



**Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Szerves Kémia és Technológia Tanszék**



MTA Izotópkutató Intézet

Paracetamol bomlása híg vizes oldatokban radioaktív sugárzás hatására

Készítette:

Szabó László

IV. évfolyamos vegyészmérnöki BSc hallgató

Témavezető:

Dr. Tóth Tünde

Konzulens:

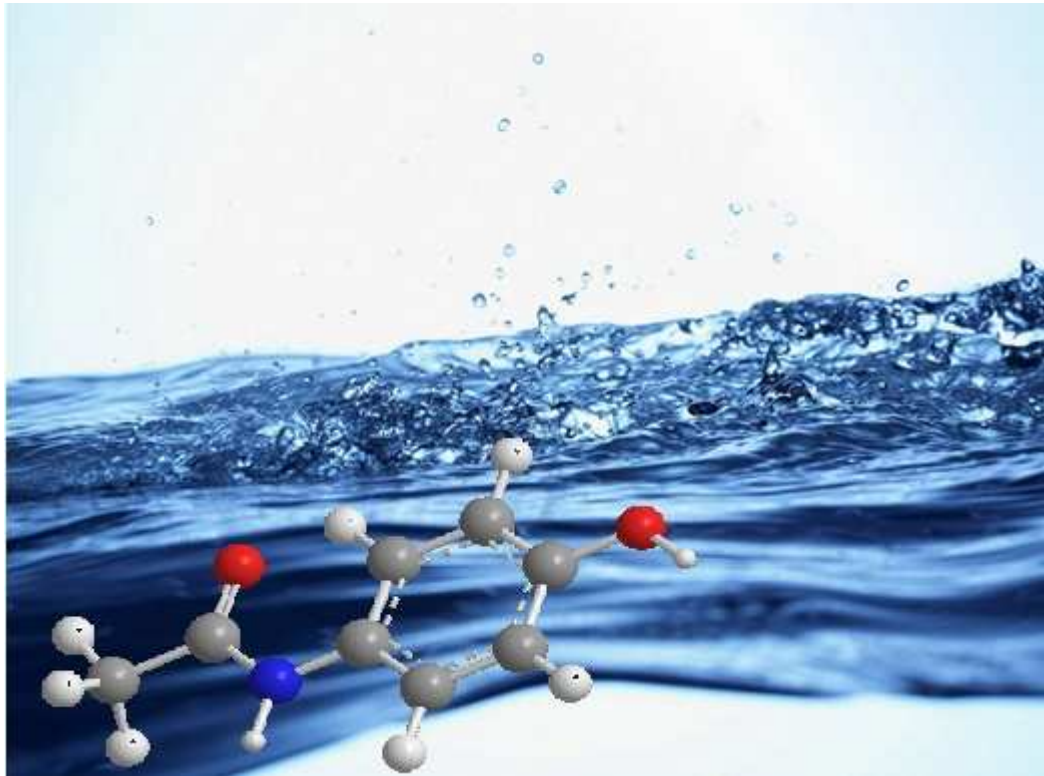
Dr. Takács Erzsébet

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném kifejezni hálámat **Dr. Tóth Tünde**, **Dr. Takács Erzsébet** tanárnőknek és **Dr. Wojnárovits László** tanár úrnak, hogy lehetőséget adtak nekem a kutatásra, és hogy ehhez szellemi háttérrel és állandó támogatást biztosítottak.

Köszönettel tartozom **Homlok Renátának**, aki a mérések elvégzésében és kiértékelésében segített.

Köszönöm a Sugárhatáskémiai Osztály minden munkatársának, hogy munkámban segítettek, hozzájuk készséggel fordulhattam segítségért, akár szakmáról, akár a mindennapi életről legyen szó.



„Not only is our drinking water full of pesticides, but it now looks like it’s full of drugs too” (Pearce, 1999)

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés.....	5
2. Irodalmi rész.....	6
2.1. Nagyhatékonyságú oxidatív eljárások.....	9
2.2. Nagyenergiájú sugárzásos szennyvízkezelés	10
2.3. A víz radiolízise.....	16
2.4. A vizsgált gyógyszermolekula: a paracetamol.....	20
2.5. Kémiai oxigén igény	24
2.6. Teljes szerves széntartalom	25
2.7. Toxicitás	25
3. A munka célja.....	27
4. Mérések	28
4.1. Vegyszerek	28
4.2. Folyamatos γ -besugárzás.....	28
4.3. Az egyedi reakciók vizsgálatának módszerei.....	29
4.4. Végtermékek azonosítása	31
4.5. Impulzus radiolízis kísérletek.....	38
4.6. Kémiai oxigén igény	41
4.7. Teljes szerves széntartalom	44
4.8. Toxicitás	46
5. Eredmények és értékelésük	47
5.1. A paracetamol lebomlása	47
5.2. Hidroxilgyök reakciói.....	47
5.3. Hidroxilgyök és a $O_2^{\cdot-}/HO_2^{\cdot}$ pár reakciói	51
5.4. Hidratált elektron reakciói.....	56
5.5. A hidroxilgyök és hidratált elektron reakciója együtt	58
5.6. KOI, TOC és toxicitás	59
6. Összefoglalás.....	62
7. Irodalomjegyzék.....	64

1. Bevezetés

A népesség gyors növekedése, a mezőgazdaság és az ipar nagymértékű fejlődése városi és ipari szennyvizek hatalmas mennyiségét eredményezi, ennek következtében a talajvizeink és ivóvizeink is folyamatosan elszennyeződnek. Egyre több olyan anyag kerül ki a környezetünkbe, melyek nehezen ártalmatlaníthatóak, természetes lebomlásuk sok időt igényel, felhalmozódhatnak a táplálékláncban, mint például a környezetünkbe kijutó gyógyszerek, illetve metabolitjaik.

A beteg által beszedett gyógyszerek egy része felszívódik a beteg szervezetében, jelentős része azonban kiválasztódik és a szennyvízbe, majd a szennyvíz tisztító telepekre kerül. Egy részük azonban a hagyományos módszerekkel nem bontható le, ezért a szennyvíz tisztító telepeken áthaladva, a tisztított szennyvízzel az élővizekbe (folyókba, tavakba) kerül. Gyakran ezek az élővizek egyben ivóvíz források is. Fontos lenne ezért az eltávozó szennyvízben minél kisebbre csökkenteni a bele jutó toxikus anyagok, gyógyszer maradványok koncentrációját. A toxikus anyagok lebontására alkalmazhatók a nagyhatékonyságú oxidációs eljárások, amelyek közé az ionizáló sugárzás is tartozik. Az MTA Izotópkutató Intézetében a gyógyszer molekulák ionizáló sugárzásos lebontásával kapcsolatos kutatások már évek óta folynak. Ebbe a munkába kapcsolódtam be.

Az általam vizsgálni kívánt gyógyszervegyület a paracetamol, vagy más néven acetaminofen, ill. *N*-(4-hidroxifenil)acetamid nagymennyiségben használt fájdalom- és lázcsillapítószer. A vegyület bomlását korábban már több nagyhatékonyságú oxidációs eljárással vizsgálták, azonban ionizáló sugárzások hatására történő lebomlási mechanizmusa még felderítésre várt.

A munkám célja a paracetamol sugárzással iniciált bomlásának vizsgálata híg vizes oldatokban. Impulzusradiolízis segítségével vizsgáltam a közti termékeket, a gamma-besugárzás során keletkező végtermékek (elszintelenedés, mineralizáció) azonosítására UV-Vis spektroszkópiát és HPLC-elválasztást követő MS-t használtam. Emellett mértem a különböző koncentrációjú paracetamol oldatokban a kémiai oxigén igényt (KOI), a teljes szerves széntartalmat (TOC) és a toxicitást (*Vibrio fischeri*) a sugárdózis függvényében.

2. Irodalmi rész

A gyógyszerfelhasználás világszerte növekvő tendenciát mutat. Az USA-ban a gyógyszeripar kétszer gyorsabban gyarapodik, mint a gazdaság többi része és semmi jelét nem mutatja esetleges lassulásnak, s e növekedés világszerte jellemző. Európa szerte nagy mennyiségű gyógyszert írnak fel az orvosok, csak Németországot tekintve ez az érték elérheti a 100 tonnát évente, ami persze alábecsüli a teljes fogyasztást, figyelembe véve, hogy számos gyógyszer nem VÉNY-köteles: széles körben használt gyulladás gátlók, lipid szabályozók és fájdalomcsillapító készítmények [1]. Magyarországon a gyógyszerfogyasztást tekintve az elsők között vagyunk Európában, egy 2005-ös adat szerint a felnőtt lakosság csaknem fele szed rendszeresen valamilyen tablettát vagy orvos által felírt gyógyszert, ami az európai átlaghoz képest igen magas arány (European Social Survey: EUTE). A gyógyszerek fogyasztása és alkalmazása nagyon eltérő országoként. Ennek lehetnek kulturális, illetve jogi okai is. Míg Japánban a nők 2,3 %-a, Észak-Amerikában 16 %-a, Európában pedig 59 %-a szed fő aktív komponensként etinilösztradiol tartalmú fogamzásgátló szert. Néhány antibiotikumot (mint pl. a sztreptomycin) a gyümölcs növekedéséhez használnak nagy volumenben az USA-ban, melynek következménye a kórokozó baktériumok nagyfokú ellenálló képessége, míg pl. Németországban ez tiltott [2].

A gyógyszereket biológiai hatásukért fejlesztik és gyártják, az emberi és állati szervezetek védelme érdekében. Fizikai-kémiai és biológiai tulajdonságaik miatt egyre nagyobb a figyelem a nem célszervezetekre kifejtett hatásuk iránt. Nagyrészüket poláris vegyület, a molekula súlyuk tipikusan 200-tól 500/1000 Da-ig terjed, kis molekuláknak számítanak, ezért is mutathatók ki gyakran a környezetben. A mikroszennyezők közé sorolják őket, mert gyakran $\mu\text{g/l}$ vagy ng/l -es nagyságrendben találhatók meg a vízi környezetben [2]. Gyógyszerek széles tárházát detektálták már felszíni vizeinkben, talajvizeinkben és gyakran ivóvizeinkben is, azonban ezen anyagoknak az ökológiai jelentősége jórészt ismeretlen. Néhány káros hatás, melyeket okozhatnak: toxicitás a vízi környezetre, kórokozó baktériumok ellenállásának a növekedése, genotoxicitás, endokrin rendszert károsító hatások [3]. A kimutatott gyógyszerek között vannak antibiotikumok, görcsoldók, láz- és fájdalomcsillapítók, hormonkészítmények, citosztatikumok.

Ezen xenobiotikus anyagok jelenléte új környezeti problémát jelent. Többségüket ellenálló szerves szennyezőként tartják számon (Persistent Organic Pollutant: POPs), utalva arra, hogy ezek nehezen lebontható vegyületek. A fenolos csoportot tartalmazó vegyületek esetén a mikroorganizmusok nem tudják a gyűrűt felnyitni, lebontani, erre genetikailag nincsenek felkészülve. Egy másik példaként említve a biotechnológiával (pl. extrakcióval) kinyert természetes eredetű gyógyszereket (pl. plazmidok), azok nem kapnak nagy figyelmet, hiszen természetes anyagként vagy módosított származékként vannak jelen a szennyvizekben [2].

Ugyanakkor nemcsak maguk a gyógyszerhatóanyagok (Active Pharmaceutical Ingredients: API) fontosak, hanem olyan vegyületek is jelen vannak a környezetben, melyek belőlük képződnek számos biotikus és abiotikus transzformáción keresztül. Ez a szerkezeti átalakulás, akár a szennyvízkezelés eredménye is lehet, illetve a környezetben található baktériumok, gombák és a vegyület interakciójának következménye. Az emberi és állati szervezetben átalakulva, majd a kiválasztás során a környezetbe juttatva, metabolitjaik is jelen vannak. Számos esetben a metabolitok és az egyéb transzformációk eredményeként létrejövő vegyületek kevésbé toxikusak [2]. Az API-k kijutásának forrása több is lehet. A gyárak kibocsátása a GMP (Good Manufacturing Practice) szabályozásai, illetve a magas gazdasági költségek miatt elhanyagolhatóak (Európa, USA). A kórházak szennyvizeiben nagyobb koncentrációban találhatók meg, mint a városi szennyvízben, a vártak megfelelően. A városi víz ezt kb. 100-szorosára hígíthatja. A háztartásokból a lejárt vagy megmaradt gyógyszerek gyakran a csatornába kerülnek. Németországban hozzávetőleg a megvásárolt gyógyszerek harmadát, Ausztriában pedig negyedét teszik a szeméttbe, vagy dobják a csatornába. Az EU törvényhozásának megfelelően 1994 óta engedélyezett a gyógyszer háztartási hulladékba helyezése. A hulladéklerakó telepeken pedig, ha nem gyűjtik össze, bekerülhetnek a felszíni és talajvizekbe [2].

Yamamoto és munkatársai [4] nyolc különböző, magas ökológiai hatású és nagymértékben fogyasztott gyógyszervegyület (acetaminofen, atenolol, karbamazepin, ibuprofen, ifenprodil, indometacin, mefenaminsav, propranolol) perzisztenciáját vizsgálták a napsugárzás indukált fotolízisen, biodegradációs és szorpciós kísérleteken keresztül. A fotolízis eredményeként 3 vegyület (propranolol, indometacin és ifenprodil) viszonylag könnyen lebomlott (felezési idő < 24 óra), a többi viszont stabilnak mutatkozott a napfénnel szemben, egyes esetben a felezési idő eléréséhez több mint 72 óra kellett. A biodegradációs kísérlet eredménye – folyóvizet használva – lassú lebomlást mutatott mind a 8 vegyület esetében.

A természetes vizekben és szennyvizekben található gyógyszermaradványok (1. táblázat) komoly gondot jelentenek, hiszen toxikusak, így tovább fokozza a veszélyt, hogy ezek a vegyületek a szennyvíztelepek mikroorganizmusait is elpusztíthatják. Sok gyógyszermaradványt hagyományos technológiákkal nem tudnak kiszűrni, így az ivóvizeinkben a koncentrációjuk ng/l nagyságrendű lehet, s ez felhalmozódhat a növényekben, állatokban, beépülhet az élő szervezetekbe. Ezért a hatóanyagokat lebontó új hatékonyabb technológiák felé kellett fordulni, ill. ezek kombinálása vált szükségessé, mint pl.: a nagyhatékonyságú oxidatív eljárások.

1. táblázat

Gyógyszervegyületek koncentrációja az ivóvízben világszerte [5].

		Maximum detektált koncentráció ng/l	Ország
Lipid szabályozók	<i>Bezafibrát</i>	27	Németo.
	<i>Klofibrinsav</i>	70	Németo.
		165	Németo.
		270	Németo.
		170	Németo.
		5,3	Olaszo.
	<i>Gemfibrozil</i>	70	Kanada
Láz és fájdalomcsillapítók	<i>Diklofenák</i>	6	Németo.
	<i>Ibuprofen</i>	3	Németo.
	<i>Fenazon</i>	250	Németo.
		400	Németo.
	<i>Propilfenazon</i>	80	Németo.
		120	Németo.
Antibiotikum	<i>Tylosin</i>	1,7	Olaszo.
Antiepileptikum	<i>Karbamazepin</i>	24	Kanada
		258	USA
Citosztatikum	<i>Bleomycin</i>	13	Anglia
Antipszichosztatikumok	<i>Diazepám</i>	10	Anglia
		23,5	Olaszo.

2.1. Nagyhatékonyságú oxidatív eljárások

Az utóbbi évtizedekben sok kutatás folyik a toxikus szerves szennyeződések lebontása területén, célként tűzték ki ezen szennyezők hatásos eltávolítását a szennyvizekből. Nagy figyelmet kapnak az oxidatív módszerek egy különleges csoportja: a nagyhatékonyságú oxidatív eljárások: Advanced Oxidation Processes (AOP) (2. táblázat).

2. táblázat

Nagyhatékonyságú oxidatív eljárások [6].

Sorszám	Módszer	Reaktív közttermékek
1	Ózonos kezelés O_3 vagy O_3/H_2O_2	$\cdot OH$, $HO_2\cdot$ / $O_2^{\cdot -}$, $O_3^{\cdot -}$
2	Fenton eljárás H_2O_2/Fe^{2+} vagy $H_2O_2/O_3/Fe^{2+}$ (savas közeg)	$\cdot OH$, $HO_2\cdot$ / $O_2^{\cdot -}$, $O_3^{\cdot -}$
3	Foto-Fenton eljárás UV-fényt használva	$\cdot OH$
4	Fotooxidáció UV ($\lambda = 185\text{nm}$ és 254 nm) vagy UV/ O_3 , UV/ H_2O_2 vagy UV/ O_3/H_2O_2 alkalmazásával pl. alacsony nyomású Hg lámpát használva	$\cdot OH$, $HO_2\cdot$ / $O_2^{\cdot -}$, $O_3^{\cdot -}$
5	Fotokatalitikus eljárás: UV/Vis fénnel TiO_2 , $ZnO...$ katalizátorokat használva	$\cdot OH$
6	Ionizáló sugárzások alkalmazása: gyorsított elektronokat, γ -sugárzást, röntgen-sugárzást felhasználva; fokozódó hatás O_3/O_2 , végül H_2O_2 , mint adalékanyag jelenlétében	$\cdot OH$, $HO_2\cdot$ / $O_2^{\cdot -}$, $O_3^{\cdot -}$, e_{aq}^- , $H^\cdot$
7	Elektrokémiai oxidáció	
8	Ultrahangos kezelés (szonolízis)	$\cdot OH$, $H^\cdot$
9	Termikus oxidáció ipari szennyvíz esetén	

Mindegyik AOP módszer ugyanazon az elven alapul: a szennyezők lebontásához rendkívül reaktív vegyületeket/közttermékeket alkalmaznak (O_3 , H_2O_2 , $\cdot OH$, hidratált elektron, $\cdot H$). A reakciók szobahőmérsékleten és atmoszférikus nyomáson zajlanak. A közttermékek közül is a $\cdot OH$ a legfontosabb, mely nagyon reaktív ágens, a szerves molekulákkal 10^6 - $10^9\text{ dm}^3/\text{mol s}$ -os sebességi állandóval reagálhat. Tehát jellemzően alacsony szelektivitással támad a szennyezőkre, ezáltal nagy az eljárás hatékonysága [6,7].

A nagyhatékonyságú oxidatív eljárásokkal a szerves szennyezők akár szén-dioxidig, vízig és ásványi sókig lebonthatók. Ez azonban többnyire csak akkor gazdaságos, ha a szennyezők kis koncentrációban vannak jelen. Erősen toxikus oldatok esetében sokkal költségkímélőbb, ha ezeket a módszereket előkezelésként használjuk. A cél egy könnyebben lebomló, biodegradálható, kevésbé toxikus vegyület kialakítása az eljárás során, mely ezután biológiai oxidációs eljárással kezelhető. A felesleges költségek elkerülése miatt tehát a mineralizáció százaléka csak minimális [8].

Az AOP alapreakcióinak, gyökös reakciók mechanizmusának tisztázása a gyakorlati felhasználás szempontjából is fontos. A hatásfok javítható a szabad gyökök reaktivitásának és képződésének kontrollálása révén [6]. Számos kutatás folyik tehát ezen a területen, laboratóriumi, félüzemi és ipari méretekben is.

A nagyhatékonyságú oxidatív eljárások közé tartozik a nagyenergiájú besugárzásos technológia, amelyet a gyakorlatban félüzemi és ipari méretű berendezésekben is alkalmaznak. A sugárzásos technológiákat használják szennyvíz, füstgáz és szennyvíziszap kezelésére is. A legnagyobb előny a többi alternatívával szemben, hogy a reaktív ágensek in situ a radiolízis közben képződnek egyéb vegyszer hozzáadása nélkül.

2.2. Nagyenergiájú sugárzásos szennyvízkezelés

A gyakorlati alkalmazások eredményei alapján a sugárzásos módszer könnyű és hatásos módja a szennyvízkezelésnek.

A gyakorlati alkalmazást tekintve a technológia alábbi előnyeit említhetjük meg:

- erős redukáló és oxidáló ágensek,
- a redox ágensek sokoldalúsága és felcserélhetősége,
- a szennyező átalakításának számos útja lehetséges,
- az eljárás irányíthatósága,
- a berendezések és a technológiai megvalósítások széles választéka,
- kapcsolható a hagyományos módszerekkel is (költségkímélés).

A vizes oldatok ionizáló sugárzással való kezelése nagyon reaktív köztitermékeket eredményez, melyek reagálnak a szennyezőanyaggal, lehetővé téve a szennyezők átalakítását. Kutatások és ipari alkalmazás bizonyítják a vegyületek lebonthatóságának lényeges javulását a besugárzás után.

Az elsők között Lowe Jr. és munkatársai az ötvenes évek közepén végeztek kísérleteket szennyvíz besugárzásos tisztításával kapcsolatban, ^{60}Co gamma-forrást használtak fertőtlenítés céljából. A 60-as években a gamma-források elérhetővé váltak, így több tanulmány készült ^{60}Co és ^{137}Cs alkalmazásáról, szintén a természetes vizek, szennyvíz és szennyvíziszap fertőtlenítésére, illetve az ipari kifolyók és szennyvizekben található szerves anyagok eltávolítására. A 70-es évek közepén Lassel és munkatársai elkészítették erre a célra használt első besugárzót Németországban, s leírták megfigyeléseiket a tervezés, beiktatás és a működés folyamán. A besugárzók egy másik típusát, az elektrongyorsítót a 70-es években kezdték el használni szennyvíz kezelésére az USA-ban. Laboratóriumi kutatásokat végeztek ipari szennyvizeken és szennyezett talajvizeken, az 1970-es évektől számos félüzemi berendezés is létesült. Az 1994-ben Miami-ban megrendezett „Workshop on Application of Ionizing Radiation for Decontamination of Environmental Resources” nevű konferencián elhangzott előadások jól demonstrálták a technológia folyamatos fejlődését, valamint a környezetvédelmi alkalmazásban rejlő sokféle lehetőséget [9].

Az ionizáló sugárzással kezelendő felszíni vizeket két típusra oszthatjuk: ipari szennyvizek és természetes, fertőzött szennyvizek (beleértve a városi szennyvizet is). A fő különbség a szennyezők koncentrációjában és a mikrobás fertőzöttség fokában van. Míg az ipari kifolyóknál a szennyezők eltávolításán van a hangsúly, addig a másik esetben főként a fertőtlenítésen.

Kiterjedt vizsgálatok folynak az ipari szennyvizek sugárkezeléses tisztításának területén, általában laborokban, ritkábban félüzemi mértékben. Az első ipari méretű szennyvíztisztító, mely ezt a technológiát alkalmazta Voronyezs gumigyárában létesült (Orosz Federáció). A voronyezsi üzem szennyvize gyakran különféle izobutilnaftalin-szulfonát izomerekkel szennyezett, melyeket emulgeálószerként alkalmaznak. Az üzem 50 kW kapacitású gyorsítóval van felszerelve, mely a nem biodegradálható emulgeátort biológiailag lebontható formává alakítja. $1 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ -es szennyező koncentráció mellett a dózis igény 0,3 MGy. A sugárzásos kezelést követően a maradék könnyedén lebontható harmadlagos biológiai kezeléssel (utolsó lépés a szennyvíztelepeken). Az üzem 2000 m³/nap kapacitással működik.

Egy másik ilyen ipari méretű alkalmazás kombinálja a sugárzásos és biológiai kezelést textil-színezékeket tartalmazó szennyvizek tisztítására. A laboratóriumi eredmények alapján (a szerves szennyezők elszíntelenedése és destruktív oxidációja alacsony dózisoknál is: 1-2 kGy) javasolták először egy félüzemi méretű, elektronsugarat alkalmazó technológia

beindítását. Így a Nemzetközi Atomenergia Ügynökség támogatásával Dél-Koreában 1998-ban egy 1000 m³/nap kapacitású kísérleti üzemet hoztak létre. A kísérleti üzemben 30-40%-os kémiai oxigén igény (KOI) (Cr) és biológiai oxigén igény (BOI₅) csökkenésről számoltak be [10]. 2006-ban 10000 m³/nap kapacitású nagyüzemi szennyvíztisztító üzemet létesítettek, 1 MeV-os, 400 kW-os gyorsítóval felszerelve, s kombinálva biológiai kezelő rendszerrel. A sugárzásos kezelés eredményeképpen a szennyezők nagyobb hatékonyságú eltávolításáról számolnak be, mely a kezelés hatására létrejövő könnyebben degradálható vegyületeknek tudható be.

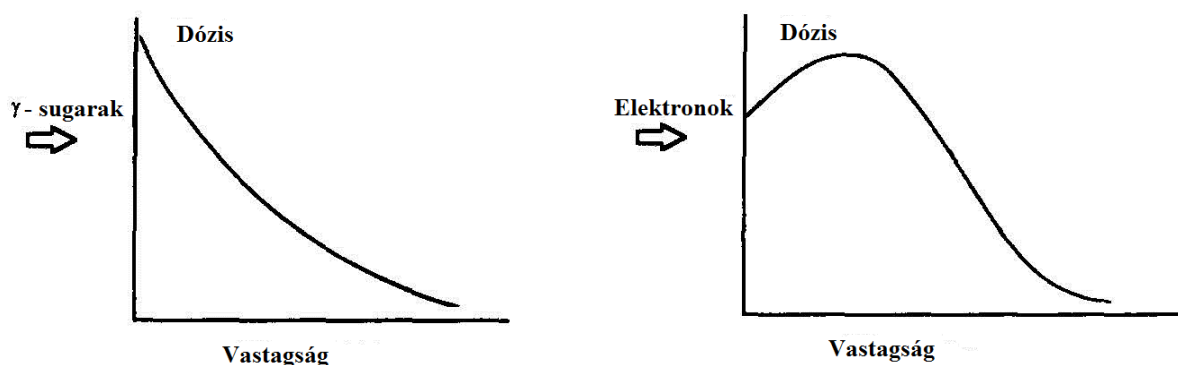
A technológia sikeres megvalósításához gazdaságossági szempontokat is figyelembe kell venni, a versenyképesség érdekében vizsgálni kell néhány paramétert. Célként kell kitűzni a dózisény csökkentését, a hatásosság javítását és a besugárzó berendezés költségének csökkentését. Ahhoz, hogy a dózisényt csökkenteni tudjuk, fontos a legmegfelelőbb átalakulást választani és azt optimalizálni. A teljes mineralizációig véghezvinni a folyamatot gazdaságtalan lenne. Jelentősen csökkenti a költségeket kombinálása a hagyományos technológiákkal, mint például: a biológiai kezelés, az adszorpció, a flotáció, a koaguláció, a levegőztetés, az üleptetés. Számos tanulmány született ezen kombinált módszerekről. Az első tanulmány ezzel kapcsolatban egy flotáció + γ -besugárzás + flotáció kombinált rendszer volt (dózis: 1 kGy). Olyan szennyvíz kezelésére alkalmazták, mely a klóralkáli termelés során használt Hg katódból származó oldott és oldhatatlan Hg szennyezést tartalmazott. A módszer során először az oldhatatlan Hg-t flotálták, majd a besugárzás indukálta a Hg redukcióját ($\text{Hg(II)} \rightarrow \text{Hg}$), melyet aztán flotációval eltávolíthattak. Az akkori negatív közvélemény miatt azonban (Csernobil) az ipari méretű üzem sosem épült meg [11]. A szeparációs műveletek tehát javíthatók sugárzásos eljárás alkalmazásával. A szeparációs műveletek és a sugárzásos technika kombinálásával különösen jó eredményt érhetünk el olyan üzemek szennyvizének kezelése során, melyek polimereket és monomereket gyártanak. A sugárzásos kezelés befejezi a diszperz polimerek képződését és eltávolítja a kolloidális részecskéket. Az előzetes besugárzásos oxidáció javítja az elektrodialízis hatásosságát, mely 3-10-szer nagyobb, mint szeparációs tevékenység során.

Hasonló hatást figyelhetünk meg, ha a besugárzás után adszorpciós eljárást alkalmazunk utókezelésként. A sugárzásos eljárás során ugyanis a szennyezők sok tulajdonsága megváltozik: oldhatóság, illékonyság, elnyelés és reaktivitás. A hatás oka tehát a szerkezetben, kémiai természetben, polarításban történő változásoknak tudható be. A hatásosság a hőmérséklet emelésével is növelhető, ilyenkor ugyanis nő a destruktív intermedierek hozama, nő a reakciósebességük is.

Ausztriában működik ózon-elektronsugaras kombinált kezelést alkalmazó berendezés is. Az ózon lecsökkentette a dózisényt 370 Gy-ról 45 Gy-re, és ezzel a költséget 0,25 \$/m³-ről 0,07 \$/m³-re [10]. Biológiai kezeléssel kombinálva szintén hatékonyabb, költségkímélőbb megoldás jöhet létre, azon keresztül, hogy a sugárzásos kezelés során már biodegradálható molekulák keletkeznek [8,10,11,12].

Sugárforrások

Vízkezelési célokra ⁶⁰Co γ -sugárforrásokat és elektrongyorsítókat is alkalmaznak. Alapvető különbség a kettő között a dózisteljesítmény és a behatolási mélység. Az elektronsugár behatolási mélysége az anyagba sokkal kisebb, mint a γ -sugárzásé. 300 keV és 10 MeV energiahatárok között, a maximum behatolási mélység arányos az energiával és fordítottan arányos a besugárzott anyag sűrűségével. A dózis behatolás megfigyelhető a dózis eloszlás függvény alapján elektron és γ -sugárzás esetén. A gamma-sugarak mélyen behatolnak és így lehetővé teszik nagy mennyiségű anyag feldolgozását, míg az elektronsugár behatolási mélysége korlátozott, de nagy intenzitás érhető el és nagy flexibilitást nyújt a működés során (1. ábra). 5 MeV energiájú elektronok hasznos behatolási mélysége vízben: 1,75 cm, addig γ -sugárzás során a felezési rétegvastagság vízben 11,3 cm (1,332 MeV energiára nézve) [13].



1. ábra: A dóziseloszlás alakja a besugárzott anyag vastagságának függvényében γ -sugárzás és monoenergiás elektronok esetében [9].

Elektrongyorsítók: a nagyenergiájú elektronsugárzás előállítására az elektronokat általában izzó katódból nyerik és elektrosztatikus erőter segítségével előgyorsítják majd így lövik be a gyorsítótérbe. Az elektronok ezután fókuszáló tekercsen keresztül haladnak, míg egy vékony fémlemezen és levegőrétegen keresztül be nem csapódnak a céltárgyba. Nagyon sok típusát készítik, 0,15-10 MeV elektronenergiával kereskedelmi célokra. Az elektronsugár

teljesítménye általában 5 és 300 kW közötti, bár nagyobb (~500 kW) teljesítményű gyorsítókat is terveznek. A kisebb energiájú gyorsítók lehetnek saját-védelemmel felszereltek (a szükséges sugárvédelem magában a készülékben van), ugyanakkor a MeV-os energia nagyságnál pedig már külső védelem szükséges. Az osztályozásuk a szerkezetük alapján, vagy gyakrabban az elektronsugár energiája szerint történik. Yotsumoto osztályozása: kis energiájú gyorsítók (0,15-0,5 MeV), közepes energiájú gyorsítók (0,5-5 MeV) és nagy energiájú gyorsítók (5-10 MeV) [9].

Gamma-sugárforrások: több ezer gamma-emittáló közül csak a ^{137}Cs és ^{60}Co javasolt besugárzó berendezésekhez. E kettő közül is a ^{60}Co a fontosabb. A radionuklid létrehozása viszonylag egyszerű: atomreaktorokban ^{59}Co neutronbefogásával állítják elő. A ^{60}Co magátalakulásai során β -bomlással 0,314 MeV maximális energiájú elektront kibocsátva ^{60}Ni -ná alakul, miközben 1,17 és 1,33 MeV energiájú γ -fotonokat bocsát ki. Felezési ideje 5,27 év. A ^{137}Cs kisebb (662 keV) energiájú fotonokat bocsát ki. Elsősorban mobil besugárzó berendezésekben történő alkalmazása előnyös, mivel lényegesen egyszerűbb sugárvédelmet igényel. A ^{137}Cs nagy hozammal keletkezik az atomreaktorok fűtőelemeiben lejátszódó atommaghasadás során és ezért a kiegészített fűtőelemek feldolgozása során különítik el [14].

A ^{60}Co γ -sugárzás használatakor előny a nagy behatolási mélység, a gyorsított elektronok alkalmazásakor pedig a nagy teljesítmény. További előny még, hogy a gamma-sugárforrással szemben, a sugárforrás az elektromos energia kikapcsolásával kiiktatható, így sokkal flexibilisebb ipari módszer. A szennyvízkezelés gyakorlatában többnyire, az újabbakban is szinte kivétel nélkül gyorsított elektronokat használnak kezelésre [9,10,13,15].

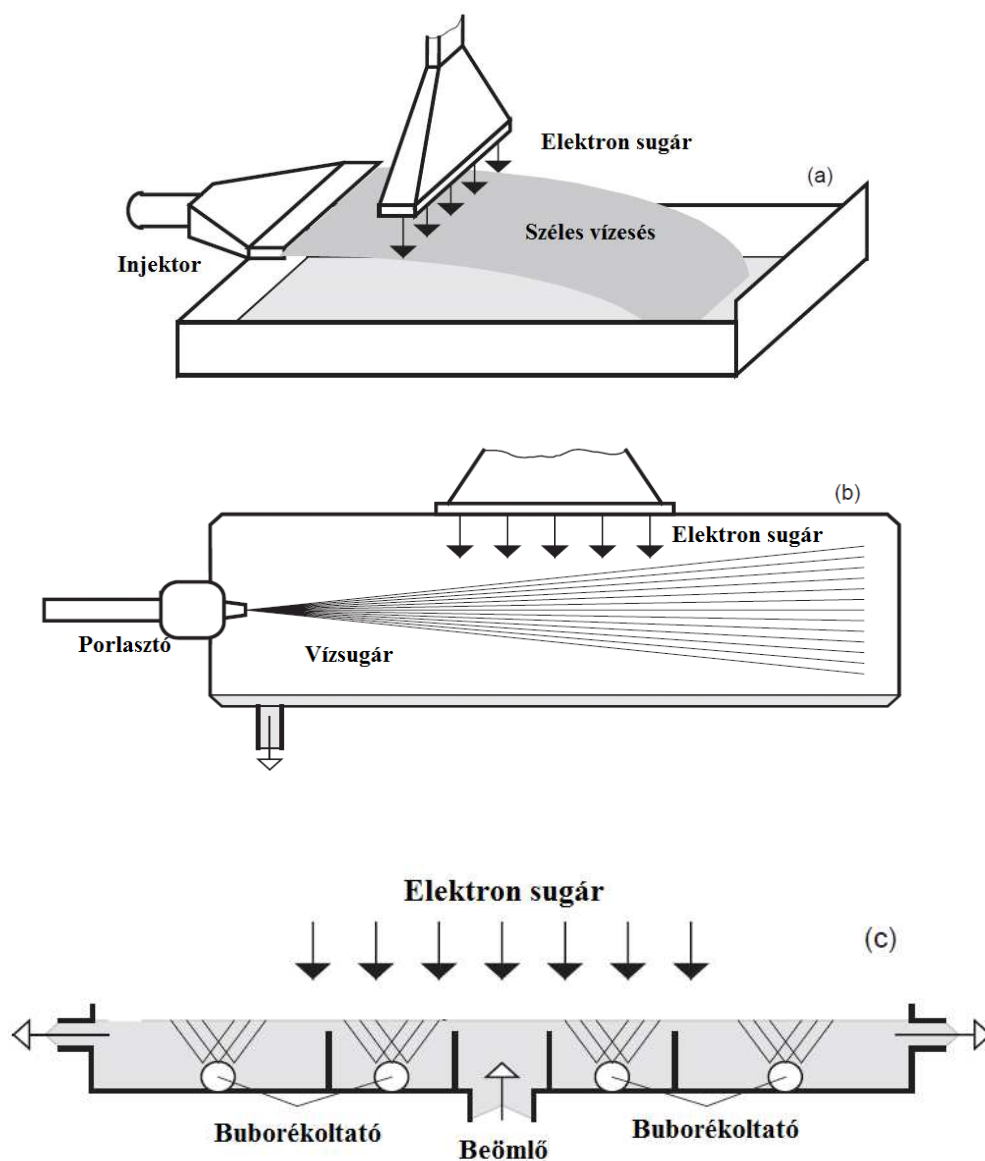
Reaktorok

A szennyvíz szállító rendszer hatásossága és a gyorsító hatásossága fontos folyamatbeli paraméter. Ideális esetben a szennyvizet szállító rendszer egyenletes dóziseloszlást tesz lehetővé valamint nagy mennyiségű szennyvizet szállít az elektronsugaras kezeléshez. A kölcsönhatás a sugár és a víz között speciális tartályban, reaktorban valósul meg.

A 2.a. ábra reaktorában injektor alakítja a vizet széles és viszonylag vékony vízszugárrá. Ezt a vízfolyamot keresztirányban éri a gyorsító sugara. A víz alul tálcába gyűlik össze. A vízszugár szélessége megegyezik a gyorsító ablakának szélességével. Lamináris áramlás esetén a besugárzott víz rétegvastagsága nem lehet nagyobb, mint az elektronok behatolási

mélysége. A vízsugár vastagságát tehát az elektronsugár energiája határozza meg. Jó turbulens áramlás esetén, melynek hatékonysága terelőlapokkal javítható, a besugárzásra szolgáló vályúban a behatolási mélységnél nagyobb vígréteg is kezelhető. Ennek a berendezésnek a segítségével a szennyvíz nagy áramlási sebességekkel kezelhető.

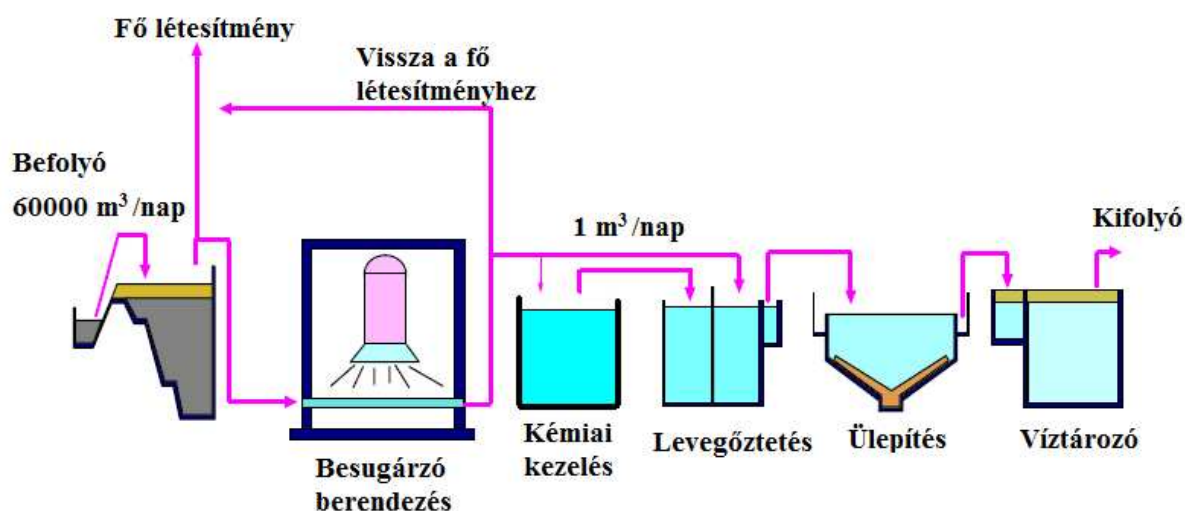
A másik típus működése a porlasztáson alapszik (2.b. ábra). A szennyvizet porlasztón keresztül pumpálják, mely apró vízcseppeket alkot így a besugárzó előtt. Ez a konstrukció megfelelő körülményeket biztosít a vízben levő szennyezők folyamatos oxidációjához a hatékony levegő-víz keveredésen keresztül. A szerkezet könnyedén lehetővé teszi az ózon kombinálását a technikával, mely jelentős hatékonyság javulást eredményez.



2. a-c. ábra: A szennyvízkezelésre használt reaktor típusok.

A harmadik reaktortípus esetén a víz felfelé áramlik, a konstrukció tökéletes keveredést nyújt (2.c. ábra). A szennyvíz tálcába folyik, melyben intenzíven keveredik valamilyen gázzal vagy levegővel a besugárzás során. A tálca készülhet fémből, üvegből, kerámiából és betonból. Speciális buborékolatóg, vagy a reaktor pórusos alja szolgáltatja a gázt. Hatásos oxidációt tesz lehetővé a szerkezet. A tálca vízszintesen szekciókra van osztva. A készülék Brazíliában félüzemi léptékben működik [10].

A gyors népességnövekedés, az urbanizáció és az egyre nagyobb mértékű iparosodás sok problémát vet fel a szennyvízkezelés területén. Napjainkig a besugárzásos technikák nem nyertek nagy teret, és sokkal elterjedtebbek a hagyományos módszerek, az utóbbi évek tanulmányai, félüzemi és üzemi méretű berendezések bizonyítják, hogy a jövőben fontos helyet foglalhat el (3. ábra).



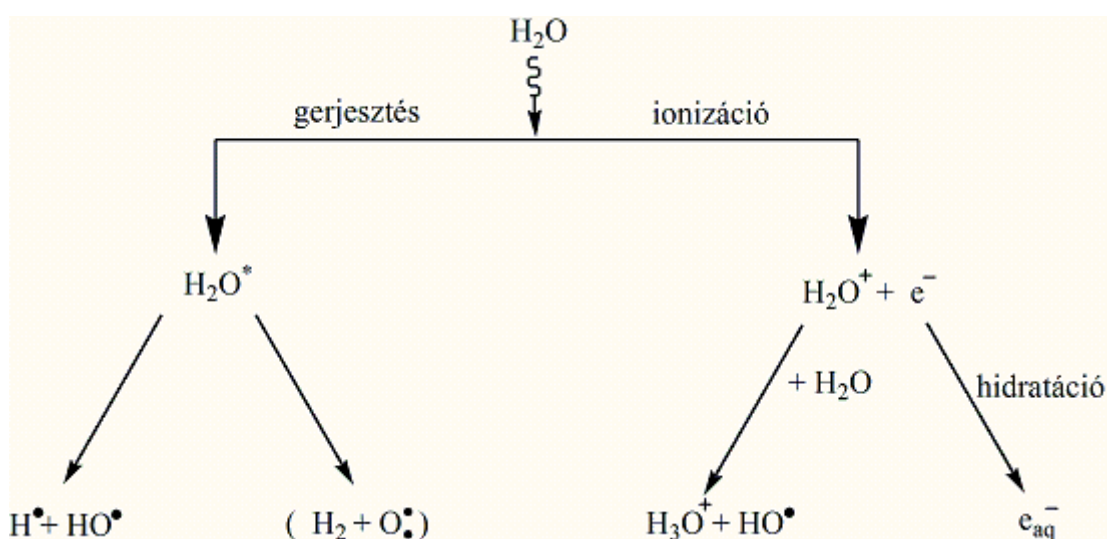
3. ábra: A Daeguban működő félüzemi megvalósítás sematikus ábrája
(Daegu Dyeing Industrial Complex) [16].

2.3. A víz radiolízise

Elsőként legalább két, a sugárkémiaiában használt alapvető fogalmat szükséges megemlíteni. Az egyik az elnyelt dózis, mely az elnyelt energiát fejezi ki minden anyagra, mely sugárzásnak van kitéve. Az elnyelt dózis a tömegegységenként elnyelt, Joule-ban kifejezett energiát jelenti: 1 J/kg, ami egyenlő 1 Gray-el. A másik fogalom a G-érték, mely a sugárzásos kezelés hatásának hozamát adja meg az anyag és a sugárzás kölcsönhatása során.

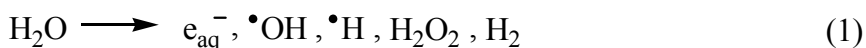
A G-értéken az 1 Joule energiaelnyelés hatására képződő, vagy eltűnő anyagennyiséget értik, mértékegysége: mol/J.

A nagyenergiájú besugárzás azonnali átalakulást (radiolízis) eredményez: a nagy energiájú fotonok vagy gyorsított elektronok és a vízmolekulák pályaelektronjai közötti energiaátadás révén. Az elnyelt energia megbolygatja a molekula elektron-rendszerét és az atomok közötti kötések felszakadását eredményezi. A víz radiolízisének köztitermékei a hidratált elektron (e_{aq}^-), hidrogén atom ($H^\bullet$), és a hidroxilgyök ($\bullet OH$) (4. ábra). Főként az első interakció, a vízmolekulák ionizációja révén jönnek létre, a gerjesztett molekulák keletkezéséről és bomlásáról meglehetősen kevés ismeret áll rendelkezésre.



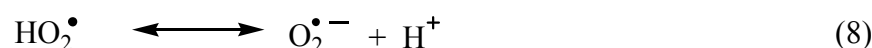
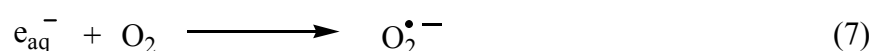
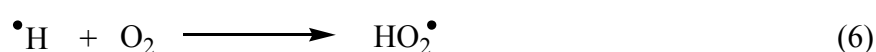
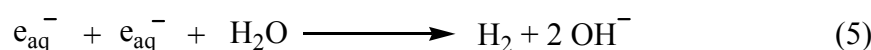
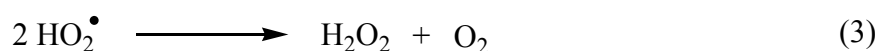
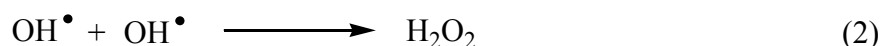
4. ábra: A víz radiolízisének alapfolyamatai [14].

A sugárkémiai reakciók jellegzetessége, hogy az energiaelnyelődés során egymás közelében (az ún. spurban) nagyon gyakran két, ritkábban ennél több, a sugárzás által aktivált, gerjesztett, vagy ionizált molekula keletkezik. Egymás közelében több, nagy reaktivitású köztitermék is kialakulhat, s erős versengés van az egymásközi reakcióik és magából a spurból való kidiffundálásuk között. Általánosan elfogadott, hogy a tiszta víz radiolízise során a spur folyamat 10^{-7} s alatt lejátsszódik. Ennél hosszabb időknél a köztitermékek, melyek a fenti folyamatban keletkeznek s ezek első egymás közti interakcióinak termékei homogén eloszlásúnak tekinthetők. A legfontosabb köztitermékek:



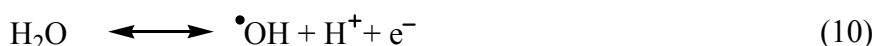
A homogén eloszlásúnak tekinthető e_{aq}^- , $H^\bullet$, és $^\bullet OH$ köztitermékek hozamai γ - vagy nagyenergiájú elektron besugárzásokkor, semleges vagy enyhén lúgos oldatokban 0,28, 0,28 illetve 0,062 $\mu\text{mol/J}$, míg az egymásközi reakciókban képződő H_2O_2 és H_2 hozamai: 0,047 és 0,073 $\mu\text{mol/J}$. A H_2O_2 és H_2 az alábbi egymással versengő reakcióban keletkezhet (2,3,4,5) számos más spur-reakció mellett. A $HO_2^\bullet$ a hidroxilgyök és a hidrogén-peroxid reakciójában keletkezhet, illetve oxigén jelenlétében a (6) illetve (7) reakcióegyenletekkel leírt reakcióban. Az oxigénnel végbemenő reakcióban keletkező perhidroxilgyök/szuperoxid anion páros $pK_a = 4,8 \pm 0,1$ értékkel kölcsönösen egymásba alakulhat át (8).

A nagy reaktivitás a jellemző a víz radiolízisének köztitermékeire. Reakcióik a vízben található szennyeződésekkel általában kevesebb, mint 1 μs -ot igényelnek. A különböző termékek reaktivitása egészen eltérő. A hidrogén-peroxid, a hidroxilgyök és a perhidroxilgyök oxidáló tulajdonságú, a hidrogén atom és a hidratált elektron redukálószer. A nagy reaktivitású oxidáló és redukáló ágensek egyidejű jelenléte figyelemre méltó a szennyvízben a kezelés során, és az egyik legfontosabb jellemzője a besugárzásos módszernek.

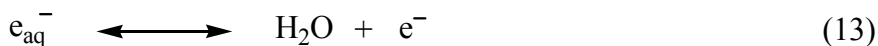


A $^\bullet OH$ a magas képződési hozamának, valamint magas redox potenciáljának köszönhetően az uralkodó ágens. Sokkal erősebb oxidálószer, mint amiket az iparban alkalmaznak: Cl_2 , $KMnO_4$, $HOCl$, $K_2Cr_2O_7$ és O_3 . A (9)-es egyenlet esetén a standard redox potenciál 2,1 V, a (10)-es egyenletre pedig 2,8 V, ami sokkal nagyobb a többi oxidáló ágenshez képest. Tipikusan 1×10^7 - $1 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol s}$ sebességi együtthatóval reagál nitrilekkel, amidokkal, karbonsavakkal, észterekkel és karbonilekkel. A sebességi együttható szénhidrogénekkal, alkoholokkal, éterekkel, aminokkal, alkénekkal, aromásokkal, pirimidinekkel, tiolokkal és

diszulfidokkal való reakció során nagyobb, mint $1 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol s}$. Ionokkal való reakciója során elektront fog be, miközben hidroxil ion képződik belőle. A szerves vegyületekkel a leggyakrabban vagy H-atom elvonással vagy a telítetlen vegyületek esetén, addícióval reagál. A fenolokkal, fenolátokkal kétlépcsős folyamatban reagál, elsőként addicionálódik a benzolgyűrű aromás elektronrendszerére és részlegesen telíti azt, ciklohexadienil típusú gyököt eredményezve, majd sav/bázis katalizált $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ eliminációval alakul át fenoxilgyökké, ahol a párosítatlan elektron az oxigénatomon van.

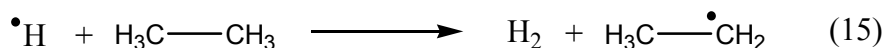


A redukáló ágensek közül a hidratált elektron, a legegyszerűbb anion, erősebb redukáló ágens mint a hidrogén atom. Reakcióit sok oldott anyaggal nagy, a diffúziószabályozott ($\sim 10^{10}$ nagyságrendű) együtthatót megközelítő sebességi együttható jellemzi. A reakciói során, beleértve a fém kationokat is, képes semleges atomokat és rendhagyó vegyértékű ionokat alkotni. Jellemző reakciója az addíció a reagensre, melyet 2 osztályba sorolhatjuk. Az egyik eset az addíciót jelenti (11) a másikat pedig disszociatív elektronbefogásnak nevezik (12). Szerves molekulákkal nukleofilként viselkedik. Aromásokkal, szénhidrogénekkal, konjugált szerkezetű telítetlen molekulákkal, karbonil- és karboxilvegyületekkel, halogénezett szénhidrogénekkal addíciós reakcióban reagál. A hidratált elektronnak látható-UV színtartományban nagy elnyelése van 715 nm-es maximummal, nagy moláris abszorpciós együtthatóval, mely kényelmes megfigyelést tesz lehetővé. A 13-as egyenlet standard redoxpotenciálja -2,87 V.



A hidrogén atom hozama semleges oldatokban kicsi. Savas oldatokban a hozam nagy, hiszen ilyenkor a hidratált elektronok a hidroxidionokkal reagálva hidrogén atomot eredményeznek, a hozam ilyenkor $0,34 \text{ } \mu\text{mol/J}$. A hidrogénatom kevésbé hatékony redukálószer, mint a hidratált elektron. Szervetlen vegyületekkel általában elektron-átadás során reagál. Szerves vegyületekkel szemben nagyobb reakciókészséget mutat, mint a hidratált elektron. Reakciója telítetlen szénhidrogéneken jellemzően a kettős kötésre történő

addícióval játszódik le (14). Alkil vegyületekkel reagálva a hidrogén atom hidrogén molekulává alakul és alkil gyök keletkezik (15).

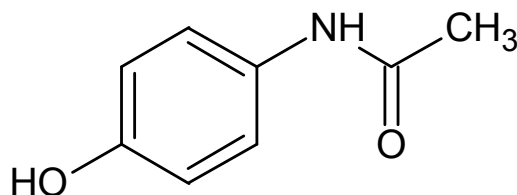


Híg vizes oldatok radiolízise során, a sugárzás energiáját gyakorlatilag 100%-ban a vízmolekulák veszik át, és a belőlük keletkező gyökök támadják meg az oldott vegyületeket. Ezzel a sugárzás energiájának hatása megnő, viszonylag kis dózisu besugárzással is nagy hatás érhető el. Jelentős előnye a módszernek, hogy a reaktív komponensek in situ jönnek létre az oldatban, így nem kell vegyszert hozzáadni.

A lebomlás vizsgálata céljából, a mechanizmusok tisztázására előnyös csökkenteni a reaktív köztitermékek számát, és külön-külön vizsgálni a reakciójukat. Megfelelő körülményeket választva, olyan anyagok hozzáadásával melyek szelektíven reagálnak el az egyik intermedierral ez könnyen elérhető. Ezeket a megoldásokat a későbbiekben, a mérések leírásával tárgyalom [9,10,14,17,18].

2.4. A vizsgált gyógyszermolekula: a paracetamol

A természetes vizekben szennyezőként megjelenő szerves szennyezőanyagok, széleskörűen alkalmazott gyógyszerek, színezékek, peszticidek gyakran tartalmaznak fenolos csoportot, ezért a modellvegyületnek a paracetamolt választottam.



Paracetamol

A paracetamol fehér, kristályos por, szagtalan, kesernyés ízű. Telített oldata kissé savas kémhatású, oldható acetonban, nehezen oldódik éterben vagy benzolban és jól oldódik vízben. A vegyület néhány fizikai-kémiai adata látható a 3. táblázatban.

3. táblázat

A paracetamol általános adatai

Paracetamol	
CAS szám	103-90-2
IUPAC név	<i>N</i> -(4-hidroxifenil)acetamid
Általánosan használt nevek	Acetaminofenol
	4-acetamidofenol
	4-hidroxiacetanilid
Képlet	C ₈ H ₉ NO ₂
Moláris tömeg (g/mol)	151,16
Olvadáspont (°C)	169-172 °C
Forráspont (°C)	>500
Oldhatóság vízben (g/l) _{20 °C}	14
Sűrűség (g/cm ³)	1,293
pKa	9,63

Gyakran előfordul, hogy egy vegyületet gyógyszerként is és a károsítók elleni védelemre is használnak. Ezen anyagok ugyanis gyakran extrém toxikusak lehetnek más szervezetekre. A worfirint alkalmazzák patkányméregként, mindemellett véralvadásgátló; míg a teclosan egy általános biocid, emellett fogrésekben a fogínyvérzés elkerülésére használják. A paracetamolt a barna mangróve-siklók (*Boiga irregularis*) állományának szabályozására is használják. A barna mangróve-sikló Észak-Indonéziában honos, inváziója az 1951-es években kezdődött. Természetes ellenség nélkül, a populációja több mint 150 000-re nőtt négyzetmérföldenként, súlyos gazdasági károkat okozva ezzel. A paracetamol nagyon toxikus rájuk nézve. A vegyülettel mérgezett, elpusztult egerekkel fékezték meg a terjedésüket [19,20]. A paracetamolt alkalmazzák még azoszínezékek előállítása során, és a fotográfiában az egyik származéka révén (monometil-*p*-aminofenol hemiszulfát), mely fényre érzékeny.

A legismertebb és a legnagyobb mennyiségben használják fájdalom- és lázcsillapítószerként az *N*-(4-hidroxifenil)acetamidot. Magyarországon először Rubophen néven több mint tíz éve került forgalomba, s azóta számos vény nélkül kapható gyógyszerkészítmény alkotója (Coldrex, Neo Citran, Saridon). Egy 2000-ben készült

tanulmány szerint benne van az orvosok által legtöbbet felírt 3 gyógyszerben Angliában, 2001-ben a recepteken keresztül kiadott mennyiség több volt mint 1000 tonna [21]. 1994-ben 153,9 millió adag paracetamol írtak fel világszerte. Annak ellenére, hogy könnyen lebomló anyag ($t_{1/2} < 1$ nap), a gyártott és a környezetünkbe kibocsátott hatalmas mennyiség – eddig még ismeretlen – kockázatot vet fel az állati és emberi szervezetre. Meglepő adat, hogy 2005-ben a piaci részesedése a világon a fájdalom- és lázcsillapító készítmények területén majdnem 50%-os és az évenkénti igény 70000 tonna [22].

Széleskörű alkalmazásuk miatt ezen csoport tagjai vannak jelen a legnagyobb mennyiségben a felszíni vizekben, ivóvizekben. Az acetaminofen a leggyakrabban detektált gyógyszerkészítmény ivóvízben, felszíni vizekben és a szennyvíztelepek kifolyóinál. Stuer-Lauridsen és munkatársai [23] az acetaminofen becsült környezeti koncentrációjának (Predicted Environmental Concentration: PEC) értékét $65,4 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ -nek állapították meg az EU-ban. Ezt az értéket egy olyan egyenlet alapján állapították meg, mely figyelembe vette a gyártási volument ($\text{kg}/\text{év}$), a szennyvízből való eltávolítás hatásfokát, a népességet, az egy főre jutó éves szennyvízmennyiséget, és a környezeti hígítási faktort. Az európai szennyvíztisztítók kifolyóinál a mért koncentrációja $6 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (Németország) [24], az USA-ban természetes vizekben pedig $10 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ volt a mért maximális koncentráció [25]. Franciaországban egy tanulmány alapján, melyben 71 felszíni- és 70 talajvíz mintáit vizsgálták, $10,4 \text{ ng}/\text{dm}^3$ volt az első esetben és $10,3 \text{ ng}/\text{dm}^3$ volt a második esetre az átlagos paracetamol koncentráció [26].

Yamamoto és munkatársai [4] 8 különböző gyógyszer perzisztenciáját vizsgálták, ahogy azt már az előzőekben említettem. Az acetaminofen esetén a fotodegradáció nagyon lassúnak bizonyult: több mint 20%-a maradt a kezdeti koncentrációnak 50 óra után; a biodegradáció során a 8 gyógyszer közül a legjobb eredményt adta: 72 óra alatt a fele elbomlott, szorpciós sebesség vizes homok, szilika, és Al_2O_3 esetén is alacsony. Stackelberg és munkatársai egy ivóvíz kezelő üzem egyes hagyományos lépései (szűrés, fertőtlenítés, aktívszenes szűrés) során a megmaradt szennyezőket (szerves anyagok, detergensek, peszticidek stb.) detektálták, s így az egyes lépések szelektív hatékonyságát állapíthatták meg. A szűrés előtt kémiai kezeléssel segítik elő a koagulációt és a flokkulációt (H_2SO_4 , FeCl_3). A paracetamol hidrofíl ($K_{\text{oktanol-víz}} < 1$), ennek eredményeképpen nem detektálták az ülepedett iszapban, a csökkenés valószínűleg a savas közegnek volt tudható (hidrolízis). A klórozás során (fertőtlenítés) a klórgyök reakcióinak következtében szinte teljesen átalakult, így ezután nem is detektálták. A teljes eltávolítási hatékonyság: 98 %-os [27]. Petrovic és munkatársai a Barcelonától nem

messze levő szennyvízkezelő üzem biológiai kezelőinek hatékonyságát vizsgálták több gyógyszervegyület detektálása révén. Ipari méretben működő hagyományos eleven iszapos kezelés és két félüzemi membrán bioreaktor esetén is nagyon jó hatásfokkal távolították el a szennyvízben levő paracetamolt (egyes esetekben a hatásosság: $99,9 \pm 0,1 \%$) [28].

A paracetamol biztonságosan alkalmazható terápiás adagban, instabil szulfát és glükuronil konjugáttá metabolizálódik a kiválasztás során (az alkalmazott paracetamolnak az 51-60 %-a konjugált formában választódik ki). Működése során gátolja a ciklooxygenázokat a centrális idegrendszerben, ami növeli a fájdalomküszöböt. Bár bizonyos koncentráció esetén a paracetamol bioaktiválódhat a citokróm P450 enzim által, ami a monooxygenázok egy nagy családja, és felelős az endogén és exogén vegyületek anyagcseréjéért, ezért májkárosodást és további additív hatást okoz. A szervezetben két úton oxidálódik, az egyik esetben egy reaktív és toxikus intermedier: *N*-acetyl-*p*-benzokinon-imin, a másik esetben egy nem toxikus catechol metabolit: 3-hidroxi-acetaminofen keletkezik [29]. A hepatotoxicitása és más mellékhatásai miatt egyre nő a figyelem a paracetamol és a bomlási termékeinek (melyek toxikusak és veszélyesek lehetnek) a lehetséges környezeti hatásaira.

A vegyület bomlását korábban már több nagyhatékonyságú oxidációs eljárással vizsgálták: fotokatalitikus eljárással: TiO_2/UV rendszer [30,31], fotoindukált oxidációval: $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ rendszer [32,33], elektrokémiai oxidációval [22,34,35], vagy ozonizációval [32]. Bisby és Tabassum a nagy energával iniciált reakciókat tanulmányozta impulzusradiolízis segítségével [36].

Miközben sok kutató foglalkozik az egyedi kezelési eljárások hatásával, hogy a gyógyszer vegyületek koncentrációit redukálják a vizeinkben, kevesebb tanulmány foglalkozik a lehetséges átalakulásokkal illetve annak következményeivel. A fenti tanulmány alapján a legtöbb hidrofíl gyógyszervegyület, ahogy a paracetamol is kicsi szorpciót mutat és a biológiai lebontás sem teljes, s így sok gyógyszer érheti el a kémiai kezelési eljárást. Bedner és munkatársai [37] paracetamol tartalmú szennyvíz fertőtlenítését vizsgálták klórozással (NaOCl). Két terméket azonosítottak egyértelműen, mint toxikus anyagot: 1,4-benzokinon és *N*-acetyl-*p*-benzokinon-imint (NAPQI), mely könnyen elhidrolizál 1,4-benzokinonná. A két vegyület sokkal toxikusabb a paracetamolnál, ha az LD_{50} (letális dózis: azt mutatja meg, hogy az adott anyagból, vegyületből mekkora mennyiség okozza a kísérleti állatok (általában patkány) 50%-ának pusztulását) értékeiket hasonlítjuk össze, akkor a paracetamol esetén ez

500 mg/kg, az 1,4-benzokinonra 8,5 mg/kg, az NAPQI-ra pedig 20 mg/kg (egereken vizsgálva). Tehát az első esetben 58-szor, míg a másikban 25-ször toxikusabb a keletkező anyag. Az emberekben az NAPQI okozza a veszélyt a túladagolás során, erősen hepatotoxikus; míg az 1,4-benzokinon mutagén és genotoxikus hatású.

2.5. Kémiai oxigén igény

A kémiai oxigén igény (KOI) azt az oxigén mennyiséget fejezi ki, amely az egységnyi térfogatú vízben levő oldott és szuszpendált szerves anyag oxidációjához szükséges (mg/l). A KOI meghatározásához erős oxidálószer: kálium-permanganátot vagy kálium-dikromátot használunk.

A kémiai oxigén igény széleskörűen alkalmazott helyettesítő mérés a széntartalom biohasznosulására. Összehasonlítva a biológiai oxigén igény (BOI) teszttel, ami napokat igényel, a KOI sokkal gyorsabban hoz eredményt (néhány óra alatt). A KOI meghatározás erős oxidálószerrel használja a szerves anyagok oxidálására, amelyeket a mikroorganizmusok csak részben vagy egyáltalán nem tudnának oxidálni. A minta KOI értékét végül valamilyen standarddal összehasonlítva számítják pl. ftalát, oxalát, glükóz. A szerves anyag koncentrációja oxigén egyenértékűséget illetően meghatározható a minta kezdeti és a hátralévő oxidálószer koncentrációjából. A legtöbb szerves anyag oxidálható erős oxidálószerekkel, bár az egyenes láncú karbonsavak nem oxidálhatók ezüst-szulfát katalizátor jelenlétében, ezért ezüst-szulfát hozzáadásával elősegítjük a teljes oxidációt. A kloridion, amely egy igen gyakori összetevője a víznek, reagálva az ezüstionokkal ezüst-klorid csapadékot képez, ami megszünteti az ezüst katalitikus aktivitását, ezzel negatív hatást eredményezve. Továbbá a klorid, bromid, vagy jodid is reagálhat a dikromáttal a halogén elemi formáját képezve, ezzel túl nagy KOI értéket eredményez. Ezért higany-szulfátot adunk az oldathoz, ezzel minimalizálva a reakciók egymásra hatását. Mind a szerves, mind a szervetlen komponensek oxidálhatók a KOI mérés során. Ez főként szennyvízminták értékelése során érdekes, ilyen esetekben tartalmazhat nagyobb mennyiségű szervetlen sókat a minta. Ilyenkor, ha kimondottan a szerves komponensek oxidálása a cél, különféle módszerekkel lehet eliminálni ezen anyagokat pl. a kloridion megköthető a Hg^{2+} komplexálás révén [38].

2.6. Teljes szerves széntartalom

A teljes szerves széntartalom (TOC) meghatározását különböző kutatási területeken alkalmazzák. Az adat sok paramétert összegez, így nagy jelentősége van különböző környezetvédelmi és ipari területeken. A TOC analízis alkalmas például a szennyvizekben lévő szerves vegyületek kimutatására, kémiai jellemzésre, a talajok széntartalmának becslésére, a hulladékok humuszképződésének mértékének meghatározására. Az elmúlt években megnőtt az érdeklődés az olyan analitikai megoldások iránt, amelyek képesek mind a szennyeződés mind a minőség ellenőrzésére. Ezek között a megoldások között van a TOC is, mely nagyon értékes kvantitatív és kvalitatív információkat szolgáltat mind a teljes értékről mind a variáció sokaságáról.

2.7. Toxicitás

A toxicitás vizsgálatok hatásmechanizmusa általában az anyag (ágens) és a biológiai rendszer egymásra hatásán alapszik. A vizsgálandó anyag károsító hatása a biológiai érzékelő (receptor) rendszerénél jelentkezik és a biológiai rendszer válaszából (mérési jel) következtetünk az anyag toxikus hatására. Számos toxicitás vizsgálati módszer terjedt el a gyakorlatban (Daphnia, hal, alga, lumineszcens baktériumok). A mérések végpontja lehet a növekedés (pl. sejtszám), túlélés, halál, immobilizáció, légzés: O_2 fogyasztás, CO_2 termelés, enzimaktivitások [39].

Minden környezeti tanulmányban, amelyek a szennyvizek, ill. egyéb felszíni vizek tisztaságával kapcsolatosak, fontos megbecsülni az új kémiai anyagok (gyógyszerek) mérgező hatását a környezetre, itt beleértve az embert is. A szennyvízkezelés folyamán lényeges, hogy ne kerüljenek ki a telepek kifolyóiból olyan anyagok, amelyek még a kezdetinél is toxikusabbak, s amelyek a kezelési eljárások folyamán alakultak ki (ahogy a fertőtlenítés hatására sokkal toxikusabb termék képződött). Így vizsgálataink során nemcsak azt vettük figyelembe, hogy a szerves vegyület milyen szinten bomlott le (KOI, TOC), hanem azt is, hogy esetleg az nem alakult-e át toxikusabb vegyületté.

A toxicitást lumineszcens baktériumot használva vizsgáltuk. A *Vibrio fischeri* baktériumot alkalmazó biolumineszcencia gátlási próba szélesben elterjedt és standard ökovizsgálat. Használják tiszta anyagok, toxikus kifolyók, szennyvizek, üledékek vizsgálatához. A toxicitást a baktérium fénykibocsátásának gátlása révén mérjük. A

toxikusság alapjául szolgáló hatás ebben a vizsgálatban nagyon változatos és komplex: a toxicitás oka lehet a sejt felületén lévő receptorok interakciója, a sejtmembrán funkcióinak megszűnése, a sejt anyagainak kémiai reakciója vagy az enzim rendszer gátlása/versengése révén. Szinergista és antagonisták kölcsönhatások más anyagokkal további nehezítő faktorok, amelyek nagymértékben megváltoztathatják a mérgező hatást a sejten belül és azon kívül, illetve a sejtmembránban. Olyan oldószer használata, melyben oldódik az egyébként másban nem oldódó anyag módosítja a toxicitást. Más esetben az is előfordulhat, hogy az anyag indirekt módon rombolja le a sejtet azon keresztül, hogy disszociál vagy szétesik olyan anyagokra, amelyek sokkal mérgezőbbek. Az is előfordulhat, hogy éppen a savas pH lesz a toxicitás oka. További forrása a változatosságnak az, hogy részleteiben eltérő eljárás az elfogadott a különböző biovizsgálatok esetén és különböző összeállítású reagenseket használnak. Egyes gyártók a baktériumot liofilizálva, míg mások folyadék formájában lefagyasztva készítik elő. Ugyanakkor eltérések vannak a baktériumok regenerálásának folyamatában is. Összegezve, a lumineszcencia gátlás függ kisebb vagy nagyobb mértékben attól, hogy milyen biovizsgálati rendszert alkalmazunk [40].

Fontos különbséget tenni az általános (vagy narkózis) toxicitás és a specifikus (vagy reaktív) toxicitás között. Az általános toxicitás a sejt membrán funkcióinak nem specifikus megzavarását jelenti, míg a specifikus toxicitás során az anyag kölcsönhatásba kerül vagy megzavar egy funkciót egy adott receptor részen. Specifikus toxicitásúak például azon anyagok, amelyek az oxidatív foszforilezést kapcsolják ki, amelyek légzés, acetilkolin-észteráz gátlók, és központi idegrendszer lefoglaló ágensek. Egy nem-specifikusan toxikus anyag hatása várhatóan kapcsolatban áll azzal a hajlammal, hogy mennyire halmozódhat fel a sejtmembránban. A legtöbb vízi toxicitást meghatározó teszt időigényes és drága, de a legnagyobb hátrányuk, hogy valós összehasonlítható adatok nincsenek minden vegyületre. Ahhoz, hogy általánosan meg tudjuk adni egy anyag nem-specifikus toxicitását, olyan egyenleteket kell alkalmazni, melyek az anyag olyan állandóiból indulnak ki, amelyek a toxicitást okozzák. Számos tanulmány foglalkozik ezzel. Poole és munkatársai egy általános szemléletet állapítottak meg a faj-specifikus (pl. *Vibrio fischeri*) és nem specifikus toxicitás értelmezésére, melyben a szorpciós jellemzőket használja fel. Az egyenletben, mely a McGowan jellemző térfogatát, többlet moláris refrakcióját, az oldott anyag effektív hidrogén-kötés savasságát, és effektív hidrogén-kötés bázicitását használja fel, a különböző fajokra megadott toxicitás értékek esetén különböző súlyozó együtthatókat, konstanszt alkalmazva [41].

A *Vibrio fischeri* egy tengeri baktérium, amely a természetben a kurtafarkú tintahal speciális fénykibocsátó szervében él és optimális körülmények között, anyagcsereje során fényt bocsát ki. A lumineszcens baktériumok, mint a *Vibrio fischeri* is fényt emittálnak. Az enzim, ami ezt okozza a baktérium luciferáz enzimje, ami az alábbi reakciót (16) katalizálja:



A reakció sorozat folyamán az első lépésként a flavin mononukleotid (FMN) bekebelez egy oxigént és a továbbiakban reagál az aldehiddel FMN.H₂O komplexet képezve, ami fényemisszió útján bomlik el. A biolumineszcencia arányos a sejt anyagcsere állapotával. Toxikus anyagok változást okoznak ebben az anyagcsere folyamatban, amit a biolumineszcencia csökkenés azonnal jelez [1].

3. A munka célja

A munkám célja egy általánosan használt gyógyszermolekula, a paracetamol sugárzással indukált lebontása, illetve a bomlás kinetikájának tanulmányozása sugárkémiai módszereket alkalmazva. A kísérleti munka során a technikák széles tárházát ötvöztem. Impulzusradiolízis segítségével vizsgáltam a közti termékeket, illetve a gamma-besugárzás során keletkező végtermékek (elszintelenedés, mineralizáció) azonosítására UV-Vis spektroszkópiát, HPLC-elválasztást követő MS-t használtam. Emellett mértem a különböző koncentrációjú paracetamol oldatokban a kémiai oxigén igényt (KOI), a teljes szerves széntartalmat (TOC) és a toxicitást (*Vibrio fischeri*) a sugárdózis függvényében.

Céлом az is, hogy a kapott eredmények alapján javaslatot tegyek a bomlás mechanizmusára.

4. Mérések

4.1. Vegyszerek

A paracetamolt a Sigma-Aldrich-től rendeltem (tisztaság: 98 %), az összes többi vegyszert a Spectrum-3D-től vagy Carlo Erba-tól szereztem be.

4.2. Folyamatos γ -besugárzás

A besugárzást szobahőmérsékleten végezték ^{60}Co γ -berendezéssel, 1,5 kGy/óra dózisteljesítménnyel. A besugárzó panoráma típusú, a besugárzótér $4 \times 4 \text{ m}^2$ alapterületű. A ^{60}Co sugárforrások üzemén kívül a padlószint alatt, vizes akna típusú sugárforrás-tárolóban találhatók. A sugárforrások a tárolótérből a bejáratú ajtó bezárt ajtaja mellett húzhatók fel a hengeres elrendezésű sugártartókba. A besugárzandó tárgyak sugárforrás körüli manuális elhelyezésével oldható meg a besugárzás. A berendezés alkalmas mezőgazdasági termékek sugárkezelésére, egészségügyi termékek sterilizálására szakaszos üzemben. Ezek mellett a berendezést tudományos célú besugárzásokra is alkalmazzák. A berendezés kialakítása és a sugárvédelem 2×10^{15} és 5×10^{15} Bq közötti aktivitás használatát teszi lehetővé.

Dozimetria

A klórbenzol és vizes etanol oldatát levegőn besugározva HCl képződik, melynek koncentrációja meghatározható titrálással, vas(III)-nitrát és $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ adagolása után spektrofotometriás módszerrel, vagy a besugárzott doziméter kinyitása nélkül, nagyfrekvenciás vezetőképesség méréssel.

Az etanol-klórbenzol dozimétert (Ethanol-chlorobenzene dosimeter = ECB) elterjedten alkalmazzák gamma-besugárzó vagy elektrongyorsító berendezések esetén. A megbízhatóságát sok nemzetközi, kétoldalú program bizonyítja, beleértve a Nemzetközi Atomenergia Ügynökséget (International Atomic Energy Agency = IAEA) és számos nemzetközi szabvány hivatalt. A módszert több mint 20 országban alkalmazzák rutinszerűen. Az MTA Izotópkutató Intézetben is ezt a módszert alkalmazzák.

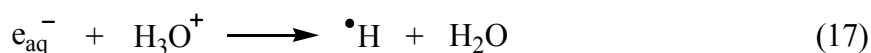
Az oszcillometria a vezetőképesség mérés elektroanalitikai módszere, ahol nagy frekvenciájú váltakozó áramot alkalmazunk a kémiai rendszerben történő változás követésére vagy mérésére. Az oldatot tartalmazó ampullát, melyet tesztelünk vagy egy kapacitív cella lapjai közé vagy egy oszcillátor önindukciós tekercsbe helyezünk. A fő előnye a módszernek, hogy az elektród nem érintkezik az oldattal közvetlenül, így a vizsgálat zárt ampullában kivitelezhető. Tehát a módszer nem destruktív, ezért lehetséges a gyors, ismételhető, rutinszerű kiértékelése a besugárzott minták dozimetriáját illetően. Az oldat vezetőképessége a keletkező HCl, vagyis H^+ és Cl^- -ionok hatására nagymértékben megváltozik. A koncentrációja lineárisan függvénye az elnyelt dózistól 0,1 és 100 kGy dózis tartományban. Ismert dózissal besugárzott ampullák segítségével kalibrációs görbét felvéve meghatározható az elnyelt dózis. Nagyobb dózisoknál a reakció bonyolultabbá válik. A doziméter oldat szokásos összetétele: 24 térf.% monoklórbenzol, 72 térf.% etanol és 4 térf.% víz. Az oldathoz gyakran 0,04 térf.% benzolt és acetont is adnak, mint az etanol gyakori szennyezőit. A doziméter oldatot 2 cm^3 térfogatú leforrasztott üvegampullákban sugározták be [13,14]

A nem destruktív analízisnek köszönhetően a besugárzott doziméter kiértékelése akárhányszor megismételhető, Kovács és munkatársai a besugárzott ECB doziméternek az eltarthatóságát 15 év után $\pm 4\%$ reprodukálhatósággal mérték ki [42].

4.3. Az egyedi reakciók vizsgálatának módszerei

Megfelelően megválasztott kísérleti körülményeket alkalmazva lehetséges a fő reaktív gyökök számának csökkentése, s ezáltal információhoz juthatunk a további reakció mechanizmusokról, vagy a leginkább lehetséges reakció utakról. Az egyedi köztitermék-reakciók vizsgálatához különféle adalékok segítségével köztitermék-átalakításokat hajthatunk végre [6,14]:

- N_2 vagy Ar gázzal telített oldatokban pH=3 és pH=11 között a $\bullet OH$, e_{aq}^- és a $H^\bullet$ reagálnak.
- pH=2 alatt N_2 -nel vagy Ar-nal telített oldatokban közel ekvivalens mennyiségben a $\bullet OH$ gyök és a $H^\bullet$ atom a fő reaktív ágens. Savas közegben ugyanis, a e_{aq}^- a hidroxónium ionokkal reagálva $H^\bullet$ atommá alakul (17). A $H^\bullet$ hozama ilyenkor viszonylag nagy: $G=0,34\text{ }\mu\text{mol/J}$.



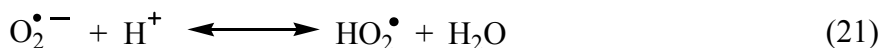
- $\text{H}^\bullet$ reakcióinak vizsgálatához N_2 -nel vagy Ar -nal telített, $0,2\text{-}1 \text{ mol/dm}^3$ *tert*-butanolt tartalmazó $\text{pH} = 2$ alatti oldatokban kerülhet sor. Savas oldatokban a hidratált elektronok közel teljes mértékben hidrogénatomokká alakulnak (17). A $\text{H}^\bullet$ és a *tert*-butanol közti reakció lassú (18). A $\bullet\text{OH}$ pedig elreagál a *tert*-butanollal (19). Ebben a rendszerben tehát jelen van a *tert*-butanolból képződő, viszonylag nem reaktív gyök is, mely nem redukáló tulajdonságú, és a legtöbb szerves vegyülettel nem lép reakcióba (ennek ellenőrzése az utolsó pontban tárgyalt körülményekkel lehetséges). A $\text{H}^\bullet$ hozama $0,34 \mu\text{mol/J}$, míg a *tert*-butanolból képződő gyök hozama: $0,28 \mu\text{mol/J}$.



- A e_{aq}^- -ok reakcióinak tanulmányozása N_2 -nel vagy Ar -nal telített oldatokban $\text{pH} = 3$ felett és $0,2\text{-}1 \text{ mol/dm}^3$ *tert*-butanol jelenlétében lehetséges (kismértékű hozzájárulás a $0,062 \mu\text{mol/J}$ hozammal jelenlévő $\text{H}^\bullet$ -nak). A hidroxilgyök ilyenkor a (19)-es reakció szerint elreagál, az oldatban a *tert*-butanolból keletkező gyök itt is jelen van.
- A $\bullet\text{OH}$ reakcióinak vizsgálata N_2O -dal telített oldatokban $\text{pH} = 3$ -tól $\text{pH} = 11$ -ig terjedő tartományban lehetséges. (A telített oldat N_2O koncentrációja $0,025 \text{ mol/dm}^3$ szobahőmérsékleten). Ilyen oldatokban a e_{aq}^- -ok $\bullet\text{OH}$ gyökké alakulnak a (20)-as reakció szerint. A teljes $\bullet\text{OH}$ hozam $0,56 \mu\text{mol/J}$. Emellett kismértékű hozzájárulása a $\text{H}^\bullet$ -nak is van ($\sim 10\%$), $0,062 \mu\text{mol/J}$ hozammal van jelen az oldatban.



- A levegőn végzett mérések esetén, ahol oldott oxigén van jelen az oldatokban, a reaktív ágensek a $\bullet\text{OH}$ és a $\text{O}_2^{\bullet-}/\text{HO}_2^\bullet$ (szuperoxid anion gyök/ perhidroxilgyök) pár, ami a e_{aq}^- és $\text{H}^\bullet$ atom O_2 -nel bekövetkező reakciójában képződik (6, 7-es egyenletek). A 2 gyök között sav/bázis egyensúly áll fenn $\text{pK}_a = 4,8$ értékkel (21).



- Azok az oldatok amelyek *tert*-butanolt tartalmaznak (a fenti koncentrációban) és O_2 -nel vannak telítve a $\text{O}_2^{\bullet-}/\text{HO}_2^\bullet$ pár reakcióinak tanulmányozására alkalmasak.
- A N_2O -dal telített, *tert*-butanolt tartalmazó oldatokban $\text{pH} = 3$ felett lehetőséget ad a fentiekben már említett, *tert*-butanolból képződő gyök reaktivitásának vizsgálatára az oldatban lévő komponensekkel szemben.

A különböző koncentrációjú besugárzott mintákat ezután többféle módszerrel is értékeltem. A végtermék kísérletek során UV-Vis spektroszkópiát, HPLC elválasztást követő UV-Vis és MS detektálást alkalmaztam. Emellett mértem a minták KOI, TOC értékeit és a toxicitását is. A koncentrációk különbsége az egyes mérések eltérő érzékenysége (pl. Toxicitás-KOI), illetve a legmegfelelőbb mérési paraméterek miatt szükséges.

4.4. Végtermékek azonosítása

UV-Vis

Az UV-Vis spektroszkópia az egyik legrégebben alkalmazott műszeres analitikai módszer. Az elektromágneses sugárzás és az anyag kölcsönhatásának egyik fajtáján, a fényelnyelésen alapszik. A molekulák energiaállapota kvantált. A molekula elektron, rezgési és forgási energiával rendelkezik. UV-Vis tartományú fény kölcsönhatása esetén a molekulák elektronenergiája gerjesztődik, miközben a vibrációs és forgási átmenetek is gerjesztődnek. Ha egy molekula olyan fotonnal találkozik, melynek energiája megegyezik a két energiaszint közötti különbséggel, akkor a foton elnyelődhet úgy, hogy átadja neki energiáját, miközben a molekula gerjesztett állapotba kerül. A molekula többletenergiájától leggyakrabban fénykibocsátással járó folyamatban szabadul meg (fluoreszcencia, foszforeszcencia), ezt a kibocsátott fényintenzitást mérjük. Így kvantitatív vizsgálatra alkalmas. Adott hullámhosszon, az abszorbancia egyenesen arányos a koncentrációval, így mennyiségi elemzés is végezhető (Lambert-Beer-törvény) (22).

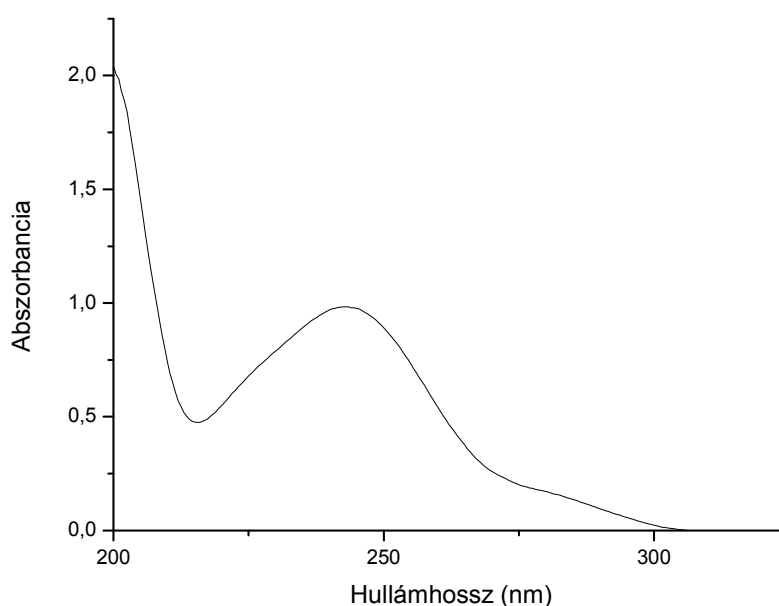
$$A(t) = \log \frac{I_0}{I(t)} = \varepsilon_{\lambda} c(t) l \quad (22)$$

I_0 a beeső fény intenzitása, $I(t)$ az átengedett fény intenzitása, ε_{λ} ($\text{dm}^3/\text{mol cm}$) a hullámhosszhoz tartozó moláris abszorbancia, $c(t)$ (mol/dm^3) a koncentráció és l (cm) az optikai úthossz a mérőcellában.

Az UV-Vis méréseink során 10^{-4} mol/dm^3 -es oldatokkal dolgoztunk, ebben a tartományban a koncentráció-abszorbancia függvény megőrzi linearitását, tehát érvényes a Lambert-Beer törvény.

A minták értékelése JASCO 550 UV-Vis spektrofotométerrel, 1 cm-es küvettát használva történt.

Az aromás rendszerek esetén a π - π^* átmenet gerjeszthető a legnagyobb energiával. A paracetamolnak a $\lambda_{\text{max}} = 242,5$ nm-nél van maximális elnyelése. A spektrumok felvétele egyszerű módja a molekula átalakulásának, az aromás gyűrű lebomlásának nyomonkövetésére. Segítségével az aromás gyűrű állapotáról is kaphatunk fontos információt pl. egy elektronküldő csoport addíciója a spektrumban auxokróm hatást okozhat azon keresztül, hogy megnöveli az aromás gyűrűn az elektronsűrűséget, amely így kisebb energiájú fotonnal (nagyobb hullámhossz) is gerjeszthető lesz.



5. ábra: 10^{-4} mol/dm³-os besugárzatlan paracetamol oldat UV-Vis spektruma.

A mérések előtt ellenőriztem a paracetamol oldat stabilitását. Minden mérés előtt felvettem az UV-Vis spektrumot és összehasonlítottam a korábban készült oldat spektrumával. A paracetamol mindegyik esetben stabilnak bizonyult az idő múlásával (5. ábra). A különböző körülmények között (levegőn mért, N₂O-dal telített, N₂-nel telített *tert*-butanolos és N₂-nel telített minták) különböző dózisokkal (0; 0,4; 0,6; 1; 2; 4; 6; 8 kGy) besugárzott minták esetén felvettem az UV-Vis spektrumot.

HPLC

A kromatográfias módszerek célja a minta összetevőinek térbeli elválasztása, kvalitatív és kvantitatív elemzése. A folyadék kromatográfia (**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography) az egyik leggyakrabban alkalmazott analitikai módszer család.

A folyadékkromatográfiás elválasztás alapja, hogy a különböző fizikai-kémiai tulajdonságú komponensek megoszlása a mozgó- és az állófázis között eltérő. A HPLC egy dinamikus adszorpciós módszer. A folyamatok reverzibilisek, ebből következően a fizikai szorpció kategóriába sorolhatók. Típusától függően különböző adszorpciós kölcsönhatások kapnak fő szerepet, s szabják meg a retenció (tartózkodási) időt. Hidrofób kölcsönhatások a jelentősek a fordított fázisú elválasztás esetén, dipol-dipol kölcsönhatások dominálnak a normál fázisú elválasztásnál és az ionos kölcsönhatások határozzák meg a tartózkodási időt az ion-kromatográfia esetén. Az összes interakció kompetitív. A vizsgált molekulák versenyeznek az eluens molekulákkal az adszorpciós helyért. Az analát molekulák kölcsönhatása a felszínnel erősebb, az eluens molekulák esetén gyengébb, így az analát molekulái tovább maradnak a felszínen, tehát tovább tartózkodnak az oszlopon.

A HPLC fő részei a pumpa, az injektor, a kolonna, a detektor és az adatrögzítő. A kolonna a szíve az egésznek, ebben található a töltet, itt történik az elválasztás. Mivel az állófázist mikrométeres nagyságú porózus szemcsék alkotják, nagy nyomású (100-200 bar) pumpa szükséges, hogy a mozgó fázis a kolonnán áthaladjon. A kromatográfia során az oldószerek 2-3 tároló edényből változatlan összetételben (izokratikus elúció), vagy meghatározott program szerint összekeverve kerülnek felhasználásra (gradiens elúció). Maga a kromatográfiás folyamat akkor kezdődik, amikor beinjektáljuk a mintát. Végül az eluáló elegy minden komponense a detektor által rögzített, sávként vagy csúcsként jelenik meg az idő függvényében, mely maga a kromatogram.

A HPLC elválasztás tehát a felszíni kölcsönhatásokon alapul, a kölcsönhatás az adszorpciós felületről is függ. A modern adszorbensek kis, merev, pórusos részecskék nagy felszínnel. Az adszorbensek fő paraméterei a részecske méretük, és a méreteloszlásuk, melynek a lehető legszűkebbnek kell lenni (általában 10%-on belüli); a töltet szerkezete, pórusmérete, a töltet felszínének kémiaja. A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiában a kis molekulatömegű anyagok ($M_w < 10000$) elválasztásakor a szilikagél típusú állófázisok használata közel 90%-os. A porózus szerkezetű, mechanikailag ellenálló szilikagél felszínét különböző módszerekkel lehet módosítani, így eltérő tulajdonságú adszorbenseket kapva. Az eltérő módon előállított és utókezelt szilikagélek kromatográfiás tulajdonságai eltérőek. Attól függően, hogy milyen típusú csoportok kapcsolódnak a felülethez, az adszorbens lehet normál fázisú (-OH, -NH₂), fordított fázisú (-C₅, -C₈, -C₁₈, -CN, -NH₂) és anion (CH₂NR₃⁺OH⁻) vagy kation (RSO₃H⁺) cserélő. Az eluens összetétele és típusa alapján befolyásolhatjuk az elválasztást. A mozgófázisnak tisztának, detektor kompatibilisnek, alacsony viszkozitásúnak,

kémiailag inertnek kell lennie, mindemellett a mintát is oldja. Normál fázisú módszer esetén az oldószer általában apoláris, fordított fázisú módszer esetén az oldószer általában víz és valamilyen szerves oldószer (acetonitril, metanol) keveréke.

A méréshez fordított fázisú folyadékkromatográfiát (Reversed Phase Chromatography= RP-HPLC) használtam, C₁₈-as kolonnával. A kolonna pontos típusa: Nucleosil 100 C18, 5 µm-es szemcseméretű, 15 cm hosszú, 0,4 cm² keresztmetszetű, Technokroma® volt. A C₁₈-as töltet a legelterjedtebb, különösen alkalmas gyógyszerhatóanyagok, vitaminok, drogok, környezetvédelmi mérések esetén. A fordított fázisú kromatográfiánál az állófázis mindig apolárisabb jellegű, mint a mozgófázis (a normál fázisúnál pont fordítva van, a név is innen ered). Ahhoz, hogy a normál fázisú folyadékkromatográfiában használt mechanikailag stabil szilikagél poláris felületét apolárisra tegyük, alkilcsoportokkal kell a felületet módosítani. Ezt leggyakrabban valamilyen szilinalizálási reakcióval érik el. A C₁₈-as oszlop esetén ez az R felvitt szilanolcsoport a C₁₈H₃₇ (oktadecil-szilán), elnevezései: RP-18, ODS; C-18. A hidrofób felületet alkotó C18-as alkil-láncok gyenge diszperziós kölcsönhatásra képesek. A kialakított szilikagél alapú fázisok mindegyike nagy mechanikai stabilitással bír, azonban a pH-változásra érzékenyek: pH = 2 alatt a szilanolizálással felvitt csoportok hidrolízise kezdődik meg, pH = 8-9 felett az alap szilikagél oldhatósága kezdődik meg, így tehát alkalmazási területük a pH = 2-8 közötti tartomány. Vannak olyan vegyületek, melyek esetén pH > 9 szükséges. Ilyen esetekben más típusú állófázisra van szükségünk. A mozgófázis az RP-HPLC-ben poláris, kis viszkozitású, és a detektálást nem zavaró oldószerkeverék, melynek legpolárisabb összetevője a víz. A víznek a legkisebb az eluenserőssége, tehát a legnagyobb a visszatartása a kolonnán. A szerves komponens: metanol, acetonitril, etanol, 2-propanol, THF, dioxán. A fentiekben felsorolt oldószerek a vízzel elegyítve megfelelő elválasztást adnak. Ionos vagy könnyen ionizálható csoportot tartalmazó (savas vagy bázikus csoportok) anyagok vizsgálata esetén az előnytelen erős kölcsönhatások kiküszöbölése végett a mozgó fázis pH-ját a nekünk megfelelő értéken kell tartani, pufferelni kell. A pH-kontrollnak az célja, hogy a mozgó-fázisban jelen lévő molekuláris formák arányának állandóságát ill. kifejezetten csak az egyik forma jelenlétét biztosítsuk.

Az értékelés során HPLC elválasztás utáni Jasco MD-2015 Plus diódasoros detektorral felszerelt berendezést alkalmaztam. Az áramlási sebesség 1 cm³/perc volt, a beinjektált mennyiség pedig 20 µl. Az eluens 5% - acetonitril 95% víz, izokratikus elúcióval.

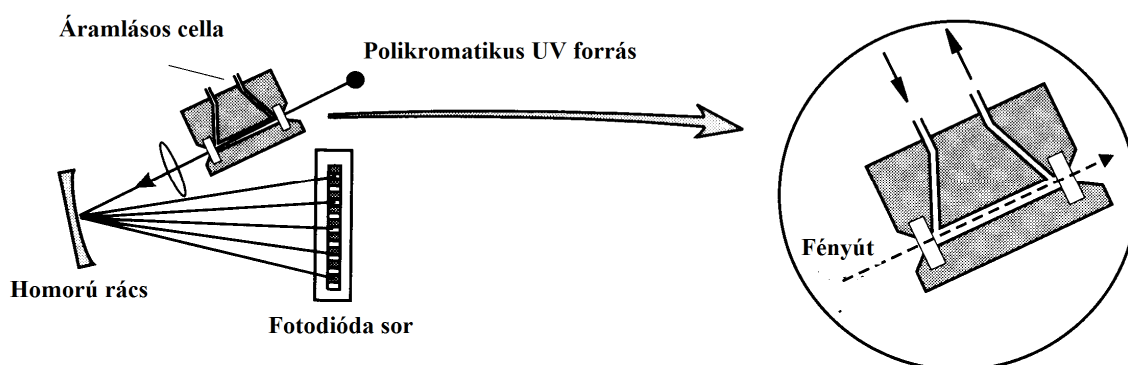
Az azonosításhoz Agilent Technologies Quad 4610 HP/MS rendszert használtam, HPLC elválasztást követő MS detektálással. A mérés gradiens elúcióval 0-5% acetonitrillel vízben történt.

A HPLC mérések során 10^{-3} mol/dm³-es oxigén jelenlétében (levegőn) mért oldatokat vizsgáltam.

Detektorok

A. Diódasoros UV-Vis detektor

A spektrumot folyamatosan mérő detektor. A küvetta polikromatikus fénnel világítják meg, a felbontás a küvette után történik (6. ábra). A szétterült fénynyalábot egy diódasorra vetítik. Egy-egy diódára vagy fénymérő egységre beérkező fény egy-két nm-nek megfelelő rész a spektrumból. Az elrendezés lehetővé teszi, hogy a teljes vizsgált spektrumtartományban az egész spektrumot folyamatosan regisztráljuk.



6. ábra: Diódasoros UV-Vis detektor.

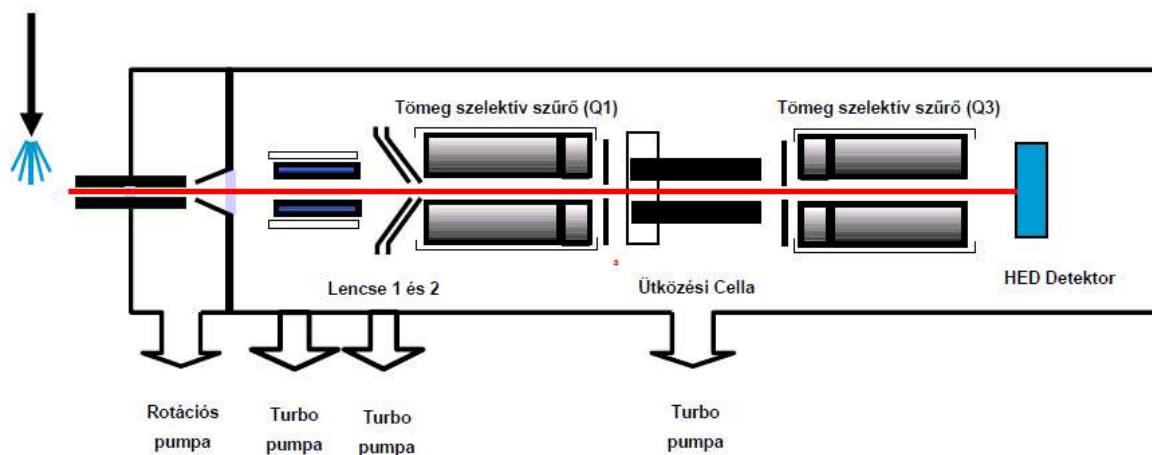
B. MS detektálás

A tömegspektrometria korszerű elválasztási módszerekkel kapcsolva a mai analitikai gyakorlat leghatékonyabb része. A tömegspektrométer ideális detektor a HPLC-ben: a különböző molekulatömegű összetevőket külön méri, s nagyon kis koncentrációk is mérhetők vele. A molekulák fragmentációján, s az így keletkező ionok tömegének meghatározásán alapszik. Az ionos részecskéket fajlagos tömegük szerint, csökkentett nyomáson, elektromos vagy mágneses mezők segítségével választjuk el. Az elválasztott ionok intenzitását folyamatosan mérjük, s így egy ionáram intenzitás-fajlagos tömeg függvénykapcsolathoz, az úgynevezett tömegspektrumhoz jutunk, mely a minőségi információ alapja.

Az MS részei: mintabeviteli rendszer, ionforrás az ionoptikával, analizátor, detektor, vákuumrendszer, végül a számítógép az adatkezelővel.

Az ionforrás feladata, hogy a vizsgálandó molekulából valamilyen gerjesztő energia segítségével (kinetikus, fény, elektromos, kémiai) ionokat hozzon létre, majd ezeket azonos kinetikus energiával gyorsítva egy nyalábban jutassa el az analizátorba. Az atmoszférikus nyomású ionizációs (API = atmospheric pressure ionization) módszerek, különösen az elektroszpré és a pneumatikus elektroszpré, áttörést jelentett a kromatográfiás technika és a tömegspektrometria kombinálásának területén. A két legjelentősebb API módszer a mai napig az atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció (Atmospheric Pressure Chemical Ionization: APCI) és az elektroszpré ionizáció (Electrospray Ionization: ESI). A nem-poláris anyagok ionizációja atmoszférikus nyomáson lehetővé vált az atmoszférikus nyomású fotoionizációt követően. Az általam használt berendezésben az ionforrás az elektroszpré ionizációt (ESI) alkalmazza. Az ESI technika különösen alkalmas akkor, ha a vizsgálandó anyag poláris, termikusan instabil tulajdonságú. Az ESI során a kolonnáról eluálódó molekulákat porlasztó gáz (nagy tisztaságú N_2) feszültség alatt lévő kapillárison porlaszt keresztül. A folyadékcseppekbe zárt töltéshordozók sűrűsége az intenzív párolgás (de nem degradáló hőhatás) következtében egyre nagyobb lesz, s szinte szétrobbannak a cseppek, a szabaddá vált ionok pedig a gyorsítás után az analizátorban elválaszthatók m/z ($z = n \cdot e$) értékük alapján. Az $[M+H]^+$ vagy $[M+H]^-$ ionok tehát nagyon labilis (termikusan) anyagokból képződnek termikus bomlás nélkül. A kémiai szerkezettől függően, többszörösen töltött ionok is képződhetnek. A módszert gyakran alkalmazzák a gyógyszerkutatás területén, mivel a fizikai-kémiai tulajdonságaik révén alkalmasak ehhez a technikához.

Az analizátor választja el az ionforrásból nagy sebességgel érkező ionokat fajlagos tömegük szerint. A berendezésben egy hármass kvadрупól készülék (Triple-stage quadrupole mass spectrometer = TSQMS) található (7. ábra).



7. ábra: Hármass kvadрупól rendszer szemléltetése.

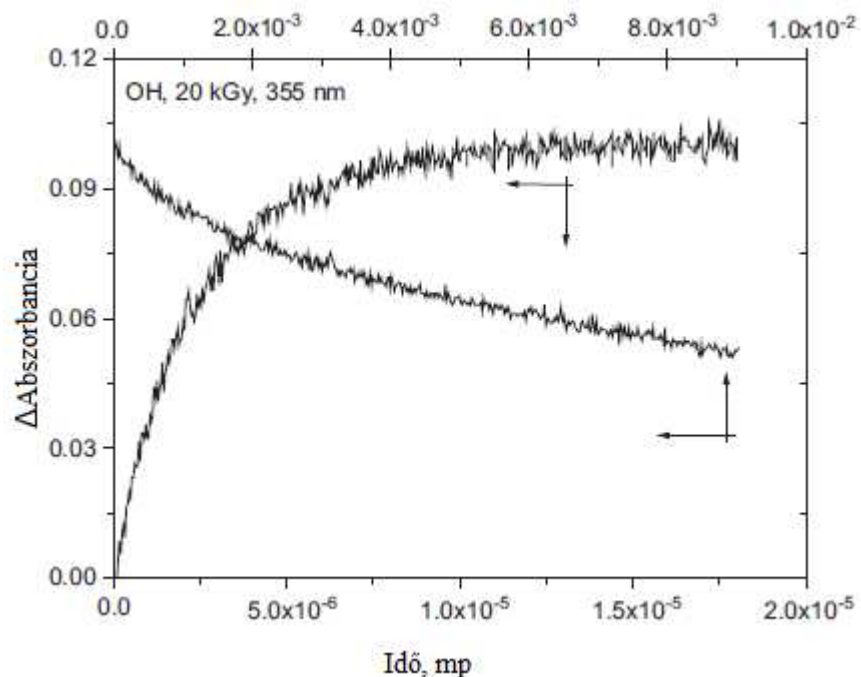
A kvadрупól analizátorok 4 párhuzamos hengeres rúdból épülnek fel. Két-két szomszédos rúdra ugyanolyan nagyságú, de ellentétes potenciálú V egyenfeszültséget kapcsolnak, amire váltófeszültséget szuperponálnak. A belépő ionokra ennek következtében a kialakuló, tengelyre merőleges irányú elektromos tér erővonalai hatnak. Így a belépő ionokra merőlegesen ható erő eredményeként oszcilláció alakul ki. Csak az az ion képes a detektorba jutni, amelyik sajátfrekvenciája megegyezik a kvadрупól tér pillanatnyi frekvenciájával. Az amplitúdó alakulását az analizátor geometriai és elektromos paraméterei valamint az ionok tömege szabja meg. Elérhető, hogy csak egy bizonyos tömegű ion/ionok végezhetnek stabil oszcillációt a kvadрупól terén belül, a többi pedig a rudaknak ütközik. A hármass kvadрупól készülék két darab analizátor egységet tartalmaz. A Q_1 tömeg analizátor szűri a kívánt ionokat, amelyeket N_2 segítségével a Q_2 -n belül fragmentálnak, és a fragmens ionokat ezt követően a Q_3 szkenneli. Tehát az ionizáció $\rightarrow$ tömeganalízis során izolált iont újabb reakcióba visszük (fragmentáljuk) és az így nyert termékionokat m/z érték szerint újra szétválasztjuk. Mind a két kvadрупól analizátor szabályozható úgy, hogy csak bizonyos m/z értékekkel rendelkező egyedi ionokat vagy csak egy bizonyos tartományt engedjen át. Ezáltal TSQMS segítségével sokkal gazdagabb információhoz jutunk a molekula szerkezetével kapcsolatban. A molekulatömeg ismerete nem elég ahhoz, hogy a szerkezetet azonosítsuk, ennek a tandem-

tömegspektrometriának (MS/MS) az alkalmazásával a struktúrára jellemző információk is rendelkezésünkre állnak. Nagyobb felismeréssel bír a kémiai háttérre, ami erősödést eredményez a szelektivitásban és az érzékenységben. A TSQMS használható egy-állású módban, amikor csak az egyik kvadrupól működik. A kvadrupól analizátorok nagy előnye, hogy képesek pozitív és negatív ion módban is működni.

A detektor fő feladata, hogy az egyes ionok számával arányos intenzitású jelet szolgáltatson. A legelterjedtebben ion vagy fotosokszorozó detektorokat használnak [43].

4.5. Impulzusradiolízis kísérletek

Az impulzusradiolízis egyedülálló eszköz arra, hogy $\cdot\text{OH}$ gyököket és más erős oxidánsokat állítsunk elő vizes közegben, és vizsgáljuk ezek reakcióit. A módszert arra alkalmazzuk, hogy tanulmányozzuk a reaktív intermedierek képződését és bomlását radiolízises körülmények között. A kezdeti kémiai változások inicializálására gyorsított elektronok rövid pulzusát használjuk, mely hatására reaktív intermedierek képződnek: gyökök, ionok, molekulák. A már fent említettek szerint, vizes oldatok radiolízise során a hidratált elektronok, a hidroxilgyök és a hidrogénatom a legreaktívabb első intermedierek, melyek megtámadják a molekulát. Ennek során másodlagos intermedierek keletkeznek. Ezek koncentrációját követhetjük fényabszorpciójuk során, a technikát kinetikus spektrofotometriának nevezzük. A kinetikai görbét az intermedierek spektrumának kalkulálására használják (pl.: azoszínezékek esetén: 8. ábra). Ez a spektrum jellemző a képződött intermedierekre és bármely változás vagy a spektrum alakjában vagy a maximum hely hullámhosszában jelzi a változást a kémiai szerkezetben. A kinetikus görbéről, amelyet általában a spektrum maximumánál vesznek fel rövid időléptékben (ns vagy néhány μs), megadható a primer intermedierek bomlásának és a szekunder intermedierek képződésének sebességi együtthatója. A hosszú időtartamú mérések alapján kiszámítható a gyógyszer molekula átalakulásának sebességi együtthatója. A reakciókörülmények megválasztásával az egyes intermedierek reakciói ezen esetben is külön-külön tanulmányozhatók, így sebességi együtthatójuk a vizsgált molekulára szintén egyenként megadható.



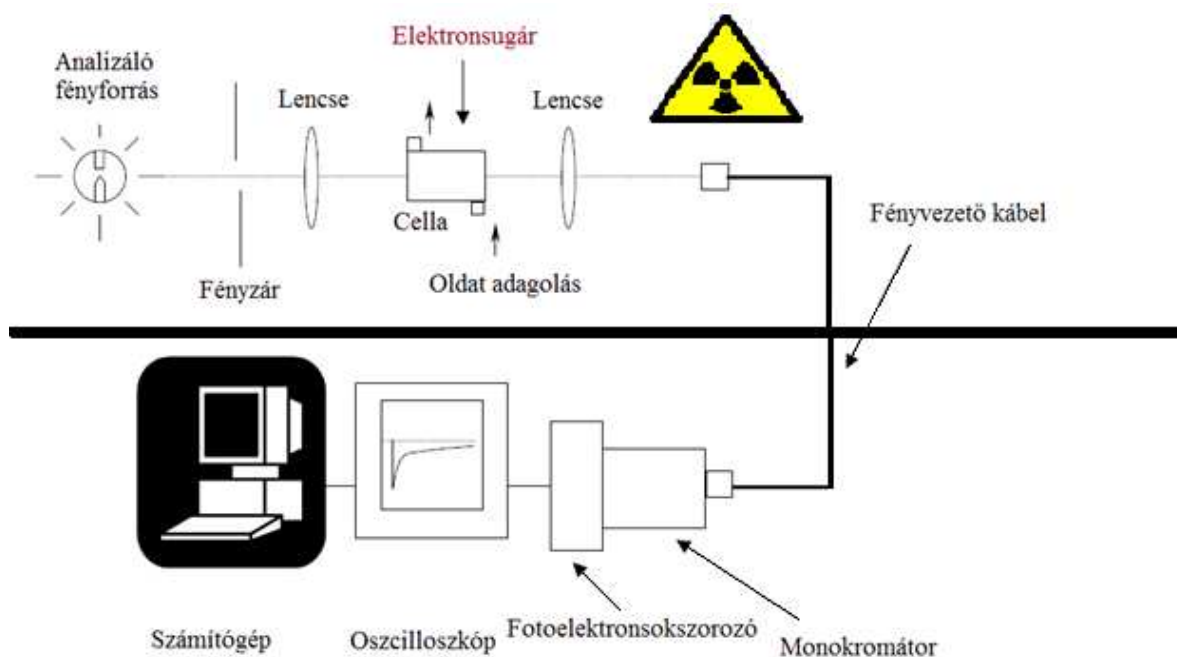
8. ábra: Jellemző kinetikai görbe. Az impulzusradiolízis kísérlet során az intermedier felépülése és lebomlása [44].

Berendezés

Az impulzusradiolízis méréseket az MTA Izotópkutató Intézetében végeztük TESLA LINAC LPR-4 jelű lineáris elektrongyorsító berendezésen. A gyorsítóberendezés 3-5 MeV átlagenergiájú elektronsugárzást állít elő. Az elektrongyorsító impulzusüzemben működik, az előállított elektronnyaláb áramerőssége csúcstértékben 200 mA. A berendezés izzó katódból kilépő az 50-100 keV energiára előgyorsított elektronokat magnetron által keltett elektromágneses hullámok segítségével gyorsítja a fénysebesség mintegy 99 %-ára. Az elektronimpulzus hosszúsága 2,6 μ s, egy elektrosztatikus eltérítő rendszer lehetővé teszi, hogy ebből az impulzusból kb. 800 ns hosszúságú részt kivegyünk.

Az impulzusradiolízis technikát tehát a közttermékek közvetlen megfigyelésére fejlesztették ki. A kísérletek során rövid ps- μ s időtartamú, néhány MeV energiára felgyorsított elektronok impulzusát bocsátják a mintára. Az átmeneti spektrum felvételéhez a legelterjedtebb technika a fényabszorpciós vagy fényemissziós technika. A kinetikus spektrofotometriás mérés abban különbözik a hagyományos spektrofotometriás méréstől, hogy csak egyetlen fényutat használ; és a referencia-fényintenzitás a besugárzás előtt a mintán áthaladó fény intenzitásának értéke. A számítógépes adatfeldolgozás nagyszámú mérés

görbéinek átlagolását teszi lehetővé, s ezért a kinetikus spektrofotometria nagy érzékenységgű: 1%-nál kisebb fényáteresztési változások pontosan mérhetők.

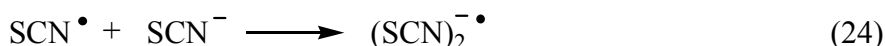
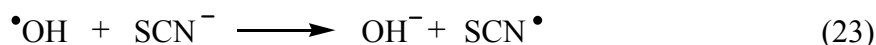


9. ábra: Impulzusradiolízises mérőberendezés sematikus rajza (MTA IKI) [14].

A mérőegyettes két részből áll (9. ábra): maga a gyorsító és az optikai rendszer egy része, a cella átvilágításához szükséges fényforrás, a leképezést biztosító lencserendszer, a minta melegedésének és fotolízisének gátlására szolgáló fényzár és a cella képi az egyik részt, a másikat pedig a monokromátor, fotoelektron-sokszorozó, oszcilloszkóp és a számítógép. A második részt az elsőtől vastag, a sugárvédelmet biztosító betonfal választja el. Ide a mérőcellából kilépő fényt fényvezető kábelén vezetik. A nagy érzékenységhez az optikának a lehető legtöbb fényt kell a detektorba juttatnia, ehhez nagy fényhozamú lámpára van szükség (pl. xenonlámpa). A lámpák fényintenzitásának stabilizálására gyors működésű elektronikus rendszert alkalmaznak. A minta gerjesztését követően létrejövő néhány százalékos jelváltozás méréséhez a fotodetektor nagy egyenáramú jeléről (I_0) le kell választani a tranziens jelet (ΔI), melyet az úgynevezett backing off egység végez, ezt a két értéket méri (I_0 , ΔI) és tárolja. A detektáló rendszer egyik fontos eleme a monokromátor, mely a mintán keresztül érkező fényjelből a kívánt hullámhosszúságút kiválasztja. A monokromátorból kilépő fény fotoelektron-sokszorozóba megy, mely azt átalakítja elektromos jellé.

Dozimetria

Az impulzusradiolízis során tiocianát dozimétert alkalmazunk. A méréshez KSCN 0,01 mol/dm³-es oldatát használjuk, a mérést levegőn végezzük. Besugárzás hatására az oldatban a 24-es egyenletben leírt gyök anionok keletkeznek, melyek ~475 nm-es maximummal erős átmeneti fényelnyelést eredményeznek.



A $(\text{SCN})_2^{\bullet-}$ továbbalakulása a rendszerben viszonylag lassú, másodrendű folyamatok révén játszódik le, így a doziméterrel nagy dózisú impulzusok is kényelmesen mérhetők. A dózis az abszorbanancia növekedéséből, az alábbi képlettel számolható (25):

$$D = \frac{\Delta A}{G \times \varepsilon_{475} \times l \times \rho} \quad (25)$$

l az optikai cella úthossza, ρ a sűrűség, a $G \times \varepsilon_{475}$ értéke pedig $2,6 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{J}$ [14].

A mérésekhez átfolyásos küvétát, 2 cm-es cellával alkalmaztam. A folyadék áramlását (a mérésnek megfelelő) gáz segítségével értem el. Az impulzusradiolízis kísérletekhez mikroszekundumos időskálát alkalmaztam.

Minden kísérletet szobahőmérsékleten végeztem. A minták koncentrációja $5 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ volt, a pulzusonkénti dózis 19 kGy.

4.6. Kémiai oxigén igény

A KOI mérést a 6060:1989 ISO szabványnak megfelelően egy Behrotest T RS 200 COD rendszerrel végeztem.

A módszer elve

A mintát higany(II)-szulfáttal és tömény kénsavban oldott ezüst katalizátort tartalmazó kálium-dikromát ismert mennyiségével meghatározott időn keresztül forraltam, miközben a dikromát egy része redukálódott. A visszamaradó dikromátot pedig vas(II)-ammónium-szulfáttal visszatitráltam. A módszer 30-700 mg/l KOI értékű szennyvizek esetében alkalmazható. Töményebb minták esetén az oldatok hígítása szükséges.

Szükséges vegyszerek: 4 mol/dm^3 koncentrációjú kénsav-oldat, ezüst-szulfát-kénsav oldat, $0,04 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú kálium-dikromát referenciaoldat, $0,12 \text{ mol/dm}^3$ koncentrációjú vas(II)-ammónium-szulfát (Mohr-só) mérőoldat, $2,0824 \text{ mmol/dm}^3$ koncentrációjú kálium-hidrogén-ftalát referencia oldat, végül ferroin-indikátor. A felsorolt vegyszerek csak bizonyos ideig használhatók fel: a kálium-dikromát referencia-oldat 1 hónapig, a kálium-hidrogén-ftalát referenciaoldat pedig 1 hétig. A vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat koncentrációját minden mérés előtt célszerű ellenőrizni.

Szükséges eszközök: olyan melegítő berendezést kell alkalmazni, ami 10 perc alatt forrásig melegíti a mintát, továbbá reflux hűtőt célszerű alkalmazni annak érdekében, hogy csökkentsük az illékony vegyületek okozta veszteséget. 250 ml-es csiszolatos lombikot használtam, amelyre a melegítés folyamán visszafolyó hűtőt tettem. A pontos minta és vegyszer bevitel érdekében 10 ml-es 0,02 ml-es beosztású precíziós bürettát alkalmaztam.

Mérés menete

A minták melegítéséhez Gerhardt Kjeldatherm típusú fűtőberendezést alkalmaztam, a méréshez szükséges hőmérséklet 150°C . Minden lombikba 5-6 darab horzsakövet és egy-egy mágneses keverőt tettem. A minták bemérését 10 cm^3 -es kétjelű pipettával végeztem. A mérendő mintákat összerázással homogenizáltam, minden mintánál két párhuzamos mérést végeztem. Az 1. számú lombikba a kálium-hidrogén-ftalát referenciaoldat került, a 2. számú lombikba pedig vakmintaként a desztillált víz (10-10 ml). Ezután 5-5 ml kálium-dikromátot adagoltam, majd óvatosan, lassan 15 ml ezüst-szulfát-kénsav oldatot mértem a mintákhoz. A lombikokat a hűtővel és az állvánnyal együtt a fűtőlapra helyeztem, majd 120 percig forrásban tartottam, majd hagytam szobahőmérsékletre hűlni. Ezt követően 45 ml desztillált vizet adtam hozzá, majd 3 csepp ferroin indikátort adagoltam és digitális bürettával a vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldattal az adagolást addig végeztem, amíg a kékes-zöld oldat vöröses-barna színűre vált.

Minden méréssorozatnál ellenőriztem a reakciókörülményeket és a vegyszer tisztaságát (koncentrációját) oly módon, hogy 10,0 ml kálium-hidrogén-ftalát referenciaoldatot a mintákkal azonos módon kezeltem. A kálium-hidrogén-ftalát referenciaoldat elméleti KOI értéke: 500 mg/l. Ha legalább 95%-os visszanyerést érünk el (475 mg/l), akkor a kísérleti körülmények megfelelőek. A vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat koncentrációját minden mérés során meghatároztam. A titráló lombikba 10 ml kálium-dikromát oldatot mértem, majd 90 ml 4 mol/dm^3 koncentrációjú kénsavval 100 ml-re hígítottam és mágneses keverőt

helyeztem bele. Szintén 3 csepp ferroin indikátor jelenlétében vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldattal vöröses-barna színig titáltam. A vas(II)-ammónium-szulfát oldat koncentrációját a következők szerint tudtam kiszámolni (26):

$$c \text{ (mol/ dm}^3\text{)} = \frac{10,0 \times 0,040 \times 6}{V} = \frac{2,4}{V} \quad (26)$$

V = a titrálás során fogyott vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat térfogata (ml)

Az eredmények kiértékelése:

A kémiai oxigén igény (KOI) értékét mg/dm^3 -ben a következő képlet alapján számítottam (27):

$$\text{KOI} = \frac{8000 \times c \times (V_1 - V_2)}{V_0} \quad (27)$$

c : a vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat számított koncentrációja (mol/ dm^3)

V_1 : a vakpróba titrálására fogyott vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat térfogata (ml)

V_2 : a vízminta titrálására fogyott vas(II)-ammónium-szulfát mérőoldat térfogata (ml)

V_0 : a minta térfogata, ha hígított mintát vizsgálunk, akkor a hígítás előtti térfogat (ml)

8000: az $\frac{1}{2}$ O_2 -nek megfelelő móltömeg.

Az eredményeket a legközelebbi egész értékre kell kerekíteni, a 30 mg/l alatti értékeket pedig $<30 \text{ mg/l}$ értéként adjuk meg [45].

Annak érdekében, hogy az optimális koncentráció értékénél mérjek, a KOI mérést $1 \times 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ -es oldatok esetén végeztem, melyeket 0, 5, 10, 15, 20, 40, 50 kGy dózissal sugároztak be. A mérés kevésbé érzékeny, mint például a toxicitás teszt, ahol a baktériumok kis behatásra is elpusztulhatnak. Magasabb dózisokat kell alkalmazni, ha a molekulát teljesen le akarjuk bontani, mint abban az esetben, amikor csak a gyűrű megbontása a cél. A KOI érték a szennyvízminták egyik legfontosabb jellemzője.

4.7. Teljes szerves széntartalom

A módszer elve

Általánosságban a teljes széntartalom két formában van jelen, szerves (OC = organic carbon) és szervetlen szén (IC = Inorganic carbon) formában. Szén-dioxid, szénsav és a disszociációs termékeik vannak jelen a vízben, főként ezek alkotják tehát a szervetlen széntartalmat. A TOC méréseknek alapvetően két fajtájuk van: direkt és indirekt módszer. Az elgondolás az, hogy az összes különböző formában jelenlévő szenet alakítsuk át egyszerűbb formára: szén-dioxiddá, ami kvantitatíve könnyen mérhető. A direkt módszer esetén a mintában levő szerves széntartalom mérésének két útja van. Az első esetben először eltávolítják a mintából a szervetlen széntartalmat savas kezeléssel mielőtt megmérnék a szerves széntartalmat. A másik esetben nem távolítják el az IC-t és kémiai oxidációval (pl. dikromát) határozzák meg az OC tartalmat. Az indirekt módszer esetén az OC tartalmat úgy kapjuk meg, hogy a teljes széntartalomból (Total Carbon)-ból kivonjuk az IC-t. A teljes széntartalmat az összes jelenlévő szén oxidációjával, miközben az IC-t a savas kezelés során felszabaduló gázból vagy az OC eltávolítást követő bomlás segítségével határozzák meg. A módszer nem alkalmazható olyan minták esetén, amelyek IC-ben gazdagok és OC-ben pedig szegények.

A TOC méréseket Shimadzu gyártmányú TOC-VCSN típusú készülékkel végeztem, melynek működése katalitikus égetésen és a nem diszperzív infravörös (NDIR) gáz analízisen alapul. A mérendő minta TOC értékének 50 és 500 mg/l között kell lennie. Ha a minta ennél magasabb TOC értékű, akkor a KOI méréshez hasonlóan itt is a minta hígítása szükséges. A TOC analizátor az indirekt módszer elvén működik, tehát először a teljes széntartalmat méri, majd ezután a szervetlen széntartalmat, és a kettő különbségéből számolja a TOC értéket ($TOC = TC - IC$). A meghatározás bizonytalansága (TOC koncentráció mg/l), a relatív standard szórás nem haladhatja meg az 1%-ot. Amennyiben ez mégis előfordul, a mérés megismétlése válik szükségessé.

A mérés menete

A TOC analizátoron belül a mintát vivőgáz (nagy tisztaságú szintetikus levegő a mi esetünkben) szállítja. A vivőgáz ellenőrzésére egy nyomásszabályozót és egy tömegáram mérőt alkalmazunk. A vivőgáz 150 ml/min-es térfogatárammal érkezik az égőtérbe, mely egy Pt katalizátorral töltött cső, benne a hőmérséklet 680 °C. A mintában lévő összes széntartalom az égetés után CO₂ formájában jelenik meg. A vivőgáz a benne lévő szén-dioxiddal és egyéb

égéstermékekkel együtt elektromos szárító berendezésbe kerül, ahol lehül és dehidratálódik. Ezután áthalad egy halogén gázmosó berendezésen, mielőtt eléri a nem diszperzív infravörös (NDIR) detektort, ami a széndioxid mennyiségét méri. Az IR elnyelés egy széleskörűen alkalmazott technika, amely sikeresen alkalmazható a kémiai eljárások folyamatos megfigyelésére. Az IR hullámhossz tartománya nagyjából 800-15348 nm-ig terjed, a kereskedelemben kapható készülékek a közeli (800-2500 nm) vagy a középső IR (2500-15348 nm) tartományban is működhetnek. A TOC analizátorokhoz használt detektorok közül a legelterjedtebb az NDIR, mely a középső IR tartományban működik ahol, az IR elnyelő gázok interferenciája minimális. A CO₂ IR aktív rezgése, vagyis az aszimmetrikus vegyértékrezgése 2349 cm⁻¹ hullámszámnál ad csúcsot. Az NDIR analóg detektációs jele egy csúcsot képez, a csúcs alatti területet adat processzor méri meg. A csúcs alatti terület arányos a minta TC koncentrációjával. A mérések előtt szükség van az analizátor kalibrációjának elvégzésére, mely során egy ismert koncentrációjú minta (TC standard oldat) segítségével kalibrációs görbét rajzol, melyről leolvasható a csúcs alatti terület és a TC koncentráció közötti összefüggés. A kalibráció után az analizátor könnyen meghatározta a mérendő minta TC koncentrációját. Második lépésben meghatározta a szerves széntartalmat. A készülékbe bejuttatott mintából a szerves szén szén-dioxid formájában savval felszabadítja, amelyet aztán a NDIR detektor jelezni tud. A két adatból pedig számolható a teljes szerves széntartalom. Az első esetben a beinjektált minta mennyisége 20 µl, míg a másik esetben 27 µl.

A méréseket szintén 1 × 10⁻³ mol/dm³-es oldatok esetén végeztem, melyek 0, 5, 10, 15, 20, 40, 50 kGy dózissal sugároztak be. A TOC és a KOI értékek nem függetlenek egymástól, különböző arányszámokkal lehet jellemezni a köztük lévő viszonyt. A mérés célja az anyag teljes lebomlásának, mineralizációjának a nyomon követése. A folyamatos oxidáció következtében a végső termékek a CO₂, H₂O, N₂ lehet, miután a molekula teljesen lebomlott. A paracetamol teljes mineralizációja esetén az egyenlet (28):



Ezt a folyamatot nevezzük mineralizációnak [46,47]. A mineralizáció foka általában követhető a TOC érték csökkenésével (29):

$$\text{Mineralizáció \%} = \frac{\text{TOC}_{\text{kezdeti}} - \text{TOC}}{\text{TOC}_{\text{kezdeti}}} \times 100\% \quad (29)$$

4.8. Toxicitás

Mérés menete

Az oldat akut toxicitása Microtox berendezéssel, lumineszcens baktériumokkal [1, 31, 35] Lange LUMISTox 300 berendezés alkalmazásával határoztam meg. A teszt könnyen elvégezhető, gyors, reprodukálható, érzékeny és alacsony költségű más tesztekhez képest. Az akut toxicitás meghatározására fagyasztva szárított *Vibrio fischeri* baktériumot alkalmaztam, mely Lange GmbH (Düsseldorf, Németország) gyártmány. A 30 perces standard biolumineszcencia tesztet a DIN/EN/ISO 11348-2 szabvány szerint végeztem el. A lumineszcens baktériumokat közvetlenül felhasználás előtt kell felolvasztani. A reaktivált baktériumokat 4 órán belül fel kell használni, a baktériumokat a teszt előtt regenerálni szükséges. Ehhez a gyártó cég megfelelő oldatot szolgáltat, mely glükóz / NaCl oldatát tartalmazza pH = 7-re pufferálva, a megfelelő ozmózisnyomást biztosítva: 2 %-os NaCl-oldat (tengervíz). A reaktiválás során először felolvasztottam a regeneráló oldatot, felráztam, majd a LUMISTherm készülékben $15 \pm 0,2$ °C-ra temperáltam. Közben felolvasztottam a baktériumokat vízfürdőben 2 percre, közvetlenül a reaktiválás előtt. A mérendő minták elkészítése során ellenőrizni kellett a pH-értéket és szükség esetén pH = 6 - 8 közötti értékre kellett állítani HCl vagy NaOH segítségével (legkedvezőbb: pH = $7 \pm 0,2$). A mérendő mintáknak is biztosítani kellett a megfelelő ozmózisnyomást, így addig adtunk hozzá NaCl-ot, amíg a koncentráció el nem érte a 2%-ot. Ha a minta sókoncentrációja meghaladja a 20 g/l értéket, nem szabad több NaCl-ot hozzáadni (irányadó érték: a vezetőképesség 35 mS/cm), a minta sótartalma nem haladhatja meg az 50 g/l értéket (ekkor a vezetőképesség 70 mS/cm). Mind a baktérium szuszpenziót, mind az előkészített mérendő anyagot tartalmazó oldatot termosztálni kellett a termoblokkban $15 \pm 0,2$ °C-ra. A minta jelenlétében bekövetkező fénykibocsátás gátlás mértékét a nem mérgező kontroll oldattal összehasonlítva határoztam meg. A kontroll oldat egy 7,5%-os NaCl oldat. A biolumineszcenciát luminométerben mértem (LUMISTherm, Lange GmbH) még közvetlenül az anyag hozzáadása nélkül is, majd a mérendő oldatot hozzáadva 30 perces inkubációs idő után szintén megmértem a fénykibocsátás mértékét. A szabvány alapján mérhetek hígítási sort pl. az EC₅₀ érték meghatározása céljából, vagy a megfelelő mérési koncentráció keresése céljából. Különböző koncentrációjú minták: 1×10^{-3} , 5×10^{-4} és 1×10^{-4} mol/dm³ esetén mértem különböző dózisoknál a minták toxicitását. A lumineszcens baktériumok ártalmatlanok, kiönthetők a lefolyóba, velük kapcsolatban soha nem észleltek semmiféle patogén hatást [48,49].

Akut toxicitás mérése esetén a koncentráció-hatás görbéről olvashatjuk le a 10, 20, 50 vagy 90%-os gátlást okozó koncentrációt. A szakirodalomban gyakran használják az EC_{50} és LC_{50} értékeket, melyek azt az effektív és letális koncentrációkat jelenti, mely az első esetben a mérési vagy vizsgálati végpont 50%-os csökkenését okozza, a másik esetben pedig a teszt organizmusok 50%-os pusztulását okozza.

Vizsgálataim célja nem az, hogy teljes képet kapjunk a keletkező vegyületek ökotoxicitását illetően, ehhez mindenképpen összetettebb, nemcsak egy fajspecifikus toxicitás mérés elvégzése lenne szükséges. Céлом annak megállapítása, hogy a kezelés során keletkező anyagok károsabbak, toxikusabbak-e a kezdeti molekulánál, s ezáltal elősegíteni egy optimális kezelési paraméter meghatározását.

5. Eredmények és értékelésük

5.1. A paracetamol lebomlása

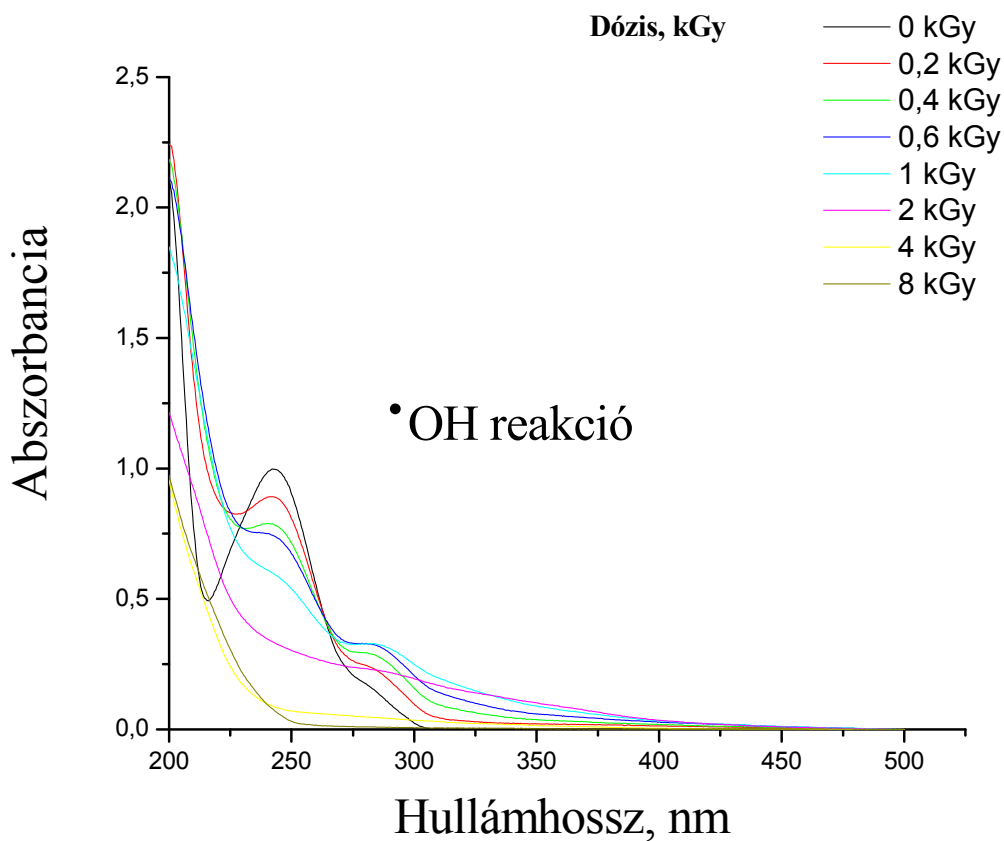
A híg oldat besugárzása során az energiának gyakorlatilag 100%-át a vízmolekulák veszik át reaktív köztitermékeket képezve. A víz radiolíziséből származó 2 fő reaktív intermedier a hidroxilgyök ($\bullet OH$, $0,28 \mu mol/J$) és a hidratált elektron (e_{aq}^- , $0,27 \mu mol /J$), a hidrogén atom hozama nagyon kicsi ($H^\bullet$, $0,055 \mu mol/J$). Vizes közegben az oldatban végbemenő változásokat ezen köztitermékek indukálják.

Amennyiben a kísérleti körülményeket megfelelően választjuk meg, csökkenthetjük az elemi reaktív gyökök számát, így szelektíven csak az egyik köztitermék reakcióját vizsgálhatjuk. Ezáltal információkat kaphatunk a reakciók mechanizmusáról, illetve ezeknek lehetséges reakcióútjáról.

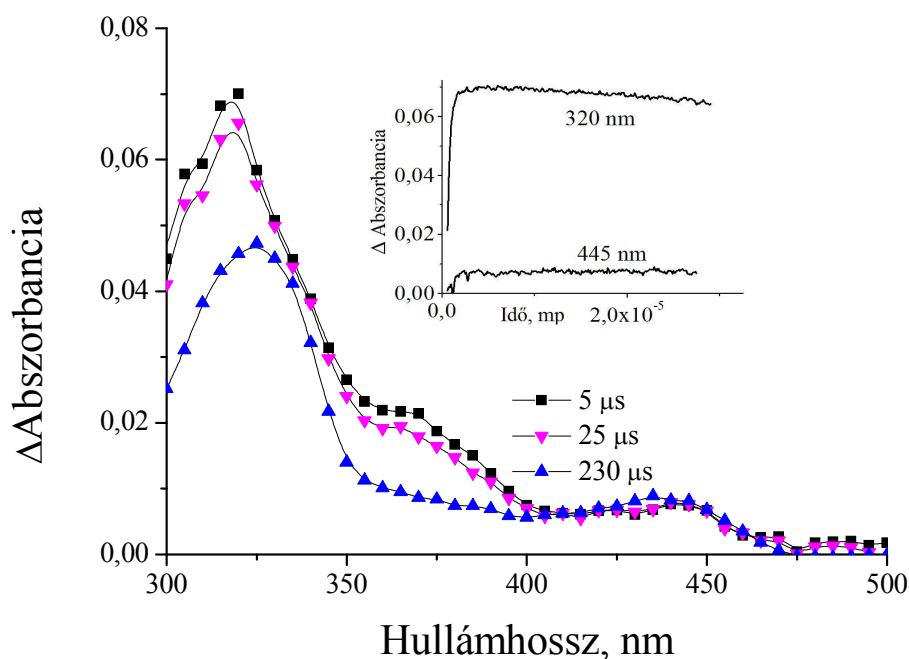
5.2. Hidroxilgyök reakciói

A sugárkémia gyakorlatának megfelelően az oldatot dinitrogén-oxiddal telítettem, mellyel a hidratált elektron elreagál és $\bullet OH$ -öt eredményez ($G = 0,56 \mu mol/J$) a fent említett, (20)-as számú reakcióban [50].

Az abszorpciós spektrumon látható (10. ábra), hogy a paracetamol gyorsan lebomlik a $\bullet\text{OH}$ indukált reakcióban. A $\lambda_{\text{max}} \approx 245$ nm-nél az abszorbancia, és így az oldatban 1×10^{-4} mol/dm³ koncentrációban jelen lévő paracetamol 8 kGy abszorbeált dózisonál eltűnik. Kis dózisoknál új csúcs figyelhető meg 290 nm körül, de nagyobb dózisonál ez is eltűnik.



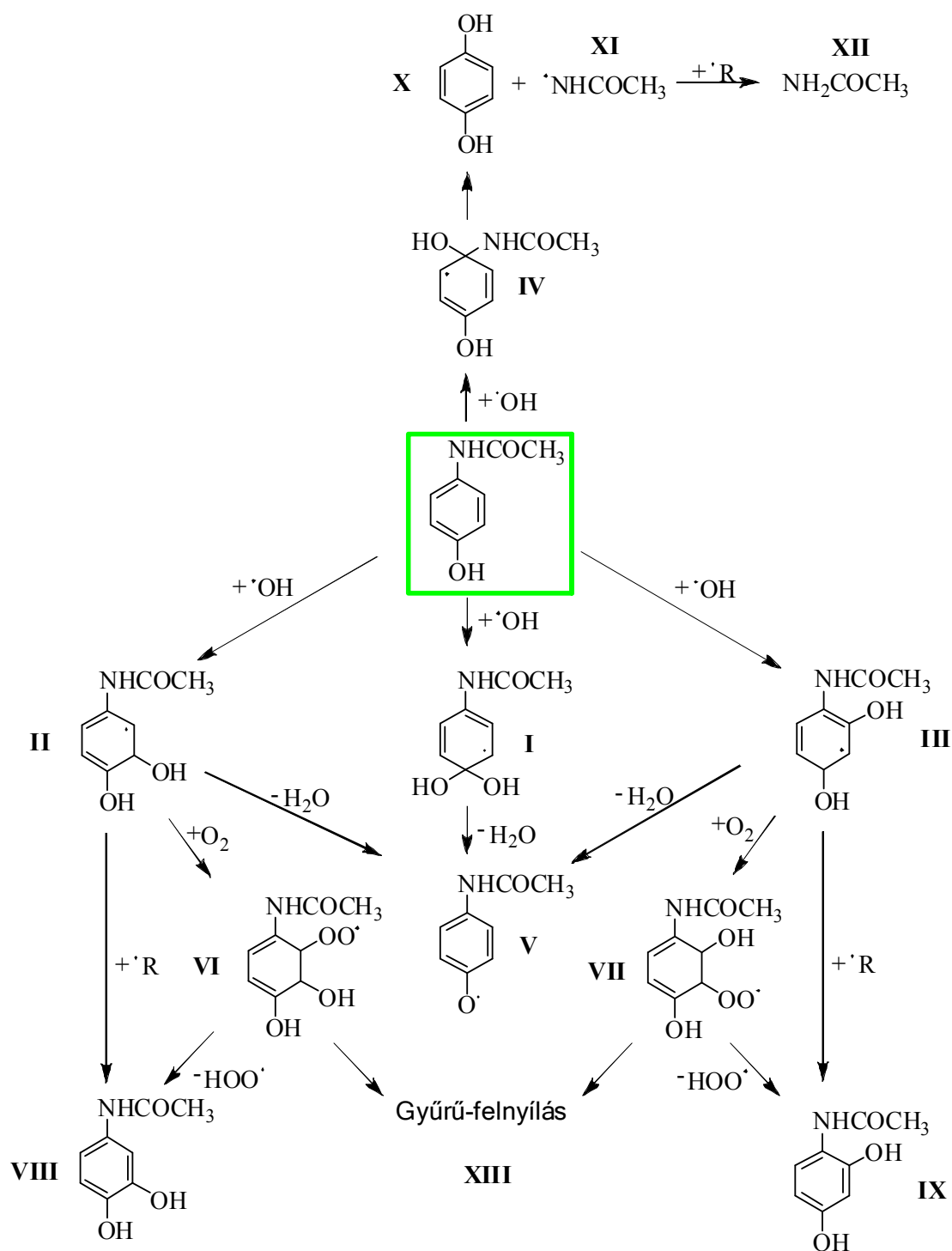
10. ábra: Besugárzott paracetamol oldatok ($c = 10^{-4}$ mol/dm³) abszorpciós spektrumai N_2O -dal telített oldatban: a $\bullet\text{OH}$ reakciója.



11. ábra: Paracetamol oldat (N_2O -dal telített, $c=5 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, dózis/impulzus: 19 kGy) átmeneti spektruma.

A $\cdot\text{OH}$ és paracetamol közti reakció sebességi együtthatóját $5,6 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol s}$ -nak találtuk az impulzusradiolízis kísérletek során, a köztitermék spektrum fényelnyelési maximumánál felvett kinetikai görbékből számolva. Bisby és Tabassum $9,8 \pm 0,4 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol s}$ értéket mért [36]. (Kompetitív technikát alkalmazva, állandósult kísérleti körülményekkel valótlánul kicsi sebességi együttható állapítható meg: $1,7 \times$ és $2,2 \times 10^9 \text{ dm}^3/\text{mol s}$ [33,35]).

Az eredmények sokasága a fenol típusú vegyületek különböző nagyhatékonyságú oxidatív eljárásokkal történő degradációjára, Bisby és Tabassum impulzus radiolízis vizsgálatai a paracetamollal, és az általam végzett végtermék és impulzus radiolízis kísérletek alapján feltételezhető a következő mechanizmus (12. ábra), mely a degradáció kezdeti lépéseire vonatkozik.



12. ábra: Paracetamol $\cdot\text{OH}$ által előidézett bomlásának mechanizmusa ($\text{R}\cdot$: szerves gyök).

Első lépésként a $\cdot\text{OH}$ az aromás gyűrűhöz kapcsolódik és dihidroxiciklohexadienil-gyök keletkezik. Bár a kapcsolódás a gyűrű bármelyik szénatomjára lehetséges, így *ipso*-, *orto*-, *meta*- és *para* helyzetben szubsztituált termékek jöhetnek létre, az *orto*-helyzetű addíció a kedvezményezettebb [35].

A köztitermékek abszorpciós spektrumán a 300-400 nm közötti sáv a dihidroxiciklohexadienil-gyök elnyelése (II, III, és IV). Kis hullámhosszaknál az intenzitás csökken az idővel, míg nagy hullámhosszaknál az abszorbancia változatlan marad, vagy alig nő (11. ábra), ez a sáv az iminokinon-szerű gyökhöz tartozik (V) [36]. Az *ipszo*-addukt általában nem stabil, és azonnal tovább is alakul iminokinon-szerű gyökké. Az *orto*-, *meta*-addukt sokkal stabilabb és dehidratálódik jellemzően 100 μ s-os időskálán. Bisby és Tabassum gyorsabb, ~ 10 μ s-os időskálán végbemenő dehidratációt figyelt meg, ami valószínűleg a puffer jelenlétének tudható be a kísérleteikben [35].

Nagyobb gyök-koncentrációnál a dehidratációs reakció versenyez két dihidroxiciklohexadienil-gyök bimolekuláris reakciójával. Ez utóbbi egy részben telített gyűrűhöz vezet, és egy a gyűrűn OH-szubsztituált paracetamol molekulához. A későbbi termék két lehetséges változatát, az *N*-(3,4-dihidroxifenil)acetamidot és *N*-(2,4-dihidroxifenil)acetamidot a fotokatalitikus kísérletek során figyelték meg [30,33,35] (lásd később). Ezekben a kísérletekben a $\bullet$ OH volt a fő reaktív ágens. Ilyen vegyületeknek lehet hasonló abszorpciós spektruma mint a paracetamolnak, de az aromás rendszer jellemző elnyelési sávja (paracetamol esetén $\lambda_{\max} \approx 245$) várhatóan nagyobb hullámhosszak felé mozdul (ahogy az 10. ábrán látható). Impulzusradiolízis során az iminokinon-származék néhány μ s alatt bomlik dimerizációs és diszproporcionálódási reakciókban. Ez utóbbi reakcióban részben a paracetamol OH származéka keletkezik (visszaalakul paracetamollá a bomlástermék), melynek reakció képessége a $\bullet$ OH-kel reagálva azonos a paracetamollal. Ez a reakció ezért rontja a $\bullet$ OH hatékonyságát a paracetamol lebontásában.

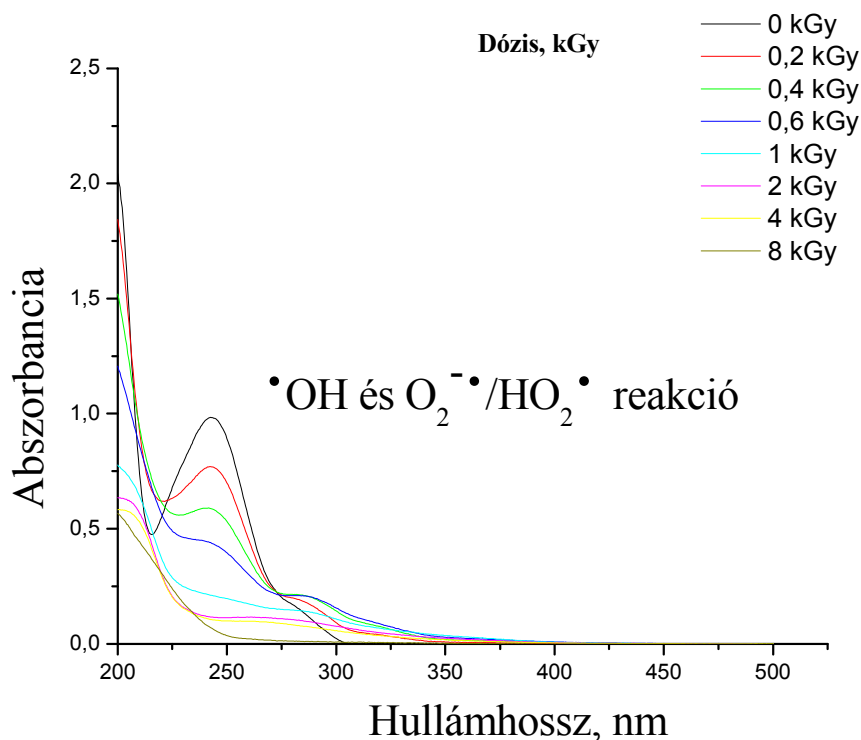
Hasonlóan az *ipszo*-addukthoz (I), a *para*-addukt (V) is feltételezhetően kevésbé stabil. Várhatóan bomlásával dihidroxibenzollá, ha redukálódik hidrokinonná (X, AOP-nál figyelték meg, [30,33,35]), és egy nitrogén-centrumú gyökké (XI) alakul, ami a további reakciókban acetamidot ad (XII, szintén detektált).

5.3. Hidroxilgyök és a $O_2^{\bullet-}/HO_2^{\bullet}$ pár reakciói

A levegőn vizsgált oldatokban, melyekben a rendszer oldott oxigént is tartalmaz, a fő reaktív ágensek a $\bullet$ OH és a $O_2^{\bullet-}/HO_2^{\bullet}$ szuperoxid-anion/perhidroxilgyök pár. Ez utóbbi két

alapágens: a hidratált elektron és a hidrogénatom, valamint az O_2 reakciójában képződnek (6), (7) egyenletek. $pK_a(O_2^{\cdot-}/HO_2^{\cdot}) = 4,8$

A $\cdot OH$ -ön kívül tehát a $O_2^{\cdot-}/HO_2^{\cdot}$ pár is $0,32 \mu mol/J$ hozammal jelen van az oldatban. A $\cdot OH$ gyökök kisebb hozama (és a pár várható kis reaktivitása) ellenére az oxigén jelenlétében mért oldatokban a 245 nm-nél található maximum abszorbanciája sokkal gyorsabban csökken (13. ábra), mint a N_2O -dal telített oldatok esetén. Összehasonlítva tehát a $\cdot OH$ képződési sebességét N_2O -dal telített és levegőn mért oldatokban, és az abszorbancia csökkenési sebességét 245 nm-en a 10. és 13. ábrák alapján, az abszorbancia eltűnésének a hatásossága a két oldatban 10% és 35%. Tehát megállapíthatjuk, hogy a $\cdot OH$ többsége nem okoz abszorbancia csökkenést, a paracetamol közttermékek már említett visszaalakulása miatt.

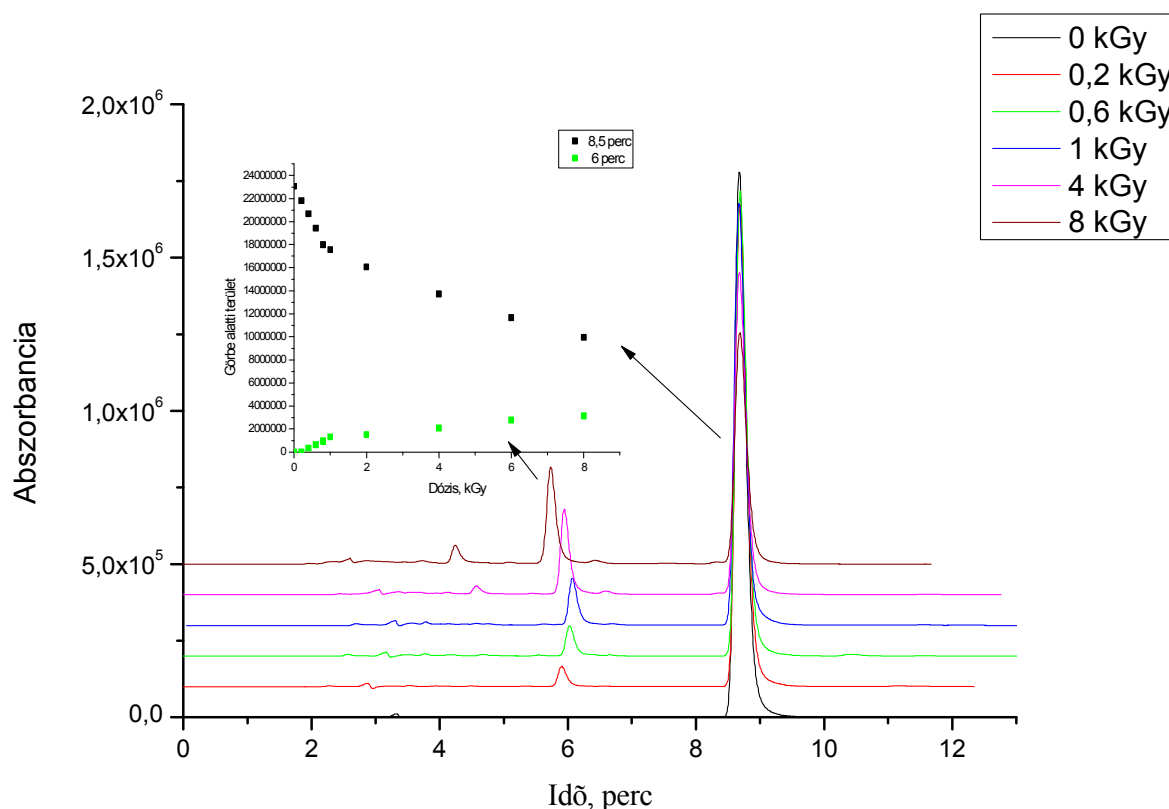


13. ábra: Besugárzott paracetamol oldatok ($c=10^{-4} mol/dm^3$) oxigén jelenlétében mért abszorpciós spektrumai.

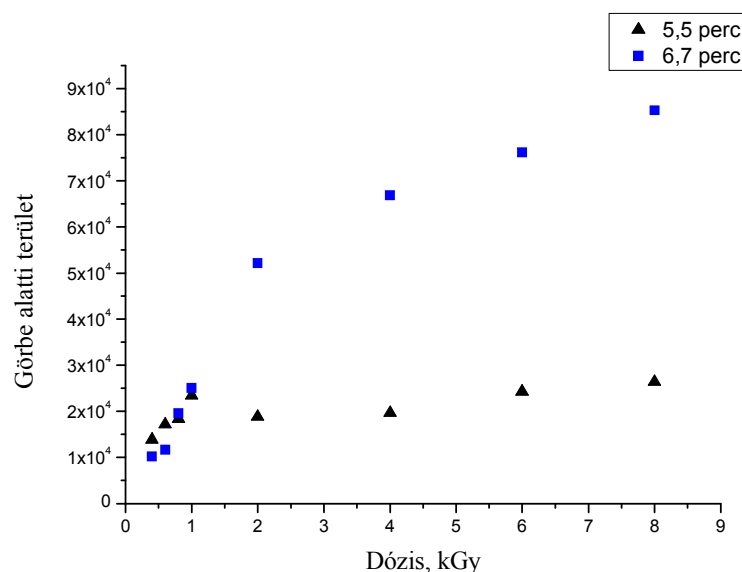
A levegőn mért oldatok termékeinek azonosítása HPLC elválasztás utáni diódasoros illetve MS-detektálással történt.

Az egyre nagyobb dózissal besugárzott minták esetén, a kromatogramon egyes csúcsok alatti terület folyamatos növekedést, míg a paracetamolt jelentő csúcs alatti terület folyamatos csökkenést mutatott (14. ábra). A csúcsok alatti területek arányosak a koncentrációval.

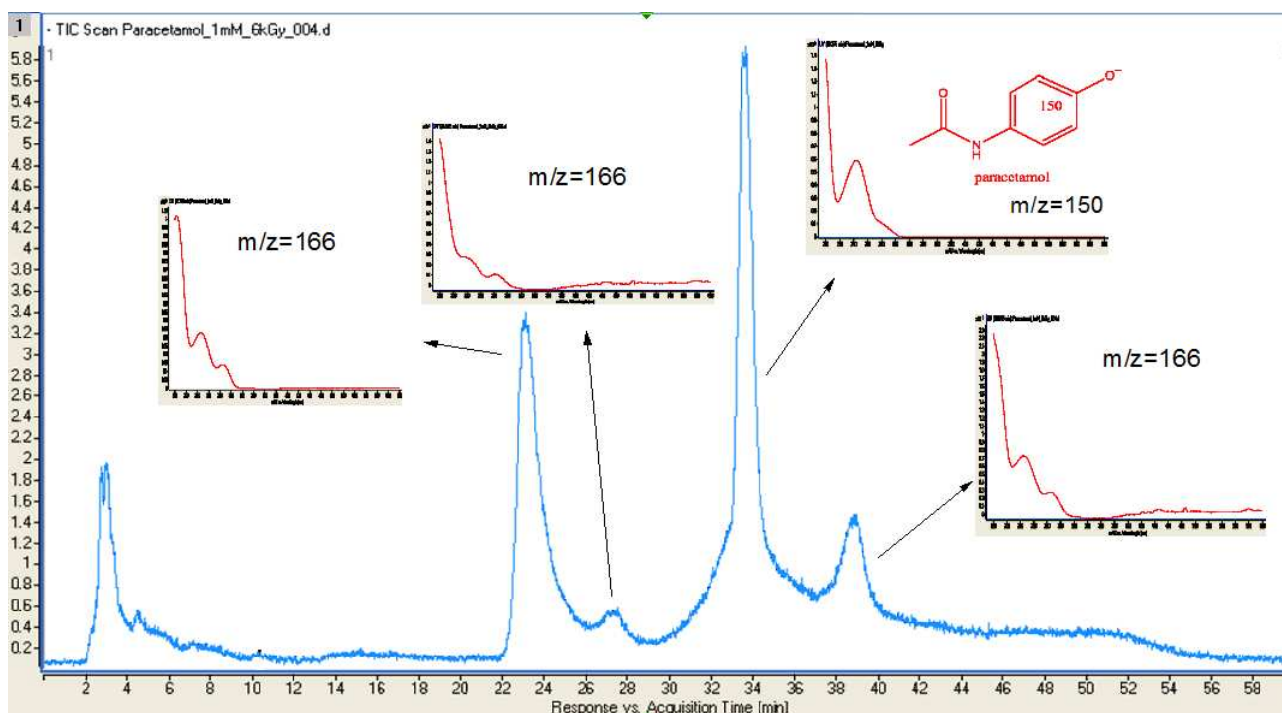
Az elegy összetevői közül a paracetamol haladt át a kolonnán a legnagyobb retenciós idővel (8,5 perc), a koncentrációja folyamatosan csökkent, míg a termékek koncentrációja a dózis emelkedésével folyamatosan nőtt (14. ábra, 15. ábra). A második legnagyobb csúcs valószínűleg a legkedvezőbb reakcióúton keletkezett termékhez rendelhető, mellette 2 kisebb csúcs jelenik meg, melyek csak nagyobb felbontásnál láthatók, s az elsőhöz képest lényegesen kisebb koncentrációban vannak jelen. A gradiens elúcióval felvett kromatogram esetén is jellemzően 3 csúcs esetén ugyanazt a jellemző tömeget figyelhetjük meg (16. ábra). A 166 m/z érték az eltérő helyen hidroxil-csoporttal szubsztituált paracetamol molekulákhoz rendelhető. A csúcs alatti területek jellemzik ezen módosulatok keletkezésének eltérő valószínűségét. Feltehetően 2 közülük, a stabilabb *orto*- és *meta*-addukthoz rendelhető. A két fő termék tehát, amit viszonylag kismértékű degradációnál figyeltünk meg, a két eltérő helyen szubsztituált hidroxiparacetamol molekula (12. ábra).



14. ábra A HPLC mérés eredményeként a különböző dózisokkal besugárzott minták kromatogramja. A két legnagyobb csúcs esetén a csúcsok görbe alatti területének csökkenése, illetve növekedése látható a bal felső sarokban.



15. ábra A HPLC mérés eredményeként a kromatogramon 5,5 és 6,7 percnél található csúcsok görbe alatti területe.



16. ábra A HPLC-MS-rel végzett mérés során felvett kromatogram, kiemelve a jellemző tömegeket a hozzá tartozó UV-Vis spektrummal és a lehetséges szerkezettel.

Oldott O₂ jelenlétében a dihidroxiciklohexadienil-gyök dehidratációja és oxigénnel való reakciója között versengés van. A reakcióban peroxi-gyök képződik (VI és VII). Hasonló rendszereket alapul véve, a peroxi gyök számos monomolekuláris és bimolekuláris reakcióban vehet részt. A monomolekuláris reakciók közül a HO₂• elimináció tűnik a legvalószínűbbnek.

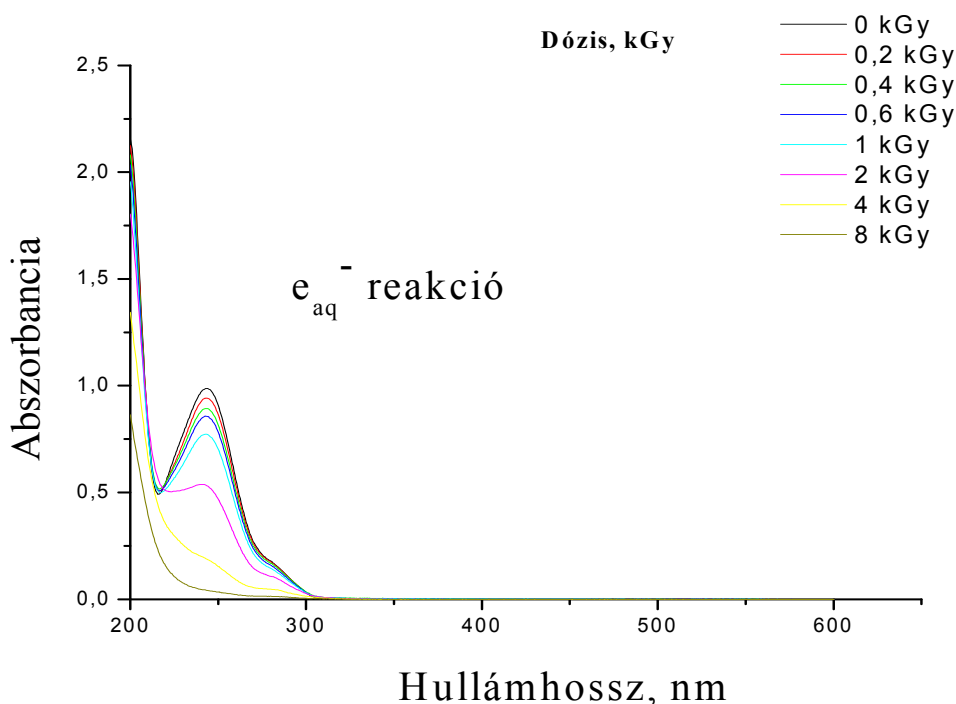
Ez a reakció közvetlenül a paracetamol hidroxilezett származékát eredményezi (VIII és IX) (12. ábra). Keveset tudunk a gyűrűfelnyílási reakcióról (XIII.), valószínűleg O-O híd szerkezet alakul ki a gyűrűn és a ciklikus gyök kinyílik [51]. Ezekben a reakciókban különféle karbonsavak keletkezése várható, melyeknek nincs 245 nm-nél jellemző elnyelésű sávjuk, mint az aromás rendszert tartalmazó paracetamolnak. A gyűrűfelnyílás a mineralizáció egyik fontos lépése.

Kevés információ áll rendelkezésünkre a $O_2^{\bullet-}/HO_2^{\bullet}$ pár és a fenolok közötti reakcióról. Az azonban ismert, hogy a gyök párnak általában kicsi a reaktivitása aromásokkal szemben [52]. Reagál kinon típusú vegyületekkel, így ezek az oxi gyökök reagálhatnak a degradáció során az intermedier gyökökkel. Yang és munkatársai [31] a fotokatalitikus eljárás során megemlítik, hogy a $^{\bullet}OH$ és az üres vegyértéksáv közötti reakción kívül, kisebb mértékben a $O_2^{\bullet-}/HO_2^{\bullet}$ pár is elősegíti a paracetamol bomlását. Az eredmények nem bizonyítják a gyök pár lényeges hozzájárulását.

5.4. Hidratált elektron reakciói

A hidratált elektron reakcióinak tanulmányozásához a $\bullet\text{OH}$ gyökök elreagáltatása szükséges. Ezért az oldathoz *terc*-butanolt adtam, és N_2 -nel telítettem az oldott oxigén eltávolítására. A $\bullet\text{OH}$ reagálva a *terc*-butanollal meglehetősen inaktív gyököt képez: (19)-es reakció.

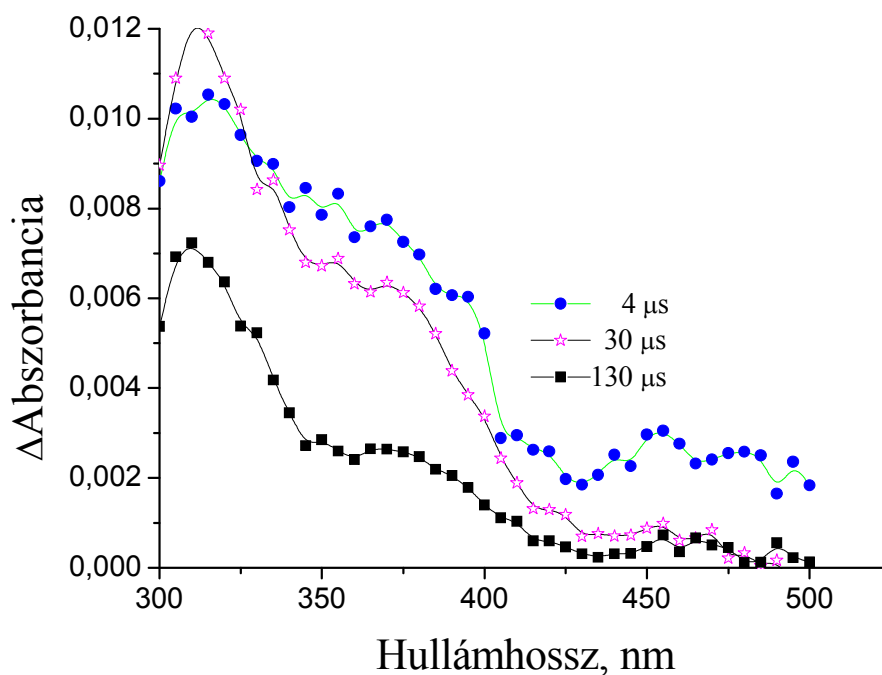
A paracetamol lebontásakor az e_{aq}^- kevésbé hatásos, mint a $\bullet\text{OH}$: a 245 nm-es csúcs intenzitásának lecsökkenéséhez nagyobb dózis szükséges a hidratált elektron reakciója esetén (17. ábra), mint azt a másik esetben láthatjuk (10. ábra). Az e_{aq}^- reakciója során képződött új termékeknek nincs elnyelése nagyobb hullámhossznál. A reakció valószínűleg közvetlenül az aromás gyűrű átalakulását idézi elő.



17. ábra: Besugárzott paracetamol oldatok ($c=10^{-4}$ mol/dm³) abszorpciós spektrumai N_2 -nel telített *terc*-butanolt tartalmazó oldatban.

A paracetamol + e_{aq}^- reakció korábban publikált sebességi együtthatója $(2,5 \pm 0,3) \times 10^8$ dm³/mol s [36]. Az impulzusradiolízis mérések alapján 5×10^8 dm³/mol s. Ez két nagyságrenddel kisebb, mint a diffúziószabályozott sebességi együttható ($\sim 2 \times 10^{10}$ dm³/mol s).

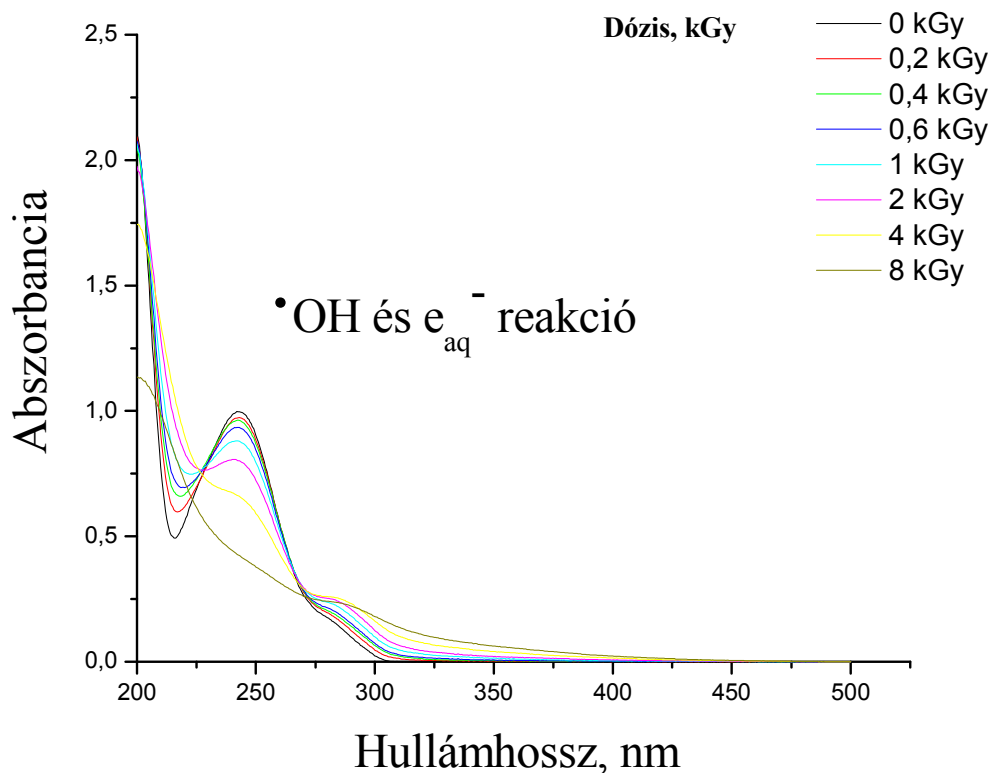
A viszonylag kis sebességi együttható valószínűleg a gyűrűn található két elektronküldő csoportnak tudható be, melyek növelik az aromás gyűrű nukleofilitását, ezáltal a nukleofil elektron támadást kevésbé teszik kedvezményezetté. Mivel az e_{aq}^- + paracetamol reakciónak kicsi a sebességi együtthatója, az e_{aq}^- + O_2 reakciónak viszont nagy, oxigén jelenlétében vizsgált oldatokban valószínűleg nem járul hozzá az e_{aq}^- + paracetamol reakció a lebontáshoz. Az e_{aq}^- + paracetamol reakció köztitermék spektruma (impulzusradiolízis) eléggé jellegtelen (18. ábra). 320 nm körül van egy gyenge abszorpciós csúcs, egyébként az abszorbancia egyenletesen csökken a látható tartomány felé haladva. A gyenge abszorbancia valószínűleg a lassú reakciónak tudható be: az e_{aq}^- jelentős része nem a paracetammal való reakcióban fogy, hanem a radiolízis többi intermedierjével való reakcióban [17].



18. ábra: Paracetamol oldat (N_2 -nel telített *terc*-butanolos, $c=5 \times 10^{-4}$ mol/dm³, dózis/impulzus: 19 kGy) köztitermék spektruma.

5.5. A hidroxilgyök és hidratált elektron reakciója együtt

A nitrogénnel telített oldatban mind a három intermedier ($\bullet\text{OH}$, e_{aq}^- és $\text{H}\bullet$) reagál a paracetammal (19. ábra). A lebontás hatékonysága együtt kisebb, mint amikor a $\bullet\text{OH}$ és e_{aq}^- külön-külön reagál. Ennek valószínűleg az az oka, hogy az oxidatív és a redukzív reakcióban keletkezett intermedierek visszaalakulnak a kiinduló molekulává.



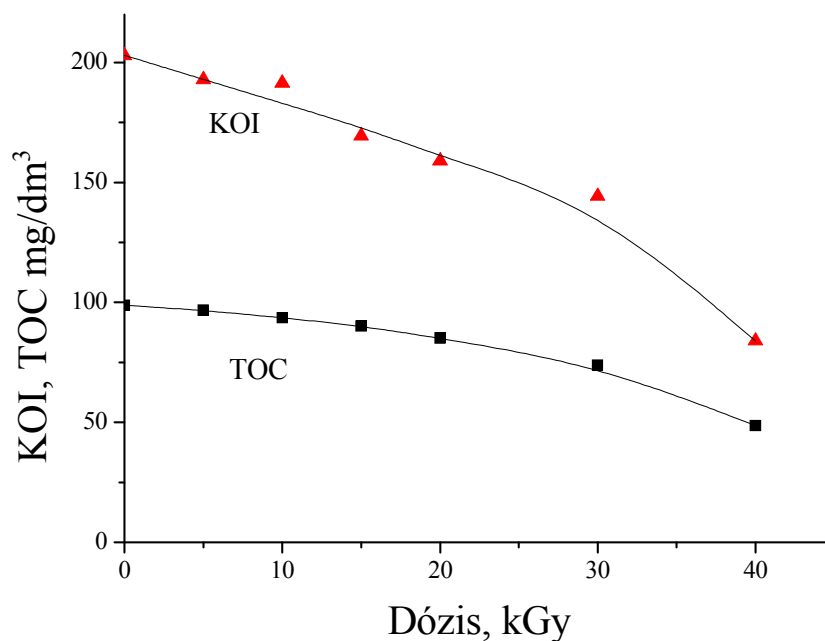
19. ábra: Besugárzott paracetamol oldatok ($c=10^{-4}$ mol/dm³) abszorpciós spektrumai N₂-nel telített oldatban.

5.6. KOI, TOC és toxicitás

KOI, TOC

A kémiai oxigén igényt és teljes szerves széntartalmat 1×10^{-3} mol/dm³ koncentrációjú oldatban mértem.

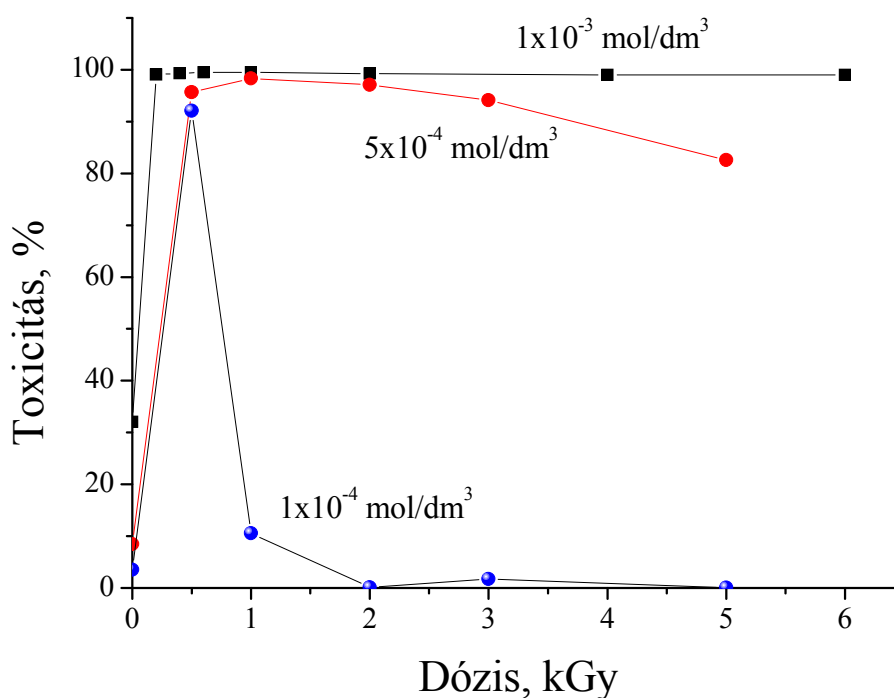
Az 1×10^{-3} mol/dm³ koncentrációjú levegőn mért minta KOI értékei 30 kGy sugárdózisig csaknem lineárisan csökkennek a dózis növelésével, a kezdeti TOC csökkenés kisebb (20. ábra). A mineralizáció közben az első oxidált termékek szerves molekulák, melyeknek az oxigén/szén arányuk magasabb, mint az eredeti molekuláé. A KOI-dózis összefüggés kezdeti csökkenése a termékbe ~0,2 O₂ molekula beépülését mutatta egy •OH támadás után. Ez az érték kisebb, mint ahogy azt korábban klóratomot tartalmazó (~1), ill. azt nem tartalmazó fenol típusú vegyületekre (~0,5) mérték [53,54]. Azonban, ahogy a paracetamol molekula átalakul más szerves vegyületté, ez a termék már sokkal gyorsabban lebomlik (20 kGy fölött).



20. ábra: 1 mol/dm^3 koncentrációjú paracetamol oldat KOI és TOC értékei az abszorbeált dózis függvényben.

Toxicitás

A paracetamolnak viszonylag alacsony a toxicitása: $-\log EC_{50} = 2,42$ (EC_{50} , *Vibrio fischeri* bacteriummal az 50% lumineszcencia gátlásnál az effektív koncentráció) [22]. Toxicitás: a fluoreszcencia intenzitásának csökkenése %-ban kifejezve. A 1×10^{-3} , 5×10^{-4} és 1×10^{-4} mol/dm³ koncentrációjú paracetamol oldatokat 30 perces inkubációs idő után vizsgálva a fluoreszcencia kezdeti intenzitása ~32, 10 és 3 %-ra csökkent. Miután a mintákat besugározták 0,5 kGy dózissal majd az oldatokat a lumineszcens baktériumokkal összekevertem, 90-99%-os volt az intenzitás csökkenés (21. ábra), ami azt mutatja, hogy a keletkező termékek toxikusabbak, mint maga a paracetamol. Ennek oka, hogy a paracetamol radiolízisének termékei, többek között a hidrokinon és az acetamid sokkal toxikusabb a paracetamolnál [23,33,35].



21. ábra: Paracetamol toxicitásának változása oldott oxigént tartalmazó oldatokban.

A dózis növekedésével csökken a fluoreszcencia gátlás, tehát vele együtt a toxicitás is. Az 1×10^{-3} mol/dm³ koncentrációjú oldat besugárzása esetén 6 kGy-ig a toxicitás kismértékű csökkenése volt megfigyelhető. Az 5×10^{-4} mol/dm³-es oldat esetén a fluoreszcencia gátlás csökkenése ~ 3 kGy-nél kezdődik. Kisebb koncentráció esetén (1×10^{-4} mol/dm³) 1 kGy

dózis besugárzása után a fluoreszcencia gátlás lecsökkent a besugárzatlan minta szintjére. A besugárzás kezdetén a reaktív gyökök ($\bullet\text{OH}$) a paracetammal reagálnak. A dózis növelésével, ahogy a termékek koncentrációja nő, a reaktív intermedierek a paracetamol molekulák mellett a termékekkel is reagálnak. Az utóbbi reakció csökkenti a toxikus termékek koncentrációját és ezáltal a toxicitást is. Az $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ -es oxigén jelenlétében vizsgált oldatot 1 kGy dózissal besugározva, gyakorlatilag minden paracetamol molekula elbomlik (13. ábra). Tehát nincs további forrása a további toxikus termékek keletkezésének. A 21. ábra $1 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ koncentráción mért görbéje mutatja, hogy a toxikus termékek nagyon érzékenyek a besugárzásra.

6. Összefoglalás

A munkám során egy széles körben elterjedten használt gyógyszerhatóanyag, a paracetamol lebomlását tanulmányoztam nagy energiájú ionizáló sugárzások hatására, híg vizes oldatban. A keletkező anyagok azonosításához többféle analitikai módszert is felhasználtam, beleértve az egyszerű UV-Vis detektálást, és a napjainkban teret nyerő nagyérzékenységű MS detektálást is. A köztitermékek azonosításához, a lehetséges reakcióutak feltérképezéséhez impulzusradiolízis kísérleteket alkalmaztam. A mérések eredményeképpen egy feltételezett mechanizmus írható le a paracetamol molekula és a víz radiolízisének termékei között lejátszódó kezdeti reakciókra.

A paracetamolt a hidroxilgyökök hatásosan bontják, oxigén jelenlétében a vegyület hidroxil-származékai keletkeznek, illetve mineralizáció és szervesetlen molekulákká való átalakulás figyelhető meg. A hidratált elektronok és a paracetamol molekula közötti kis reakciókészség következtében ezen köztitermék kevésbé járul hozzá a molekula lebomlásához, mint azt a hidroxilgyökök esetén tapasztalhattuk. Levegőn mért oldatok esetén (ahol tehát oldott oxigén volt jelen a mintákban) a leghatékonyabb a lebontás, hiszen ezen oldatok esetén kisebb dózis hatására is lebomlott a gyógyszermolekula, mint bármelyik másik vizsgált esetben. A két reaktív intermedier együttes reakciója esetén a hatékonyság szintén kisebb, mint az oxigén jelenlétében mért oldatok és a hidroxilgyök reakciója esetén.

Alapvető cél az ionizáló sugárzások, mint szennyvízkezelési technológiák alkalmazhatóságának tanulmányozása volt, mely során fontosnak tartottuk a molekula lebontásának pontos ismertetését. A kezdeti reakciók, valamint az intermedierek generálásának mechanizmusa fontos a technológia optimalizálása szempontjából. A kezelés hatásosságát tekintve lényeges információhoz jutunk a kémiai oxigén igény és teljes szerves széntartalom mérések alapján. A szennyvízkezelés folyamán a minták kémiai oxigén igény értékei információt nyújtanak a kezelés, így a paracetamol lebontás folyamatának hatásosságáról, a kémiai kezelés eredményességéről. A kémiai oxigén igény és teljes szerves széntartalom változása a besugárzás során a paracetamol teljes lebontását, azaz mineralizációját bizonyította.

Mértem az egyes oldatok toxicitását is, mely szintén jelentős paraméter a környezetünkre gyakorolt hatás szempontjából. A paracetamol híg vizes oldatainak toxicitása besugárzás hatására kis dózisoknál növekedést, nagyobb dózisoknál csökkenést mutat.

A keletkező vegyületek nagyobb toxicitásúak a paracetamolnál, azonban nagyon érzékenyek a sugárzásra és könnyen bomlanak.

Az eredmények alapján megállapíthatom, hogy a besugárzásos technika alkalmas paracetamolt tartalmazó szennyvizek ártalmatlanítására, toxikusságának megszüntetésére.

7. Irodalomjegyzék

- [1] Farré, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L., Tirapu, L., Vilanova, M., Barceló, D. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary result including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography*, **2001**, A 938, 187-197.
- [2] Kümmerer, K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, **2009**, 90, 2354-2366.
- [3] Yang, L., Yu, L.E., Ray, M.B. Degradation of paracetamol in aqueous solution by TiO₂ photocatalysis. *Water Research*, **2008**, 42, 3480–3488.
- [4] Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., Hirata, Y., Hayashi, A., Sekizawa, J. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water Research*, **2009**, 43, 352-362.
- [5] Jones, O.A., Lester, J.N., Voulvoulis, N. Pharmaceuticals: a threat to drinking water? *Trends in Biotechnology*, **2005**, 23, 4, 163-167.
- [6] Takács, E., Wojnárovits, L. Irradiation treatment of azo dye containing wastewater: An overview. *Radiation Physics and Chemistry*, **2008**, 77, 225-244.
- [7] Andreozzi, R., Caprio, V., Insola, A., Marotta, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, **1999**, 53, 51-59.
- [8] Oller, I., Malato, S., Sánchez-Pérez, J.A. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination – A review. *Science of the Total Environment*, **2011**, 409, 4141-4166.
- [9] Borrelly, S.I., Cruz, A.C., Del Mastro, N.L., Sampa, M.H.O., Somessari, E.S. Radiation processing of sewage and sludge. A review. *Progress in Nuclear Energy*, **1998**, 33, 3-21
- [10] Radiation Processing: Environmental Applications, *International Atomic Energy Agency*, **2007**, Vienna, ISBN 92-0-100507-5, 25-44.
- [11] Pikaev, A.K. New data on electron-beam purification of wastewater. *Radiation Physics and Chemistry*, **2002**, 65, 515-526.
- [12] Duarte, C.L., Sampa, M.H.O., Rela, P.R., Oikawa, H., Cherbakian, E.H., Sena, H.C., Abe, H., Sciani, V. Application of electron beam irradiation combined conventional treatment to treat industrial effluents. *Radiation Physics and Chemistry*, **2000**, 57, 513-518.

- [13] Woods, J.R., Pikaev, A.K. Applied Radiation Chemistry: Radiation processing. *Wiley-Interscience: New York*, **1994**, ISBN: 0-471-54452-3.
- [14] Wojnárovits László: Sugárkémia. *Akadémiai Kiadó*, **2007**, ISBN: 978-963-05-8406-7.
- [15] Cooper, W.J., Curry, R.D., O'Shea, K. Environmental Application of ionizing radiation. *Wiley-IEEE*, **1998**, 1-22, ISBN:0-471-17086-0.
- [16] Han, B., Kim, D.K., Boo, J.Y., Kim, J.K., Kim, Y., Chung, W. Application of electron beam to industrial wastewater treatment. Use of irradiation for chemical and microbial decobtamination of water, wastewater and sludge. *IAEA*, **2001**, 57-64.
- [17] Pálfi, T., Wojnárovits, L., Takács, E. Calculated and measured transient product yields in pulse radiolysis of aqueous solutions: Concentration dependence. *Radiation Physics and Chemistry*, **2010**, 79, 1154-1158.
- [18] Takács, E., Wojnárovits, L., Pálfi, T., Földváry, Cs. Sugárkémiai szennyvízkezelés gyakorlata és lehetőségei. *Magyar Kémiai Folyóirat*, **2009**, 115, 3-4, 114-117.
- [19] Johnston, J.J., Savarie, P.J., Primus, T.M., Eisemann, J.D., Hurley, J.C., Kohler, J.D. Risk assesment of an Acetaminophen Baiting Program for Chemical Control of Brown Tree Snakes on Guam: Evaluation of Baits, Snake Residues, and Potential Primery and Secondary Hazards. *Environmental Science and Technology*, **2002**, 36, 3827-3833.
- [20] [http:// news.blogs.cnn.com/2010/09/07/tylenol-loaded-mice-dropped-from-air-to-control-snakes](http://news.blogs.cnn.com/2010/09/07/tylenol-loaded-mice-dropped-from-air-to-control-snakes)
- [21] Wakeman, R.J., Sebastine, I.M. Consumption and environmental hazards of pharmaceutical substances int he UK. *Trans IChemE*, **2003**, 81, B, 229-235.
- [22] Sirés, I. Electrochemical advanced oxidation processes for the removal of the drugs paracetamol, colifibric acid and chlorophene from waters. *Doctoral thesis*, **2006**, 153-157.
- [23] Kim, Y., Choi, K., Jung, J., Park, S., Kim, P.-G., Park, J. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazephine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential risks in Korea. *Environmental International*, **2007**, 33, 370–375.
- [24] Ternes, T.A. Occurance of drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers. *Water Research*, **1998**, 32, 11, 3245-3260.
- [25] Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barberand, L.B., Buxton, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000 — a national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, **2002**, 36, 1202-1211.

- [26] Vulliet, E., Cren-Olivé, C. Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environmental Pollution*, **2011**, *159*, 2929-2934.
- [27] Stackelberg, P.E., Gibs, J., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Lippincott, R.L. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Science of the Total Environment*, **2007**, *377*, 255-272.
- [28] Petrovic, M., Radjenovic, J., Barceló, D. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water Research*, **2009**, *43*, 831-841.
- [29] Nelson, S.D., Chen, W., Konigs, L., Thompson, S.J., Peter, R.M., Rettie, A.E., Trager, W.F. Oxidation of Acetaminophen to Its Toxic Quinone Imine and Nontoxic Catechol Metabolites by Baculovirus-Expressed and Purified Human Cytochromes P450 2E1 and 2A6. *Chemical Research in Toxicology*, **1998**, *11*, 295-301.
- [30] Dalmázio, I., Alves, T.M.A., Augusti, R. An appraisal on the degradation of paracetamol by TiO₂/UV system in aqueous medium. Product identification by gas chromatography-mass spectrometry GC-MS. *Journal of Brazilian Chemical Society*, **2008**, *19*, 81–88.
- [31] Yang, L., Yu, L.E., Ray, M.B. Photocatalytic oxidation of paracetamol: dominant reactants, intermediates, and reaction mechanisms. *Environmental Science and Technology*, **2009**, *43*, 460–465.
- [32] Andreozzi, R., Caprio, V., Marotta, R., Vogna, D. Paracetamol oxidation from aqueous solution by means of ozonation and H₂O₂/UV system. *Water Research*, **2003**, *37*, 993–1004.
- [33] Vogna, D., Marotta, R., Napolitano, A., d'Ischia, M. Advanced oxidation chemistry of paracetamol. UV/H₂O₂-induced hydroxylation/degradation pathways and ¹⁵N-aided inventory of nitrogenous breakdown products. *Journal of Organic Chemistry*, **2002**, *67*, 6143–6151.
- [34] Brillas, E., Sirés, I., Arias, C., Cabot, P.L., Centellas, F., Rodríguez, R.M., Garrido, J.A. Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with boron-doped diamond electrode. *Chemosphere*, **2005**, *58*, 399–406.
- [35] Waterston, K., Wang, J.W.J., Bejan, D., Bunce, N.J. Electrochemical waste water treatment: electrooxidation of acetaminophen. *Journal of Applied Electrochemistry*, **2006**, *36*, 227–232.
- [36] Bisby, R.H., Tabassum, N. Properties of the radicals formed by one-electron oxidation of acetaminophen – a pulse radiolysis study. *Biochemical Pharmacology*, **1988**, *37*, 2731–2738.

- [37] Bedner, M., Maccrehan, W.A. Transformation of Acetaminophen by Chlorination Produces the Toxicants 1,4-Benzoquinone and *N*-Acetyl-*p*-benzoquinone Imine. *Environmental Science and Technology*, **2006**, *40*, 516-522.
- [38] Hu, Z., Grasso, D. Chemical Oxygen Demand. *Encyclopedia of Analytical Science* (Second Edition), 325-330.
- [39] Gruiz, K., Horváth, B., Molnár, M. Környezettoxikológia. Vegyi anyagok hatása az ökoszisztémára, *Műegyetemi Kiadó*, **2001**.
- [40] Jennings, V.L.K., Rayner-Brandes, H.M., Bird, J.D. Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (*Vibrio fischeri*): a comparison of three commercial systems. *Water Research*, **2001**, *35*, 14, 3448-3456.
- [41] Gunatilleka, A.D., Poole, C.F. Models for estimating the non-specific toxicity of organic compounds. *Analytical Chemistry*, **1999**, *36*, 235–242.
- [42] Kovács, A., Földiák, G., Hargittai, P., Miller, S.D. Development of fluorescent, oscillometric and photometric methods to determine adsorbed dose in irradiated fruits and nuts. Standardized methods to verify absorbed dose in irradiated food for insect control, *IAEA*, **2001**, 103-111.
- [43] Horvai, Gy., Dudás, K., Oláh, E., Varga, P.P., Balla, J., Fekete, J., e-tananyagok, **2010**. Elválasztástechnika.
- [44] Wojnárovits, L., Pálfi, T., Takács, E., Emmi, S.S. Reactivity differences of hydroxyl radicals and hydrated electrons in destructing azo dyes. *Radiation Physics and Chemistry*, **2005**, *74*, 239-246.
- [45] Nagy szerves anyag tartalmú szennyvizek KOI értékeinek meghatározása – mérési leírát a *ISO 6060:1991* szabvány szerint.
- [46] Visco, G., Camoanella, L., Nobili, V. Organic carbons and TOC in waters: an overview of the international norm for its measurements. *Microchemical Journal*, **2005**, *79*, 185-191.
- [47] Bisutii, I., Hilke, I., Raessler, M. Determination of total organic carbon – an overview of current methodes. *Trends in Analytical Chemistry*, **2004**, *23*, 10-11, 716-726.
- [48] Lumineszcens baktériumvizsgálat a *DIN/EN/ISO 11348-2* szabvány szerint- a gyártó mérésleírása.
- [49] Grimme, L.H., Backhaus, T., Froehner, K. Bioassay with *Vibrio fischeri* for the assessment of delayed toxicity. *Chemosphere*, **2000**, *40*, 821-828.
- [50] Spinks, J.W.T., Woods, R.J.: An Introduction to Radiation Chemistry, Third Edition, *Wiley-Interscience*: New York, **1990**.

- [51] Von Sonntag, C., Schuchmann, H.-P. The chemistry behind the application of ionizing radiation in water-pollution abatement. *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*, **2001**, 87, 657–670.
- [52] Jovanovic, S.V., Hara, Y., Steenken, S., Simic, M.G. Antioxidant potential of galocatechins. A pulse radiolysis and laser photolysis study. *Journal. American Chemical. Society*, **1995**, 117, 9881-9888.
- [53] Földváry, CS.M., Wojnárovits, L. Role of reactive intermediates in the radiolytic degradation of Acid Red 1 in aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry*, **2009**, 78, 13-18.
- [54] Homlok, R., Takács, E., Wojnárovits, L. Radiolytic degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in dilute aqueous solution: pH dependence. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **2010**, 284, 415–419.
- [55] Sirés, I., Garrido, J.A., Rodríguez, R.M., Cabot, P.L., Centellas, F., Arias, C., Brillas, E. Electrochemical degradation of paracetamol from water by catalytic action of Fe^{2+} , Cu^{2+} , and UVA light on electrochemical hydrogen peroxide. *Journal of the Electrochemical Society*, **2006**, 153, D1–D9.
- [56] Zona, R., Solar, S. Oxidation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by ionizing radiation: degradation, detoxification and mineralization. *Radiation Physics Chemistry*, **2003** 66, 137–143.