P. fluorescens* és a *B. subtilis* esetében, melynek magyarázata egy antibakteriális, vagy bakteriosztatikus köztitermék kialakulása lehet. A vizsgált gombafajok közül a *T. harzianum* és a *F. oxysporum* csökkenő intenzitású érzékenységet mutatott, (aminek oka a peszticid toxicitásának a besugárzás idejének előrehaladtával való csökkenése lehetett).

b., Acetoklór

Az acetoklór biodegradációjában a mikrobiológiai lebontás jelentőségét igazolták korábbi kutatások [80, 81, 4]. Ezzel némileg ellentmondanak eredményeink, mivel az általunk vizsgált három gyakori talajbaktérium mindegyike az alapvegyület és a köztitermékekkel szemben is érzékenységet mutatott. A gombafajok kevésbé voltak érzékenyek. Az acetoklór bomlása során az alapvegyülettől toxikusabb köztitermékek megjelenését lehet valószínűsíteni, mivel a mikrobák

érzékenysége a minták besugárzási idejének előrehaladtával fokozódik. Legérzékenyebb a *M. phlei* volt.

A bomlás végterméke fungicid vagy fungisztatikus hatással bír, mivel mindhárom talajgomba növekedését gátolta a 10 és a 16 órás minta. Legérzékenyebb a *P. expansum* volt.

c., Simazin

Korábbi vizsgálatok szerint a simazint egyes *Acinetobacter* fajok szénforrásként használják, illetve egy *Pseudomonas* faj deklórozás által járul hozzá annak hidrolíziséhez.

Vizsgálataink szerint a simazin és köztitermékei a baktériumok közül a *Bacillus subtilis*-re voltak legkevésbé hatással. A 10-12 órás besugárzás hatására kialakult bomlásterméke azonban jelentősen gátolta a *P. fluorescens* növekedését. A simazin alapvegyülete a *M. phlei*-re volt gátló hatással, mely a besugárzási idő előrehaladtával csökkent. A köztitermékek toxicitása azonban a 2 órás mintától kezdve fokozódott. A besugárzás hatására tehát toxikusabb vegyület keletkezett, mint a kiindulási vegyület volt. A simazin nem volt gátló hatással a gombafajok gombafonalainak növekedésére egyik oldási formában sem, vagyis tolerálják a peszticidek és bomlástermékek toxicitását. A spóráképződésre azonban bizonyos esetekben gátló hatással volt. A spóráképződést gátló hatás a szűrőpapírkorongokból kipárolgott bomlástermékek hatására következett be.

d., Klórpírifosz

Az organofoszfát inszekticideket egyes *Pseudomonas* illetve *Flavobacterium* fajok képesek lebontani. Ezt alátámasztja, hogy az általunk vizsgált baktériumok növekedését a kiindulási vegyület nem gátolta, viszont a *P. fluorescens*, és a *B. subtilis* a 2 és 5 órás mintákban levő köztitermékekre érzékenységet mutattak. A legérzékenyebb a *M. phlei* volt, az előzőeken túl a 16 órás minta is gátlóan hatott rá. Ez összefüggésbe hozható egy korábbi vizsgálattal, ahol 32 peszticid hatását vizsgálták, és 7 napos inkubációs idő után csökkenő baktériumszámot tapasztaltak.

Irodalmi adatok szerint bizonyos koncentrációjú simazint foszforforrásként felhasználva képesek bontani a talajban élő gombák. Ezt alátámasztja, hogy az általunk vizsgált gombafajok közül a *T. harzianum* és a *F. oxysporum* nem reagált a kiindulási vegyületre és bomlástermékeire sem, így lebontásában is szerepük lehet. Ezzel szemben a *P. expansum* a kiindulási vegyületen kívül az összes köztitermékekre érzékeny volt.

A klórpírifosz biodegradációs metabolitjának, a TCP-nek a mikrobiológiai lebontása jelentős a korábbi vizsgálatok szerint. Mi azonban a fotobomlás következtében kapott metabolitok hatását vizsgáltuk. A kapott köztitermékek toxikusak a vizsgált mikrobákra, nem úgy, mint a degradáció végterméke. Saját vizsgálataink is alátámasztják annak a tanulmánynak [124] az eredményeit, mely szerint a klórpírifosz gombák általi biodegradációja ígéretes az alapvegyület lebontásában, ugyanis az általunk vizsgált fonalas gombafaj tolerálta az anyag és bomlástermékeinek toxicitását.

e., EPTC

Az EPTC besugárzás nélküli alapvegyülete jelentős toxicitással bír, a hat talajmikroba közül négy (*P. fluorescens*, *B. subtilis*, *M. phlei*, *P. expansum*) számottevő érzékenység mutat. Ez a besugárzási idő előrehaladtával csökkent, legtovább a *B. subtilis*-nél és a *P. expansum*-nál volt megfigyelhető. A bomlás utolsó fázisában keletkező köztitermékekre a *P. expansum* mutatott érzékenységet. A általunk vizsgált gombafajok közül a *T. harzianum* és a *F. oxysporum* nem reagált a kiindulási vegyületre és bomlástermékeire sem, így lebontásában is szerepük lehet.

A Gátlási zónák mértéke 48 órás inkubálási idő után

Vizsg. peszticid	Besug. időtartama (h)	A peszticidek gátlási zónája (mm)					
		<i>P. fluorescens</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>M. phlei</i>	<i>P. expansum</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>F. oxysporum</i>
Karbendazim	0	-	-	-	-	24	10
	0,5			-	-		7,3
	1			-	-		7,3
	2			-	-		6,6
	5			-	-		7
	10	-	-	-	-	20	7
	13			-	-		7
	20	1	1	-	-	14	
	Ref.	-	-	-	-	-	-
Acetoklór	0	2,3	-	1	-	-	-
	0,5	1,6	-	2	-	-	-
	1	2,6	1	2,6	-	-	-
	2	1,6	1	3,6	-	-	-
	5	3,6	1	8	+	-	-
	10	4,3	2	5	1,3	-	-
	16	7,3	3	9,6	7	3	3
	Ref.	-	-	-	-	-	-
Simazin	0	-	-	1,3	-	-	-
	0,5	-	+	1	-	-	-
	1	-	+	+	-	-	-
	2	-	-	2,3	-	-	-
	5	-	-	2	-	-	-
	10	4,6	+	9	+	-	-
	12	6	1	9,6	-	-	+
	Ref.	-	-	-	-	-	-
Klórpirifosz	0	-	-	-	-	-	-
	0,5	-	-	-	1	-	-
	1	-	-	-	13,3	-	-
	2	1	1	-	1,3	-	-
	5	1	1	1	-	-	-
	11	+	+	1,6	4	-	-
	16	-	-	1	1,3	-	-
	30	-	-	-	-	-	-
Ref.	-	-	-	-	-	-	
EPTC	0	7	5	4,6	6,3	-	-
	0,5	-	+	-	-	-	-
	1	-	1,3	-	0,6	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	11,3	-	-
	15	-	-	-	21	-	-
	Ref.	-	-	-	-	-	-

Összegzés

Mikrobiológiai megfigyeléseink a szakirodalomban általánosan elfogadottakat (miszerint a Gram-negatív baktériumok kevésbé érzékenyek a peszticidekre, mint a Gram-pozitív baktériumok) nem támasztják alá, mivel **hasonlóan reagált mindkét típusú mikroba**. A vizsgált baktériumok jelentős érzékenységet mutattak a peszticidekre és bomlástermékeikre.

Az összehasonlított öt peszticid közül az acetoklór és a klórpírifosz váltotta ki a legnagyobb hatást. A mikrobák közül a *P. fluorescens* és a *M. phlei* reagált a legérzékenyebben. A vizsgált talaj-mikroorganizmusok érzékenysége miatt a vizsgált peszticidek és azoknak a talaj felső rétegében végbemenő **foto-degradációja** következtében keletkező köztitermékei nagymértékben **módosítja a talaj mikrobiota összetételét** a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok, valamint egyes gombafajok háttérbe szorításával. A talaj mikroflórája egyensúlyának felborulása a talajállapot jelentős leromlásához vezet.

4. Fémekkel történő kölcsönhatás modellezése és vizsgálata

Simazin és metabolitjainak vizsgálata rézzel, HPLC-s technikával

Vizsgálati körülmények

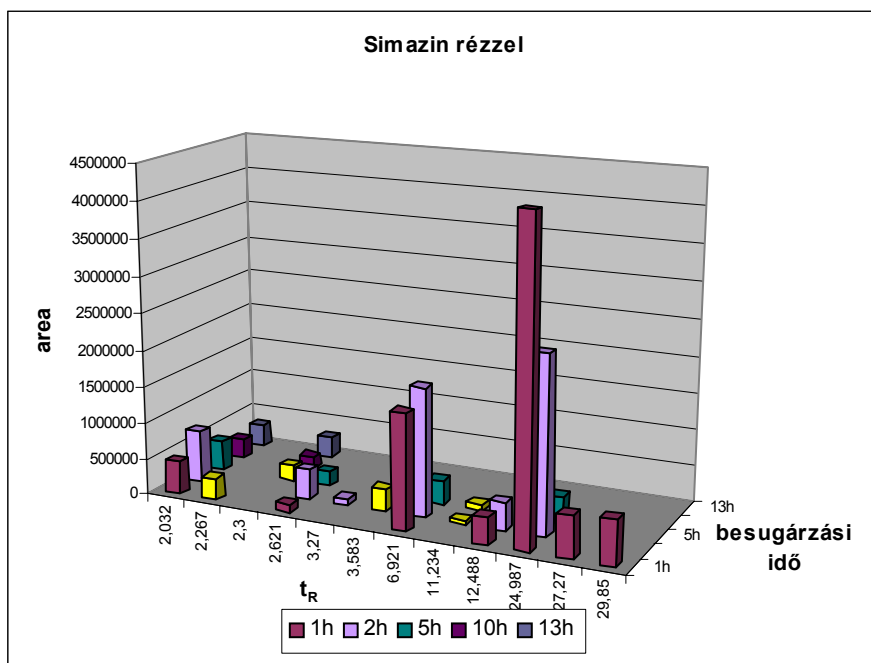
50 ml metanolban 0,0025 g simazin került feloldásra, majd 254 nm-en történt az oldat besugárzása. Mintavétel 0, 1, 2, 5, 10 és 13 órányi besugárzás után 5 ml. Egy-egy ml $0,49 \cdot 10^{-6}$ mol simazint tartalmazott, melyhez $1,6 \cdot 10^{-6}$ mol, $2,4 \cdot 10^{-6}$ mol és $8 \cdot 10^{-6}$ mol réz (II)-szulfátot adtam, így 1:0; 1:3; 1:5 és 1:16 simazin:réz arányú mintákat kaptam. Ezt követően HPLC-vel vizsgáltam, az eluens metanol: Na-acetát puffer (pH=5,6) 30:70 arányú keveréke volt, 1,0 ml/perc áramlási sebességgel, a detektálás 220 nm-en történt.

Eredmények

A különböző besugárzási idejű minták vizsgálatakor az egyes köztitermékek **retenciós ideje** csak néhány esetben mutatott figyelemreméltó változást eltérő mennyiségű réz hozzáadása esetén. Az egy órás mintában az alapvegyület, a két órás és az öt órás mintában pedig az elsődleges köztitermék (feltehetően) retenciós ideje nőtt meg 1:3 illetve 1:5 simazin:réz aránynál.

Jelentős **mennyiségi változások** a 2,032-es retenciós idejű csúcsnál voltak tapasztalhatók, a réz mennyiségével arányosan nőtt a csúcs mennyisége is.

Különböző mennyiségű réz hozzáadása **új csúcsok** megjelenését eredményezte: az egy órás mintánál két új csúcs jelent meg: 1:3 arányú réznél 2,267-os retenciós idővel, 1:16 arányú réznél 29,850-es retenciós idővel, melyek mennyisége sem elhanyagolható, hiszen egy-egy köztitermék mennyiségével közel azonosak. A két órás mintában 1:3 arányú simazin:réz esetében két új csúcs jelent meg 3,583 és 11,234 retenciós idővel (lásd az 1. táblázatot). Öt órás besugárzást követően szintén két új csúcs jelentkezett: 2,300 és 11,858 retenciós idővel. A két utóbbi esetben a két csúcs közül a nagyobb retenciós idejű csúcsok mennyisége jelentősebb. A 10 és 13 órás mintáknál nem volt tapasztalható változás.



A simazin és különböző besugárzási idejű mintáinak rézzel való kölcsönhatásának vizsgálata során kapott vegyületek mennyisége

Eredmények értékelése:

A kapott eredmények szerint a besugárzás nélküli alapvegyület, valamint a bomlás végterméke nem lépett jelentős kölcsönhatásba a rézzel, azonban az alapvegyület és egyes köztitermékek polaritását befolyásolta fémion jelenléte, ami az eltérő retenciós időkben mutatkozik meg. Ezen kívül az egy, kettő illetve öt órás minták esetében megjelenő új csúcsok figyelemreméltóak, melyek a köztitermékek és a réz reakciójából keletkező komplexnek tulajdoníthatóak.

A simazin két órás besugárzást követően vett mintájának HPLC-s vizsgálati eredményei (vegyületek retenciós ideje, azok mennyisége) különböző mennyiségű réz hozzáadása esetén

Simazin 2h													
Simazin:Cu													
1:0		1:3		1:5		1:16		Δt_R			$\Delta area$		
t_R	area	t_R	area	t_R	area	t_R	area	Δ_{2-1}	Δ_{3-1}	Δ_{4-1}	Δ_{2-1}	Δ_{3-1}	Δ_{4-1}
2,068	709858	2,055	647320	2,150	1833710	2,053	7172373	-0,013	0,082	-0,015	-62538	1123852	6462515
2,686	413721	2,658	664446	2,507	837755	<i>n.j.m.*</i>	<i>n.j.m.</i>	-0,028	-0,179	-	250725	424034	-
3,270	89776	3,245	295582	3,256	129959	3,215	157044	-0,025	-0,014	-0,055	205806	40183	67268
-	-	3,583	304488	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	-	-	-	-	-	-
6,949	1757472	6,887	1718422	6,815	1792908	7,120	1714847	-0,062	-0,134	0,171	-39050	35436	-42625
-	-	11,234	55286	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	<i>n.j.m.</i>	-	-	-	-	-	-
12,604	390657	12,363	405843	12,428	431176	13,027	318575	-0,241	-0,176	0,423	15186	40519	-72082
25,243	2418979	24,605	2679986	24,749	2701418	26,255	2868830	-0,638	-0,494	1,012	261007	282439	449851

• n.j.m. – nem jelent meg a csúcs

Eger, 2006. február 19.

.....
 Dr. Kiss Attila
 Tanszékvezető főiskolai tanár
 Eszterházy Károly Főiskola, Biokémia Tanszék

