



Pannon Egyetem **Mérnöki Kar**



BAGOLY ALMANACH



Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

TÁMOP-4.2.3-08/1-2009-0018

Tudományos eredmények disszeminációja
és tehetséggondozás a minőségi lépésért
a Pannon Egyetemen

PANNON EGYETEM
MÉRNÖKI KAR
BAGOLY ALMANACH

PANNON EGYETEM, MÉRNÖKI KAR, LIMNOLÓGIA INTÉZETI TANSZÉK ALKALMI KIADÓ

2011

A Kiadásért felel a Pannon Egyetem Tudományos Diákköri Tanácsa
Szerkesztő: Dr. Üveges Viktória
Borító: Tungli Ádám
Online kiadványt a Pannon Egyetem, Mérnöki Kar,
Limnológia Intézeti Tanszék alkalmi kiadó adta ki.
ISBN 978-615-5044-18-2

Tartalomjegyzék

Biró Rita <i>A Csigere-patak kovaalga flórája</i>	2
Bogáth Dóra <i>ACC-Oxidáz enzim működési mechanizmusának vizsgálata</i>	12
Fábián Ferenc <i>Szlovéniai talajminták radiológiai elemzése</i>	21
Fehér Klaudia <i>Szteránvázas azidok réz-katalizált 1,3-dipoláris cikloaddíciója egyszerű alkinekkel és ferrocénszármazékokkal</i>	30
Gulyás Gábor <i>Állati hulladékok feldolgozása során keletkező szennyvizek tisztíthatóságának vizsgálata</i>	41
Horváth Mária, Csordás Anita, Máté Borbála <i>Dohánynövény alkalmazása remediált uránbánya területek vizsgálatában</i>	54
Kakasi Balázs <i>Biotesztek alkalmazási lehetőségei mikotoxikológiai vizsgálatokban</i>	60
Kanizsai Barbara <i>Az urbanizáció és a predációs kockázatvállalás kapcsolata házi verebeknél (<i>Passer domesticus</i>)</i>	69
Kovács Róbert <i>Párhuzamos töltött rétegek közé adszorbeálódott elektrolitok Monte Carlo szimulációs vizsgálata</i>	82
Lázár Diána <i>Az urbanizáció és a neofóbia kapcsolata házi verebeknél (<i>Passer domesticus</i>)</i>	94
Selmeczy Géza Balázs <i>Avarlebontási kísérletek dombvidéki kisvízfolyásokon</i>	106
Somogyi Katalin <i>L-Fenilalanin fotodegradációja</i>	115
Szabó Beáta <i>A balatoni nádon növekvő kovaalga közösség fajösszetételének összehasonlítása a tó különböző pontjain</i>	127
Szánti-Pintér Eszter <i>Szteroid-ferrocén konjugátumok előállítása</i>	139
Szentgyörgyi Csanád <i>Neodímiumion síkon kívüli porfirin-komplexének képződése, fotofizikai és fotokémiai vizsgálata vizes közegben</i>	150
Tóth Attila <i>Foszfán-foszforamidit ligandumok szintézise és alkalmazása aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúciós reakciókban</i>	165
Vass Máté <i>Két vízfolyás éves avarhullásának (avar-input) megállapítása, valamint az avarlebontó vízi gombák meghatározása</i>	176

A Csigere-patak kovaalga flórája

Biró Rita

Témavezető: Dr. Stenger-Kovács Csilla

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: A kutatás elsődleges célja a Csigere-patak kovaalga flórájának és a fajösszetétel időbeli változásának megismerése volt. A vizsgálatok első hónapjában 3 naponta, majd azt követően hetente - előzőleg sterilizált és kihelyezett - mészkő szubsztrátumot gyűjtöttünk be 2008 áprilisától októberig. A kolonizációs időszakban uralkodó fajként jelent meg az *Amphora pediculus*, *Cocconeis pediculus*, *Cocconeis placentula*, *Gomphonema olivaceum*, *Mayamaea atomus* és *Eolimna subminuscula*. Az érett bevonat kialakulását követően pedig az *Amphora pediculus*, *Cocconeis placentula* és a *Mayamaea atomus* fajok maradtak dominánsak. A nyári mintákból már teljesen eltűnt az *Eolimna subminuscula*. Egyes fajok csak rövidebb hosszabb időszakra jelentek meg nagyobb számban, ilyen volt a *Cyclotella meneghiniana* május közepétől júliusig, a *Nitzschia palea* júniustól szeptemberig vagy a *Stephanodiscus minutulus* májusi megjelenése, amely a patakra épített halastó vízgazdálkodásával függhet össze. Kutatásom során megfigyeltem a kolonizáció folyamatát, a fajok megjelenésének évszakosságát és a Széki-tó jelenlétének hatását. Az eredményeim jól tükrözik a kis vízfolyás ökológiai állapotát és a vízszint szabályozását, melyeket a halastóból származó víz alapvetően meghatároz.

Bevezetés

Hazánkban a bevonatalkotó algák vizsgálata igen ritkának volt mondható. Először Cholnoky (1933) és Szemes (1931, 1947, 1948, 1957, 1962) foglalkozott kovaalgákkal és készített fajleírásokat, rajzokkal illusztrálva. Az első florisztikai jellegű adatokat a Pécsely-patakról és az

Aszófői-sédről Kol és Tamás, (Kol és Tamás, 1955; Tamás, 1957) publikálta. Vízkelety a Zala és Rába diatóma vegetációjával foglalkozott és készítette el az első fényképeket a fajokról (Vízkelety és Lentiné, 1977; Németh és Vízkelety, 1977; Vízkelety, 1977/1978, 1983). Az 1980-as évektől nagy folyóinkon vizsgálták a perifiton összetételét, a kovaalgák mesterséges aljzaton történő megtelepedését és új vizsgálati módszereket dolgoztak ki (Ács és mtsai., 1988, 1991, 1993, 2000)

Lényegesebb változás csak az ezredváltás idején indult meg a Balaton környéki kis vízfolyások bevonatalkotó kovaalgáinak vizsgálatával. 2000-ben az Aszófői-séd (Pór és mtsai., 2000) és az Örvényesi-séd (Sára és mtsai., 2000) kovaalga közösségének fajösszetételében történt változásokat közölték. Pár évvel később már nem csak florisztikai szemszögből folytak ezek a vizsgálatok, hanem a mintavételi helyek közti diverzitás, fajszám különbségeket és dominancia viszonyokat is publikáltak (Kovács és mtsai., 2004).

Magyarország 2004-es Európai Unióhoz történő csatlakozásával vállalta az EU Víz Keretirányelv előírásait, ennek köszönhetően hazánkban az elmúlt pár évben a felszíni vízfolyások kutatásai fellendültek. Az EU Víz Keretirányelv (WFD, 2000) a fenntartható vízgazdálkodás hosszú távú európai programját határozza meg. Az Európai Unió célja, hogy 2015-re a felszíni vizek jó ökológiai és kémiai állapotúak legyenek. A EU VKI szemléletrendszer ad, amelyet minden ország saját hidrogeológiai, hidromorfológiai adottságainak megfelelően dolgoz ki. A vizek jó

állapotának eléréséhez hangsúlyos lépés az ökológiai állapot meghatározása, ez a víztestek jellemzésének alapeleme. Ma a Víz Keretirányelv bevezetésének köszönhetően a legtöbb kutatás az ökológiai állapotbecslésre és a vízminőség megállapítására koncentrál, melynek alapjául szolgál a bevonatban található kovaalga fajok pontos ismerete (Ács és mtsai., 2003; 2007; Szabó és mtsai., 2004; Kovács és mtsai., 2005).

Felszíni vizeink vízminőségét kétféleképpen állapíthatjuk meg: közvetlen kémiai analízissel vagy bioindikátor szervezetekkel (Kovács és mtsai., 2005). Az indikátor szervezetek a környezeti hatásokat önmagukban integrálják (Cox, 1991). Az ökológiai állapotbecslésre ajánlott a VKI által kiemelt öt fő élőlénycsoport közül (halak, makrogerinctelenek, makrofita, fitoplankton, fitobentosz) a kisvízfolyások vízminőségének megítéléséhez a fitobentosz, makrofiton és a makrozoobentosz a legalkalmasabb élőlénycsoportok (irodalom). A fitobentosz közössége nagyon sokszínű, Chlorophyta, Cyanobacteria, Euglenophyta, Chrysophyta és Rhodophyta képviselői mellett nagy számban találhatók meg a Bacillariophyceae divízió tagjai is. A perifiton közösségben olyan nagy dominanciával jelenhetnek meg diatoma fajok, hogy a bevonat többi alkotója szinte elhanyagolható (Ács és mtsai., 1993; Komulainen, 2002; Leira és mtsai., 2005).

Célkitűzés

A Csigere-patakon végzett vizsgálatom célja a kovaalga flóra megismerése, a fajösszetétel időbeli változásának megfigyelése, valamint a Széki-tó hatásának vizsgálata a patak kovaalga közösségében.

Csigere-patak jellemzése

A Csigere-patak Északi- és Déli-Bakony, valamint a Marcal-medence határán folyik, vize Devecser határában folyik a Torna-patakba. Rendezését a Közép-dunántúli

Vízügyi Igazgatóság Veszprémi Szakaszmérnöksége látja el. A vízfolyás hossza 12,4 km. A vízfolyáson található egy völgyzárógátas tározó, a Széki-tó.

Devecser és környékének vízhálózata a Marcal vízgyűjtő területéhez tartozik. A Marcal-medence sűrű felszíni vízhálózattal rendelkezik. Legmagasabb vízállásai a márciusi hónapra esnek, ami a táj és a környező Bakony hóolvadásának a vízjárásra gyakorolt befolyását jelenti. A második vízállás maximuma a tavasz végi, kora nyári atlanti csapadék maximummal esik egybe (www1).

Bakonygyepesi zergebogláros Természetvédelmi Terület Bakonygyepes határában, a Csigere-patak mentén húzódik. A néhány hektáros kis területet zártkertek, autóutak, mezőgazdasági területek határolják. A Csigere-patak két oldalán mégis értékes, védelemre érdemes láprétek húzódnak. E terület mikroklimája is hűvösebb, párásabb, mint az a láprétekre általában jellemző, ezért értékes flórájában kiemelkedő helyet foglalnak el a hegyvidéki növények, illetve azok a jégkorszaki reliktum flóaelemek, amelyeknek éppen az ilyen kis, speciális zárványtársulások biztosítják a túlélést. A Csigere-patak mentén égeres, értékes magas kórós társulások, fűzlapos részek, sásos, szittyós társulások és kékperjés láprétek találhatóak (www.foek.hu/zsibongo/termve/tt/bakony.htm). Külön kell említeni a védett terület nevében is szereplő és itt viszonylag nagy számban élő, látványos növényt, a zergeboglárt. Máiig sem egyértelmű, hogy az Alpok keleti lejtőjéről idevándorolt fajról vagy jégkori reliktumról van-e szó.

A Közép-dunántúli Környezetvédelmi és Vízügyi Igazgatóság a Csigere-patakot 2. típusba sorolja, amely hegyvidéki, meszes hidrogeokémiai jellegű, durva mederanyagú, kicsi vízgyűjtőjű patakot jelent (KÖDU-KÖVIZIG, 2005). A vizsgált terület és környéke azonban határozott dombvidéki jelleget mutat, ezért a Csigere-patakot újabb kutatásokban 8.

tipológiai típusú vízfolyásnak kezelik (Pék és mtsai., 2010), ami dombvidéki, meszes hidrogeokémiai jellegű, közepes-finom mederanyagú, kicsi vízgyűjtőjű kisvízfolyást jelent.

Széki-tó jelenléte

A Csigere-patakon Ajka és Devecser között 1984-ben létesült egy 68 ha vízfelületű víztározó (www2). A tározó eredeti funkciója mezőgazdasági hasznosítású öntözővíz biztosítása volt, ez a funkciója 2005-ben megszűnt. A Széki-tó jelenlegi feladata a víztározás, a Csigere-patak vízjárásának kiegyenlítése az árhullámok csitításával, illetve az árvízi előntés veszélyének csökkentése. A tározó másodlagos, közösségi célú hasznosítása a horgászat. A halászati jogok hasznosítója a tavon a Széki-tavi Horgász Egyesület. A parti területeken a tározó üzemeltetéséhez kapcsolódó létesítmények nincsenek.

Horgászat céljából évente 600 mázsa hal, többszöri telepítéssel kerül a tóba. Az elmúlt 26 év alatt kialakult a tó halállománya, elsősorban a tudatos haltelepítésekkel, de a saját szaporulat is jelentős. A víztároló jellemző halfajai: *Cyprinus carpio* (ponty), *Ctenopharyngodon idella* (amur), *Carassius carassius* (kárász), a *Sander lucioperca* (süllő) és az *Esox lucius* (csuka) de fogható még *Silurus glanis* (harcsa), *Perca fluviatilis* (sügér), *Rutilus rutilus* (bodorka vagy búzaszemű keszeg), *Alburnus alburnus* (szélhajtó küsz) is (www2).

A meder jellegzetes völgyzáró gátakkal lezárt tavakra jellemző, a gát felé fokozatosan mélyülő meder, helyenként 6-8 méteres mélységekkel (www3).

A víztározó üzemeltetési rendje:

1. Normál üzem: a víztározó a nyári időszakban (március 1. - november 31.) az engedélyezett üzemi vízszinten üzemel. Ebben az üzemmódban a tározóból csak annyi vizet engednek tovább a Csigere-patak medrébe, hogy az élővíz igény biztosítva legyen, és a

tározó vízszintje üzemi vízszinten maradjon, elkerülve az esetlegesen bekövetkező halkárt.

2. Téli üzem: (december 1. - február 28.) a víztározóban alacsonyabb vízszintet tartanak. A tározó leeresztésének célja, hogy a tavaszi hóolvadásból származó árhullámok betározására, visszatartására többlet tározótér álljon rendelkezésre.

3. Árvízi üzem: az árvizek a zsiliptáblán és a bukón keresztül elvezethetők legyenek.

A Csigere-patak vízhozamának 90 %-át a Bakonykarszt Zrt. ajkai szennyvíztisztítójából származó víz adja, amelyet a tározó feletti szakaszon vezetnek be. A szennyvíztisztító telep üzemeltetője rendszeresen vizsgálja a kibocsátott tisztított szennyvíz minőségét, mely megfelel a telep vízjogi üzemeltetési engedélyében meghatározott vízminőségi határértékeknek. A befolyásnál, a tó középső részén és a zsilipnél is történik vízmintavétel. Ezen kívül a Széki-tavi Horgász Egyesület is vizsgálja évente több alkalommal a tározó vízminőségét.

A tározó környezetében a földtani felépítés miatt a felszíni rétegeknek igen gyenge a kapcsolata a mélyebben fekvő karsztos területtel, emiatt a tározónak a karsztvízre gyakorlatilag hatása nincs (www.kdtktvf.zoldhatosag.hu/hirdetmeny/2008/hat25261-07.rtf).

2010. október 4-én a MAL Magyar Alumínium Termelő és Kereskedelmi Zrt. tulajdonában lévő Ajkai Timföldgyár Kolontár és Ajka között létesített vörösiszap-tárolójának gátja átszakadt. A kiömlő, körülbelül 600–700 000 m³ iszap előntötte Kolontár, Devecser és Somlóvásárhely települések mélyebben fekvő részeit. Az erősen lúgos, maró hatású ipari hulladék körülbelül 40 km²-en terült szét, felbecsülhetetlen gazdasági és ökológiai károkat okozva az Ajkai kistérségben. A Széki-tó valószínűleg fontos szerepet töltött be a kár elhárításban,

mert a katasztrófa helyszínén tartózkodó szakemberek tájékoztatása szerint a Torna-patak vizét oly módon hígították, hogy a Tornába torkolló Csigere-patakon található halastó (Széki-tó) vizét fokozatosan eresztették átöblítés céljából, így mind a Torna, mind a Marcal vízállása magas volt (Padisák és mtsai., 2010).

Anyag és módszer

Mintavételi hely

A mintavétel helyéül a Széki-tó és Devecser város között elterülő szakaszt választottuk, amely 166 m-es tengerszint feletti magasságon helyezkedik el (koordináták: N 47,13445; E 17,47209). A helyszín földúton könnyen megközelíthető a 8-as főútról. A szakasz mindkét oldalán mezőgazdasági művelésre szánt terület fekszik, bal oldala 5%-ban természetes fás vegetációval fedett, de ez nem árnyékolja jelentősen a víztestet. A patak középső szakaszán található a tározó, a mintavételi helytől (Széki-tó) kb. 4,7 km távolságra.

Mintavétel és minta előkészítése

A mintavételek mesterséges aljzatokról történtek, süttői mészkőből készült szubsztrátról, mely megfelel a patak természetes alapközetének.

A kihelyezés előtt a köveket sterilizáltuk, hogy ezzel is elősegítsük a gyors és megfelelő diatóma bevonat kialakulását. A sterilizálás első fázisában az aljzatokat hidrogén-peroxidba áztattuk, majd szárítószekrényben 2 órán keresztül 120 °C-on tartottuk. A szárítás után UV lámpa alá helyeztük a köveket.

A kihelyezés 2008. április 07-én történt, ekkor összesen 120 db 10 x 10 x 3 cm-es mészkő szubsztrátumot erősítettünk egy dróthálóra. Az így előkészített aljzatokat a patak sodorvonalába a mederaljához rögzítettük U vasakkal és nagyobb kövekkel. Az első mintavétel a kihelyezést követő 9. napon volt, 2008. április 16-án. Az első hónapban 2008. május 18-ig háromnaponta, majd hetente egy mintavétel történt. Minden mintavétel

során egy mészkő szubsztrátumot távolítottunk el a dróthálóról, majd az aljzat felső felét rövid sertéjű fogkefe és kés segítségével lekapartuk. A bevonatot végül egy kevés desztillált vízzel egy tároló edénybe töltöttük, majd a Limnológia Intézeti Tanszék laboratóriumába szállítottuk.

A minta roncsolása

Ahhoz, hogy a kovaalgák vázának mintázatát a faj meghatározás céljából láthatóvá tegyünk, szükséges a sejttartalom eltávolítása és a kovavázak beágyazása egy a víznél nagyobb törésmutatójú anyagba. A mintából 6 cm³-t kipipettáztunk és 2 cm³ etil-alkohollal tartósítottuk majd forró hidrogén-peroxidos roncsolásnak vetettük alá. A mintából 3 cm³-t hőálló üvegedénybe pipettáztunk, adtunk hozzá 1cm³ 1N-os HCl-t és 9 cm³ tömény H₂O₂-t. Ezután az oldatot 80 - 90°C-on addig melegítettük, ameddig az 3 cm³-re párlódott vissza. A bepárlást követően egy napig hagytuk ülepedni a vázakat, majd óvatosan dekantáltuk és felöntöttük desztillált vízzel. A mosást háromszor ismételtük.

A dekantált mintából 1-2 cseppet fedőlemezen bepároltunk 100 °C-on. A beágyazó gyantából (Pleurax, törésmutató:1,7) vékony szívószál segítségével 1 cseppet a tárgylemezre tettünk és ebbe fordítottuk bele a bepárolt felével a fedőlemezt. Az így elkészített tárgylemezeket 150 - 250°C-on 20 - 30 percig melegítettük, hogy az oldószer elpárologjon a mintából, s így a gyanta megszilárduljon. Minden mintából három preparátumot készítettünk.

Minta vizsgálata

Az elkészült preparátumokat fénymikroszkóppal (Nikon Eclipse E600), immerziós olajjal, 100-as objektívvel, 1000X-es nagyításon vizsgáltam. Randszerűen számoltam az előforduló kovaalga egyedeket. Véletlenszerűen kiválasztott 400 valvát számoltam és határoztam meg. A határozást

Süßwasserflora von Mitteleuropa (Kammer és Lange-Bertalot, 1991, 1997, 1997, 1999a, 1999b), Diatoms of Europe (Lange-Bertalot, 2000-2003) és az Iconographia Diatomologica (Lange-Bertalot, 1995, 1996a, 1996c, 1996b, 2000, 2002) kötetei segítségével végeztem. Az esetek többségében a sejtek valvafelszínnel ülepednek a roncsolást követő beágyazás során, ebben az esetben a határozás könnyebb. Néha a valvák oldalra fordulva ágyazódtak, így a határozásuk bizonytalan volt, ezért csak a családot jegyeztem fel. A Centrales fajok pontosabb meghatározásához Hitachi S-2600N típusú Páztázó Elektron Mikroszkópot használtunk. A kapott adatokból relatív gyakoriságot számoltam. Domináns fajnak tekintettem azokat a fajokat, melyek relatív gyakorisága legalább egy mintában 5%-felett volt.

Statisztikai elemzés

A Csigere-patak cluster analíziséhez a SYNTAX (Podani, 2000) programcsomagot alkalmaztam, amelyet az ökológiai és rendszertani többváltozós adatok analízisére fejlesztettek ki. A dendrogram elkészítéséhez az UPGMA fúziós algoritmust választottam.

Eredmények

A kovaalgák vizsgálata során 28 mintából 92 faj került elő. A fajok többsége a *Nitzschia* (19 faj), *Navicula* (14 faj) és *Gomphonema* (8 faj) nemzetségbe tartozott.

Az egyes minták fajszáma 20 és 36 között változott, az átlagos fajszám 27 volt. A legnagyobb fajszámot (>30) május hónapban tapasztaltam. Júniusban és júliusban a minták fajszáma igen alacsony volt, a nyár elteltével pedig a minták fajszáma egyre közelebb kerül az átlaghoz.

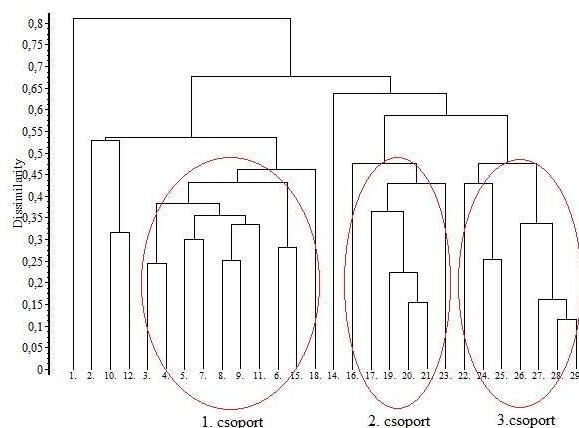
Az összes mintát tekintve domináns fajként jelent meg az *Amphora pediculus* (13%), a *Cocconeis placentula* (8%), a *Cyclotella meneghiniana* (5%), az *Eolimna subminuscula* (7%), a *Nitzschia palea* (11%) és a *Stephanodiscus hantzschii*

(6%). Az *Amphora pediculus* és a *Cocconeis placentula* minden mintában nagy számban jelent meg, de relatív gyakorisága csak 19 mintában volt 5% felett. Az *Eolimna subminuscula*, és a *Nitzschia palea* egy-egy időszakban olyan nagy számban jelentek meg, hogy az összes mintát tekintve dominánssá váltak. Általánosságban elmondható, hogy amikor a *Stephanodiscus hantzschii* dominánsnak mutatkozott, akkor a *Cyclotella meneghiniana* is nagyobb számban jelent meg a mintában.

A szukcesszió (3. ábra) első fázisában legnagyobb számban a *Gomphonema olivaceum* és a *Navicula lanceolata* jelent meg. Dominánsként gyorsan terjeszkedve bukkant fel az *Amphora pediculus*, a *Cocconeis pediculus*, *Cocconeis placentula* és az *Eolimna subminuscula*, e fajok száma a következő mintákban egyre nőtt. A kihelyezést követő 15. napon már nagyobb számban volt jelen a *Stephanodiscus hantzschii* és a *Stephanodiscus minutulus* is.

A Csigere-patak kovaalga bevonataiban szép számmal jelentek meg a Centrales fajok képviselői. A *Stephanodiscus minutulus* áprilistól júliusig volt jelen a bevonatban, a *Cyclotella ocellata* májustól júliusig, majd a mintákból teljesen eltűntek. A *Cyclotella meneghiniana* nagyobb számban jelent meg, amikor a *Stephanodiscus hantzschii* uralkodóvá vált a mintákban, de szinte áprilistól októberig minden mintában jelen volt mind a két faj.

A Shannon diverzitás értékei 2 és 2,9 között változtak (1. tábla), a diverzitás maximumát májusban érte el. Az egyenletesség értékei 0,6 és 0,9 között ingadoztak. A legnagyobb diverzitás a májusi és augusztusi mintákat jellemzi, ehhez 0,8-0,9 egyenletességi értékek tartoznak. A júniusi minták diverzitása kisebb és kisebb egyenletesség tartozik hozzá, de eléggé kiegyenlítettnek mondható ez az időszak is.



1. ábra A Csigere-patak kovaalga fajösszetételének dendrogramja

A dendrogramon (1. ábra) jól látszik, hogy a minták 3 jellemző csoportba sorolhatók. Az 1. csoportba a kolonizáció folyamata illetve az áprilistól június közepéig gyűjtött minták tartoznak, egy késő tavaszi csoportot alkotva. A 2. csoportba a nyári minták tartoznak június közepétől augusztusig. A 3. csoportban késő nyári minták találhatók, augusztustól szeptember végéig. Az 1. csoportban dominánsként jelent meg az *Eolimna subminuscula*, mely a többi időszakban teljesen eltűnt hasonlóan a *Mayamaea atomushoz*. A nyári mintákban nagy számmal jelent meg a *Cyclotella meneghiniana*, a *Rhoicosphenia abbreviata* és a *Nitzschia palea*, ez utóbbi egészen szeptember elejéig dominánsként volt jelen. A késő nyári bevonatokban uralkodóvá vált a *Navicula capitatoradiata*, a *Navicula cryptotenella* és egy-egy mintában a *Navicula tripunctata* is.

Értékelés

A kovaalga vizsgálat során a 28 mintából 92 fajt találtam, ez viszonylag elég nagy fajszám annak ellenére, hogy csak egy ponton történt a mintavétel. Az egyes minták fajszáma 20 (2008.06.16) és 36 (2008.05.25.) között változott, a preparátumok átlagos fajszáma 27 volt, ami hasonló a Torna-patak kovaalga flóráján végzett vizsgálatok során kapott eredményekhez (Bíró, 2007), ahol az

átlagos fajszám 26 volt. A Balaton befolyóin végzett kovaalga kutatások (Stenger-K. és mtsai., 2008) során is a minták átlagos fajszáma 25 volt, tehát a patak az átlagos fajszám tekintetében teljesen hasonló az azonos nagyságú kis vízfolyásokéhoz.

A féléves vizsgálat során 21 faj volt domináns, a két legjellemzőbb faj az *Amphora pediculus* és a *Cocconeis placentula*, ezek minden mintában tömegesen fordultak elő. A Torna-patak két uralkodó kovaalga faja a *Navicula lanceolata* és az *Achnanthydium minutissimum* volt (Bíró, 2007), míg a Csigere-patakon gyűjtött bevonatokban ez a két faj nem számottevő mennyiségben jelent meg. A Balaton befolyóinál már az *Achnanthydium minutissimum* mellett olyan fajok (*Amphora pediculus*, *Cocconeis placentula*, *Rhoicosphenia abbreviata*) is dominánsnak mutatkoztak (Stenger-Kovács és mtsai., 2008), melyek a Csigere-patak jellemző fajai is. A három kutatási eredményben tapasztalt eltérések az eltérő környezeti feltételeknek és a mintavétel különbségeinek köszönhetők. A legnagyobb különbség a Torna-patak, a Balaton különböző befolyói és a Csigere-patak kovaalga flórája között, hogy utóbbiban nagy számmal jelentek meg a Széki-tó jelenlétére utaló Centrales fajok.

A Shannon diverzitás értékei 2 és 2,9, az egyenletesség 0,6 és 0,9 között változtak. A Torna-patakon végzett kovaalga vizsgálatok során (Bíró, 2007) ugyanabban az időszakban (áprilistól októberig) a diverzitás nagyobb értékeket is elért, 2 - 3,6 között változott, az egyenletesség értékei (0,6 - 0,8) viszont kisebbek voltak. A Torna-patak adataihoz hasonló eltérés mutatkozik az általam vizsgált patak és a Balaton környéki kisvízfolyásokon 2002-ben gyűjtött minták átlagos diverzitása (3,3) és egyenletessége (0,75) (Kovács és mtsai., 2004) között. Elmondható tehát, hogy a Csigere-patak diverzitása kisebb, mint az említett vízfolyásoké.

A kihelyezett aljzatokra először olyan fajok telepedtek, melyek egész valvafelszínen rögzülnek (Otten és mtsai., 1988), ekkor még a kocsonya nyélképzésre alkalmas fajok is nyél nélkül tapadnak. A kolonizációs időszakban elsőként jelent meg a *Cocconeis pediculus*, a *Cocconeis placentula* és az *Amphora pediculus*, mely más kovaalgákra telepedve azok epifitonjaként is élhet (www4). A Dunán végzett kolonizációs kutatások során (Ács és mtsai., 2000) viszont először *Diatoma vulgare* telepedett meg a kihelyezett aljzatra apikális párna segítségével néhány óra elteltével, mely a két folyó eltérő nagyságával magyarázható. A következő fázisban egyre több kocsonya nyéllal rögzülő kovaalga jelent meg a Csigere-patak bevonatában, mint a *Gomphonema olivaceum*, *Mayamaea atomus* és az *Eolimna subminuscula*. A Duna egy nagy folyó, mely bevonatára jellemző a nagyobb mennyiségű Centrales fajok megjelenése, de a kis vízfolyásokra nem. Ennek ellenére a Széki-tó egyik hatása, hogy a kialakult sűrű bevonatra kiüledtek a planktonikus kovaalgák. A nagy folyók kovaalga összetétele sokban különbözik a kis vízfolyásokéhoz, hiszen különböző feltételek adóttak a két élettérben, ezért a kolonizációban megjelenő fajok is mások. A kolonizáció korai stádiumában pionír kolonista fajok dominanciája jellemzi mind a két (Csigere-Duna) bevonatot, melyek apikális párnával vagy teljes valvával tapadnak az aljzatra, majd ezek dominanciáját megszüntetve jobb tápanyag kompetítorok, kocsonya nyeles formák jelennek meg és ebbe ülednek ki a planktonikus formák.

A vizsgálat során tehát időszakosan, nagy mennyiségben olyan Centrales fajok is megjelentek, melyek kis vízfolyásokra kevésbé jellemzőek. A *Stephanodiscus hantzschii* és a *Stephanodiscus minutulus* jól jelzi az eutróf, halastóként funkcionáló Széki-tavat, illetve annak jelenlétét indikálja a *Cyclotella meneghiniana* nagyarányú megjelenése is. Ezen fajok időszakos dominanciája a patakban, a

halas-tó vízszintjének szabályozásával (leeresztés) függhet össze.

A leggyakoribb fajok autökológiájukat tekintve eutróf, α - β -mezoszaprób szervesanyag terheltségű vizek taxonjai, melyek nagy toleranciával rendelkeznek. Egy-egy mintában találtunk *Fistulifera saprophila*, *Navicula capitata*, *Eolimna subminuscula* és a *Fragilaria* nemzetséghez tartozó olyan fajokat, melyek még a poliszaprób vizeket is elviselik. Mindez jól mutatja, hogy a vízfolyásra telepített halastó, milyen nagymértékű tápanyagterhelést jelent a patak és élőlényei számára.

Az *Amphora pediculus*, a *Cocconeis placentula* mind olyan kozmopolita fajok (Krammer és Lange-Bertalot, 1997, 1991, 1999), melyek az összes mintában nagy számban jelentek meg. A többi taxon előfordulásában évszakosság tapasztalható. A késő tavaszi mintákban domináns fajokként jelent meg az *Eolimna subminuscula*, a *Mayamaea atomus*, a *Gomphonema olivaceum* és a *Planorbulina frequentissima*. A nyári mintákban nagy számmal jelent meg a *Cyclotella meneghiniana*, a *Rhoicosphenia abbreviata* és a *Nitzschia palea*, ez utóbbi egészen szeptember elejéig dominánsként volt jelen. Ezen fajok megjelenése a nyári bevonatokban nem meglepő, mert nyáron a patak vízszintje nagyon alacsony volt, szinte állóvíz jellegű. Ez utóbbival magyarázható a *Cyclotella meneghiniana* és *Nitzschia palea* megjelenése. A *Cyclotella meneghiniana* nem csak állóvizet indikálhat, hanem állóvízi jellegre is utalhat, illetve a *Nitzschia palea* időszakos vizeket kedvelő faj (Krammer és Lange-Bertalot, 1997, 1991, 1999), mely jól jelzi a nyári pocsolyaszerű állapotot. A késő nyári bevonatokban uralkodóvá vált a *Navicula capitatoradiata*, a *Navicula cryptotenella*, mely β -mezoszaprób vizekre jellemző és az eutrofizációval szemben is toleráns. A periodikusan megjelenő fajok jól tükrözik a szezonális mellett a

Csigere-patak vízszintjének ingadozását, amelyet a Széki-tó határoz meg.

Összefoglalás

A féléves vizsgálatom során háromnaponta majd, heti rendszerességgel begyűjtött mintákból meghatároztam a Csigere-patak kovaalga flóráját, az összetétel szezonális változását, a Széki-tó jelenlétének hatását és összehasonlítottam eredményeimet a Torna-patakon és a Balaton befolyóin végzett kutatási eredményekkel. A Torna-patak, Balaton befolyóinak és a Csigere-patak kovaalga összetétele nagyon hasonló, de a dominancia viszonyokban eltérések látszanak, mely magyarázható az eltérő környezeti feltételekkel, illetve a mintavétel különbségeivel. A legnagyobb eltérés a vízfolyások faj összetételben, hogy az általam vizsgált patak bevonatában a Centralesek nagyszámban jelentek meg, mely a Széki-tó egyik fő hatása. A Torna-patak és a Csigere-patak leggyakoribb fajainak autökológiájukat tekintve eutróf, α - β -mezoszaprób szervesanyag terheltségű vizek taxonjai, melyek nagy toleranciával rendelkeznek. A Csigere-patak diverzitása kisebb, mint az említett vízfolyásoké, a magas fajsza szám ellenére csak kevés fajnak volt meghatározó az egyedszáma.

A kovaalga vizsgálat során a 28 mintából 92 fajt találtam, ebből 21 faj vált dominánssá és a preparátumok átlagos fajsza száma 27 volt. A Shannon diverzitás átlagos értéke 2,6. A két legjellemzőbb faj az *Amphora pediculus* és a *Cocconeis placentula*, melyek minden mintában megtalálhatóak. A kolonizációs időszakban elsők között jelent meg a *Cocconeis pediculus*, a *Cocconeis placentula* és az *Amphora pediculus*, melyek egész valva felszínnel tapadnak, majd egyre több kocsonya nyéllel rögzülő kovaalga jelent meg, később a sűrű bevonatra Széki-tóból származó planktonikus kovaalgák is kiüledtek. Egy-egy mintában olyan fajok is megjelentek, melyek a poliszaprób vizeket is jól tűrik, azt jelzik, hogy milyen nagymértékű tápanyagterhelést jelenthet a

patak és élőlényei számára a tározó jelenléte.

Az *Amphora pediculus*, a *Cocconeis placentula* mind olyan kozmopolita fajok melyek az összes mintában nagy számban jelentek meg. A többi taxon előfordulásában évszakosság tapasztalható, mely a Csigere-patak vízszintjének ingadozásával is összefügghet.

Eredményeim jól tükrözik a vízfolyás ökológiai állapotát és a vízszint ingadozását, melyeket a halastóból származó víz alapvetően meghatároz. Dolgozatom jó alapja lehet a további célzott vizsgálatoknak, melyek során feltárhatjuk e hatások (tápanyagterhelés, vízszintváltozás) pontos következményeit egy, még talán természetesnek mondható kis vízfolyáson.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Stenger-Kovács Csillának, hogy lehetőséget biztosított a kutatásban való részvételre és a szakértelmével segítette munkámat. Köszönettel tartozom Prof. Dr. Ács Évának az elektormikroszkópos vizsgálatok elvégzéséért.

A kutatást az Otto Kinne Foundation, az OTKA 75552, az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

- Ács É. (1988): A Duna bevonatlakó algáinak szezonális dinamizmusa Gödnél májustól novemberig. [Seasonal dynamism of the Danube's periphyton at Göd from may to november].-Hidrológiai Tájékoztató 10: 8-10.
- Ács É., Borics G., Kiss G., Reskóné Nagy M., Várbíró G., Kiss K. T. (2007): Fitobenton vizsgálatok tanulságai a Balaton és vízgyűjtője patakjainak példáján. XXV. Országos Vándorgyűlésre benyújtott előadásokról. 7. szekció, Vízbőlológia.
- Ács É., Kiss K. T. (1991): Investigation of periphytic algae in the Danube at Göd. (1669 river km, Hungary) - Arch. Hydrobiol. Suppl. 89 - Algological Studies 62: 47-67.

- Ács É., Kiss K. T. (2004): Algalógiai praktikum, ELTE Eötvös Kiadó, Budapest.
- Ács É., Kiss K.T. (1993): Colonization processes of diatoms on artificial substrates in the River Danube near Budapest (Hungary). - *Hydrobiologia* 269/270: 307-315.
- Ács É., Kiss K.T., Szabó K., Makk J. (2000): Short-term colonization sequence of periphyton on glass slides in a large river (River Danube, near Budapest). - *Algological Studies* 100, Arch. Hydrobiol. Suppl. 136: 135-156.
- Ács É., Szabó K., Kiss K.T., Hindák F. (2003): Benthic algal investigations in the Danube river and some of its main tributaries from Germany to Hungary. - *Biologia* 58: 545-554.
- Bíró P. (2007): Az *Achnanthes minutissimum* (Kützinger) Czarnecki szezonális dinamikája és annak összefüggése a Torna-patak fizikai-kémiai paramétereivel, Diplomadolgozat
- Cholnoky B. (1933): Analytische Benthos-Untersuchungen. III. Die Diatomeen einer kleinen Quelle in der Nähe der Stadt Vác. *Archiv für Hydrobiologie* 26: 207-254.
- Kol E. és Tamás G. (1955): A Pécsely-patak mikrovegetációja. *Annal. Biol. Tihany* 22: 87-105.
- Kovács Cs. (2005): A bevonatalkotó kovaalgák alkalmazása a hazai kisvízfolyások ökológiai minőségében. Diplomadolgozat
- Kovács Cs., Kis, Z. és Padisák J. (2004): Balaton környéki kis vízfolyások diatómáinak florisztikai és mennyiségi vizsgálatai. *Hidrológiai Közöny* 84: 65-68.
- Kovács Cs., Padisák J. és Ács É. (2005): A bevonatalkotó kovaalgák alkalmazása a hazai kisvízfolyások ökológiai minőségében. *Hidrológiai Közöny* 85: 64-67.
- Közép-dunántúli Környezetvédelmi és Vízügyi Igazgatóság (KÖDU-KÖVIZIG) (2005): Az Európai Parlament és Tanács 2000/60/EK sz. „Az európai közösségi intézkedések kereteinek meghatározásáról a víz politika területén” c. irányelvben 2005. március 22.-ei határidővel előírt jelentés a Duna vízgyűjtőkerület magyarországi területének jellemzőiről, az emberi tevékenységek környezeti hatásairól és a vízhasználatok gazdasági elemzéséről.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1991): Bacillariophyceae 4. Teil: Achnanthesaceae, Kritische Ergänzungen zu Navicula und Gomphonema. In: Pascher, a Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 2/4, Gustav Fischer Verlag, Heidelberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1991, 2000): Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Pascher, a Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 2/3, Gustav Fischer Verlag, Heidelberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1997, 1999): Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. In: Pascher, a Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 2/1, Gustav Fischer Verlag, Heidelberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot, H. (1997, 1999): Bacillariophyceae 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: Pascher, a Süßwasserflora von Mitteleuropa Band 2/2, Gustav Fischer Verlag, Heidelberg Berlin.
- Lange-Bertalot (2000): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 9. Diatomeen der Anden. Koeltz Scientific Books. 673 pp.
- Lange-Bertalot, H. (2002): Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats Volume 3. *Cymbella*. A. R. G. Gantner Verlag K. G. 504 pp.
- Lange-Bertalot, H. (2004): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 13. Ecology – Hidrogeology – Taxonomy. Koeltz Scientific Books. 480 pp.
- Lange-Bertalot, H. (2008): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 17. Diatoms of North America. Koeltz Scientific Books. 649 pp.
- Németh J., Vízkelety É. (1977): Ecological investigations on the algal communities in the catchment area of River Zala. I. *Acta Botanica Hungarica* 23: 143-166.
- Otten J.H. és Willemse M.T.M. (1988): First steps to periphyton. - *Arch. Hydrobiol.* 112: 177-195.
- Padisák J. (2010): Makrogerinctelen szervezetek jelenlétének felmérése a Tornán és a Marcalon 2010. október 12-én, 13-án és 14-én [www. uni-pannon.hu](http://www.uni-pannon.hu)
- Pék A. Sz. Selmeczy G. B., Balassa M., Padisák J., Kovács K. (2010): Egy dombvidéki patak szakasz ökológiai állapotbecslése különböző módszerekkel. *Acta Biol. Debr. Oecol. Hung.* 21:163-175.
- Péterfi I. (1977): Az algák biológiája és gyakorlati jelentősége, Ceres Könyvkiadó, Budapest.
- Podani J. (2000): Introduction to the exploration of multivariate biological data. Backhuys, Leiden.
- Pór G., Sára Z., Padisák J., Grigorszky I. és Borbély Gy. (2000): Előzetes vizsgálatok az Aszföldi-séd kovaalgáinak felméréséhez. *Hidrológiai Közöny* 80: 377-378.

- Sára Z., Pór G., Padisák J., Grigorszky I. és Borbély Gy. (2000): Az Örvényesi-séd (Pécsely-patak) kovaalgáinak összehasonlító vizsgálata. Hidrológiai Közlöny 80: 380-382.
- Stenger-Kovács Cs., Bíró P., Soróczki-Pintér É. (2008): A Balaton befolyóinak ökológiai állapota a bevonatalkotó kovaalgák alapján Hidrológiai Közlöny 88: 192-195.
- Szabó K., Kiss K.T., Ector L., Kecskés M., Ács, É. (2004): Benthic diatom flora in a small Hungarian tributary of River Danube (Rákos-stream). - Arch. Hydrobiol. Suppl. Algological Studies 111: 79-94.
- Szemes G. (1931): A kádártai források Diatomaceái. Annal. Biol. Tihany 4: 320-341.
- Szemes G. (1947): A Zagyva folyó Bacillariophyta-flórájának ökológiai vizsgálata. Borbásia 7: 70-121.
- Szemes G. (1948): Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen der Wirkung des Wellenschlages und der Zusammensetzung der Biozönose. Annal. Biol. Tihany 18: 213-255.
- Szemes G. (1957): Die Diatomeen des Balatonsees. Annal. Biol. Tihany. 24: 193-270.
- Szemes G. (1957): Quantitative Analyse der Benthos-Bacillariophyceen in den Quellengebieten von Tapolcafü. Annal. Biol. Tihany. 7: 203-255.
- Szemes G. (1959): Die Bacillariophyceen des Szelider Sees. Die Binnengewässer Ungarns. Band I. Budapest. 410 pp.
- Szemes G. (1962): Die Kieselalgen des Quellegebietes und des Quellensees von Tapolcafü. Annal. Biol. Tihany 22: 61-193.
- Tamás G. (1957): Az Aszófői Séd kovamoszatai. Annal. Biol. Tihany 24: 133-154.
- Vízkelety É. (1977/1978): Fitoplankton vizsgálatok a Rábán. Savaria a Vas megyei Múzeumok Értesítője 11-12: 11-27.
- Vízkelety É. (1983): A Zala biológiai vízminősége 1976-80 között. Hidrológiai Közlöny 8: 373-378.
- Vízkelety É., Lenti L.né. (1977): A Zala biológiai vízminősége, különös tekintettel az antropogén hatásokra. Hidrológiai Közlöny 9: 413-417.
- WDF (2000): Directive of the European Parliament and of the Council 2000/60/EC Establishing a framework for community action in the field of water policy.- European Union, Luxembourg PE-CONS 3639/1/00 REV 1.
- Netes hivatkozások:
- www1: www.belfoldiutazas.hu/magyar/telepules/devecser-102648
- www2: www.szeki-to.hu/fooldal.php
- www3: www.kdtktvf.zoldhatosag.hu/hirdetmeny/2008/hat25261-07.rtf
- www4: www.craticula.ncl.ac.uk/EADiatomKey/html/taxon13050290.html

ACC-Oxidáz enzim működési mechanizmusának vizsgálata

Bogáth Dóra

Témavezetők: Dr. Kaizer József, Baráth Gábor

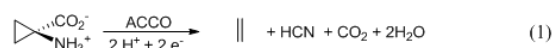
Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az etilén növényi hormon, a gyümölcsök érését gyorsítja, és a növények virágzására hat. A magvak csírázását, és a hagymák, gumók kihajtását befolyásolja. Az etilént a kertészetben és a gyümölcsstermesztésben is felhasználják hormonhatása miatt, mivel a zöldszen szedett gyümölcsöknek (például a banánnak) segíti az utóérését, és időzíthető vele egyes dísznövények virágzása (bizonyos határok között). A növényekben az etilén bioszintézisének utolsó lépése az 1-aminociklopropán-1-karbonsav (accH) átalakítása, melyet az ACC-Oxidáz enzim katalizál. Az enzim röntgendiffrakciós mérései alapján az aktív centrumban a központi fémhez 2 hisztidin és egy aszparaginsav (2N, 1O) koordinálódik egyfogú ligandumként. Az irodalomban csupán néhány példa található vastartalmú enzim-szubsztrát komplexre, amelyek oxidációja etilént eredményez, katalitikusan működő rendszer azonban ezidáig nem ismert. Vizsgálatainkat 2-amino-izovajsavval (aibH) – amely alternatív szubsztrátum-ként szolgál a fenti enzimreakció modellezésére – és 1-aminociklopropán-1-karbonsavval (accH) végeztük el. Katalizátorként $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplexet (salenH_2 : bisz(szalicilidén-etilén-diamin)), oxidálószerként pedig hidrogén-peroxidot használtunk. A reakciók nyomonkövetése és a termékek azonosítása gázkromatográfiás módszerrel történt. Az eredmények alapján megállapítható, hogy mindkét esetben az enzimatiszta útnak megfelelő termékeket kaptuk. A részletes reakciókinetikai vizsgálataink alapján javaslatot tettünk a reakció(k) lehetséges mechanizmusára vonatkozólag.

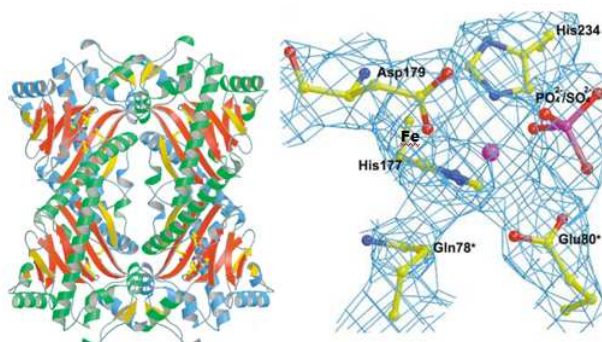
Bevezetés

1-Amino-ciklopropán-1-karbonsav oxidáz (ACCO) enzim és modellreakciói

A növényekben az etilén bioszintézisének az utolsó lépése az 1-aminociklopropán-1-karbonsav (accH) átalakítása, melyet az ACC oxidáz enzim katalizál (1) (Adam és mtsai., 1979; Peiser és mtsai., 1984; Dong és mtsai., 1992; Costas és mtsai., 2004).



A *Petunia hybrida*-ból izolált enzim (ACCO) szerkezetét az 1. ábra szemlélteti. A röntgendiffrakciós mérések alapján megállapították, hogy a központi fémionhoz 2 hisztidin (His177, His234) és egy aszparaginsav (Asp179), (2N, O) koordinálódik egyfogú ligandumként (Zhang és mtsai., 2004).



1. ábra ACC oxidáz enzim szerkezete

Az ACC oxidáz enzim eltérően a többi α -KGDO proteintól, működéséhez nem 2-oxoglutarát, hanem aszkorbát kosubsztrát szükséges, emellett a szén-dioxid (vagy bikarbonát), mint aktivátor játszik szerepet az etilén szintézise során. Mágneses cirkuláris dikroizmus (MCD) vizsgálatokkal alátámasztották, hogy az enzim aktív centrumában jelenlévő

vas(II)ion alapállapotban hatos koordinációjú, hasonlóan a többi, ebbe a csoportba tartozó enzimhez. A szubsztrátum koordinációját tekintve szintén eltérés tapasztalható a többi α -KGDO enzimtől. Míg utóbbi esetben az α -ketosav jobban kötődik a központi fémionhoz, mint az átalakítandó szubsztrátum, addig az ACCO enzim esetében a szubsztrátum (accH) mind az amino-, mind pedig a karboxilát-csoportján keresztül közvetlenül koordinálódik a központi vas(II)ionhoz. A szubsztrátum és a kosubsztrát hozzáadását követően az aktív helyen ötös koordináció alakul ki, amely elősegíti a dioxigén megkötődését és aktiválását. Ezen eredmények összhangban vannak a korábban elvégzett ún. „steady-state” kinetikai mérésekkel, ahol bebizonyították, hogy a szubsztrátum a dioxigén előtt koordinálódik a központi fémionhoz. Az azonban még nem tisztázott, hogy a kosubsztrát az accH előtt vagy a dioxigén után koordinálódik a vas(II)ionhoz (Mcrae és mtsai., 1983; Dong és mtsai., 1992; Fernandez-Maculet és mtsai., 1993; Smith és mtsai., 1993; Rocklin, 1999; Brunhuber és mtsai., 2000; Thrower és mtsai., 2001; Zhou és mtsai., 2002; Rocklin és mtsai., 2004; Tierney és mtsai., 2005).

2006-ban Klinman és munkatársai 3 nyíltláncú (aibH: 2-amino-izovajsav), valamint 4 gyűrűs (N-MeaccH: *N*-metil-1-amino-ciklopropán-1-karbonsav, acc-NH₂: 1-amino-ciklopropán-1-karbonsavamid, acc-OMe: 1-amino-ciklopropán-1-karbonsav-metilészter) aminosavval végeztek mechanizmus vizsgálatokat. Megállapították, hogy a gyűrűs származékok esetében etilén keletkezett, az alifás aminosavak esetében pedig dekarboxileződés játszódott le. A kinetikai vizsgálatok eredményeit a 1. táblázatban foglaltuk össze. Az adatokból jól látható, hogy nincs egyértelmű összefüggés a

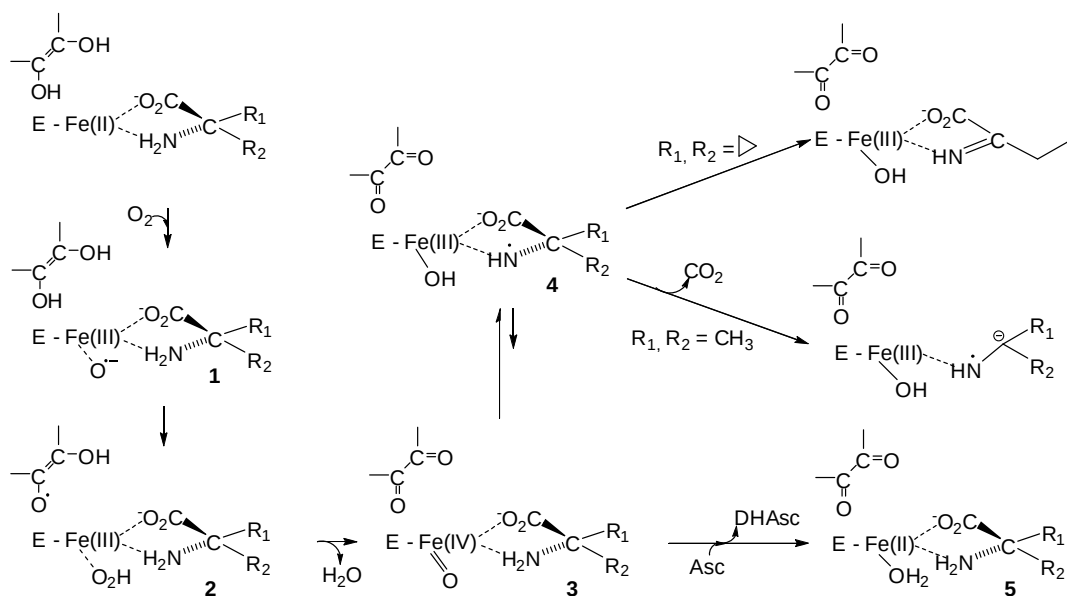
szubsztrátumok szerkezete, kötésfelhasadási energiái és a reakció sebessége között (k_{kat}). Ebből arra lehet következtetni, hogy a sebességet meghatározó lépés a szubsztrátum aktiválását megelőzően történik, melynek során egy oxovas(IV) részecske alakul ki. A reakciók feltételezett mechanizmusát a 2. ábra szemlélteti (Zhou és mtsai., 2002).

1. táblázat ACC oxidáz enzim kinetikai vizsgálatának eredményei (BDE: kötésfelhasadási energia)

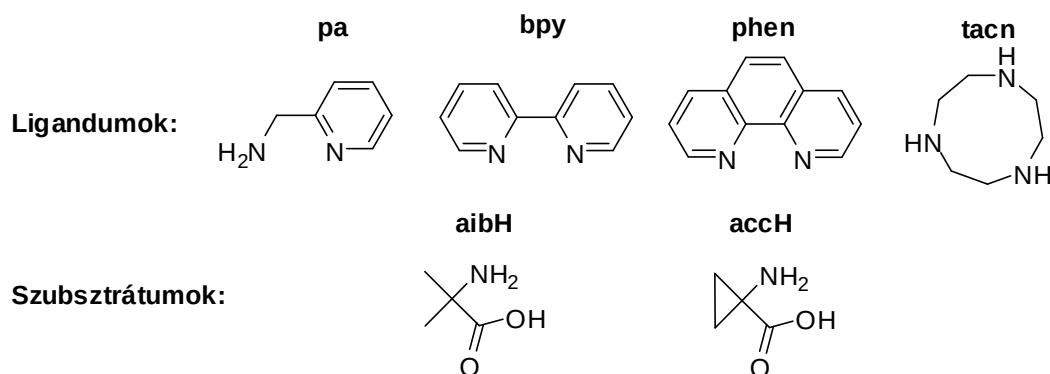
Szubsztrátum	k_{cat} (s ⁻¹)	K_M (μM)	BDE (kcal/kmol)
accH	36,4 $\pm$ 1,4	0,099 $\pm$ 0,018	97,4
N-MeaccH	12,2 $\pm$ 0,5	0,107 $\pm$ 0,021	91,4
acc-NH ₂	11,3 $\pm$ 0,6	0,214 $\pm$ 0,047	87,1
acc-OMe	27,3 $\pm$ 1,7	2,76 $\pm$ 0,55	97,3
aibH	22,1 $\pm$ 1,6	0,92 $\pm$ 0,29	100,0
D-alanin	29,8 $\pm$ 0,9	4,42 $\pm$ 0,49	98,8
Glicin	9,5 $\pm$ 0,6	1,0 $\pm$ 0,4	99,0

Első lépésként a szubsztrátum kétfogú ligandumként való koordinációja történik meg öttagú kelátgyűrű képződése közben. Ezt követően aszkorbát jelenlétében a dioxigén koordinálódik a központi fémionhoz (1). A vas(III)hoz kapcsolódó szuperoxo-ligandum ezután már képes az aszkorbát szomszédos szénatomját támadni (2) a sebességhatározó lépésben oxovas(IV) intermediér kialakulását eredményezve (3), amely közvetlenül felelős a szubsztrátum aktiválásáért. Ennek során egyelektronos oxidáción keresztül iminoil-gyök keletkezik (4). Aszkorbát felesleg esetén az oxovas(IV) intermediér reakciója szubsztrátummal és az aszkorbáttal kompetitív (egymással versengő) reakciót eredményez, amelynek során a kiindulási Fe(II)-komplex és víz keletkezik (5) (Zhou és mtsai., 2002).

Simaan és munkatársai az 3. ábrán látható ligandumokkal és szubsztrátumokkal réz(I)-, réz(II)- és vas(III)tartalmú (ES) komplexeket állítottak elő és vizsgálták reakciójukat hidrogén-peroxiddal, mint oxidálószerrel.



2. ábra ACCO enzim feltételezett működési mechanizmusa (Asc: aszkorbát; DHAsc: dehidro-aszkorbát)



3. ábra ACC oxidáz modellek előállításánál használt ligandumok és szubsztrátumok (pa: 2-pikolil-amin; tacn: 1,4,7-triaza-ciklononán; aibH: 2-amino-izovajsav)

Azt tapasztalták, hogy minden esetben az enzimátikus útnak megfelelő termékek keletkeznek, tehát ezen komplexek funkcionálisan jól modellezik az ACC oxidáz enzimet. A vizsgálatok során megállapították, hogy bázis (NaOH) hozzáadásával lényegesen növelhető a képződő etilén mennyisége. Ezt azzal magyarázták, hogy bázis hatására a hidrogén-peroxid deprotonálódik, melynek következtében reaktív fém-peroxo komplex alakul ki (Ghattas és mtsai., 2006; Ghattas és mtsai., 2007; Ghattas és mtsai., 2008; Ghattas és mtsai., 2009).

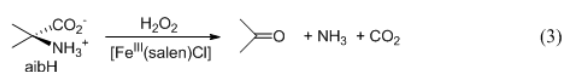
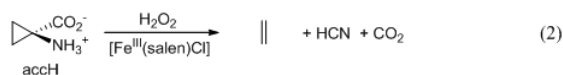
Anyag és módszer

Az etilén fontos szerepet játszik a növények érési és növekedési folyamataiban. A növényi sejtek a fenti folyamatokon kívül számos más esetben is termelnek etilént, pl. különféle stressz (fizikai sérülés, fagyás, kiszáradás, nehézfém-só mérgezés) esetén, ezért az ACCO enzim által katalizált folyamat megértése potenciális mezőgazdasági és kereskedelmi fontossággal is kecsegtethet.

Célunk volt, hogy a reakció termékeinek, intermedierjeinek azonosítása után az előállított komplexek felhasználásával katalitikus rendszereket

dolgozzunk ki. Modell vegyületként az irodalomban már ismert $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplexet választottuk (Routier és mtsai., 1999). A választást az indokolta, hogy a salenH_2 (bisz(szalicilidén-etilén-diamin) ligandum könnyen, olcsón előállítható, $\text{Fe}(\text{III})$ -komplexei nem érzékenyek, továbbá, számos salen-típusú ligandummal előállított, különböző átmenetifémeket tartalmazó komplex (Mn, Co, Fe, Pd, Ni, Cu) bizonyult katalitikusan aktívnak szerves vegyületek oxidációs reakcióiban (Woltinger és mtsai., 1999; Fan és mtsai., 2008; Woltinger és mtsai., 2009).

A funkcionális modellek kidolgozása során szubsztrátumként 1-aminociklopropán-1-karbonsavat (accH) és 2-amino-izovajsavat (aibH) – mint alternatív szubsztrátum –, oxidálószerként hidrogén-peroxidot, katalizátorként pedig $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplexet használtunk. A komplex aktivitását vizsgálva megállapítottuk, hogy katalizálja az aminosavak oxidációját (2, 3). A reakciókat gázkromatográfiás méréssel követtük nyomon a termékek koncentrációjának időbeli változásán keresztül.



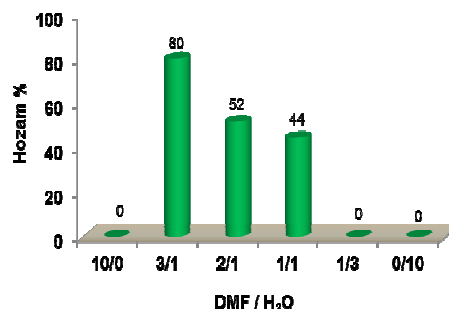
Az oxidációs reakciókat dmf/víz 3:1 arányú keverékében, 1:5000:5000 komplex, szubsztrátum, hidrogén-peroxid arány mellett, 25 °C hőmérsékleten végeztük. Az oldószerkelet kiválasztását az indokolta, hogy a komplex dmf-ban, a szubsztrátum vízben oldódik jól.

Eredmények és értékelésük

ACC oxidáz enzim modellreakcióinak vizsgálata

A megfelelő összetétel meghatározásához, különböző dmf/víz arányok mellett végeztük el az oxidációs reakciókat és azt

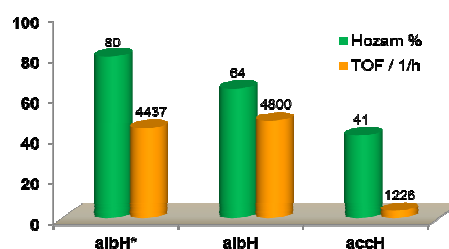
találtuk, hogy 3:1 arányú dmf/víz elegyben érhető el a legnagyobb hozam (4. ábra).



4. ábra A hozam változása a dmf/víz arány függvényében a 2-amino-izovajsav oxidációs reakciójában

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{aibH}]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$;
 $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$

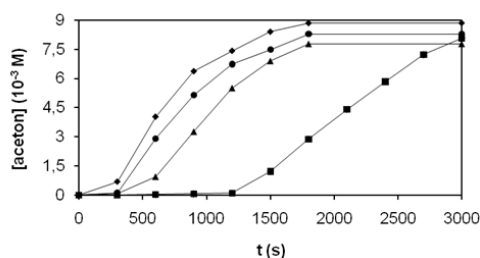
Az aminosavak oxidációs reakciói során elért TOF (átalakulási frekvencia) és hozam értékeket a 5. ábra szemlélteti. Látható, hogy a reakció csak a 2-amino-izovajsav esetén játszódik le bázis (NH_4OH) hozzáadása nélkül.



5. ábra Aminosavak oxidációs reakcióiban elért hozam és TOF értékek

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{szubsztrát}]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$;
 $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; dmf/víz:3/1;
 $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; aibH* bázis nélkül

A 6. ábrán látható, hogy az aminosavak oxidációs reakciója egy indukciós periódussal kezdődik, majd ezt követően telítésbe megy át, bázis hozzáadásával az indukciós periódus csökken. Feltételezésünk szerint a bázis az aminosav deprotonálásában játszik szerepet, amelynek eredményeként könnyebben alakul ki a fém-szubsztrátum komplex, ezáltal gyorsítva a reakció lejátszódását

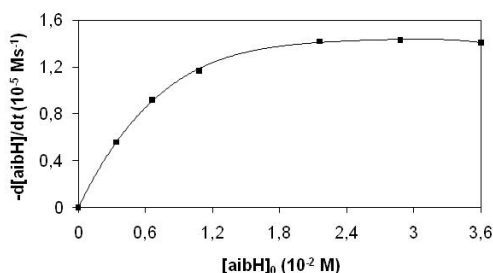


6. ábra Bázis hatása 2-amino-izovajsav oxidációs reakciójában

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{aibH}]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$;

$[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 1,13 \times 10^{-2} \text{ M}$; ■ bázis nélkül; ▲ $[\text{NH}_4\text{OH}] = 0,28 \times 10^{-2} \text{ M}$; ● $[\text{NH}_4\text{OH}] = 1,80 \times 10^{-2} \text{ M}$; ♦ $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; dmf/víz:3/1; $T = 25^\circ \text{C}$

A megfelelő körülmények meghatározását követően a 2-amino-izovajsav szubsztrátum esetében részletes reakciókinetikai vizsgálatokat végeztünk, melynek során vizsgáltuk a reakciósebesség változását a komplex, a szubsztrátum és a hidrogén-peroxid koncentrációk függvényében.

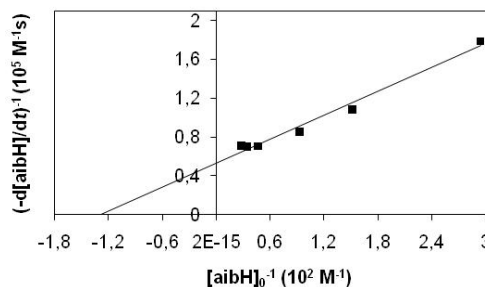


7. ábra A reakciósebesség változása a szubsztrátum kiindulási koncentrációjának függvényében

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; dmf/víz:3/1; $T = 25^\circ \text{C}$

A szubsztrátum részrendjének meghatározása során Michaelis-Menten-típusú összefüggéshez jutottunk (7. ábra), amely alapján valószínűsíthető a 2-amino-izovajsav koordinációja, amely a $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ és a szubsztrátum közötti előegyensúlyi lépéssel írható le.

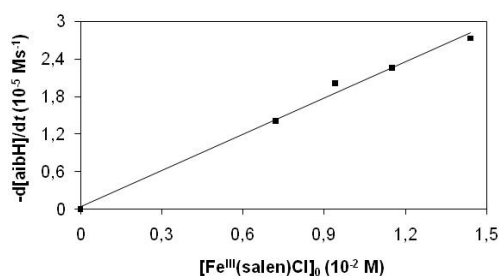
A reakciósebességi értékek reciprokát ábrázolva a szubsztrátum koncentráció reciprokának függvényében az ún. Lineweaver-Burk egyeneshez jutottunk ($R = 98,30\%$), amelyből K_M értéke $7,8 \text{ mmol}$ -nak adódott (8. ábra).



8. ábra Lineweaver-Burk egyenes

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; dmf/víz:3/1; $T = 25^\circ \text{C}$

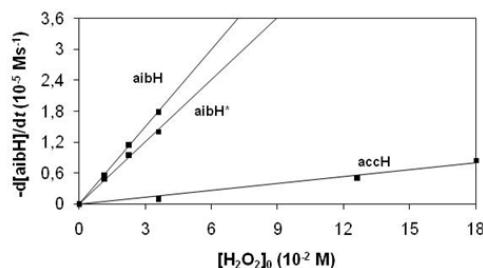
A $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplex részrendjének meghatározása érdekében, vizsgáltuk a reakciósebességi értékek alakulását a kiindulási komplexkoncentrációk függvényében (állandó szubsztrátum és hidrogén-peroxid koncentráció mellett). A 9. ábrán látható, hogy az összefüggés lineáris ($R = 99,23\%$), ami a komplexre nézve elsőrendű kinetikára utal.



9. ábra A reakciósebesség változása a komplex kiindulási koncentrációjának függvényében

$[\text{aibH}]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; dmf/víz:3/1; $T = 25^\circ \text{C}$

A reakciókat különböző H_2O_2 -koncentrációk mellett elvégezve és a sebességértékeket meghatározva a hidrogén-peroxidra nézve is egyes részrendhez jutottunk (10. ábra; $R = 99,60\%$).



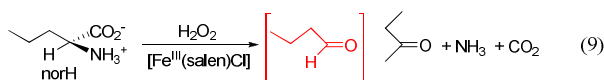
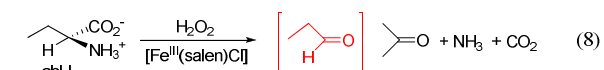
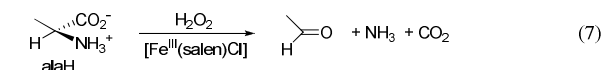
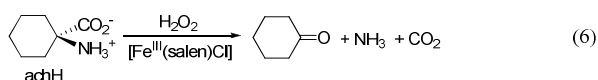
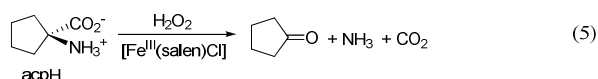
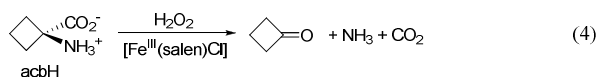
10. ábra A reakciósebesség változása a hidrogén-peroxid kiindulási koncentrációjának függvényében

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,20 \times 10^{-6} \text{ M}$; [szubsztrát] $_0 =$

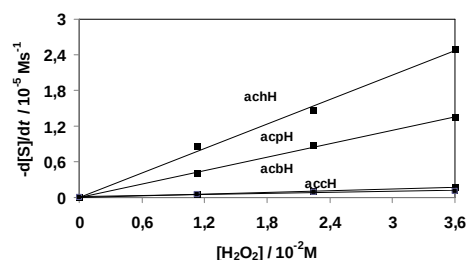
$3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$;
dmf/víz:3/1 ; $T = 25^\circ \text{C}$; aibH* bázis nélkül

A 10. ábrán látható, hogy a kísérleteket az acch aminosav esetében elvégezve is lineáris összefüggést kaptunk a hidrogén-peroxid koncentrációjának változtatása esetén (aibH: $R = 99,96\%$; acch: $R = 98,13\%$).

Az oxidációs reakciók vizsgálatát további szubsztrátumokra is kiterjesztettük. Ezen szubsztrátumok: 1-amino-ciklobután-karbonsav (acbH) (4), 1-amino-ciklopentán-karbonsav (acpH) (5), 1-amino-ciklohexán-karbonsav (achH) (6), 2-amino-propánsav (alaH) (7), 2-amino-vajsav (abH) (8), és 2-amino-pentánsav (norH) (9).

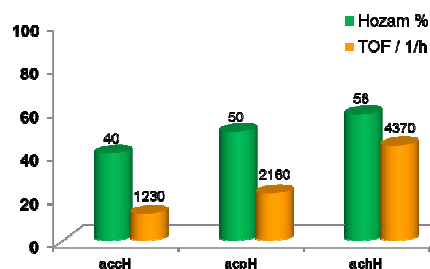


Ezen reakcióknál a reakciósebesség változását 35°C -on a hidrogén-peroxid koncentráció függvényében vizsgáltuk. A termékek azonosítása során a 2-amino-vajsav (abH) és a 2-amino-pentánsav (norH) szubsztrátumok oxidációs reakciója során nem a várt termék (szögletes zárójelben (8, 9)) aldehid keletkezett, hanem a termodinamikailag stabilisabb keton.



11. ábra A reakciósebesség változása a hidrogén-peroxid kiindulási koncentrációjának függvényében

$[\text{szubsztrát}]_0 = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$,
dmf/víz:3/1, $T = 35^\circ \text{C}$

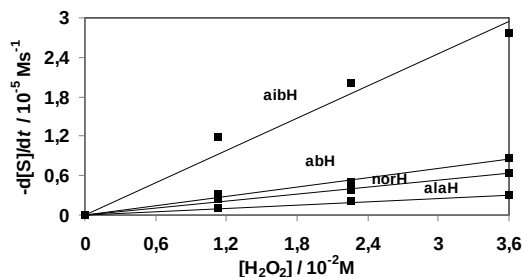


12. ábra Aminosavak oxidációs reakcióiban elért hozam és TOF értékek

$[\text{szubsztrát}]_0 = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$,
dmf/víz:3/1, $T = 35^\circ \text{C}$

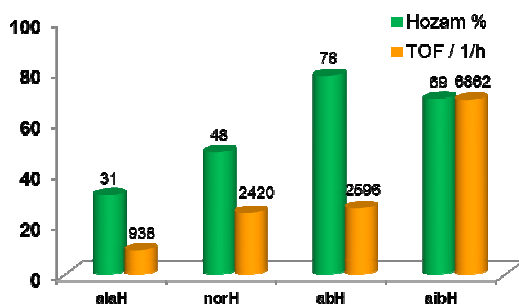
A 11. ábrán a reakciósebességet ábrázoltuk a hidrogén-peroxid koncentráció függvényében a gyűrűs szubsztrátumok oxidációs reakciói esetében. Látható, hogy a gyűrűtagszám növekedésével nő a reaktivitás. A gyűrűs szubsztrátumok oxidációs reakciói során elért TOF (átalakulási frekvencia) és hozam értékeket a 12. ábra szemlélteti.

A 13. és 14. ábrán az alifás szubsztrátumok oxidációs reakciója során kapott eredményeket tüntettük fel.



13. ábra A reakciósebesség változása a hidrogén-peroxid kiindulási koncentrációjának függvényében

$[\text{szubsztrát}]_0 = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$,
 $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\text{dmf/víz}:3/1$, $T = 35^\circ \text{C}$

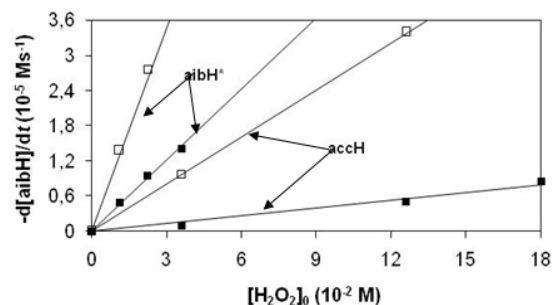


14. ábra Aminosavak oxidációs reakcióiban elért hozam és TOF értékek

$[\text{szubsztrát}]_0 = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$,
 $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$,
 $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\text{dmf/víz}: 3/1$, $T = 35^\circ \text{C}$

Intermedierek vizsgálata

Rajagopal és munkatársai 2009-ben spektroszkópiailag bizonyították, hogy a $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplexből hidrogén-peroxiddal egy $[\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}(\text{salen})]^{\bullet+}$ reaktív intermediér keletkezik, szulfidok és szulfoxidok oxidációs reakcióiban (Jayaseeli és mtsai., 2009). Korábban van Eldik és csoportja hasonló eredményeket kapott a fenti reakciók vizsgálata során (Hessenauer-Ilicheva és mtsai., 2007). Annak eldöntése céljából, hogy a reaktív oxavas részecskék képesek-e az aminosavak oxidációjára, az irodalomban jól ismert $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{N4Py})(\text{ClO}_4)_2]$ (N4Py : N,N -bisz(2-piridilmetil)- N -di(2-piridil)metilamin) komplexet választottuk modellvegyületként, amely jól meghatározott módon reagál különböző oxidálószerrel (H_2O_2 , PhIO , $m\text{-CPBA}$), termékként szobahőmérsékleten is stabilis oxavas(IV) komplexet eredményezve (Kaizer és mtsai., 2003; Kaizer és mtsai., 2004; Rohde és mtsai., 2004; Klinker és mtsai., 2005; Jensen és mtsai., 2005; Paine és mtsai., 2006) (15. ábra).

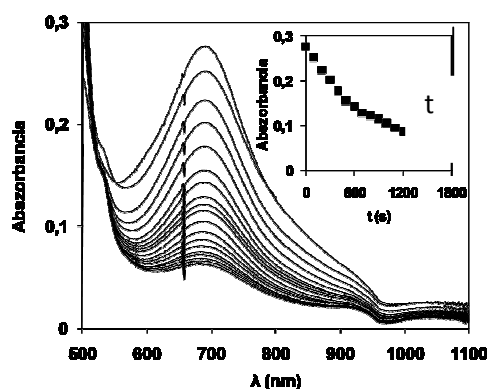


15. ábra A reakciósebesség változása a H_2O_2 koncentráció függvényében

$[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{N4Py})(\text{CH}_3\text{CN})]^{2+}_0 = 7,2 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{NH}_4\text{OH}] = 3,6 \times 10^{-2} \text{ M}$, $\text{dmf/víz}:3/1$, $T = 25^\circ \text{C}$, aibH^* bázis nélkül

Megállapítottuk, hogy a komplex katalizálja az aminosavak oxidációját. A 20. ábrán az 1-amino-ciklopropán-1-karbonsav és a 2-amino-izovajsav oxidációs reakciói során ábrázoltuk a reakciósebességet a H_2O_2 függvényében mindkét komplex esetén. Mindkét esetben a $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{N4Py})(\text{ClO}_4)_2]$ komplex aktívabbnak bizonyult a $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{salen})\text{Cl}]$ komplexnél.

UV-VIS spektroszkópia segítségével sikerült kimutatnunk az aibH szubsztrátum oxidációs reakciója során kialakuló oxavas(IV) intermediér jelenlétét (16. ábra).



16. ábra Oxavas(IV) intermediér bomlása 2-amino-izovajsav oxidációja során

$[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{N4Py})(\text{ClO}_4)_2]_0 = 1,00 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{aibH}]_0 = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$;
 $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $\text{dmf/víz}: 3/1$; $T = 25^\circ \text{C}$

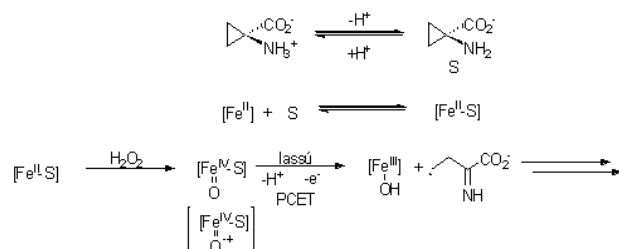
A mechanizmus tisztázása érdekében vizsgáltuk, hogy nehézvízben (D_2O) milyen sebességgel játszódnak le a reakciók. A kapott SIE (oldószer izotóp effektus) értékek 1,3 és 3,9 értékek közé

esnek (2. táblázat). Látható, hogy a vizsgált komplexekre kapott SIE értékek közel azonosak, ami alapján feltételezhető, hogy mindkét rendszer esetében azonos mechanizmus szerint játszódnak le az oxidációs reakciók.

2. táblázat Oldószer izotóp effektus értékek aminosavak oxidációs reakcióiban

Komplex	Szubsztrátum	SIE
[Fe ^{III} (salen)Cl]	accH	3,9
[Fe ^{III} (salen)Cl]	alaH	2,5
[Fe ^{III} (salen)Cl]	aibH	1,3
[Fe ^{II} (N4Py)(ClO ₄) ₂]	aibH	1,4

Az elvégzett reakciókinetikai vizsgálatok alapján, feltételezésünk szerint a reakció két előegyensúlyi lépéssel indul, ennek eredményeként egy fém-szubsztrátum komplex alakul ki, melynek hidrogén-peroxiddal történő reakciója során oxavas(IV) reaktív intermedierek alakulnak ki, majd a sebességmeghatározó lépésben PCET – protoncsatolt elektron transzfer – folyamat révén kialakul egy szubsztrát-gyök, melynek bomlásával a termékek kialakulása levezethető (17. ábra). A másik lehetséges mechanizmus a H-absztrakció, azonban ebben az esetben a SIE-nak kb. 30-50 közötti értékeknek kellett volna adódniuk, ami az alagút effektus eredménye. Továbbá az utóbbi esetben a reakciósebességnek korrelálni kellett volna a BDE-vel.



17. ábra Aminosavak oxidációs reakcióinak javasolt mechanizmusa

Irodalomjegyzék

Adam D. O., Yang S. F. (1979): PNAS, 76, 170.

Brunhuber N. M. W., Mort J. L., Christoffersen R. E., Reich N. O. (2000): Biochemistry, 39: 10730.

Costas M., Mehn M. P., Jensen M. P., Que L. (2004): Jr., Chem. Rev., 104: 939.

Dong J. G., Fernandez-Maculet J. C., Yang S. F. (1992): PNAS, 89: 9789.

Fan B., Li H., Fan W., Jin C., Li R. (2008): Appl. Catal., A: G., 340, 67.

Fernandez-Maculet J. C., Dong J. G., Yang S. F. (1993): Biochem. Biophys. Res. Commun., 193, 1168.

Ghattas W., Gaudin C., Giorgi M., Rockenbauer A., Simaan A. J., Réglier M. (2006): Chem. Commun., 1027.

Ghattas W., Giorgi M., Gaudin C., Rockenbauer A., Réglier M., Simaan A. J. (2007): Biinorg. Chem. Appl., 43424.

Ghattas W., Giorgi M., Mekmouche Y., Tanaka T., Rockenbauer A., Réglier M., Hitomi Y., Simaan A. J. (2008): Inorg. Chem., 47, 4627.

Ghattas W., Serhan Z., El Bakkali-Taheri N., Réglier M., Koder M., Hitomi Y., Simaan A. J. (2009): Inorg. Chem., 48, 3910.

Gupta K. C., Sutar A. K., Lin C. C. (2009): Coord. Chem. Rev., 254, 1926.

Hessenauer-Ilicheva N., Meyer D., Woggon W. D., van Eldik R. (2007): J. Am. Chem. Soc., 129, 12473.

Jayaseeli A. M., Rajagopal S. (2009): J. Mol. Catal. A: Chem., 309, 103.

Jensen M. P., Costas M., Ho R. Y. N., Kaizer J., Mairata A., Payeras I., Münck E., Que L., Rohde Jr., J.-U., Stubna A. (2005): J. Am. Chem. Soc., 127, 10512.

Kaizer J., Costas M., Que L. Jr. (2003): Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 42, 3671.

Kaizer J., Klinker E. J., Oh N. Y., Rohde J.-U., Song W. J., Stubna A., Kim J., Münck E., Nam W., Que L. Jr. (2004): J. Am. Chem. Soc., 126, 472.

Klinker E. J., Kaizer J., Brennessel W. W., Woodrum N. L., Cramer C. J., Que L. Jr. (2005): Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 44, 3690.

Mcrae D. G., Coker J. A., Legge R. L., Thompson J. E. (1983): Plant Physiol., 73, 784.

Paine T. K., Costa M., Kaizer J. (2006): J. Biol. Inorg. Chem., 11, 272.

Peiser G. D., Wang T. T., Hoffman N. E., Yang S. F., Liu H.W., Walsh C. T. (1984): PNAS, 81, 3059.

Rocklin A. M. (1999): PNAS, 96, 7905.

Rocklin A. M., Kato K., Liu H. W., Que L. Jr., Lipscomb J. D. (2004): J. Biol. Inorg. Chem., 9, 171.

Rohde J.-U., Torelli S., Shan X., Lim M. H., Klinker E. J., Kaizer J., Chen K., Nam W., Que L. Jr. (2004): J. Am. Chem. Soc., 126, 16750.

Routier S., Vezin H., Lamour E., Bernier J. L., Catteau J. P., Bailly C. (1999): Nucl. Acids Res., 27, 4160.

Smith J. J., John P. (1993): Phytochemistry, 32, 1381.

Thrower J. S., Blalock R., Klinman J. P. (2001): Biochemistry, 40, 9717.

Tierney D. L., Rocklin A. M., Lipscomb J. D., Que L. Jr., Hoffman B. M. (2005): J. Am. Chem. Soc., 127, 7005.

Woltinger J., Bäckvall J. E., Zsigmond A. (1999): Chem. Eur. Jr., 5, 1460.

Zhang Z., Ren J. S., Clifton I. J., Schofield C. J. (2004): Chem. Biol., 11, 1383.

Zhou J., Rocklin A. M., Lipscomb J. D., Que L. Jr., Solomon E. I. (2002): J. Am. Chem. Soc., 124, 4602.

Szlovéniai talajminták radiológiai elemzése

Fábián Ferenc

Témavezető: Dr. Kovács Tibor

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Radiokémiai és Radioökológiai Intézet

Kivonat: Napjainkban egyre nagyobb figyelem fordul a lakóházak és munkahelyek egészséget veszélyeztető körülményeinek csökkentésére. Az egyik ilyen tényező ezen területek sugárveszélyessége. Ezt elsősorban a talajban lévő természetes eredetű radioizotópok (főként radon és leányelemei) okozzák. Az utóbbi időben a térinformatika és a komplex adatkezelési módszerek fejlődésével újra előtérbe került egyes területek radiológiai felmérése. Több országra kiterjedő projekt keretében komplex radiológiai és radonpotenciál térkép kidolgozására kerül sor, ebben a munkában a szlovéniai talajminták laboratóriumi radiológiai vizsgálata volt a cél. A munka során 70 db szlovéniai talajminta gamma-spektrometriai elemzésére és radon emanációs tényezőjének meghatározására került sor. A talajminták ^{232}Th , ^{226}Ra , ^{40}K koncentrációját alacsonyháttérű HPGe gamma spektrométerrel határoztam meg, relatív módszerrel. A légszáraz minták mérését alumínium Marinelli edényben, 30 napos légmentes lezárás után 60, illetve 80 000 másodpercig végeztem. A radonemanációs tényezőt törőcellás módszerrel határoztam meg, a szekuláris egyensúly beállása után, NDI detektorrendszerbe épített Lucas cellával. A vizsgált minták ^{232}Th , ^{226}Ra és ^{40}K koncentrációja átlagosnak mondható, még az uránbányák környezetében vett minták sem mutatnak jelentős anomáliát. A mért ^{40}K aktivitáskoncentrációk 91-2591 Bq/kg, ^{232}Th 9-169 Bq/kg, ^{226}Ra 12-269 Bq/kg, az emanációs tényezők 40-60% értékek között változnak. A rádiumkoncentrációk és az emanációs tényezők egyes esetben nagyobbak, amelyek magyarázatot

jelentenek egyes szlovéniai lakóházak magas radonkoncentrációjára. A kapott adatokkal kiegészítve a komplex adatbázist, amely több fontos adatot tartalmaz, mint pl. talajmechanikai, geológiai, hidrogeológiai terepi radon és talajgáz-méréseket, elkészíthető a terület radiológiai térképe. Az adatbázis jelentős szerepet kaphat a sugárveszélyes területek megítélésében, építési engedélyek kiadásában, támogatva ezzel a döntéshozók munkáját.

Bevezetés

Napjainkban egyre nagyobb figyelem fordul a lakóházak és munkahelyek egészséget veszélyeztető körülményeinek csökkentésére. Az egyik ilyen tényező ezen területek sugárveszélyessége. Ezt főként a talajban lévő természetes eredetű radioizotópok (elsősorban radon és leányelemei) okozzák.

Az elmúlt időszakban megjelent kutatási eredményekre alapozva újra előtérbe került az egyes területek radonpotenciáljának felmérése. A részletes radontérképek elkészítéséhez azonban a radonkoncentráció mérése mellett, az azt befolyásoló összetett hatások miatt, további paraméterek mérése is szükséges. A lakóházakban kialakuló radonkoncentrációt legjelentősebben a talaj ^{226}Ra -koncentrációja befolyásolja. Ezenkívül a külső gamma-sugárterhelés jelentős része (a ^{226}Ra mellett) a ^{232}Th -tól és leányelemeitől, valamint a ^{40}K izotóptól származik. Ezen kívül figyelembe kell még venni számos meteorológiai (hőmérséklet, nyomás, páratartalom), talajtani (porozitás, permeabilitás) és radiológiai (radioizotóptartalom, exhaláció, emanáció) paramétert.

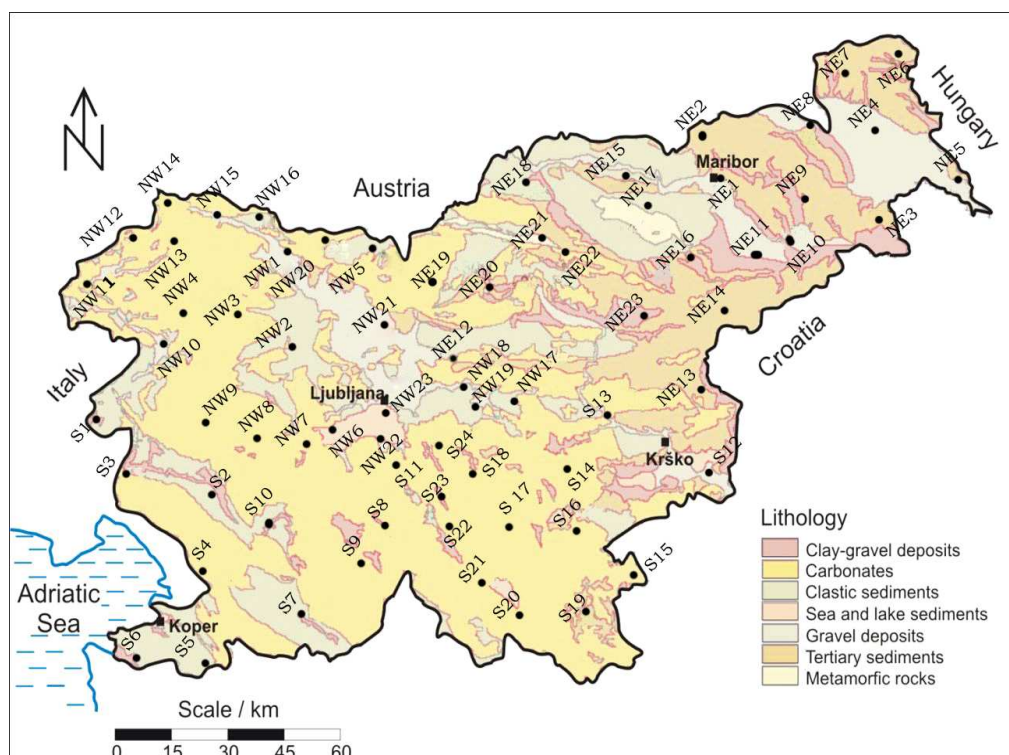
A térinformatika és a komplex adatkezelési módszerek fejlődésével lehetőség nyílt egy olyan adatbázis létrehozására, amely a későbbiekben segíti a döntéshozók munkáját. Ez az adatbázis nemcsak a radontól származó sugárterhelés becslésére ad módot, hanem a talajtól származó gamma-dózis becslésére is.

A Pannon Egyetem Radiokémiai és Radioökológiai Intézete több éve részt vesz egy nemzetközi projektben, amely fő célkitűzése a komplex radiológiai térkép elkészítése. Ebben a munkában több mint 70, Szlovéniában gyűjtött talaj és kőzet minta gamma-spektrometriai elemzését és radon emanációjának a mérését tűztük ki célként, valamint a laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek összevetését a terepi mérések eredményeivel.

Anyag és módszer

A mintavételi terület bemutatása

A vizsgálandó talajmintákat 2006-ban gyűjtötte Janja Vaupotic és kutatócsoportja. Mivel a felmérés elsősorban a radonpotenciál meghatározását tűzte ki célul, ezért a talajgáz radonkoncentrációját befolyásoló legfontosabb geológiai jellemzőket, a kőzeteket és a törésvonalakat tanulmányozó szakirodalmat tekintetem át. A mintagyűjtési pontok 7 különböző kőzettani egységbe lettek besorolva: agyag-kavics lerakódások, karbonátok, klasztikus üledékek, tengeri és tavi üledékek, kavicsüledékek, harmadkori üledékek és átalakult kőzetek (1. ábra).



1. ábra A mintavételi terület

Placer 2008-as tanulmányát alapul véve, Szlovénia az Alpokat és a Dinári-hegységet összekapcsoló területen fekszik, amely magában foglalja a Keleti Alpokat, a Déli Alpokat, a Dinári-hegységet, a Pannon-medencét, és az Adriai-Apuliai előhegységet (Placer, 2008). A szlovén terület jelenlegi tektonikai szerkezete a

harmadkori hegységképződés során jött létre az Apulia földkérgi lemez és az eurázsiai földkérgi lemez összeütközését követően, amelyre az Apuliai lemez rátolódott (Schmid, 2004).

Szlovénia nyugati és délnyugati részét ÉNY-DK jobbra mutató oldalirányú eltolódások jellemzik. Ezek némelyikét

széles törésdeformációs zóna kíséri. A főbb törési zónák Szlovénia északi részén a Száva törési zóna és a Periadriatikus törési zóna.

Az Adriai-Apuliai előhegység magába tömöríti Isztria nagyobb részét Szlovénia dél-nyugati csücskében, ami az Adriai-Dinári mezozoikus karbonát platform adriai szegmensének kőzeteiből, valamint annak kopásából származó flisskőzetekből áll (Placer, 2008).

Szlovénia teljes déli része a Dinári-hegységhez tartozik, amely a külső és a belső Dinári-hegységből áll. Azonban Szlovénia területén csak a külső Dinári-hegység kiugró, amely magában foglalja az Adriai-Dinári mezozoikus karbonát platform Dinári szakaszának legnagyobb részét. Ezekre jellemző a vetődéses és takaróredős szerkezet, amely legnagyobb részben karbonátos kőzetekből, és az Adriai-Dinári karbonát platform szétbomlásából származó üledékekből áll: a felső krétakori karbonátos turbiditok, krétakor-paleocén és eocén fliss (Placer, 2008).

Ösföldrajzi szempontból a Déli-Alpok a Dinári-hegységhez tartoznak. Szlovénia északi és észak-nyugati részén található az északi Periadriatikus törés, a Labot törés és a Ljutomer törés, illetve délen a Déli-Alpok vetődése és a Száva törés között. Közöttük emelkednek a Szlovén medence mezozoikus kőzetei és a Julián karbonát fennsík felső triászi kőzetei (Placer, 2008).

A Keleti-Alpok egy geológiai-hegyrajzi kifejezés, amely magába tömöríti a prekambriumi és paleocén jó és rossz minőségű átalakult kőzeteket, valamint a permkorszakbeli és mezozoikus üledékes kőzeteket a Periadriatikus törés északi részén, amit Ljutomer törésnek hívnak a Labot törés területén (Placer, 2008).

A Pannon-medence – Szlovénia észak-keleti részén – különálló süllyedésekből áll, amelyek a paleogén és a neogén korból származnak. Ezeket a Paratethys üledékei töltötték fel (az 1. ábrán harmadkori

üledékként jelölve), amelyek a Keleti- és Déli-Alpok és a Dinári-hegység lesüllyedt folytatásaira üledtek (Placer, 2008).

A fent leírt főbb közettani egységek mellett a nagyobb völgyek mentén kiterjedő jégkorszakbeli és fluvioglaciális üledékeket is figyelembe kell venni. Ezek az üledékek kavicsos és agyagos-kavicsos üledékként szerepelnek az 1. ábrán. A Szlovénia középső részén elterülő Ljubjanai medencében és a dél-keleti Krško-medencében a tengeri és tavi üledékek az uralkodóak.

Gamma-spektrometriás vizsgálat

A mérések során HPGe félvezető detektort alkalmaztam sokcsatornás amplitúdó analízátorral. A kapott spektrumok kiértékeléséhez a relatív módszert használtam.

A vizsgálat során a talajminták ^{232}Th , ^{226}Ra , ^{40}K , ^{137}Cs és ^{210}Pb aktivitáskoncentrációját határoztam meg. A ^{232}Th meghatározásához leányelemei, az ^{228}Ac és ^{208}Tl , a ^{226}Ra -hoz pedig az ^{214}Pb és ^{214}Bi csúcsait használtam. Az elemzéshez használt gamma-vonalak energiái az 1. táblázatban láthatók.

1. táblázat Az elemzéshez használt gamma-vonalak energiái

Mért izotóp	Gamma-energia (keV)
^{228}Ac	911
^{208}Tl	2614
^{214}Pb	351
^{214}Bi	609
^{40}K	1461
^{137}Cs	661
^{210}Pb	46

A mérés főbb lépései:

1. mintaelőkészítés
2. a spektrum felvétele és elemzése
3. az aktivitáskoncentrációk kiszámítása

Mintaelőkészítés:

A mintákat szárítószekrényben 24 órán át 105 °C-on tömegállandóságig szárítottam a nedvességtartalom eltávolítása céljából,

majd porcelánmozsárban porítottam. Ezután ismert (előzetesen lemerő) tömegű, fóliával kibélelt mintatartó edénybe töltöttem, tömegét pontosan meghatároztam, majd az edényt teflonszalag és ragasztószalag segítségével légmentesen lezártam. A mérés előtt legalább 4 hét várakozási idő szükséges, hogy a benne lévő ^{226}Ra és a keletkező ^{222}Rn között beállhasson az egyensúly.

A mérendő talajminták eltérő mennyisége miatt kétféle mintatartó edényt használtam, egy 500 cm^3 térfogatú, ún. Marinelli-geometriájú, és egy 100 cm^3 térfogatú alumínium edényt.

A spektrum felvétele és elemzése:

A várakozási idő lejártá után a Marinelli-edényekben eltett mintáknál 60 000, a kis mintatartókban eltetteknel 80 000 másodperces mérési időt alkalmazva felvettem a spektrumot. A spektrum elemzését relatív módszerrel végeztem. A Marinelli-edényekben eltett minták esetében vörössalak etalont használtam. A kis mintatartók esetében, az eltérő hatásfok miatt, kétféle etalonnal dolgoztam. A ^{40}K , ^{137}Cs és ^{210}Pb izotópoknál az IAEA-327 kódszámú etalont, míg a ^{232}Th és ^{226}Ra meghatározásánál vörössalak etalont használtam.

Az elemzés során a mért minták előbb említett gamma-vonalait megkerestem, és a mérőrendszerhez csatlakoztatott számítógép segítségével kiszámoltam az egyes csúcsok alatti területet, ami a beütésszámot adja. Ugyanezeknél az energiáknál előzetesen leolvastam a használt etalonoknál kapott beütésszámokat is.

Az aktivitáskoncentrációk kiszámítása:

A kapott beütésszámokat osztva a mérési idővel intenzitásértékeket kapunk. Az etalontól, illetve a mintától adódó intenzitásokat, az etalon ill. a minta tömegének figyelembevételével, egymáshoz arányítva megkapjuk a minta adott izotópjának aktivitáskoncentrációját:

$$A_m = \frac{I_m}{I_e} \cdot A_e \quad (1)$$

ahol A_m a minta adott izotópjának aktivitáskoncentrációja (Bq/kg),

A_e az etalon adott izotópjának aktivitáskoncentrációja (Bq/kg),

I_m a minta adott izotópjától származó, tömegegységre vonatkozó impulzusszám (cps),

I_e az etalon adott izotópjától származó, tömegegységre vonatkozó impulzusszám (cps).

A ^{232}Th és ^{226}Ra aktivitáskoncentrációja az említett leányelemeknél mért beütésszámok átlagértékeként számolható.

Radonemanációs vizsgálat

A radon bomlása során keletkező alfa-részecske detektálása általában szcintillációs detektorral történik.

Az emanáció mérését ún. direkt módszerrel végeztem, mely az emanált radon mennyiségének meghatározásán alapul.

A folyamat lépései:

1. mintaelőkészítés
2. a keletkezett radongáz átszívása a Lucas-cellába
3. az átszívott radon mennyiségének meghatározása
4. a ^{222}Rn aktivitásának meghatározása

Mintaelőkészítés:

A mintákban a ^{226}Ra aktivitáskoncentrációja ismert az előzetes gamma-spektrometriás mérés eredményeiből. A mintákat szárítószekrényben 24 órán át $105\text{ }^\circ\text{C}$ -on tömegállandóságig szárítottam a nedvességtartalom eltávolítása céljából, majd porcelánmozsárban porítottam, 1 mm lyukméretű szitával elkülönítettem egy szemcsefrakciót, hogy a vizsgált minta szemcseméret-eloszlása homogén legyen. Ezután ismert (előzetesen lemerő) tömegű, kb. 50 cm^3 térfogatú üvegampullákba kb. 15 g mintát töltöttem, tömegét pontosan meghatároztam, majd az ampullákat leforrasztottam. A mérés előtt legalább 4 hét várakozási idő szükséges, hogy a benne lévő ^{226}Ra és a keletkező ^{222}Rn között beállhasson az egyensúly.

A keletkezett radongáz átszívása a Lucas-cellába:

Az átszívás előtt a Lucas-cellát nitrogéngázzal 3-5 percig átöblítettem, majd kivákuumoztam, és a fotoelektron-sokszorozóhoz csatlakoztattam. Háromszor 1000 másodpercig mértem a cella háttérét. Ezután ellenőriztem a vákuumot a cellában, szükség esetén újra kivákuumoztam és az átszívásra alkalmas rendszerhez csatlakoztattam, amely egy vákuummérőt és egy CaCl_2 -os szűrőt tartalmaz. A mintát tartalmazó üvegampullát a törőcellába raktam, majd azt légmentesen lezártam, és rázogatóssal az üvegampullát összetörtem. A törőcella egyik szelepét a szűrő utáni gumicsőhöz, a másikat a nitrogénpalackhoz csatlakoztattam. A szelepek nyitásával a törőcellába juttatott emanált radongázt nitrogéngáz segítségével áthajtottam a Lucas-cellába, majd zártam annak szelepét, és eltávolítottam a gumicsövet. A Lucas-cellát ezután 3 órára félretettem, hogy beálljon az egyensúly a ^{222}Rn és rövid felezési idejű leányelemei között.

Az átszívott radon mennyiségének meghatározása:

A várakozási idő elteltével a Lucas-cellát a fotoelektron-sokszorozóhoz csatlakoztattam, és háromszor 1000 másodpercig mértem a beütésszámot. A mérést követően a cellát ismét kivákuumoztam, átöblítettem, majd újra kivákuumoztam, hogy eltávolítsam a radont és bomlástermékeit.

A ^{222}Rn aktivitásának meghatározása:

Az aktivitás számítása az alábbi képlet segítségével történik:

$$A_{\text{Rn-222}} = \frac{B-H}{F \cdot S \cdot \mu \cdot t} \quad (2)$$

ahol $A_{\text{Rn-222}}$ a ^{222}Rn aktivitása (Bq),
 B a bruttó beütésszám (cps),
 H a háttér mérésénél kapott beütésszám (cps),
 F a számlálási hatásfok (cellára jellemző),
 S a radon bomláskorrekciós tényezője,
 μ az áthajtási hatásfok ($\mu = 95\%$),
 t a mérési idő ($t = 1000\text{s}$).

A bomláskorrekciós tényező a 3 óras várakozási idő során elbomlott radon mennyiségével korrigálja az eredményt. Kiszámítása:

$$S = e^{-\lambda t} \quad (3)$$

ahol λ a radon bomlási állandója
 $(\lambda = 2,0979 \cdot 10^{-6} \text{s}^{-1})$,
 t a várakozási idő ($t = 3\text{h}$).

Ha az így kiszámolt aktivitásértéket elosztjuk a bemért minta tömegével, az emanált radon aktivitáskoncentrációját kapjuk Bq/kg egységben.

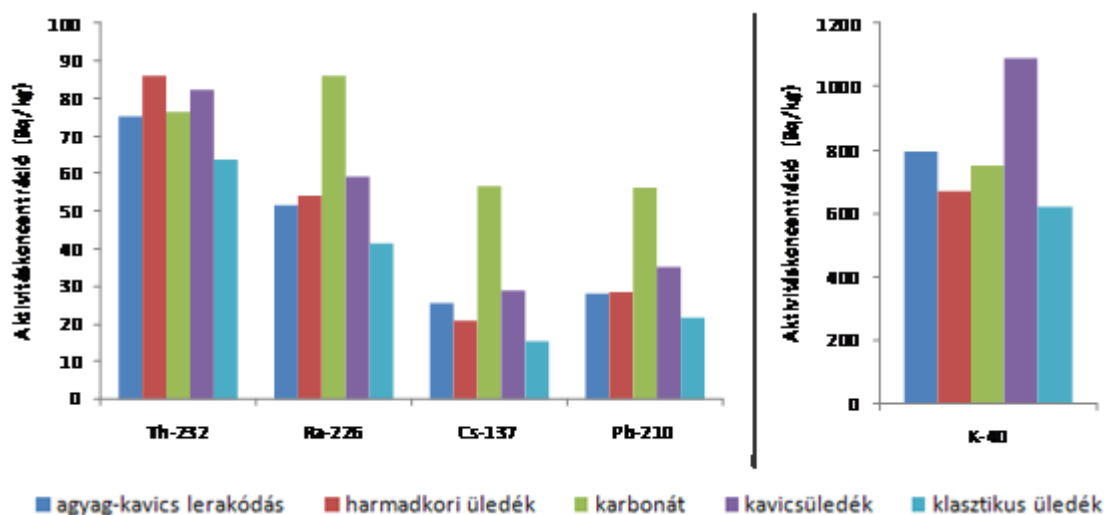
Az így meghatározott ^{222}Rn aktivitáskoncentráció és a gamma-spektrometriás vizsgálattal mért ^{226}Ra aktivitáskoncentráció hányadosa adja az emanációs tényezőt:

$$\varepsilon (\%) = \frac{A_{\text{Rn-222}}}{A_{\text{Ra-226}}} \cdot 100 \quad (4)$$

Eredmények

A gamma-spektrometriás vizsgálat eredményei

A gamma-spektrometriás analízis során kapott beütésszámokból a fent említett módon számolt aktivitáskoncentráció-értékek talajtípusonként átlagolt értékei a 2. ábrán láthatók.



2. ábra A kapott aktivitáskoncentráció-értékek átlagos értékei talajtípusonként

Különböző mintavételi pontokból vett talajminták laboratóriumi elemzése során a mintában található radioizotópok aktivitáskoncentrációjának meghatározásával, és ezekből elméleti dóziskonverziós tényezők segítségével is lehetséges a dózis kiszámítása. Ez esetben a dózis időben állandó viszonyokat feltételezve (Kanyár, 2000):

$$E_j = K_j \cdot c_j \cdot U \cdot \tau$$

ahol E_j a j radioaktív izotóptól származó dózis,
 K_j a j radionuklidra vonatkozó dóziskonverziós tényező,
 c_j a j radionuklid aktivitáskoncentrációja,
 U a hasznosítási teljesítmény,
 τ az időtartam.

A fentebb említett összefüggést gyakran alkalmazzák. Több kutató vizsgálta az egyes izotópok dóziszjárulékait, melyek a 2. táblázatban láthatók. Ezeket az eredményeket több ezer minta mérése alapján állapították meg (Beck, 1980; Quindos, 1994; Saito, 1995; Clouvas, 2000).

2. táblázat A fontosabb radionuklidok dóziskonverziós tényezői különböző kísérleti eredményekből

Nuklid	Dóziskonverziós tényező (nGy kg Bq ⁻¹ h ⁻¹)			
	Saito	Beck	Clouvas	Quindos
²³² Th-sorozat				
²²⁸ Ac	0,2210	0,2780	0,1954	0,2132
²¹² Bi	0,0272	0,0212	0,0238	0,0250
²⁰⁸ Tl	0,3260	0,3210	0,3031	0,3193
²¹² Pb	0,0277	0,0212	0,0191	0,0260
Összesen	0,6040	0,6660	0,5437	0,5835
²³⁸ U-sorozat				
²¹⁴ Pb	0,0546	0,0472	0,0434	0,1183
²²⁶ Ra	0,0012		0,0100	
²¹⁴ Bi	0,4010	0,3780	0,3554	0,3469
Összesen	0,4630	0,4300	0,3990	0,4551
⁴⁰ K	0,0417	0,0422	0,0399	0,0429

Részben a fenti eredményekre alapozva a nemzetközileg elfogadott dóziskonverziós tényezőket a 3. táblázat tartalmazza. Ezeket az irodalmi értékeket alkalmaztam én is a külső gamma-dózis számításához.

3. táblázat Az alkalmazott dóziskonverziós tényezők

Nuklid	Dóziskonverziós tényező (nGy kg Bq ⁻¹ h ⁻¹)
⁴⁰ K	0,0429
U-sorozat	0,4551
Th-sorozat	0,5835

A külső gamma-dózis számítása:

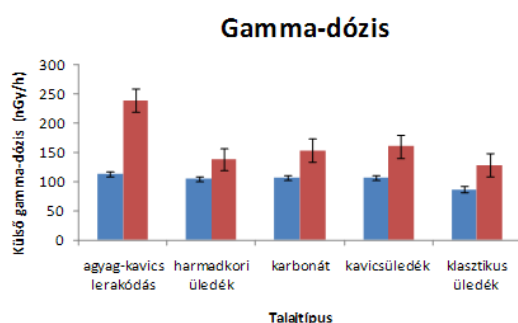
$$D = 0,0429 \cdot A_{K-40} + 0,4551 \cdot A_{Ra-226} + 0,5835 \cdot A_{Th-232} \quad (6)$$

ahol A a mért beütésszámból számított ⁴⁰K, ²²⁶Ra és ²³²Th aktivitáskoncentráció

A kapott aktivitáskoncentráció-értékekből kísérletileg meghatározott

dóziskonverziós tényezők segítségével meghatároztam a ^{232}Th , ^{226}Ra és ^{40}K okozta külső gamma-dózist a 6. egyenlet segítségével. A használt dóziskonverziós tényezők értékei a 3. táblázatban találhatóak. A számolt eredményeket összevettem a korábbi terepi mérések során kapott értékekkel, melyeket a 3. ábrán foglaltam össze.

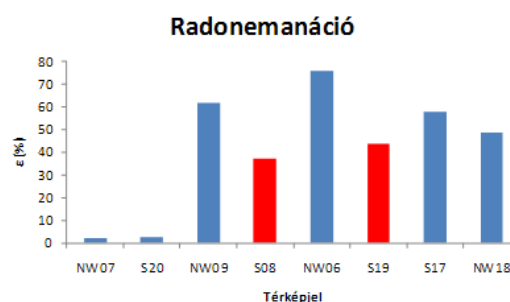
A talajminták gamma-spektrometriás elemzése során kapott aktivitáskoncentrációkat és az ezekből számolt külső gamma-dózisértékeket a 4. táblázatban foglaltam össze.



3. ábra A becsült dózisek összevetése a terepi mérések eredményeivel

A radonemanációs vizsgálat eredményei

A nagyobb ^{226}Ra koncentrációjú minták esetében radon emanáció meghatározást is végeztem. 8 db minta emanációs tényezőjét sikerült meghatározni, azonban célul tűztem ki a többi minta radonemanációjának is a meghatározását. Ezek a vizsgálatok jelenleg is folynak. A következő, 5. táblázatban a kiválasztott minták radon emanációja látható. Az emanációs tényezők értékeit az 4. ábrán foglaltam össze.



4. ábra A kiválasztott minták emanációs tényezői (kék: karbonát, piros: agyag-kavics lerakódás)

4. táblázat A három különböző terület összesítéseként kapott aktivitáskoncentráció és külső gamma-dózis értékek (kék-becsült; bordó-mért)

	Aktivitáskoncentráció (Bq/kg)					Külső gamma-dózis (nGy/h)
	^{232}Th	^{226}Ra	^{40}K	^{137}Cs	^{210}Pb	
Számtani közép	76,7	62,7	798,1	36,1	37,2	107,5
Mértani közép	69,0	53,0	661,3	6,8	30,0	96,8
Szórás	33,0	43,9	518,7	92,4	32,9	48,9
Minimum	9,3	11,5	97,7	0,1	8,1	14,8
Maximum	168,6	269,3	2590,9	706,7	192,2	263,5
Világátlag	45	32	412	-	-	58

5. táblázat A kiválasztott minták emanációs tényezői

Talajtípus	Térképjel	Aktivitáskoncentráció (Bq/kg)		ε (%)	
		^{222}Rn	^{226}Ra		
karbonát	NW07	5,8	269,3	2,14	± 0,22
karbonát	S20	5,3	205,6	2,58	± 0,29
karbonát	NW09	104,5	169,9	61,53	± 1,45
harmadkori üledék	S08	55,4	149,3	37,10	± 1,17
karbonát	NW06	110,6	146,0	75,77	± 1,62
harmadkori üledék	S19	54,7	126,1	43,38	± 1,43
karbonát	S17	71,7	124,3	57,70	± 1,57
karbonát	NW18	56,7	116,1	48,86	± 1,36

Eredmények értékelése

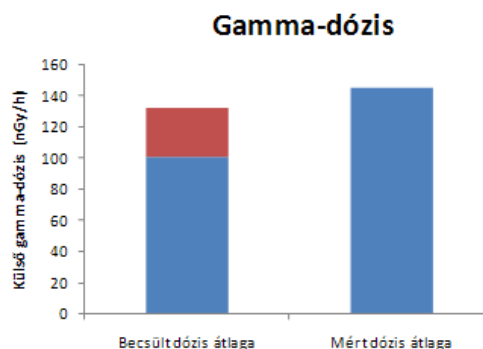
A gamma-spektrometriás vizsgálat eredményei alapján megállapítható, hogy a mért értékek közül egyik sem kiugróan magas, néhány területen azonban a többihez képest nagyobb koncentrációértékeket kaptunk.

A magas ^{40}K koncentráció elsősorban az északnyugati területekre jellemző. A vizsgált kőzettípusok közül a kavicsüledékek ^{40}K aktivitása a legnagyobb. Magas ^{137}Cs koncentráció is elsősorban az északnyugati területeken fordul elő, rendszerint ott, ahol a K-koncentráció is nagy, főként karbonátos kőzetekben. A magas Th-koncentrációt általában magas Ra-koncentráció kíséri. A nagy ^{226}Ra aktivitás elsősorban a déli és északnyugati területre jellemző, és főként a karbonátokban és kavicsüledékekben fordul elő. Szintén ezeken a területeken magasabb a ^{210}Pb aktivitáskoncentrációja, főként a karbonátos kőzetekben. Elmondható, hogy a magas Pb-tartalommal rendelkező mintákban általában a többi izotóp (^{232}Th , ^{226}Ra , ^{40}K) koncentrációja is nagy volt.

Látható, hogy jelentősebb aktivitás főként a déli és az északnyugati régióban volt jellemző. Az északkeleti területekről származó mintákban a vizsgált nuklidok koncentrációja kisebb volt. Nagyobb gamma-dózisok (az aktivitáskoncentrációkkal összhangban) elsősorban a déli és az északnyugati területekre jellemzők.

A dózisbecslésnél a mért értékek minden esetben nagyobbak voltak a számítottaknál. Ez a hiba abból ered, hogy a becslésnél nem vettem figyelembe a kozmikus sugárterhelést, melynek világátlagos 31 nGy/h. Ezzel korrigálva a becslés eredményét a számított dózisértékek megközelítik a mérési eredményeket (5. ábra). Ez egyedül az agyag-kavics lerakódás típusú talajok esetén nincs így. Itt a hibát

valószínűsíthetően a használt dózismérő vagy a mintavételezés hibája okozta.



5. ábra A dózisbecslés eredményei a kozmikus sugárterhelés világátlagával korrigálva (bordó-kozmos; kék-mért)

A radonemanációs vizsgálat eredményeit tanulmányozva megállapítható, hogy az NW07 és S20 azonosítójú minták esetében mért emanációs tényezők rendkívül kicsik. Ez (a talaj paraméterein kívül) az alkalmazott Lucas-cella hibájából is adódhat. Látható, hogy a karbonátos talajok emanációs tényezői általában nagyobbak, mint a harmadkori üledékeké. A talajok átlagos emanációs tényezője 40-60 % közötti (Miklyaev, 2009), tehát a mért értékek majdnem mindegyike átlagosnak mondható. A legnagyobb emanációt az NW06 azonosítójú minta esetében mértem, ennek értéke 75,77 %, mely kicsit magasabb az átlagosnál, viszont a ^{226}Ra -tartalom majdnem fele akkora, mint a NW07 minta esetében. A legkisebb érték (2,14%) az utóbbi minta esetében volt mérhető.

Irodalomjegyzék

- Beck H. L. (1980): Exposure rate conversion factors for radionuclides deposited on the ground. US Department of Energy, EML-378, New York.
- Clouvas A., Xanthos S., Antonopoulos-Domis M., Silva J. (2000): Montecarlo calculation of dose rate conversion factors for external exposure to photon emitters in soils. Health Phys. 78: 295–302.
- Kanyár B., Béres Cs., Somlai J., Szabó S. A. (2000): Radioökológia és környezeti

- sugárvédelem. ISBN 963 9220 31 0, Veszprémi Egyetemi Kiadó.
- Miklyaev P. S., Petrova T. B., Vlasov V. K., Afinogenov A. M., Kiryukhin O. V., Vlasova I. E. (2009): Influence of Clay Properties on Radon Emanation. ISSN 0027-1314, Mosc. Univ. Chem. Bull. 64 (5): 314-316.
- Placer L. (2008): Principles of the tectonic subdivision of Slovenia. *Geologija* 51: 205–217.
- Quindos L., Fernandez P., Soto J., Rodenas C., Gomez J. (1994): Natural radioactivity in spanish soils. *Health Phys.* 66 (2): 194–200.
- Saito K., Jacob P. (1995): Gamma ray fields in the air due to sources in the ground. *Radiat. Prot. Dosim.* 58: 29–45.
- Schmid S. M., Fugenschuh B., Kissling E., Schuster R. (2004): Tectonic map and overall architecture of the Alpine orogen. *Eclogae Geol. Helv.* 97: 93–117.

Szteránvázas azidok réz-katalizált 1,3-dipoláris cikloaddíciója egyszerű alkinekkel és ferrocénszármazékokkal

Fehér Klaudia

Témavezetők: Skodáné Dr. Földes Rita, Dr. Balogh János

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az 1,3-dipoláris cikloaddíció, más néven Huisgen-féle dipoláris cikloaddíció különféle szubsztituenseket tartalmazó azidok és alkinek összekapcsolására alkalmas. A reakció során triazolok keletkeznek: 1,4- illetve 1,5-diszubsztituált regioizomerek. Réz katalizátor alkalmazásával a reakció szelektíven az 1,4-diszubsztituált származékot eredményezi. A módszer előnye, hogy enyhe reakciókörülmények (szobahőmérséklet, atmoszférikus nyomás) mellett végrehajtható. Kutatásaim során szteránvázas triazolszármazékokat állítottam elő ennek a módszernek a felhasználásával. Kiindulási vegyületeként szteránvázas azidokat alkalmaztam, így olyan származékokhoz jutottam, melyekben a triazolgyűrű közvetlenül kapcsolódik a szteránvázhoz. A terminális alkin reakciópartnerek különféle szubsztituenseket, köztük ferrocenilcsoportot tartalmazó származékok voltak. A ferrocénszármazékok elektrokémiai detektálásra alkalmasak, ugyanis reverzibilisen oxidálhatók. Ezt a tulajdonságot számos gyakorlati alkalmazásánál felhasználják, sok hasonló vegyület bioszenzorként működik. A kísérletek elvégzéséhez szintetizáltam a kiindulási azidokat, illetve egy ferrocéntartalmú alkint. Ez utóbbi vegyületet ferrocenil-imin jelenlétében lejátszódó, Co-katalizált karbonilezési reakcióval állítottam elő. A termékek összetételét analitikai módszerekkel ellenőriztem. Megállapítottam, hogy a reakció mind ferrocént tartalmazó, mind

pedig egyszerű, nem ferrocéntartalmú alkinekkel jó hozammal kivitelezhető.

Bevezetés

Az oldalláncban heterociklusos gyűrűt tartalmazó szteroidok számos kedvező tulajdonsággal, gyógyszerkémiailag szempontból fontos biológiai aktivitással rendelkeznek.

A heterociklusok kialakítására egyre több olyan módszert dolgoznak ki, mely lehetővé teszi, hogy könnyen hozzáférhető alapelemekből, lehetőleg kevés reakciólépésben változatos szerkezetű termékekhez jussanak.

Az egyik ilyen módszer a réz-katalizált azid-alkin cikloaddíció, mely 1,4-diszubsztituált 1,2,3-triazolokhoz vezet. A reakció előnye, hogy enyhe körülmények között, vizes közegben végrehajtható, és jó szelektivitással szolgáltatja a kívánt terméket. Sikerrel alkalmazták különféle biomolekulák átalakítására, de szteroidok esetén nagyon kevés példát találunk rá az irodalomban. Az így előállított vegyületek többségében a heterociklus egy kapcsolódó elemén keresztül épül a szteránvázhoz.

Céлом az volt, hogy megvizsgáljam, alkalmazható-e a módszer olyan szteránvázas azidok átalakítására, ahol az azidocsoport közvetlenül a vázhoz kapcsolódik.

A cikloaddíciót az egyszerű, kereskedelmi forgalomban kapható alkinek mellett ferrocenilcsoportot tartalmazó reagensekkel is elvégeztem.

A ferrocén-szteroid biokonjugátumok ugyanis számos kedvező tulajdonsággal

rendelkezik: a ferrocenilcsoport jelenléte sokszor növeli a biológiai aktivitást, emellett lehetővé teszi a hozzákapcsolt biomolekula elektrokémiai detektálását is. Az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a ferrocéntartalmú vegyületek esetén a reakciókörülmények változtatása jelentősen befolyásolhatja a reakció kimenetelét, így e cikloaddíciós reakciókat többféle katalizátor alkalmazásával is megvizsgáltam.

Irodalmi áttekintés

A szerves kémia, valamint a gyógyszerkémia területén egyaránt fontos szempont, hogy összetett szerkezetű molekulákat, lehetőleg minél kevesebb lépésben és minél jobb szelektivitással tudjunk előállítani. A gyakorlati szempontból is fontos vegyületekhez vezető reakcióutak kidolgozásánál lényeges a gazdaságosságra való törekvés.

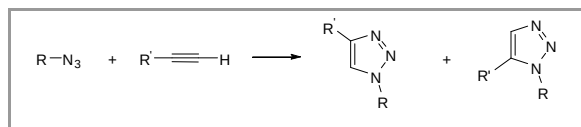
Ennek egyik megvalósítási formája az ún. „click” reakció (a „click” kémia elnevezés Barry Sharplesstől származik).

Ez olyan reakciókat jelent, amelyek könnyen kivitelezhetők, egyszerű, könnyen hozzáférhető alapvegyületekből kiváló hozammal és nagy szelektivitással vezetnek a kívánt termékekhez. Környezetbarát körülmények között (vizes közegben vagy oldószer felhasználása nélkül) mennek végbe, emellett változatos szerkezetű molekulák összekapcsolására alkalmasak, és nem igénylik védőcsoportok használatát. A termékek minimális tisztítással kinyerhetők. (Kolb, 2001).

E reakcióknak általában négy fő csoportját különböztetjük meg. Ide tartoznak az 1,3-dipoláris cikloaddíciós reakciók, a nukleofil reagensekkel történő gyűrűnyitások, a nem aldol típusú karbonil reakciók, valamint a szén-szén többszörös kötéseken lejátszódó reakciók. Ezek közül a cikloaddíciós reakciókat alkalmazzák legelterjedtebben.

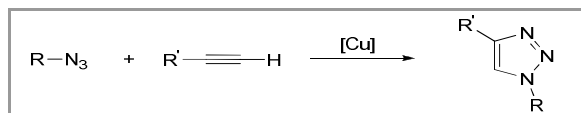
Az eredeti, Huisgen ciklizációként ismert reakció — melynek során egy azidból és

egy terminális alkinből kiindulva 1,2,3-triazol képződik (1. ábra) — termikus eljárás, amely nem regioszelektív: az 1,4- és 1,5-diszubsztituált származékok elegyéhez vezet.



1. ábra Huisgen ciklizáció

A módszert akkor kezdték el széles körben alkalmazni, amikor felfedezték (Tornøe, 2002), hogy a reakció réz(I)-sók mint katalizátorok jelenlétében kizárólagosan az 1,4-diszubsztituált regioizomert eredményezi (2. ábra).



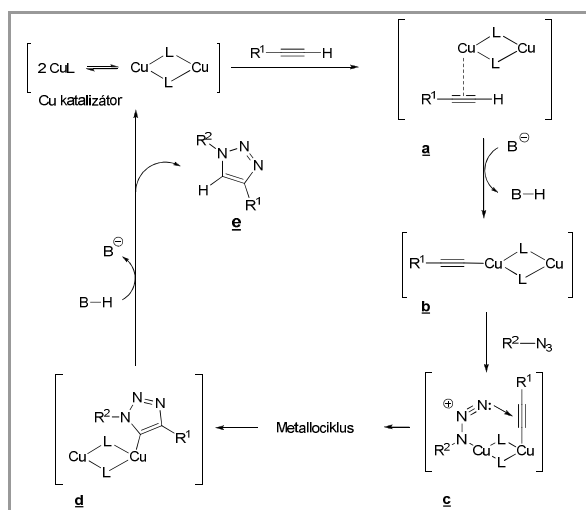
2. ábra Réz-katalizált azid-alkin cikloaddíció

A módszer népszerűségét több tényező is magyarázza. Az azidok és a terminális alkinnek meglehetősen könnyen hozzáférhetőek és stabilak standard körülmények között. Annak ellenére, hogy az alifás azidok bomlása termodinamikailag kedvező, viszont kinetikailag gátolt, ezért mindaddig stabilak maradnak, amíg egy dipolarofil vegyület, mint például az alkin, reakcióba nem lép velük. A rézkatalizált folyamat mintegy 10^7 -szer gyorsabban játszódik le, mint katalizátor nélkül. A tisztítás nagyon sok esetben alapvetően a termék szűréséből áll. Általában nincs szükség magas hőmérséklet alkalmazására, bár a reakció széles hőmérséklettartományban ($0-160^\circ\text{C}$), sokféle oldószerben (beleértve a vizet is), és széles pH-tartományban (5-12) is végbemehet. Sztérikus tényezők sem befolyásolják: különféle szubsztituált primer, szekunder, terciár és aromás azidok valamint változatos szerkezetű acetilén-származékok is könnyedén részt vesznek ebben az átalakulásban.

A reakciók általában vizes közegben, enyhe körülmények között lejátszódnak, elterjedten alkalmazzák különféle biomolekulák, pl. fehérjék, nukleinsavak,

oligoszacharidok módosítására (Amblard, 2009, Best, 2009, El-Sagheer, 2010), radioizotópok megkötésére és fluoreszcens jelzőanyagok beépítésére (Hein, 2008), biomolekulák összekapcsolására (Tron, 2008) és különböző biokonjugátumok előállítására (Moses, 2007). A dendrimerek, polimerek előállításában is forradalmian új eredményeket értek el (Johnson, 2008, Golas, 2010). Nem meglepő tehát, hogy ez a módosított triazol szintézis vált a „click” kémia mintareakciójává a modern szakirodalomban.

A cikloaddíciós reakciók általában koncertikus folyamatok. Ugyanakkor mind kísérleti kinetikai adatok, mind elméleti számítások szerint a réz-katalizált azid–alkin cikloaddíció (CuAAC) többlépéses folyamat. Feltételezett mechanizmusa a következő (3. ábra).



3. ábra A CuAAC mechanizmusa

A reakció első lépéseként az alkin koordinálódik a dimer formában lévő réz(I) vegyülethez. Ezután a terminális alkin deprotonálódásával réz-acetilid képződik. Valójában többféle Cu-acetilid komplex is kialakulhat az alkalmazott reakciókörülményektől függően. A **b** vegyület egy lehetséges szerkezetet mutat. A komplexképződés csökkenti a terminális alkin pKa értékét, ami lehetővé teszi, hogy a deprotonálódás vizes oldószerben bázis hozzáadása nélkül is bekövetkezzen. Ha nem-bázikus oldószert, például acetonitrilt

alkalmazunk, akkor a deprotonálódás elősegítésére egy bázist, például 2,6-lutidint, vagy pedig N,N'-diizopropil-etilamint (DIPEA) kell adagolni.

A következő lépésben az azid nitrogénatomja (N(1)) kiszorítja a réz-acetilid komplex egyik ligandumát a második rézatomról, így alakul ki a **c** vegyület. Ez viszont „aktiválja” az azidot, lehetővé teszi a nukleofil támadást az acetilén szénatomján (C(5)). Elektronikus tényezők és az atomok közelsége következtében az N(3) nitrogénatom könnyen megtámadja az alkin C(4) szénatomját, ami metalociklus kialakulásához vezet. Ezután az N(1) nitrogén magános elektronpárja megtámadja a C(5) szénatomot, és így kialakul a megfelelő triazol (**d**). Végül protonálódás révén kialakul a termék és szabaddá válik a réz(I) katalizátor. A protonálódás valószínűleg a protonált bázis és/vagy az oldószer hatására következik be, ennek bizonyításához azonban további kutatások szükségesek.

A CuAAC reakciók esetében két alapvető katalizátortípust alkalmaznak: réz(II)-sókat, melyeket a reakcióelegyben, „in situ” redukálnak az aktív réz (I) részecskévé, vagy pedig eleve réz(I) katalizátort adagolnak az elegybe.

Réz(II)-sók alkalmazásának számtalan előnye van. A katalizátor olcsó, a reakció vízben, a legolcsóbb közegben is végrehajtható és oxigén jelenléte sem zavarja. Az alkin deprotonálódása vizes oldószerben bázis hozzáadása nélkül is végbemegy. További előnyt jelent, hogy nincs szükség különböző védőcsoportok kialakítására. A réz(II) redukálása réz(I) ionokká általában nátrium-aszorbáttal történik, melyet 3-10-szeres feleslegben alkalmaznak, de más redukáló ágensek is elfogadható sikerrel használhatók, beleértve a hidrazint és a trisz-(2-karboxietil)foszfint (TCEP). A módszer legfőbb hátránya éppen az, hogy a redukáló közeg a Cu(II)-sót elemi állapotba is redukálhatja (réz(0) alakul ki).

Ezt általában megakadályozhatjuk a redukáló közeg megfelelő arányban történő alkalmazásával, vagy pedig azzal, hogy olyan anyagot adunk hozzá, amely stabilizálja a rézionokat, ilyen például a trisz-(hidroxipropil-triazolmetil)amin (THPTA).

A másik szokásos módszer Cu(I)-só (CuI, CuBr, CuOTf) alkalmazása. Itt nincs szükség redukáló közeg jelenlétére, viszont oxigénmentes környezetben és szerves oldószerben kell végrehajtani a reakciót, az alkin deprotonálódásának elősegítésére pedig bázis szükséges. A tapasztalatok szerint a 2,6-lutidin vagy a DIPEA felesleg alkalmazása hozza a legjobb eredményt, ekkor keletkezik a legkisebb mennyiségű melléktermék. Az előbb említett eljárással ellentétben szükség lehet védőcsoportok kialakítására is.

Általánosságban azt tapasztalták, hogy a réz(I) katalizátorok kevésbé megbízhatóak, mint azok, amelyeket réz(II)-sókból, „in situ” állítanak elő.

A módszert előnyös tulajdonságai miatt elterjedten alkalmazzák ferrocénszármazékok szintézisére is. Ezzel a reakcióval könnyen juthatunk ferrocénvázat tartalmazó ligandumokhoz (Kato, 2009, Oki, 2009), de alkalmazható arany, (Collman, 2009) vagy grafit felületek (Evrard, 2008) ferrocénnel történő módosítására, ferrocéntartalmú dendrimerek szintézisére (Camponovo, 2009), vezetőképességgel rendelkező polimerek előállítására (Xu, 2009), vagy a ferrocén és különböző biomolekulák összekapcsolására (Sudhir, 2009, Gasser, 2008, Casas-Solvas, 2009).

Mind ferrocenil-azidok (pl. azido-ferrocén, azidometil-ferrocén), mind ferrocén szubsztituenst tartalmazó alkinnek (pl. etinil-ferrocén vagy N-(propargil-amido)-ferrocén) részt vehetnek a CuAAC reakcióban. Az irodalmi példák azonban azt mutatják, hogy a cikloaddíció kimenetele jelentős mértékben függ mind a reakciókörülményektől, mind a

ferrocéntartalmú reagens megválasztásától, és a hozam sok esetben elmarad az egyéb molekulák reakcióiban kapott eredményektől.

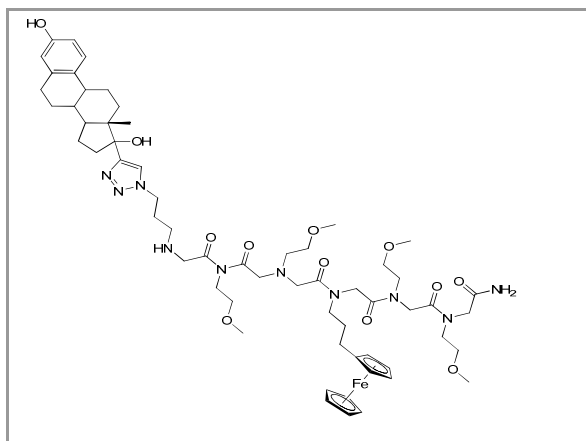
Sikeresen alkalmazták a CuAAC reakciót különféle szénhidrátok és ferrocén összekapcsolására. Mind propargil-glikozidok és azido-ferrocén, mind 2-azido-etil-glikozidok és etinil-ferrocén cikloaddíciója 88-95%-os hozammal vezetett a termékekhez. Mindkét esetben egy foszfit-tartalmú katalizátor, $(\text{EtO})_3\text{P.CuI}$ jelenlétében dolgoztak. (Sudhir, 2009)

Kirshenbaum és csoportja bioszenzorok moduláris előállításánál használta a módszert. A peptidszintézis és a CuAAC reakció egymást követő, többszörös alkalmazásával azidocsoportot tartalmazó N-szubsztituált glicin oligomerekhez kötötte a 17α -etinil-ösztradiolt és az etinil-ferrocént. Ezáltal az ösztrogén receptorhoz kapcsolódó, redox-aktív bioszenzorhoz jutott (Holub, 2006).

A CuAAC reakciót a többi biomolekulához képest ritkábban alkalmazzák szteroidok átalakítására. A fogamzásgátlók hatóanyagaként ismert 17α -etinil-ösztradiolt kapcsolták peptidlánchoz (Holub, 2007) vagy ciklodextrin-származékokhoz. (Kim, 2010)

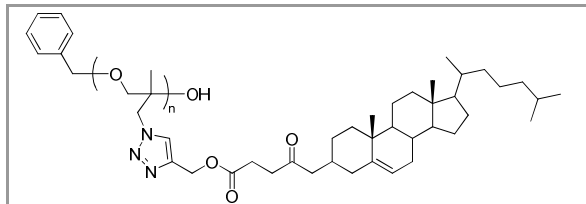
Az első módszert ferrocént és szteránvázat egyaránt tartalmazó peptidek (4. ábra) szintézisének próbálták ki.

A peptidszintézis és a CuAAC reakció egymást követő, többszörös alkalmazásával azidocsoportot tartalmazó N-szubsztituált glicin oligomerekhez kötötték a 17α -etinil-ösztradiolt és az etinil-ferrocént. Az így előállított ösztadiol-ferrocén konjugátum bioszenzorként működhet, a ferrocén jelenléte biztosítja az elektrokémiai detektálást (Holub, 2006).



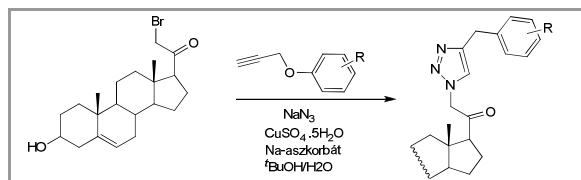
4. ábra Szteránvázat és ferrocént tartalmazó oligopeptid

Folyadékkristályos polimerek (5. ábra) szintézisének is alkalmaztak „click” reakciót (Cui, 2008). A polimereket az oldalláncban alkinilcsoportot tartalmazó koleszterin, és azid oldalláncokat tartalmazó polimer összekapcsolásával nyerték. Az enyhe reakciókörülményeknek (szobahőmérséklet, szerves oldószer ill. víz reakcióközeg, atmoszférikus nyomás) köszönhetően sikerült a szteroidok károsodása nélkül végrehajtani a reakciót.



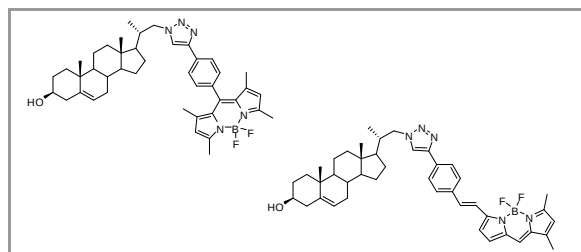
5. ábra Folyadékkristályos polimer

A heterociklikus gyűrűket tartalmazó szteroid-oldalláncok fontos szerepet játszanak a szteroid—receptor kötés kialakításában. Az oldalláncban azidocsoportot tartalmazó pregnánszarmazék és különböző alkiniek reakciójában nyert triazolok (6. ábra) antitumor hatását mutatták ki. A cikloaddíció réz(I)-jodid katalizátor jelenlétében nagy hatásfokkal és jó szelektivitással ment végbe, a termékeket 90-95%-os hozammal nyerték (Banday, 2010)



6. ábra Antitumor hatású triazol

A CuAAC reakciót használták a koleszterin és fluoreszcens jelzőanyagok összekapcsolására. Cu(I)I katalizátor jelenlétében, DMSO-ban 80 °C-on kiviteleztek a reakciót és 54-59%-os hozammal jutottak a termékekhez (7. ábra). A fluoreszcens színezékek jelenléte lehetővé teszi, hogy a szövetekben a szteroid szállítását és eloszlását nyomonkövessék (Li, 2007).



7. ábra Fluoresszens jelzőanyaggal ellátott szteroidok

Látható, hogy ezekben a vegyületekben a triazolilcsoport nem közvetlenül, hanem több kapcsolódó atomon keresztül kötődik a szteránvázhhoz. Kutatásom során ezért olyan vegyületek előállítását tűztem ki célul, amelyekben ez a kapcsolat közvetlenül valósul meg.

Kísérleti eredmények

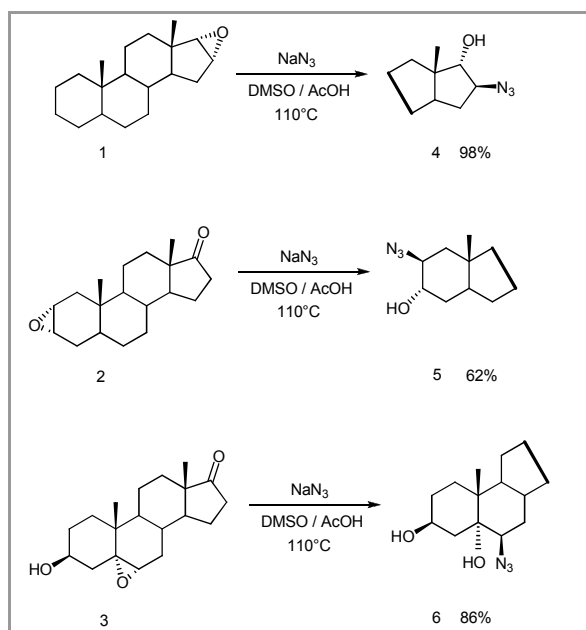
Egyes szteroidok, melyek a szteránvázhhoz kapcsolódó heterociklusos gyűrűt tartalmaznak, gyakran kedvező biológiai aktivitással, pl. rákellenes hatással rendelkeznek (Nnane, 2001). Ezért fő célom az volt, hogy hasonló vegyületeket állítsak elő szteránvázas azidok és különféle alkiniek réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakciójában. Mivel a ferrocénváz beépítése bizonyos molekulák esetén a biológiai aktivitás növekedésével jár (Beagley, 2003), vagy lehetővé teszi a molekula elektrokémiai detektálását (Shimada, 1987), így ferrocéntartalmú származékok előállításával is próbálkoztam.

A kísérletek kivitelezéséhez első lépésként a kiindulási anyagokat (szteránvázaz azidok és ferrocéntartalmú alkin) állítottam elő.

Munkám során három – korábban nem szintetizált – szteránvázaz azidot állítottam elő 16 α ,17 α -epoxi-5 α -androsztánból (1), 2 α ,3 α -epoxi-5 α -androsztán-17-onból (3), illetve 5 α ,6 α -epoxi-3 β -hidroxi-5 α -androsztán-17-onból (5) kiindulva (8. ábra). Schönecker ösztránvázaz epoxidok esetében alkalmazott módszere szerint (Schönecker, 1975) az epoxidgyűrűt nátrium-aziddal nyitottam fel jégecet jelenlétében dimetil-szulfoxid oldószerben. A reakciók 4 óra alatt, 110°C-on játszódtak le. Szteroidok esetében a gyűrűnyitás során mindig transz-diaxiális termék képződik: 2 α ,3 α -epoxidokból a 2 β -szubsztituált 3 α -hidroxi-vegyületek (Kirk, 1968), 16 α ,17 α -epoxidokból 16 β -szubsztituált 17 α -származékok (Schönecker, 1975), míg 5 α ,6 α -epoxidokból 6 β -szubsztituált 5 α -hidroxi szteroidok (Kirk, 1968).

Az általam vizsgált 3 esetben én is szelektív gyűrűnyitást tapasztaltam.

Mindhárom azidoalkoholt jó hozammal sikerült szintetizálnom.



8. ábra Azidoalkoholok előállítása

A reakciók lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiás módszer segítségével követtem nyomon. Azonos reakciókörülményeket alkalmazva a legnagyobb átalakulást a 16 α ,17 α -epoxi-5 α -androsztán (1) esetében tapasztaltam, de a másik két reakcióban is jó hozammal sikerült a terméket előállítanom. A termékeket infravörös, valamint ¹H- és ¹³C NMR spektrumuk segítségével azonosítottam.

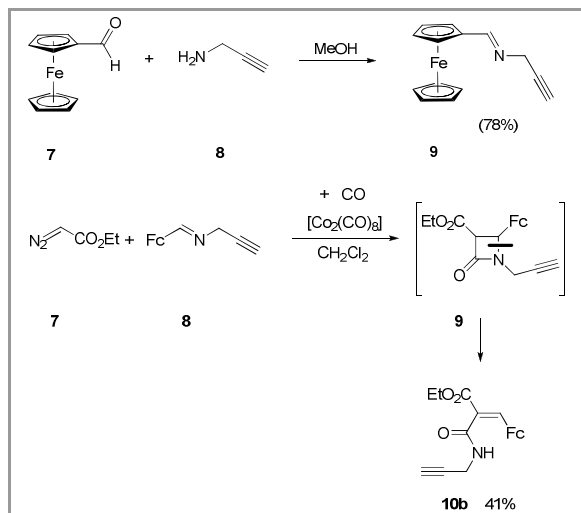
Mivel a szerves azidok az irodalom szerint könnyen azonosíthatók a 2160 és 2080 cm⁻¹ között megjelenő intenzív $\nu_{\text{as}}\text{N}=\text{N}=\text{N}$ sáv alapján, így a vegyületekről infravörös spektroszkópiás felvételeket készítettem. Az IR felvételek valóban alátámasztották az azidálási reakció lejátszódását, ugyanis a 2 vegyület esetében 2093 cm⁻¹ hullámszám értéknél, a 4 azido-alkoholt tekintve 2095 cm⁻¹-nél, valamint a 6 termék esetében 2096 cm⁻¹ hullámszámnál egy intenzív sáv megjelenését tapasztaltam, amelyet a termékek azidocsoportjának aszimmetrikus vegyértékrezgéseként azonosítottam. Emellett mindhárom termék esetében 1255-1258 cm⁻¹ között (2: 1256 cm⁻¹; 4: 1255 cm⁻¹; 6: 1258 cm⁻¹) egy közepes intenzitású sáv is jelentkezett, amely az azidocsoport szimmetrikus vegyértékrezgésének felel meg.

Az ¹H NMR spektrumokban a váz megfelelő protonjainak eltolódás-változásából következtettem a reakció lejátszódására. A 2 vegyület esetében a 16-H és 17-H hoz tartozó eltolódások az 1 epoxid spektrumában kapott 3,32 és 3,05 ppm-ről 3,75 és 3,65 ppm-re változtak. A 4 vegyületnél 3,76 és 3,85 ppm-nél kaptam meg a 2-es és 3-as szénatomon lévő protonok jeleit a 3 spektrumában 3,07-3,16 ppm között tapasztalható összeolvadt, két protonnak megfelelő multipliett helyett, míg az 5 epoxid 6-os szénatomhoz kapcsolódó protonjának multipliettje 2,95 ppm-ről a 6 vegyületben 3,40 ppm eltolódására változott.

Ezt követően előállítottam a ferroceniltartalmú alkint egy, a kutatócsoportban nemrégén kidolgozott módszer (Balogh, 2009) szerint. Ferrocénkarboxaldehidből (7) és propargil-aminból (8) nyertem a megfelelő imint (9), melyet kobalt-katalizált dominó reakcióban alakítottam tovább (9. ábra).

Nemrégiben fedezték fel, hogy ketének diazovegyületekből szén-monoxid jelenlétében katalitikus karbonilezéssel is előállíthatók (Tuba, 2003; Ungvári, 2004), a ketén további reakcióra képes különböző nukleofil reagensekkel. Iminek jelenlétében β -laktámok keletkeznek (Fördös, 2009) de ferrocéntartalmú iminek esetén a gyűrű felnyílik és a β -laktám mellett 2-(1-ferrocenil-metilidén)-malonsav származékok *E* és *Z* izomerjének elegye képződik (Balogh, 2009). A korábbi kísérletek azt mutatták, hogy e reakciók szelektivitása jelentősen függ az R csoport szerkezetétől és az imin/etil-diazoacetát aránytól, valamint kisebb mértékben a szén-monoxid nyomásától.

A karbonilezési reakció körülményeit úgy választottam meg, hogy minél szelektívebbé tegyem a reakciót és elkerüljem a laktámképződést, ezért 60 bar szén-monoxid nyomáson, 1/1 imin/etil-diazoacetát arány mellett dolgoztam. A reakcióelegyet vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatnak vettem alá és megállapítottam, hogy laktám nem képződött, a 2-(1-ferrocenil-metilidén)-malonsav származék *Z* izomerje pedig csak nyomokban volt jelen. A fő termék a **10b** vegyület volt.



9. ábra Ferrocenil-alkin előállítása

A terméket oszlopkromatográfiás módszerrel tisztítottam meg. Szerkezetét ^1H NMR spektruma segítségével, a kutatócsoportban korábban előállított, hasonló vegyületek jellemzői alapján azonosítottam. A spektrum legjellemzőbb jelei a következők: a $=\text{CH}$ szingulettje 7,60 ppm-nél, az amidocsoport NH protonjának triplettje 6,16 ppm-nél, az N- CH_2 metilénprotonok multipllettje 4,6 ppm körül, valamint az alkin metin protonjának triplettje 2,24 ppm-nél.

Az *E* izomer keletkezését az amid NH 6,16 ppm-es eltolódása bizonyította, hasonló vegyületek esetén a *Z* izomer megfelelő protonjának eltolódása 7 ppm felett van (Balogh, 2009)

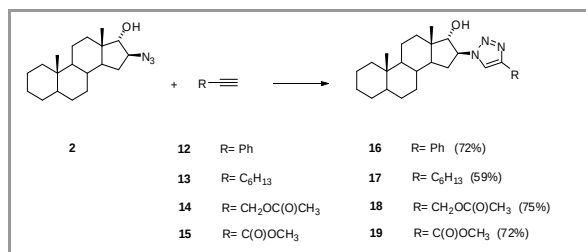
Az előállított azidokat réz-szulfát és nátrium-aszorbát katalizátor jelenlétében, diklórmétán-víz közegben reagáltattam különböző alkinekkel. A Na-aszorbát a Cu(II) redukálásához szükséges, a reakció ugyanis Cu(I) jelenlétében megy végbe.

Mivel korábban nem végeztek hasonló kísérleteket, ezért kezdetben egyszerű, nem ferrocéntartalmú alkinekkel kísérleteztem, majd egy korábbi munkám eredményét felhasználva ferrocénszármazékok reakcióját is vizsgáltam.

Az azidoalkoholokat négyféle, kereskedelmi forgalomban is kapható alkin reakciópartner (fenil-acetilén, 1-

oktin, propargil-acetát és propinsav-metilészter) jelenlétében reagáltattam. A reakciót a **2** azid esetében mind a négy alkinnel végrehajtottam.

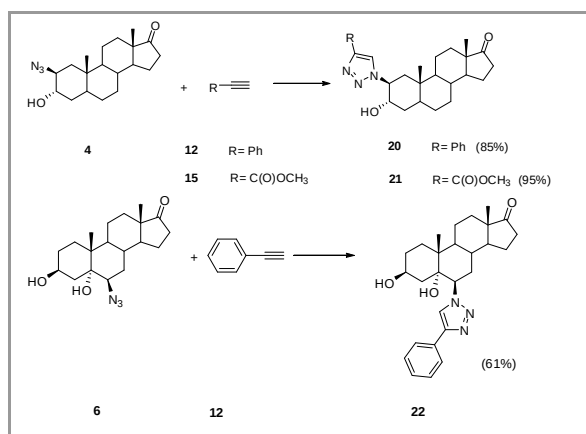
A legmagasabb hozamot (75%) a propargil-acetát cikloaddíciós reakciója eredményezte (10. ábra).



10. ábra A **2** azid reakciója egyszerű alkinekkel

A termékeket feldolgozás és oszlopkromatográfiás tisztítást követően a legtöbb esetben ¹H- és ¹³C NMR, valamint tömegspektrumuk alapján azonosítottam. A triazol-származékok képződését az ¹H spektrumokban a triazol 4-es szénatomján lévő szubsztituensek jelein túl a C(5)-H szingulettjeinek megjelenése (7,35-8,17 ppm), a ¹³C spektrumokban pedig a C(4) és C(5) szenek jelei (119,3-127,2 ppm, illetve 142,2-148,1ppm,) mutatták.

A reakciók egy részét a másik két azidoalkohol esetében is végrehajtottam meglehetősen jó hozammal (11. ábra), a további származékok előállítása folyamatban van.

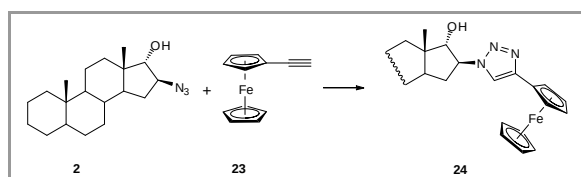


11. ábra **2** és **6** azidoalkohol reakciója egyszerű alkinekkel

A cikloaddíciót CuSO₄/Na-aszkorbát katalizátorrendszer jelenlétében, CH₂Cl₂/víz oldószerkelegben hajtottam

végre. A reakciók szobahőmérsékleten játszódtak le, 24 órás reakcióidővel.

Ezt követően modellvegyületként a 16β-azido-17α-hidroxi-5α-androsztánt (**2**) választva ferrocénvázas alkinekkel is elvégeztem a reakciót. Elsőként a kereskedelmi forgalomban is kapható etinilferrocén (**23**) átalakítását vizsgáltam (12. ábra). Mivel az irodalmi adatok azt mutatták, hogy a ferrocéntartalmú vegyületek előállításánál gyakran hasznos Cu(I)-katalizátor és a vizes közeg helyett szerves oldószer használata, kísérleteim során négy különböző – az irodalom által javasolt – reakciókörülmény alkalmazásával teszteltem a **2** azid reakcióját. Úgy találtam, hogy a legmagasabb hozam az általam már korábban is használt CuSO₄ – Na-aszkorbát – CH₂Cl₂ – H₂O rendszer alkalmazásával érhető el.

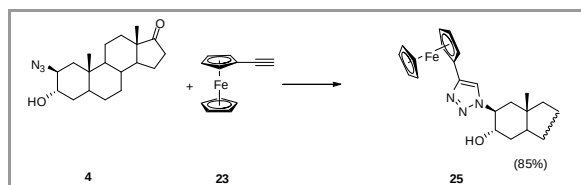


12. ábra **2** azid és etinil-ferrocén reakciója

1. táblázat Réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakciókörülményeinek vizsgálata

Sorszám	Katalizátor	Adalék	Oldószer	Hőmérséklet (°C)	Hatásfok (%)
1	CuI	DIPEA ^b	DIPEA	szobahőm	55
2	CuI	DIPEA ^b	CH ₃ CN	60	60
3	CuSO ₄	Na-aszkorbát	¹ PrOH/ H ₂ O	60	70
4	CuSO ₄	Na-aszkorbát	CH ₂ Cl ₂ / H ₂ O	szobahőm	76

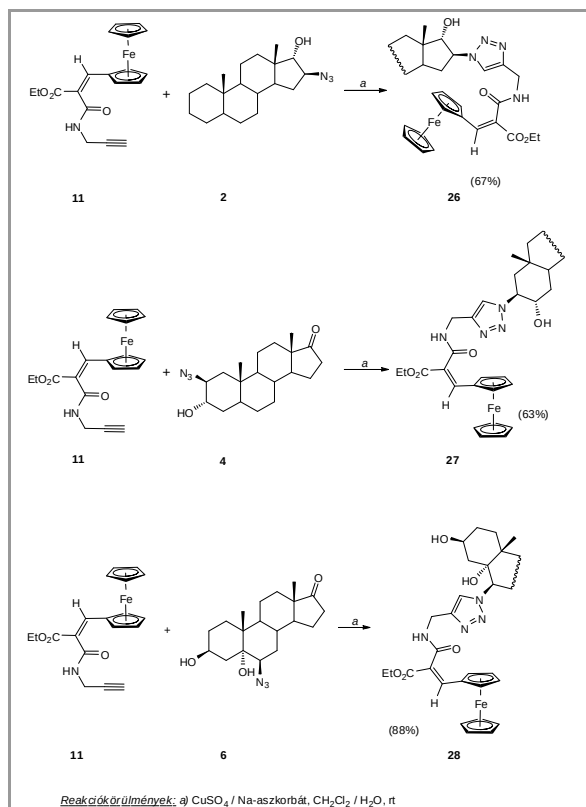
Az előbb ismertetett megfigyelések birtokában **4** szteránvázas aziddal is kiviteleztem etinil-ferrocén jelenlétében a reakciót és igen jó hozammal (85%) sikerült előállítanom a **25** triazol-származékot (13. ábra).



13. ábra **4** azid reakciója etinil-ferrocénnel

A reakciót a **6** aziddal nem sikerült végrehajtanom.

Az általam előállított malonsavszármazék reakcióját is a legjobbnak tekintett reakciókörülmény alkalmazásával hajtottam végre (14. ábra).



14. ábra Azidoalkoholok reakciója 10b –vel

A reakcióelegyek tisztítása és a termékek izolálása után megállapítottam, hogy az átalakítás mindhárom kiindulási azid származék esetében sikeres volt. Két esetben megfelelő (**26**: 67%; **27**: 63%) míg a harmadik szteroidnál nagyon jó hozammal (**28**: 88%) sikerült kinyernem a várt terméket.

Összefoglalás

Tudományos diákköri munkám során 3 új szteránvázaz azido-alkoholt állítottam elő, és vizsgáltam ezek réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciós reakcióját. Megállapítottam, hogy a **6** azid kisebb reakciókészséggel rendelkezik, mint a másik két azidoalkohol.

Megállapítottam, hogy a termék triazolok jó, esetenként kitűnő hozamokkal képződtek.

Az egyik, reakciópartnerként felhasznált ferrocéntartalmú alkint, mely szintén új vegyület, magam állítottam elő a kutatócsoportban korábban kidolgozott kobalt-katalizált dominó reakció segítségével.

A ferrocéntartalmú származékok cikloaddíciós reakciójában többféle katalizátor/oldószer párt kipróbáltam. Ezek közül a $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ / Na-aszkorbát katalizátor-rendszer, valamint a $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ oldószerkeverék alkalmazása bizonyult a legmegfelelőbbnek.

Előállítottam 12 új, az oldalláncban triazolcsoportot tartalmazó szteroidot. Többségüket ^1H - és ^{13}C NMR, valamint tömegspektrumuk alapján azonosítottam. Néhány vegyület teljes karakterizálása még folyik. A munka során használt azidok és alkinek reakciójában képződő további származékok előállítása szintén folyamatban van.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani elsősorban témavezetőimnek, Skodáné dr. Földes Ritának és dr. Balogh Jánosnak, akik szakértelmükkel, türelmükkel és odafigyelésükkel hozzájárultak munkám eredményességéhez. Köszönettel tartozom a laboratóriumban dolgozó hallgatóknak, Urbán Bélának, Fehér Csabának és Szánti-Pintér Eszternek, akikhez bátran fordulhattam kérdéseimmel.

A gázkromatográfiás mérések elvégzéséért köszönet illeti dr. Fekete Miklósnét, az NMR spektroszkópiás vizsgálatok kivitelezéséért pedig Dr. Szalontai Gábort és Dr. Csók Zsoltot.

Irodalomjegyzék

- Amblard F., Cho J.H., Schinazi R.F. (2009): Cu(I)-catalyzed Huisgen azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in nucleoside, nucleotide, and oligonucleotide chemistry Chem. Rev. 109: 4207-4220.

- Balogh J., Kégl T., Ungváry F., Skoda-Földes R. (2009): $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ induced domino reactions of ethyl diazoacetate, carbon monoxide and ferrocenylimines leading to 2-(1-ferrocenyl-methylidene)-malonic acid derivatives Tetrahedron Lett. 50: 4727-4730.
- Banday A.H., Verma M., Srikakulam S., Gupta B.D., Kumar H.M.S. (2010): D-ring substituted 1,2,3-triazolyl 20-keto pregnenanes as potential anticanceragents: Synthesis and biological evaluation. Steroids 75: 801.
- Beagley P., Blackie M.A.L., Chibale K., Clarkson C., Meijboom R., Moss J.R., Smith P.J., Su H. (2003): Synthesis and antiplasmodial activity in vitro of new ferrocene-chloroquine analogues Dalton Trans: 3046-3051.
- Best M. D. (2009): Click Chemistry and Bioorthogonal Reactions: Unprecedented selectivity in the labeling of biological molecules Biochemistry 48: 6571-6584.
- Camponovo J., Ruiz J., Cloutet E., Astruc D. (2009): New polyalkynyl dendrons and dendrimers: "Click" chemistry with azidomethylferrocene and specific anion and cation electrochemical sensing properties of the 1,2,3-triazole-containing dendrimers Chem. Eur. J. 15: 2990-3002.
- Casas-Solvas J. M., Ortiz-Salmerón E., Giménez-Martínez J. J., García-Fuentes J., Vapitán-Vallvey L. F., Santoyo-González F., Vargas-Berenguel A. (2009): Ferrocene-carbohydrate conjugates as electrochemical probes for molecular recognition studies. Chem. Eur. J. 15: 710-725.
- Collman J. P., Hosseini A., Eberspacher T. A., Chidsey C. E. D. (2009): Selective anodic desorption for assembly of different thiol monolayers on the individual electrodes of an array Langmuir 25: 6517-6521.
- Cui Z., Zhang Y., He S. (2008): Synthesis of a side chain liquid crystalline polymer containing the cholesteryl moiety via ROP and "click" chemistry Colloid. Polym. Sci. 286: 1553-1559.
- El-Sagheer A. H., Brown T. (2010): Click chemistry with DNA Chem. Soc. Rev. 39: 1388-1405.
- Evrard D., Lambert F., Policar C., Balland V., Limoges B. (2008): Electrochemical functionalization of carbon surfaces by aromatic azide or alkyne molecules: A versatile platform for click chemistry Chem. Eur. J. 14: 9286-9290.
- Fördös E., Tuba R., Párkányi L., Kégl T., Ungváry F. (2009): Application of the octacarbonyldicobalt-catalyzed carbonylation of ethyl diazoacetate for the one-pot synthesis of N-tert-Butyl-trans- α -ethoxycarbonyl-beta-phenyl-beta-lactam Eur. J. Org. Chem. 1994-2002.
- Gasser G., Hüsken N., Köster S. D., Metzler-Nolte N. (2008): Synthesis of organometallic PNA oligomers by click chemistry. Chem. Commun. 3675-3677.
- Golas P. L., Matyjaszewski K. (2010): Chem. Soc. Marrying click chemistry with polymerization: expanding the scope of polymeric materials Rev. 39: 1338-1354.
- Hein C.D., Liu X.M., Wang D. (2008): Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences Pharm. Res. 25: 2216-2230.
- Holub J. M., Garabedian M. J., Kirshenbaum K. (2007): Peptoids on steroids: Precise multivalent estradiol-peptidomimetic conjugates generated vi azide-alkyne [3+2] cycloaddition reactions QSAR Comb.Sci. 26: 1175-1180.
- Holub J. M., Jang H., Kirshenbaum K. (2006): Clickety-click: highly functionalized peptoid oligomers generated by sequential conjugation reactions on solid-phase support Org. Biomol. Chem. 4: 1497-1502.
- Johnson J. A., Finn M. G., Koberstein J. T., Turro N. J. (2008): Construction of linear polymers, dendrimers, networks, and other polymeric architectures by copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition "Click" chemistry. Macromol. Rapid. Commun. 29: 1052-1072.
- Kato M., Nakamura T., Ogata K., Fukuzawa S. (2009): Synthesis of novel ferrocenyl-based P,S ligands (ThioClickFerrophos) and their use in Pd-catalyzed asymmetric allylic substitutions Eur. J. Org. Chem. 5232-5238.
- Kim H. Y., Sohn J., Wijewickrama G. T., Edirisinghe P., Gherezghiher T., Hemachandra M., Lu P.Y., Chandrasena R.E., Molloy M.E., Tonetti D.A., Thatcher G.R.J. (2010): Click synthesis of estradiol-cyclodextrin conjugates as cell compartment selective estrogens Bioorg. Med. Chem. 18: 809-821.
- Kirk D. N., Harsthorm M.P. (1968): Steroid reaction mechanisms, Chapter 3, Opening and closure of epoxide rings pp. 112-119. Elsevier, Amsterdam.
- Kolb H. C., Finn M. G., Sharpless K. B. (2001): Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions angew. Chem. , Int. Ed., 40: 2004-2021.
- Li Z., Bittmann R. (2007): Synthesis and spectral properties of cholesterol- and FTY720-Containing boron dipyrromethene dyes. J. Org. Chem. 72: 8376-8382.

- Moses J. E., Moorhouse A. D. (2007): The growing applications of click chemistry *Chem. Soc. Rev.* 36: 1249-1262.
- Nnane I. P., Njar V. C. O., Brodie A. A. J. (2001): Pharmacocinetic profile of 3-beta-hydroxy-17-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)androsta-5,16-diene (VN/87-1), a potent androgen synthesis inhibitor, in mice. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* 78: 241-246.
- Oki H., Oura I., Nakamura T., Ogata K., Fukuzawa S. (2009): Modular synthesis of the ClickFerrophos ligand family and their use in rhodium- and ruthenium-catalyzed asymmetric hydrogenation *Tetrahedron Asymm.* 20: 2185-2191.
- Schönecker B., Ponsold K. (1975): Steroids. 40. 16,17-Azidoalcohols and 16,17-aminoalcohols of *estra-1,3,5(10)-trien-3-methylether*. *Tetrahedron* 31: 1113-1118.
- Shimada K., Nagashima E., Orii S., Nambara T. J. (1987): Studies on steroids. 224. New derivatization method using ferrocene reagents for the determination of steroid glucuronides by high-performance liquid-chromatography with electrochemical detection *Pharm. Biomed. Anal.* 5: 361.
- Sudhir V. S., Venkanteswarlu C., Musthafa M. O.T., Sampath S., Chandrasekaran S. (2009): Click Chemistry Inspired Synthesis of Novel Ferrocenyl-Substituted Amino Acids or Peptides *Eur. J. Org. Chem.* 2120-2129.
- Tornøe C.W., Christensen C., Meldal M. J. (2002): Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Org. Chem.* 67: 3057-3062.
- Tron G. C., Pirali T. T., Billington R. A., Canonico P. L., Sorba G., Genazzini A. (2008): Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes *Med. Res. Rev.* 28: 278-308.
- Tuba R., Ungváry F. (2003): Octacarbonyl dicobalt-catalyzed selective transformation of ethyl diazoacetate into organic products containing the ethoxycarbonyl carbene building block *J. Mol. Catal. A: Chem.* 203: 59-67.
- Ungvári N., Kégl T., Ungváry F. (2004): Octacarbonyl dicobalt-catalyzed selective carbonylation of (trimethylsilyl) diazomethane to obtain (trimethylsilyl)ketene *J. Mol. Catal. A: Chem.* 219: 7-11.
- Xu J. J., Tian Y., Peng R., Wian Y., Ran Q., Jin L. (2009): Ferrocene clicked poly(3,4-ethylenedioxythiophene) conducting polymer: Characterization, electrochemical and electrochromic properties *Electrochem. Commun.* 11: 1972-1975.

Állati hulladékok feldolgozása során keletkező szennyvizek tisztíthatóságának vizsgálata

Gulyás Gábor

Témavezetők: Dr. Kárpáti Árpád, Fazekas Bence

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezetmérnöki Intézet

Kivonat: Dolgozatomban ipari szennyvizek tisztíthatóságát vizsgálom különböző körülmények között. Az ilyen szennyvizek összetétele és szennyezettsége jelentősen eltér a lakossági szennyvizekétől. Az állati eredetű hulladékok feldolgozása során keletkező szennyvizek tisztíthatóságáról eddig csak néhány dolgozat született. Mivel azonban a tetemek elszállítása, kezelése és ártalmatlanítása mára gyakorlattá vált, fontosnak tartottam egy ilyen kísérleti rendszer felállítását, és az elért eredmények bemutatását. A laboratóriumi körülmények között négy teljesen azonos, automata vezérlésű reaktor folyamatos üzemeltetésével a tisztítási hatékonyság változását vizsgáltam különböző üzemeltetési hőmérsékletek esetén. A feladott szennyvíz összetétele és mennyisége minden esetben megegyezett, így a vizsgálati paraméter hatását el tudtam különíteni. Az elfolyó tisztított vizek minőségét rendszeresen vizsgáltam annak érdekében, hogy információkat kapjak a tisztítási hatékonyságról, illetve arról, hogy melyek azok az optimális körülmények, amelyek mellett a legnagyobb mértékű tisztítás tapasztalható. Amennyiben a kísérletek eredményesen zajlanak, tervezem az említett szennyvizek tisztíthatóságának vizsgálatát egyéb körülmények között is.

Bevezetés

Az Európai Unióhoz való csatlakozást követően a legtöbb gazdasági területen az előírások megszigorodtak. Ezek egyik legfőbb célja a környezet védelmének magasabb szintre emelése, illetve az emberi életminőség javítása. Ennek megfelelően a termelő ágazatokban szigorú minőségbiztosítási és környezetvédelmi

szabályozásokat léptettek életbe, melyek elhanyagolását, teljesítésük elmulasztását az illetékes hatóságok a termelő és szolgáltató egységek irányába komoly bírságokkal, szélsőséges esetekben bezárással szankcionálják.

Ez természetesen igaz az állati hulladékok begyűjtésével, feldolgozásával foglalkozó cégek esetében is. Ezen a területen mind a gyártott termék – például fehérjeliszt, zsírpórá – minőségére, mind pedig a gyártás során keletkező hulladékok megfelelő kezelésére, ártalmatlanítására szigorú előírások vonatkoznak.

Magyarországon a legtöbb ember fintorral gondol azokra a járművekre, amelyekkel az állati tetemeket szállítják feldolgozásra. Csak annyit jegyeznek meg belőlük, hogy bűdösek, lassúak, és ha előttük mennek vagy gyorsan meg kell őket előzni, vagy tisztes követési távolságot tartani. Kevesen gondolnak bele, hogy ezeket a járműveket a lakosság és a környezet védelme érdekében üzemeltetik. Nélkülük az állati tetemeket biztonságos módon szállítani, elhelyezni, ártalmatlanítani nem lehetne, hiszen a dögművek ma már nem jelentenek ésszerű és biztonságos megoldást. Az ilyen teherautók sofőrjei nap, mint nap ki vannak téve a szaghatásnak, szigorú gépkezelői vizsgálattal rendelkeznek, és feladatuk az állati melléktermékek összegyűjtése és annak feldolgozása, ártalmatlanítási helyre szállítása. Feldolgozásuk során természetesen ezek egy részéből újabb hulladékok keletkeznek, melyek ártalmatlanításáról gondoskodni kell.

Dolgozatom témája egy magyarországi állati hulladék-feldolgozó telepen keletkező

szennyvíz laboratóriumi tisztításának, és a tisztítás hatékonyságának vizsgálata. Az ilyen hulladékszennyvizek magas szerves anyag és nitrogéntartalommal rendelkeznek, melyek eltávolítása a befogadók szempontjából nélkülözhetetlen. Ezeknek a komponenseknek az eltávolíthatóságát különféle hőmérsékletek között vizsgálom annak érdekében, hogy megtaláljuk az optimális körülményeket, melyek esetén a tisztítás a leghatékonyabb.

Irodalmi áttekintés

Ipari szennyvizek

Az ipari szennyvizek összetétele és mennyisége az adott területen folyó gazdasági tevékenységtől függ, ezért összetételük nagyfokú eltéréseket mutathat. Tekintettel változatosságukra és – bizonyos esetekben – veszélyességükre, az ipari szennyvizek kezelését legtöbbször a keletkezés helyén kell megoldani. Azokat viszont, amelyek nagy mennyiségben tartalmaznak biológiailag bontható anyagokat, és a tisztító mikroorganizmus közösségére semmilyen veszélyt nem jelentenek, célszerű csatornarendszeren keresztül a lakossági tisztítótelepre szállítani kisebb előtisztítást követően. Ilyenek lehetnek például a tej- és húsipari szennyvizek, a konzervgyárak szennyvizei és egyéb, főként élelmiszeripari szennyvizek. (Kárpáti, 2007)

A nagy vágóhidakon a levágásra váró állatokat megfelelő higiéniai körülmények között kell tartani. Természetesen már itt is keletkeznek szilárd és folyékony hulladékok, melyek összetevői jórészt megegyeznek az állattartási hulladékokkal. A levágás előtt az állatokat fontos megtisztítani. Az eltávolított ürülék és az egyéb szennyezők szintén a szennyvízbe kerülnek. Vérük veszélyes hulladéknak minősül, ezért nem lehet kiengedni a szennyvízzel, hanem össze kell gyűjteni. A fertőtlenítés érdekében ezt követően az állatot forró gőzzel kezelik. Ez adja az úgynevezett forrázási szennyvizet. A belső részek feldolgozásánál azokat is alaposan meg kell tisztítani. Ekkor keletkezik a mosóvíz, amely nyálkával,

ürülékkel és mosószermaradványokkal szennyezett.

Egy húsfeldolgozó telepen a szennyvíz átlagos összetétele a következő: 60-70% mosóvíz, 20-25% közvetlen feldolgozási szennyvíz és 10-15% magas klórtartalmú sózó és fertőtlenítő víz. A szennyvíz legfeljebb 1 g/l kloridot, körülbelül 700-1000 mg/l zsírt és 100-2000 mg/l BOI-nak megfelelő szerves összetevőt tartalmaz (Fresenius és Schneider, 1989).

Ahhoz, hogy a szakemberek tisztában legyenek az ilyen eredetű szennyvizek összetételével egy müncheni vágóhíd szennyvizét 117 szempont szerint vizsgálták, amely megfelelő alapinformációkkal szolgál az efféle hulladékok vizsgálata esetén. A magas vízfelhasználás miatt ezek az értékek alacsonynak tűnhetnek. A húsfeldolgozókból származó szennyvizek hasonlítanak a vágóhídról érkezőkhöz, bár ezek kevésbé koncentráltak, de több zsírt tartalmazhatnak. Mivel a laboratóriumi körülmények között tisztított szennyvíz is jórészt az ezekben megtalálható komponenseket tartalmazza, fontosnak tartom összetételük bemutatását. A vágóhídi szennyvíz átlagos összetételét az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat A vágóhídi szennyvizek átlagos összetétele (Fresenius és Schneider, 1989)

Ülepíthető összetevők	ml/l	10
Kémhatás		7
Oldhatatlan összetevők	mg/l	580
- izzítási maradék (szervetlen)	mg/l	81
- izzítási veszteség (szerves)	mg/l	499
Oldott összetevők	mg/l	1206
- izzítási maradék (szervetlen)	mg/l	272
- izzítási veszteség (szerves)	mg/l	934
Zsírtartalom	mg/l	108
Nitrogén-tartalom	mg/l	145
Foszfor-pentoxid-tartalom (P ₂ O ₅)	mg/l	19
Kalcium-tartalom (CaO)	mg/l	131
Biológiai oxigénigény (BOI ₅)	mg/l	838

Természetesen a környezettudatos magatartás és a környezetkímélő technológiák ezt az iparágat is elérték. Ennek köszönhetően a gyárak mindent megtesznek annak érdekében, hogy a keletkező hulladék mennyiségét és veszélyességét csökkentsék. Ez történhet elsődleges és másodlagos eljárásokkal

egyaránt attól függően, hogy azok megvalósítására milyen anyagi lehetőségek biztosítottak.

Fizikai-kémiai előkezelés

Annak érdekében, hogy az ipari szennyvizek biológiailag lebontható részét gond nélkül el lehessen távolítani, fontos annak valamilyen módon történő előkezelése. Az előkezelés célja a szennyvízben található veszélyes, káros, a tisztító szervezetekre mérgező anyagok olyan mértékű eltávolítása, hogy azok a rendszerben káros hatást ne okozzanak. Ezek legtöbbször valamilyen fizikai-kémiai módszerek, például a koaguláció és flokkuláció, illetve a flotálás.

A szennyvizek tisztításánál a fizikai-kémiai eljárások alkalmazásának elsődleges célja a lebegőanyagok eltávolítása, illetve a szerves anyag tartalom csökkentése. Ezek egyike a flotálás, amelyet elsősorban ipari szennyvizek előkezelésére alkalmaznak. Az ilyen berendezések általában vízben oldott levegővel segítik elő a különböző fázisok szétválasztását. Lényege, hogy a levegőbuborékok segítségével kapcsolhatjuk össze a kisebb méretű szilárd részecskéket, melyek a felszínre kerülve könnyen elválaszthatók a folyadékfázistól. A flotálásnak többféle változata van, melyek között a lényeges különbség mindössze a leválasztáshoz szükséges levegő előállításában van. Ez történhet többek között levegő vagy valamilyen egyéb gáz befúvatásával, elektrolízissel, illetve a szennyvízben már egyébként is megtalálható oldott gázok felszabadításával (Fazekas és mtsai.2007).

A flotálás elősegítéséhez különböző segédanyagokat használhatunk. Ilyenkor azonban az előkezelő térben már koaguláció és flokkuláció is végbemegy. Lényegében tehát a vegyszerek segítségével végzett flotálásnál az említett két folyamat előnyeit hasznosítjuk.

A koaguláció a kolloid részecskék destabilizálását (összetapadását) jelenti a vízkezelés, szennyvízkezelés során. A folyamat a részecskék közötti taszítóerő csökkenésének, vagy megszűnésének

hatására következik be, melynek eredményeként a részecskék könnyen összetapadhatnak.

A részecskék felületi töltésének semlegesítésére koaguláló szereket alkalmaznak, melyek egyaránt lehetnek szerves, illetve szervetlen vegyületek. Szervetlen koagulensként általában a vas és az alumínium háromértékű fémsóit használják, többek között kedvező hidrolizáló tulajdonságaiknak köszönhetően.

A koagulációs lépésben kialakult különálló pelyhek összekapcsolódása, aggregálása történik a flokkulációs folyamatban. A kivált anyagrészek növekedni kezdenek, melynek eredménye, hogy sokkal könnyebben leválaszthatók lesznek (Öllös, 1992). A két folyamat tehát egymást követve, egymással szoros összefüggésben játszódik le. Míg a koaguláció a töltések destabilizációját és a részecskék összetapadását, addig a flokkuláció a kialakult pelyhek növekedését jelenti.

Mikroorganizmusok szerepe

A szerves szén eltávolítása, a nem ülepedő kolloid részecskék koagulációja és a szerves anyagok stabilizációja mind kémiai, mind pedig biológiai úton egyaránt megvalósítható. Utóbbi különféle mikroorganizmusokkal, különösen baktériumokkal hajtható végre. A mikroorganizmusok a lebegő és oldott szerves anyagokat különböző gázokká és sejtszövetekké alakítják. Mivel a sejtszövetek fajsúlya valamivel nagyobb, mint a vízé, ülepítéssel eltávolíthatók a kezelt fázisból.

A mikroorganizmusok szaporodásához és életműködéséhez elengedhetetlen valamilyen energiaforrás. A sejtszintézishez szénre és olyan szervetlen anyagokra van szükségük, mint a nitrogén, foszfor és kén, továbbá magnézium, kálium, kalcium. A szerves tápanyagok szintén szükségesek lehetnek a sejtszintézishez. A szén és az energiaforrások, melyeket gyakran szubsztrátumoknak említenek,

alapfeltételeik a különféle mikroorganizmusok életének.

Az enzimreakciókat és ezen keresztül a baktériumok növekedését, illetve szaporodását több tényező befolyásolja. Ezek közül legfontosabbak a kémhatás és a hőmérséklet. A baktériumokra nagy (negatív) hatással vannak a különféle mérgező vegyületek, tehát a közeg toxicitása is döntő fontosságú.

SBR reaktorok

Ciklikus üzemű rendszerekről beszélünk akkor, ha valamilyen paraméter a tisztítás során bizonyos időközönként változik. Ez lehet többek között a betáplálás, a recirkuláció vagy a levegőztetés.

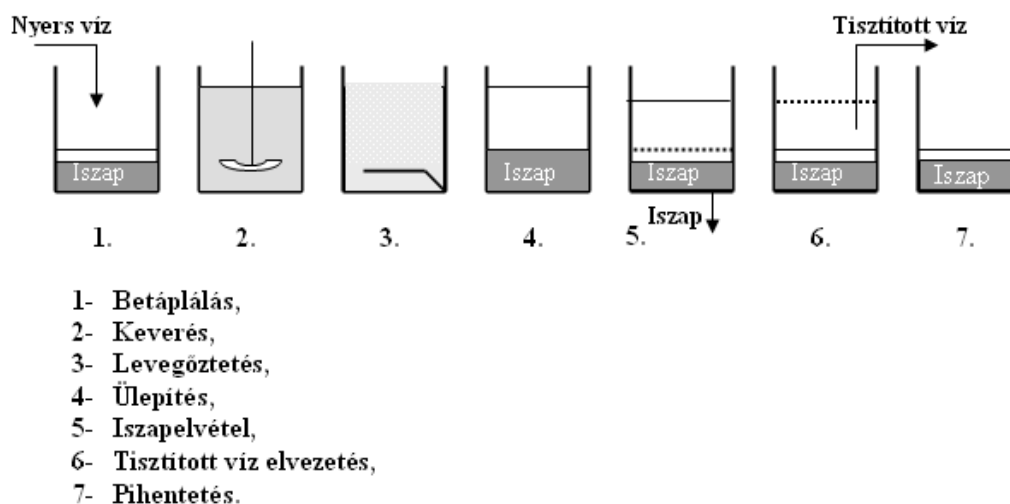
Az SBR (Sequencing Batch Reactor) reaktorok elkülönített ülepítő nélküli, ciklikus üzemű rendszerek. Az egyik legrégebb óta alkalmazott eleveniszapos tisztítók.

Kezdetben alkalmazásuk nehézkes volt. A korabeli technikai színvonal mellett automatizálásuk nem volt megoldott. Ezért is váltották fel őket fokozatosan a folyamatos betáplálású tisztítók. Természetesen az SBR rendszerek számos előnnyel rendelkeztek, és rendelkeznek még ma is. Ezek miatt elterjedésük ismét lendületet kapott. Legfontosabb előnyük, hogy egyszerűek, megfelelően hatékonyak és különösebb figyelmet nem igényelnek. Működésük könnyen szabályozható egyetlen időkapcsolóval, mely megfelelő időközönként önmagától váltogatja az egyes ciklusokat. Ebből adódik az SBR rendszerek azon előnye, hogy a hirtelen terhelésváltozások tekintetében sokkal rugalmasabbak a folyamatos rendszerekhez

képest. Példaként elmondhatjuk, hogy ha az oxikus ciklust követően a reaktorban még viszonylag nagy ammónia koncentráció található, a levegőztetés egyszerűen meghosszabbítható, melynek következtében az ammónia koncentrációja a kívánatos szintig csökkenthető. A ciklusidőt egyetlen dolog korlátozza, mégpedig a reaktor előtti szennyvízgyűjtő medence térfogata. Az említett szabályozás – természetesen – fordítva is igaz, ha az ammónia rövidebb idő alatt eltávolítható a rendszerből, célszerű a levegőztetés idejét csökkenteni. Ilyenkor azonban figyelembe kell venni a szerves anyag eltávolítást is. Megemlítendő továbbá, hogy kiépítési költségük jóval alacsonyabb, mint a folyamatos tisztítóké.

Az SBR rendszerek ugyanakkor hátrányokkal is rendelkeznek a folyamatos tisztítókhoz képest. Ilyen többek között, hogy ezek kevésbé rugalmasak a szennyvízhozam változását illetően. Hiába szabályozható bennük könnyen és gyorsan a tisztítási hatásfok, ha a befolyó szennyvizet már nem tudjuk hova elhelyezni a feladást megelőzően. Ilyenkor csökkenteni kell a tisztítás ciklusidejét, vagy azt megtartva növelni a reaktor terhelését, amely ilyen esetekben az elfolyó víz rosszabb minőségét okozza. További árnyoldala az említett rendszereknek, hogy míg a folyamatos tisztítóknál a víz áramlása a legtöbb esetben egyszerűen – gravitációval – megoldott, addig az SBR reaktorokban történő szennyvízfeladást és elvételt szivattyúk segítségével kell megoldani, ami költségnövelő hatású.

Az SBR rendszerek működési sémáját az 1. ábra mutatja.



1. ábra Az SBR rendszerek általános működési vázlata

Anyag és módszer

Meghatározási módszerek

Vizsgálataim során az egyes komponensek koncentrációját a befolyó tisztítandó és az elfolyó tisztított vízben is szabványos módszerekkel határoztam meg.

A KOI meghatározása Lovibond által forgalmazott fotométer segítségével, küvettás módszerekkel történt. Valamennyi minta esetében több, rendszerint 2-3 párhuzamos mérést végeztem. Az eredmények értékelésénél a táblázatokban feltüntetett értékek ezek átlagát tartalmazzák. A Lovibond által forgalmazott gyári küvettás tesztek (Cuvette test COD Vario 0–1500 mg/l) mellett a laboratóriumban általunk előállított reagensekkel is végeztünk méréseket a MSZ 260/16-82 szabvány szerint. A fotométer mindkét esetben az abszorbancia alapján határozza meg a minták KOI értékét.

Az ammónium koncentrációjának meghatározását a MSZ ISO 7150-1:1992 szabvány szerint végeztem, melynek szerkezete és műszaki tartalma teljes mértékben megegyezik az ISO 7150-1:1984 szabványéval. A szabvány egy manuális fotometriás módszert ad meg a vízben lévő ammónium meghatározására.

A nitrát-ion mennyiségének meghatározása a MSZ/11-71 szabvány szerint történt. Alapja a nitrátok reakciója nátrium-szaliciláttal triklór-ecetsavas közegben. A reakció során sárga színű nitro-

szalicilsavas sók keletkeznek. A színintenzitást, mely ez esetben is arányos a nitrát-koncentrációval, fotométerrel mérjük 410 nm-en.

A nitrit vizsgálatát a MSZ 260/10-85 szabvány alapján végeztem. Elve, hogy savas közegben a nitrition diazotálja a szulfanil-amidot. A keletkező diazóniumsó naftil-etilén-diaminnal piros azoszínézzé kapcsolódik. Az oldat színintenzitása arányos a nitrition koncentrációjával. Az abszorbancia mérése 540 nm-en történik.

A kísérletek során felhasznált szennyvíz összetétele

Az érkező szennyvíz rendszerint fizikai és kémiai előkezelésen átesett szennyvíz volt. Az előkezelés flotálást foglal magában, amely vegyszeres kezeléssel volt kiegészítve. Előbbinek köszönhetően a flotált szennyvíz lebegőanyagokat csak minimális mennyiségben tartalmazott, a lebegőanyag-koncentrációja rendszerint 0,5-1 g/l körül volt. A vegyszeres beavatkozás kezdetben vas-sók, később alumínium vegyületek beadagolását jelentette. Egyrészt segítette a pelyhek összetapadását (flokulációt is előidézett), illetve csökkentette a lebegőanyag-koncentrációt és eltávolította a foszfor közel teljes mennyiségét.

A laboratóriumba beérkezett előkezelt szennyvízbe a biológiai szervezetek megfelelő tápanyagellátása érdekében kálium-hidrogén-foszfátot kevertünk. Az így előkészített szennyvízminta került feladásra

a reaktorokba. A szennyvíz kémhatása is valamennyi alkalommal ellenőrzésre került, értéke lúgos tartományban mozgott, rendszerint 10 körül ingadozott.

A nyers szennyvíz összetétele széles tartományban változott, így sok esetben a terhelés csökkenéssel vagy növeléssel járt a minőségének megváltoztatása. Attól függően, hogy mennyi nyers szennyvíz érkezett az adott mintából a laboratóriumba, egy-egy szennyvízminőség 7-10 vizsgálati napig volt elegendő.

2. táblázat. A feladott szennyvizek összetétele

	KOI (Σ)	KOI (szűrt)	NH ₄ -N
	mg/l	mg/l	mg/l
2010.09.07 - 09.14	4800	3000	960
2010.09.15 - 09.19	3600	2300	960
2010.09.20 - 09.30	1850	1230	500
2010.10.01 - 10.03	4000	3500	1000
2010.10.04 - 10.13	4800	3800	1000
2010.10.14 - 10.17	4300	2800	1000
2010.10.18 - 10.20	3300	1800	860
2010.10.21 - 10.24	4100	2400	790
2010.10.25 - 10.28	3200	2000	790
2010.10.29 - 11.02	5700	3600	950
2010.11.03 - 11.08	6000	3800	1150
2010.11.09 - 11.10	4500	3000	900

A befolyó szerves anyag mennyiség legtöbbször 3000-5000 mg/l közötti homogén KOI-nak volt megfelelő. Egyes esetekben, a kapott szennyvíz függvényében ez az érték az előbbi töredéke volt. A két mért KOI érték közötti különbséget feltehetően a lebegőanyag okozta. A mérési eredmények alapján a lebegőanyag 1,5-1,6 g KOI/g iszap, amely megfelel az állati hulladékfeldolgozás során keletkező

eleveniszap jellemzőjének, bár magasabb, mint a kommunális szennyvíztisztítás esetén tapasztalt 1,3-1,5 g KOI/g iszap érték, feltehetően az iszap zsíros jellege miatt.

A feladásra kerülő szennyvíz ammóniumkoncentrációja is rendszeresen ellenőrzésre került, értéke a legtöbb esetben kicsivel 1000 mg/l alatt volt (átlaga ~900 mg NH₄-N/l).

Az adott dátumokhoz tartozó adatok gyakorlatilag megfelelnek az azokat követő napokon feladásra kerülő szennyvizek összetételének is. A nyers szennyvíz tárolására szolgáló edény térfogata – amelyből a betáplálás történt – megközelítőleg három liter. Ez a térfogat körülbelül két-három napra elegendő szennyvizet jelentett. A telepről származó szennyvizet, folyamatosan hűtőszekrényben 4°C-on tároltam, hogy megakadályozzam a biológiai folyamatok megindulását.

Kísérleti reaktorok

A kísérleti rendszert négy, egymástól független reaktor alkotja (2. ábra). Ezek felépítésükben megegyeznek, az egyetlen jelentős különbséget köztük a reaktortérben beállított hőmérséklet értékek jelentik. SBR rendszerek, azaz működésük szakaszos. Egy térben, de nem feltétlenül egyszerre zajlik a szerves anyag eltávolítás, a nitrifikáció, denitrifikáció és a biológiai foszforeltávolítás is. Működésüket egy központi vezérlőegység szabályozza, amely előre beállított időközönként változtatja az egyes tisztítási folyamatokat, illetve a betáplálást, az ülepítést és az elvételt. Mindegyik reaktor külön pH- és hőmérséklet-szabályzó rendszerrel van kiegészítve. A beállított hőmérséklet értékek rendre 20 °C, 25 °C, 30 °C és 35 °C



2. ábra A kísérleti rendszer

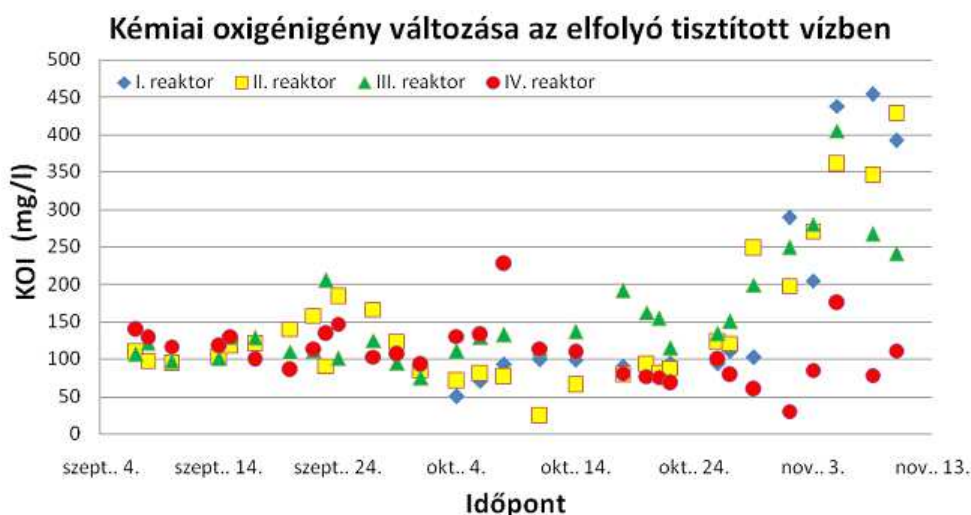
Kísérleti eredmények és értékelésük

Szerves anyagok eltávolítása

Az elfolyó tisztított vízmintákból származó KOI értékeket a 3. ábra tartalmazza.

Az 1. reaktor tisztítási hatékonyságával műszaki problémák miatt sok gond volt, melyek sokszoriszapcseréhez vezettek, emiatt az első reaktor szerves anyag eltávolítása nem volt túl hatékony. Ennek feltehető oka, hogy a kiindulási oltóiszap egy ipari szennyvíztisztító telepről

származik, ahol az üzemeltetési körülmények kismértékben mások, így az iszap alkalmazkodása szükséges. Egy újbóli iszapcserét követően a mérések időtartama alatt ilyen lépésre többször nem volt szükség, a reaktor tisztítási hatékonysága megfelelő volt. Az új iszap az előzőekhez hasonlóan szintén az érintett tisztítóból érkezett, és hetekkel később sem láttam jelét a tisztítási hatásfok csökkenésének.



3. ábra Az elfolyó tisztított mintákban mért KOI értékek

Az első reaktorral ellentétben a másik három megfelelően üzemelt az átállítás előtt és után egyaránt. Látható, hogy a tisztított vizek KOI értékei szűk

tartományban változtak, jelentősen kiugró eset egyiknél sem fordult elő. A legstabilabb, legkevésbé változó eredményeket a 3. és a 4. reaktor adta, míg

a második tisztító már nagyobb ingadozást mutatott. Csupán a mért értékek alapján egyértelműen nem lehet megállapítani, hogy 20 °C, 25 °C, 30 °C, vagy 35 °C hőmérsékleten nagyobb-e a szerves anyagok eltávolításának mértéke, hiszen a mért KOI értékek nagyon közel estek egymáshoz. Sokkal inkább elgondolkodtató az eltávolítási hatásfok vizsgálata, mert az valamivel konkrétabb képet mutat a négy reaktor teljesítményéről. Eleinte a három reaktor szerves anyag eltávolítási hatásfoka stabilan magas, 95% feletti volt. Később azonban ez szemmel láthatóan is visszaesett, holott maguk a KOI értékek nem változtak jelentős mértékben. A hatásfokcsökkenés oka valószínűleg az lehetett, hogy a kezdeti 3500-5000 mg/l-es kémiai oxigénigényű szennyvizet egy idő után szerves komponensekkel kevésbé szennyezett szennyvizek váltották. Mivel az elfolyó értékek a különböző összetételű szennyvizeknél is közel megegyeztek, az alacsonyabb befolyó KOI szükségszerűen eredményezte a hatásfok csökkenését. Mikor azonban ismét 3000-4000 mg/l körüli KOI-nak megfelelő szennyvíz került betáplálásra, a nagyobb mennyiségű eltávolítható (és egyben eltávolított) szerves anyag hatására a teljesítmény ismét megnőtt. Azaz, nem mindegy, hogy egy relatíve alacsonyabb, vagy annál jóval magasabb KOI koncentrációjú szennyvizet tisztítanak meg a reaktorok úgy, hogy az elfolyó értékek mindkét esetben közel megegyeznek. Az egyes időpontokhoz tartozó eltávolítási hatásfokokat megvizsgálva azt tapasztaltam, hogy a legnagyobb és a legkisebb érték között átlagosan mindössze 2-3 % különbség volt, sőt nem egyszer ez az érték az 1 %-ot sem érte el.

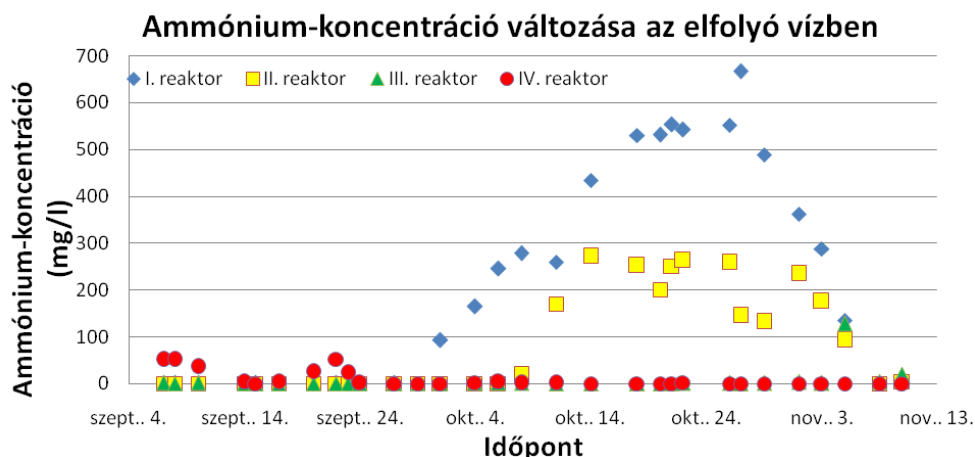
Összehasonlítva az eredményeket, lényeges különbséget nem találunk a reaktorok szerves anyag eltávolítási hatékonyságukkal kapcsolatban, az üzemeltetett hőmérséklet függvényében. Egyértelmű sorrendet nem tudok

felállítani közöttük a tapasztaltak alapján, hiszen volt, hogy az első, a második, a harmadik vagy éppen a negyedik reaktor tisztított jobban. Azonban az elmondható, hogy a határérték alá történő tisztíthatóság minden hőmérsékleten lehetséges, kedvező terhelés, és az iszap megfelelő működése esetén.

Az irodalom alapján azt vártuk, hogy a legnagyobb hatékonyságot a negyedik, a legkisebbet pedig az első reaktor fogja mutatni. Ilyen alacsony terhelésnél azonban nem erre az eredményre jutottunk. Feltehetően a ~100 mg/l KOI mennyiség biológiailag nehezen bontható, így hosszabb tartózkodási idők mellett sem távolítható el a szennyvízből.

Nitrogénformák eltávolítása

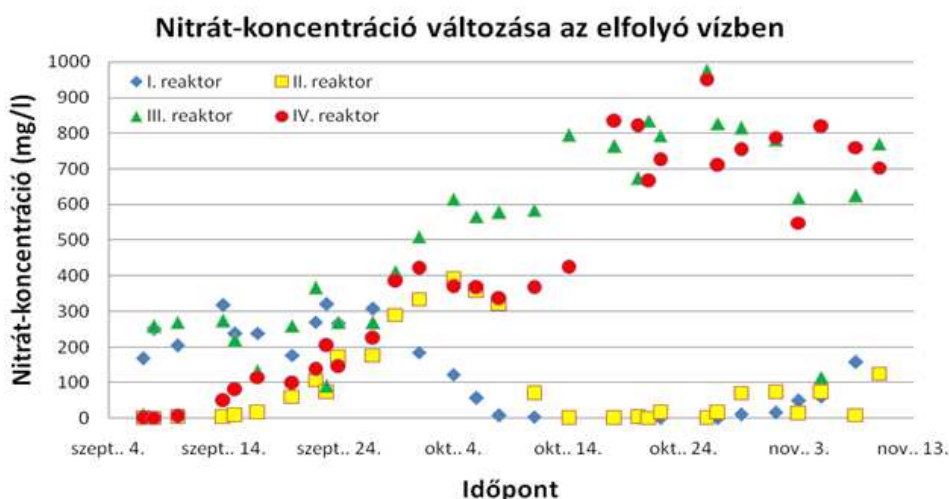
A 4. ábra a tisztított vizekben mért ammónium koncentrációkat mutatja. Látható, hogy a legnagyobb stabilitást a 3. és a 4. reaktor mutatta. Érdekes megfigyelni, hogy a reaktorok közül a 20 és a 25 °C-on üzemelő reaktorok elfolyó ammónium-koncentrációi növekedtek meg jelentős mértékben. Feltehetően az egyes reaktorban a nitrifikáció a hirtelen terhelésnövelés következtében borult fel (nyers szennyvíz összetételének megváltozása), hiszen egészen addig az ammóniumterhelés 120 mg/d volt, ezt követően viszont több mint a duplája. A reaktorokban jelen lévő autotrófok tömege az adott (azonos) tartózkodási idő mellett már nem tudta oxidálni az ammónium teljes mennyiségét. Ennek köszönhetően a nitrifikáció egy idő múlva teljesen leállt, az elfolyó víz ammónium-koncentrációja megközelítette a befolyó nyers szennyvizét, és a tisztított víz nitrát-koncentrációja is nullára csökkent. Az, hogy miért az első kettő reaktor adta fel először, egyértelműen a hőmérsékletnek tulajdonítható, mivel minden körülmény, illetve a feladott szennyvíz minősége és mennyisége is megegyező volt.



4. ábra Az elfolyó tisztított mintákban mért ammónium koncentrációk

Az ammónium eltávolítását nem csak az jelzi, hogy mennyisége a tisztított vízben minimális, hanem az is mutathatja, hogy a nitrát az elfolyó vízben jelen van. Ennek viszont a legtöbbször nem örülnek a szakemberek, hiszen igaz, hogy a nitrifikáció teljes, viszont a denitrifikáció koránt sem az. A nem megfelelő denitrifikációnak leginkább két oka lehet. Az egyik az anoxikus részfolyamat idejének rövidegsége, a másik pedig a könnyen bontható tápanyagok hiánya. Utóbbihoz kapcsolódóan fontos megemlíteni, hogy a KOI/TN arány optimális esetben 10-12, itt viszont csak 4-5. Emellett a magas

tartózkodási idő a biológiailag bontható szerves anyagok oxikus körülmények közötti eltávolításának kedvez. Mivel alából alacsony a szerves komponensek aránya a nitrogénvegyületekhez képest, és a könnyen bontható szerves anyagok meghatározó része már a levegőztetés során átalakításra kerül, a denitrifikáció tökéletes lejátszódására a tápanyaghiány miatt már nem kerül sor (5. ábra). Ezen még a feladott nyers szennyvíz célzott feladagolása sem segít, ugyanis minden az esetben az anoxikus ciklusba történik, oxigénmentes környezetben.



5. ábra Az elfolyó tisztított mintákban mért nitrát-koncentrációk

A hármas reaktor kivételével a többi reaktorból mért elfolyó nitrát-koncentrációk mutatják azt a tendenciát, amire az ammónium mennyiségéből következtetnénk. Azaz, ha csökkent a tisztított víz ammónium-koncentrációja, úgy nőtt annak

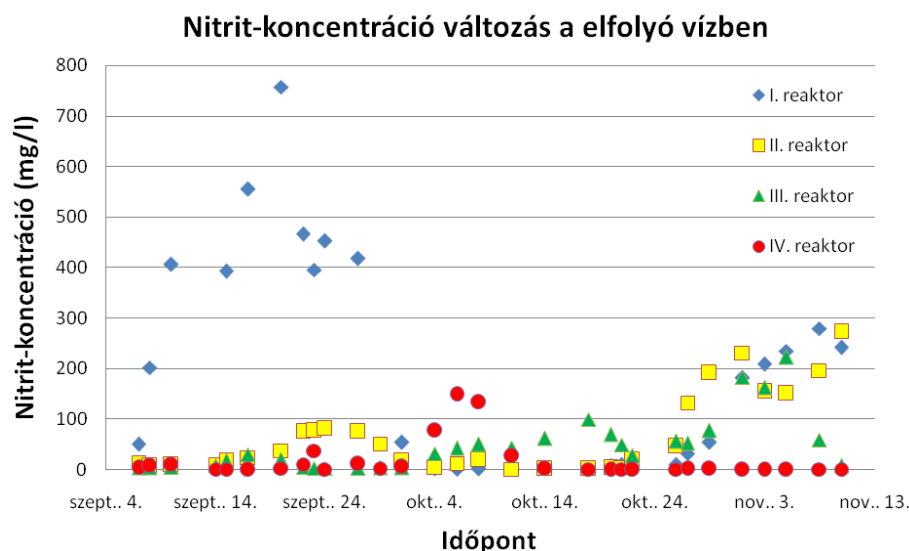
nitrát-tartalma. Az 5. ábrán egyértelműen látszik az, hogy mikor kezdett el romlani a nitrifikáció az 1-es és a 2-es reaktorban, illetve megmutatkoznak a 4. reaktor kezdeti ammónium-eltávolítási problémái is. A 3. reaktor mutatta a legnagyobb stabilitást a

nitrifikáció szempontjából. A vizsgálatok időtartama alatt az említett reaktort elhagyó tisztított víz minden esetben minimális mennyiségű ammóniumot tartalmazott, nitrát-tartalma ugyanakkor tág határok között mozgott. Ennek oka a betáplált szennyvíz változó összetétele (KOI és N tekintetében) lehetett.

Fontos továbbá kitérni ez esetben a ciklusok tanulmányozására is, hiszen mind az első és a második oxikus szakaszt, mind pedig az ülepítést követő szennyvízfeladást anoxikus részfolyamatok követik. Ilyenkor lehetőség van a denitrifikációra a friss tápanyagoknak köszönhetően. Az

..

eredmények értékelésénél az is felmerült, hogy a viszonylag alacsony tápanyagterhelés miatt a szerves anyagok meghatározó része már az anoxikus szakaszokban elfogy, és egyszerűen nem is áll rendelkezésre elegendő mennyiségű könnyen bontható komponens, amely biztosítani tudná a nitrát teljes mértékének felhasználását. Felvetődött annak lehetősége is, hogy a denitrifikáló baktériumok hiánya is okozhatja a magas elfolyó nitrát-koncentrációkat. Ez nem teljesen megalapozott, hiszen az első és a második reaktor esetében is látható, hogy a nitrifikáció leállását követően a nitrát egyenletesen elfogyott a rendszerből



6. ábra Az elfolyó tisztított mintákban mért nitrit-koncentrációk

A nitrit esetében az 1. reaktorban mértem magas értékeket (6. ábra). Látható, hogy a nitrifikáció is korlátolt volt a vizsgálati időszak elején (szeptember 07.-30.), mivel az ammónium magas volt. A nitrifikáció részleges volt, ugyanis 200-300 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ -t tartalmazott az elfolyó víz. Az irodalmi adatok szerint a magas nitritkoncentrációnak gátló hatása van a nitrifikációra, így feltehető módon itt is ez következett be. Amennyiben az elfolyó víz szerves anyag tartalmát is megvizsgáljuk, láthatjuk, hogy a szűrt KOI is igen magas volt, így elképzelhető, hogy a magas nitrit koncentráció a heterotróf szerves anyag-oxidálók

működésére is hatással volt. A többi vizsgált reaktorban a nitrit koncentrációja nem volt ilyen magas, általánosságban a 10-100 mg/l alatti érték volt a jellemző. A reaktorok további vizsgálata esetén a nitrit-tartalom és a KOI összefüggését több reaktor esetén tapasztaltam, amikor a nitrit koncentrációja 50 mg/l-es érték felett volt. Természetesen az eltérések nem voltak akkora mértékűek, csak néhány 10 mg/l-es KOI növekedést jelentettek, azonban mivel szűrt minták méréséről van szó, és így a lebegőanyag beméréséből eredő mérési hiba lehetősége nem állt fenn, továbbá mindhárom magas nitrit koncentráció esetén az elfolyó KOI

magasabb volt a korábbinál, így ez a megállapítás valós lehet. A munka folytatása esetén ennek további vizsgálata mindenképp szükséges.

A fejezetben felvázolt eredmények itt is azt mutatják, hogy a nitrifikációra ilyen alacsony terhelésnél a hőmérséklet nincs meghatározó hatással. Az ammónium eltávolítását mind a négy reaktor magas hatékonysággal végezte. Az első és a második reaktor nitrifikációjának leállása ugyanakkor bizonyos szempontból tükrözi a szakirodalom alapján szerzett ismereteket, hiszen azonos terhelések esetén, esetünkben is először a legalacsonyabb hőmérsékleten működő rendszerben kezdett el hanyatlani a nitrifikáció, majd ezt a második legalacsonyabb hőmérsékletre beállított reaktor követte. A másik két rendszer e tekintetben mindvégig stabil maradt, mindössze a 4. reaktor mutatott egyszer némi hatékonyság csökkenést, amely betudható például az akkori gyenge levegőztetésnek és alacsony oldott oxigén szintnek.

Összefoglalás

A dolgozat annak megismerésére irányult, hogy az egyes, szennyvízben előforduló anyagok abból milyen hatékonysággal távolíthatók el biológiai úton, különböző hőmérséklet értékek esetén. Vizsgálataim során a négy, eltérő hőmérsékletűre beállított reaktor működése több komponens eltávolítása szempontjából is összehasonlításra került. A vizsgálati hőmérsékletek meghatározásakor figyelembe vettem a mátyásdombi szennyvíztelep téli-nyári üzemeltetése esetén előforduló legalacsonyabb és legmagasabb hőmérsékleteket. A vizsgálati tartomány 20-35°C volt.

A szerves anyag eltávolítás hőmérsékletfüggése esetén nem tapasztaltam kimérhető eltérést. Megfelelő üzemvitel mellett, a tisztított elfolyó víz KOI értéke minden vizsgált hőmérséklet esetén a határérték alatti / közeli volt. A nyers szennyvíz szerves anyag tartalma

lényegesen nagyobb, mint a kommunális szennyvíztisztítóba érkező szennyvizek KOI értéke, azonban a tartózkodási idők miatt a szennyvíztisztító terhelése lényegesen kisebb, azaz alulterhelt. A reaktorokban a hidraulikai tartózkodási idő az ipari méretben üzemelő szennyvíztisztító adatai alapján került meghatározásra. A tartózkodási idő a teljes rendszerben több mint 12 nap, így az elfolyó víz KOI tartalma ennyi idő után feltehetően már biológiailag nagyon nehezen bontható (bonthatatlan) volt. Az érvényben lévő KOI határérték a szennyvíztisztítóra 150 mg/l, amely megfelelő üzemeltetési körülmények esetén nagy valószínűséggel biztosítható.

Az ipari méretű szennyvíztisztító sokszor a megfelelő mértékű nitrogéntávolítás problémájával küzd. A vizsgálati időszakban a szennyvíztelepen a nitrifikáció igaz ment, azonban nem elegendő mértékben, ugyanis a reaktorban az ammónium és a nitrát koncentrációja is magas volt. Ezzel párhuzamosan a laboratóriumi kísérletekben az ammóniumeltávolítás az iparban üzemelő ~30°C-os hőmérséklet esetén ment, miközben a reaktor fajlagos iszapterhelése közel a kétszerese volt. Ezt a reaktorok eltérő iszapkoncentrációja okozta. Ennek feltehető oka az üzemi körülmények esetén a nem megfelelő előkezelés, a nem kielégítő mértékű keverés és levegőztetés volt. Az eredmények alapján azonban bizonyított, hogy a nagyüzemi rendszer is megfelelően üzemeltethető, amennyiben a szükséges műszaki fejlesztések megvalósulnak.

A nyers szennyvizek KOI/TN aránya nem optimális, azaz a szennyvíz szerves anyagban szegény, ennek következményeként a megfelelő mértékű denitrifikáció nem biztosítható. A nagyipari méretben az anoxikus medencében metanol adagolásával és a levegőztetés szakaszos leállításával a denitrifikációs kapacitást növelik. Erre a laboratóriumi méretben szándékosan nem

került sor, mivel összefüggést szerettem volna látni a hőmérséklet és a nitrát-tartalom között.

A vizsgálatok során egy olyan összefüggést is találtam, amellyel még a szakirodalomban nem találkoztunk. Azt már tudjuk, hogy a magas nitrit-koncentráció gátolja a nitrifikációt, viszont lehet, hogy ugyanilyen hatással van a szerves anyag oxidáló mikroorganizmusokra is. Ez a legtöbb reaktor esetében megfigyelhető volt, amikor a nitrit koncentrációja meghaladta az 50 mg/l-es értéket. Mivel mérési hiba valószínűleg nem történt, illetve az említett tapasztalatok több reaktort is érintenek, a leírtak megalapozottnak tekinthetők, viszont a pontos alátámasztás érdekében további vizsgálatokra még szükség lehet.

Köszönetnyilvánítás

A dolgozat elkészítésének ötletét egy korábbi, ipari szennyvizek tisztításával foglalkozó, szintén Tudományos Diákkonferenciára készített dolgozat elismerése adta. Immáron harmadik éve dolgozom a Környezetmérnöki Intézet szennyvíztisztítási csapatában, és még mindig alig győzők köszönetet mondani azon tanároknak, technikusoknak, doktorandusz és szakmérnök hallgatóknak, akik munkámban segítettek. Név szerint is szeretném megemlíteni témavezetőimet Dr. Kárpáti Árpádot és Fazekas Bencét, akik még olykor a késő esti órákban is hasznos tanácsokkal láttak el. Külön köszönettel tartozom a kísérlet legnagyobb szellemi és gyakorlati támogatóinak Pitás Viktóriának és Varga Krisztiánnak, akik nem egyszer este tíz óra után zárták a tanszék bejáratát. Szeretném továbbá megköszönni Bányai Zsuzsanna, Cseh Balázs, Reich Károly, Szócs Gyula és Thury Péter segítségét.

Irodalomjegyzék

Akca L., Kinaci C., Karpuzcu M. (1993): A Model for Optimum Design of Activated Sludge Plants. *Water Research* 27: 1461-1468.

Barótfi I. (2003): *Környezettechnika kézikönyv*. Mezőgazda Kiadó, Budapest

Benedek P. (1982): *Vízisztítási, szennyvíztisztítási zsebkönyv*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest.

Blackall L. L., Ekema G. A., Griffiths P. C., Kárpáti Á., Kroiss H., Limdrea K. C., Morgenroth E., Seviour R. J., Svoldal K., Wentzel M. C., Vilderer P. A. (2002): *Eleveniszapos szennyvíztisztító rendszerek és ellenőrzése, Ismeretgyűjtemény, No. 2*. Szerk. Kárpáti Á. Veszprémi Egyetem, Környezetmérnöki és Kémiai Technológiai Tanszék, Veszprém.

Fresenius W., Schneider W. (1989): *Waste Water Technology, Origin, Collection, Treatment and Analysis of Waste Water*. Berlin, London, Paris, Tokyo, New York.

Görözdí A. (1984): *Település vízgazdálkodás enciklopédia*. Műszaki Könyvkiadó Budapest.

Hartmann L., Jardin N., Kaiser R., Schön G. (2001): *A szennyvíztisztítás fejlődése a XX. Században, az eleveniszapos szennyvíztisztítás fejlesztési irányelvei*. Ismeretgyűjtemény, No. 1. Szerk. Kárpáti Á., Veszprémi Egyetem Környezetmérnöki és Kémiai Technológia Tanszék, Veszprém.

Illés I. (1972): *Ipari szennyvíztisztítás: ipari szennyvizek keletkezése és tisztítása*. Műszaki Tankönyvkiadó, Budapest.

Kárpáti Á. (1991): *Szennyvíziszap rothasztás és komposztálás*. Ismeretgyűjtemény, No. 6. Veszprémi Egyetem, Környezetmérnöki és Kémiai Technológia Tanszék, Veszprém.

Kárpáti Á. (2007): *A szennyvíztisztítás alapjai*. Pannon Egyetem, Veszprém.

Mizsey P., Koczka K., Tungler A. (2008): *Technológiai hulladékvizek kezelése fiziko-kémiai módszerekkel*. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, Magyar Kémiai Folyóirat, Összefoglaló közlemények, 114 (3).

Norcross K. L. (1992): *Sequencing Batch Reactors - An Overview*. *Water Science és Technology* 26: 2523-2526.

Öllös G. (1991): *Csatornázás – Szennyvíztisztítás I-II*. Aqua kiadó, Budapest.

Öllös G. (1995): *Szennyvíztisztító telepek üzemeltetése I-II*. Akadémiai Kiadó, Budapest.

Rendeletek

1774/2002/EK Európai Parlamenti és Tanácsi Rendelet a nem emberi fogyasztásra szánt állati

melléktermékekre vonatkozó egészségügyi
szabályok megállapításáról.

71/2003 (VI. 27.) FVM Rendelet az állati
hulladékok kezelésének és a hasznosításukkal

készült termékek forgalomba hozatalának állat-
egészségügyi szabályairól.

Dohánynövény alkalmazása remediált uránbánya területek vizsgálatában

Horváth Mária, Csordás Anita, Máté Borbála

Témavezetők: Dr. Kovács Tibor, Dr. Somlai János

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Radiokémiai és Radioökológiai Intézet

Kivonat

A meddőhányók, zagytározók környezeti monitorozása fontos feladat. A növény és állatvilágra gyakorolt hatásuk legcélszerűbben jól megválasztott bioindikátorok segítségével állapítható meg. A dohány Po(Pb) felhalmozó képessége régóta ismert, a bezárt és remediált uránbánya, zagytározójának biomonitorozására alkalmas lehet, mivel az izotópok levélfelületen megkötődhetnek, vagy a gyökérzetén keresztül felszívódhatnak. Ebben a dolgozatban a 2001-ben elkezdett, remediált uránbánya-területeken kísérleti céllal termesztett dohánynövények Po-210 (Pb-210) koncentrációját vizsgáltuk és foglaltuk össze. Munkánk során a 2002 és 2009 között termesztett, összesen 31 darab dohány és talajminta Po(Pb)-210 koncentrációját határoztuk meg félvezető (PIPS) detektoros alfa-spektrométerrel. A mérésre alkalmas forrást spontán depozíciós eljárással készítettük a minta kombinált savas feltárása után, Po-209 nyomjelző alkalmazásával. A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy a dohány és talajminták Po(Pb)-210 aktivitás-koncentrációja $2.12 \pm 0.8 - 1866 \pm 98$ mBq/g között változott. Feldolgozva a korábbi évek mérési adatait, látható volt, hogy a talajminták Po(Pb) koncentrációjának változásával a dohányminták aktivitás-koncentrációja is arányosan változott. Így a későbbiekben a zagytározóból kioldódó radioizotópok migrációja nyomon követhető.

Bevezetés

Napjainkban a növények, mint szennyezést jelző bioindikátorok alkalmazása nagyon

elterjedt. A természetes eredetű radionuklidok közül az U-238 bomlási sorába tartozó ólom és polónium izotópok azok, amelyek a legkönnyebben mobilizálódnak már gyengén savas közegben is.

A dohány előszeretettel használt bioindikátor, korábban sok kutató vizsgálta a nehézfém-felvételét a talajtípus és egyéb természeti körülmények függvényében (Wang és Finlayson-Pitts, 2003; Ajab és mtsai., 2008).

A dohányt több szempontból is szívesen alkalmazzák, mint polónium és ólom bioindikátor, már a 60-70-es években számos cikk jelent meg a cigaretta füst polónium-tartalmáról (Radford és Hunt, 1964; Martell, 1975). Az alfa-spektrometriai eljárások fejlődésével rohamosan nőtt az érdeklődés a cigaretták polónium koncentrációja iránt (Desideri és mtsai., 2007; Kovács és mtsai., 2007). Egyes kutatók jelentős szerepet tulajdonítanak a dohányzás rákkeltő hatása és a cigarettában lévő polónium kapcsolatának (Martell, 1975; Robyn és mtsai., 2009).

A Po(Pb) dohányba jutásának két útja lehet. Az egyik a dohánylevél felülete, mely hatalmas adszorpciós felületet jelent, amit a felületen lévő szőrök (trichomák) tovább növelnek, így az egyik bejutási lehetőség a levelére ülepedett aeroszol Po(Pb)-210 tartalmának megtapadása és felszívódása (Martell, 1974). A másik útvonal a gyökéren keresztül történő felszívódás, több esetben mértek ugyanis nagy koncentrációt erősen műtrágyázott területeken (Tso és mtsai., 1966; Skwarzec és mtsai., 2001; Naina és mtsai., 2008).

Az a mechanizmus viszont még máig sem tisztázott, hogy hogyan jut a Po-210 vagy a Pb-210 a dohányba. Általában ugyanis nem is a Po-210 bejutása a kérdés, hanem annak hosszú felezési idejű anyaeleme, a Pb-210, ezért tárgyaljuk ezt a két izotópot együtt. A magyarázat egyszerű, mivel a dohány tenyészideje alatt a Po-210 138 napos felezési ideje miatt részben lebomlana, illetve a tárolás és érlelés miatt a legtöbbször már beáll a szekuláris egyensúly a Pb-210 és Po-210 ($T_{1/2} = 438$ nap) között, így ha mérjük a Po-210 koncentrációt az az egyensúlyban lévő Pb-210-et is jelenti.

A fentiek alapján több szempont is szól a dohány, mint bioindikátor alkalmazása mellett. Egyrészt elég hosszú a tenyészideje ahhoz, hogy képes legyen akkumulálni a kijutott radionuklidot (akár a gyökéren, akár a levélfelületen keresztül jut be), másrészt ahhoz elég rövid, hogy ne egy hosszú időszakról adjon integrális képet, mint pl. a fás szárú növények.

Kutatásunkban a 2001-ben elkezdett, remediált uránbánya-területeken kísérleti céllal termesztett dohánynövények Po-210 (Pb-210) koncentrációjának vizsgálatát és a kapott eredmények összefoglalását tűztük ki célul. Ezen kívül a dohány Po(Pb) akkumuláló képességének és a talaj-dohány közötti transzferfaktor értékének meghatározása volt a feladatunk, mivel a Po(Pb) koncentráció változásából a zagyatározót, a vízbázist és az élővilágot veszélyeztető hatása vizsgálható.

A mecseki uránbánya zagyatározójának teljes remediációja 2008-ra készült el. A kész fogalom jelen esetben viszont nem azt jelenti, hogy a folyamat lezárult, hiszen hosszú évtizedekig vagy akár évszázadokig figyelni/monitorozni kell a területet, elsődleges szempontként a radionuklidok migrációját szem előtt tartva. Ez azért rendkívül fontos, mert a rekultivált területektől már 50-100 méteres távolságban mezőgazdasági területeket találhatunk, valamint a közelben sok kis település és vízbázisok találhatók, illetve

nincsenek még évtizedes, évszázados tapasztalatok a lehetséges környezeti hatásokról.

Mérési módszer:

Mintagyűjtés, minta előkészítés

Az 1997-ben bezárt (Somlai és mtsai., 2006), remediált Mecseki uránbánya két területén, a zagytéren és a vízkezelő bázison, valamint a környező településeken 2001 óta folyamatosan termesztettünk dohánynövényt, és vizsgáltuk a talaj és a növénykülönböző részeinek Pb(Po)-210 koncentrációját.

A települések közül a legközelebbi Pellérd 5 helyre ültettünk mintanövényeket, illetve termesztettünk évente 1-1 helyen, Bakonyán és Kővágószőlősen is, valamint összehasonlítás céljából az ország egy más területén, Veszprémben.

Vizsgálataink során összesen 31 darab begyűjtött mintát (talaj, gyökér, levél) mértük. A dohánymintákat szobahőmérsékleten szárítottuk, hogy a polónium koncentrációja ne csökkenjen, majd kávédarálóval őröltük, a talajmintákat dörzsmozsárral finom szemcsékre aprítottuk.

1. táblázat A minták származási helye és GPS koordinátái

Minta származási helye	GPS LON	GPS LAT
Zagyatározó	E18° 08' 02,01"	N46° 01' 45,90"
Vízkezelő bázis	E18° 07' 28,07"	N46° 02' 12,83"
Pellérd	E18° 09' 06,57"	N46° 01' 49,66"
Kővágószőlős	E18° 07' 35,00"	N46° 04' 00,00"
Bakonya	E18° 04' 58,94"	N46° 05' 08,40"
Veszprém	E17° 54' 31,55"	N47° 05' 48,06"

Po-210 forráskészítése és mérése

A Po-210 aktivitás-koncentrációjának a meghatározásához első lépésként 2 g mintához ismert mennyiségű Po-209 nyomjelző izotópot adtunk, majd klasszikus kombinált savas feltárást alkalmaztunk, azaz elsőként 3-szor cc. HNO₃-val, majd 3-szor cc. HCl-dal és végül 3-szor ultratiszta millipore vízzel pároltuk be kb. 5 ml-ig (Kovács és mtsai., 2007) a mintákat. A forráskészítés

spontándeponizációs eljárással történt magas nikkeltartalmú saválló acéllemezre. A detektálás pedig „Ortec Soloist alpha-spectrometer” félvezető (PIPS) detektorral történt vákuumban (Kovács és mtsai., 2007). A mérési időt 80 000 másodpercre állítottuk be.

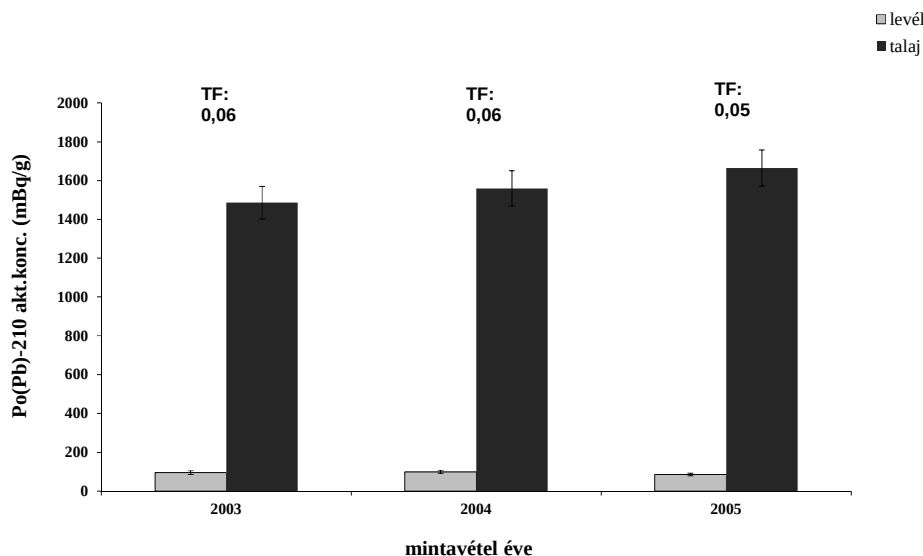
A mérések kimutatási határai 95 %-os megbízhatósági szinten 0,48-2,10 mBq között voltak (Currie, 1968).

Eredmények

Bányaterületről származó minták

Vízkezelő bázis

Elsőként a vízkezelő bázis területén mért eredményeket ismertetnénk. A vízkezelő bázisról tudni kell, hogy ide érkeznek a csurgalékvizek rádium és ólom mentesítéskeletkező magas nuklidtartalmú iszapjai.



1. ábra A vízkezelő bázison termesztett dohánynövény, és az alatta lévő talaj polónium és ólom-210 koncentrációja

Mint várható volt a talaj polónium és ólom koncentrációja magas, 1500 mBq/g körüli értéket mutat, melyhez egy szintén viszonylag magas 100 mBq/g-os dohánylevél polónium és ólom koncentráció tartozik.

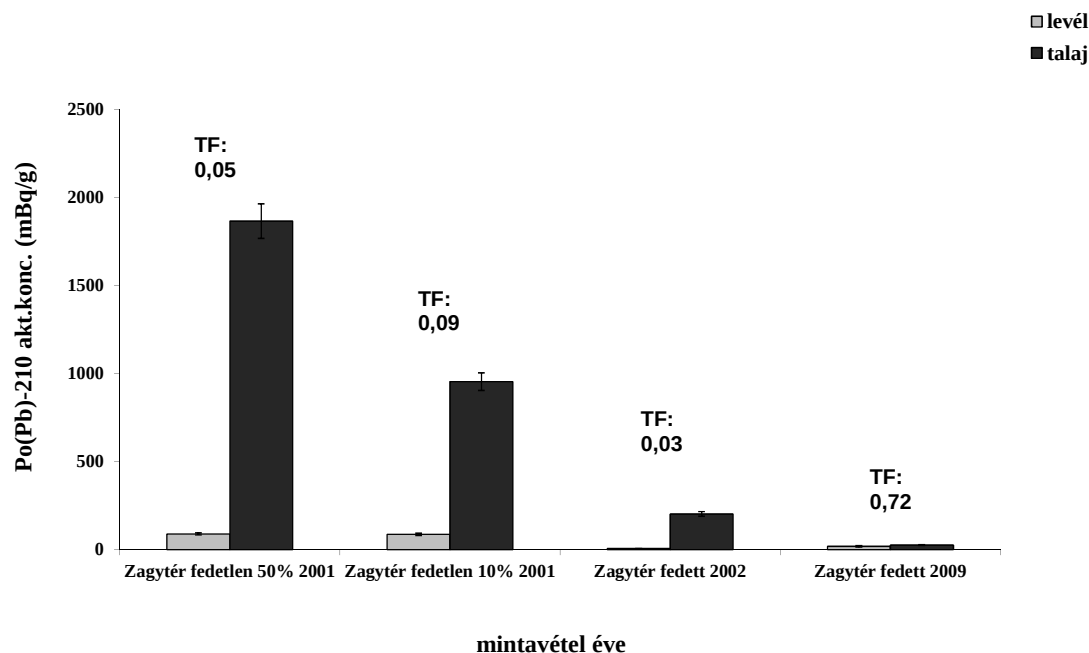
Zagytározó

Másodikként a zagytározón végzett kísérleteket mutatnánk be.

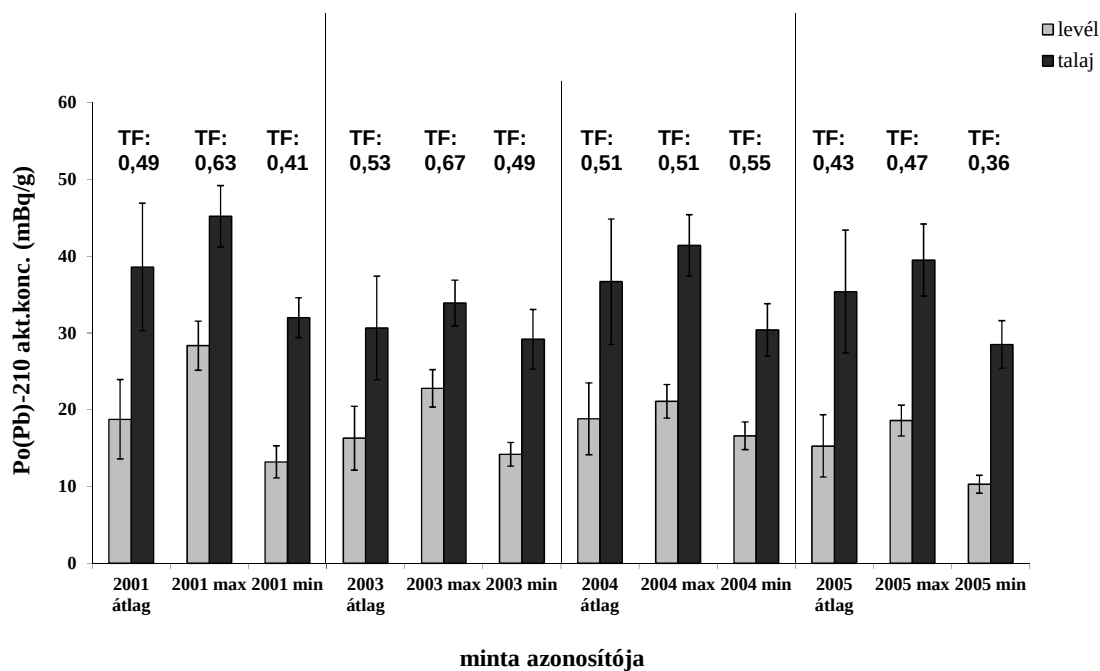
2001-ben a még fedetlen zagytározón végeztünk különböző kísérleteket zagykeverékekkel, azaz 100% zagyra, 50% zagy – 50% termőföld keverékre, 10%

zagy – 90% termőföld területekre ültettünk növényeket. A 100%-os zagyon a növények nem életek túl.

A kevert zagy esetén a talaj a várt profilt adja, míg a dohánylevelek esetén ismét kb. 100 mBq/g-os polónium és ólom koncentrációt kaptunk. A 2002-es és 2009-es adatok alapján jól látszik, hogy a zagytározó takarása megfelelően funkcionál, radionuklid migráció nem történt, 2009-re már lecsökkent a talaj izotóp koncentrációja 30 mBq/g körüli értékre, melyhez 20 mBq/g körüli dohánylevél-koncentráció tartozik.



2. ábra A zagytározón mért polónium és ólom aktivitás-koncentrációk



3. ábra A pellérdi minták mérési eredményei

Környező települések

Pellérd

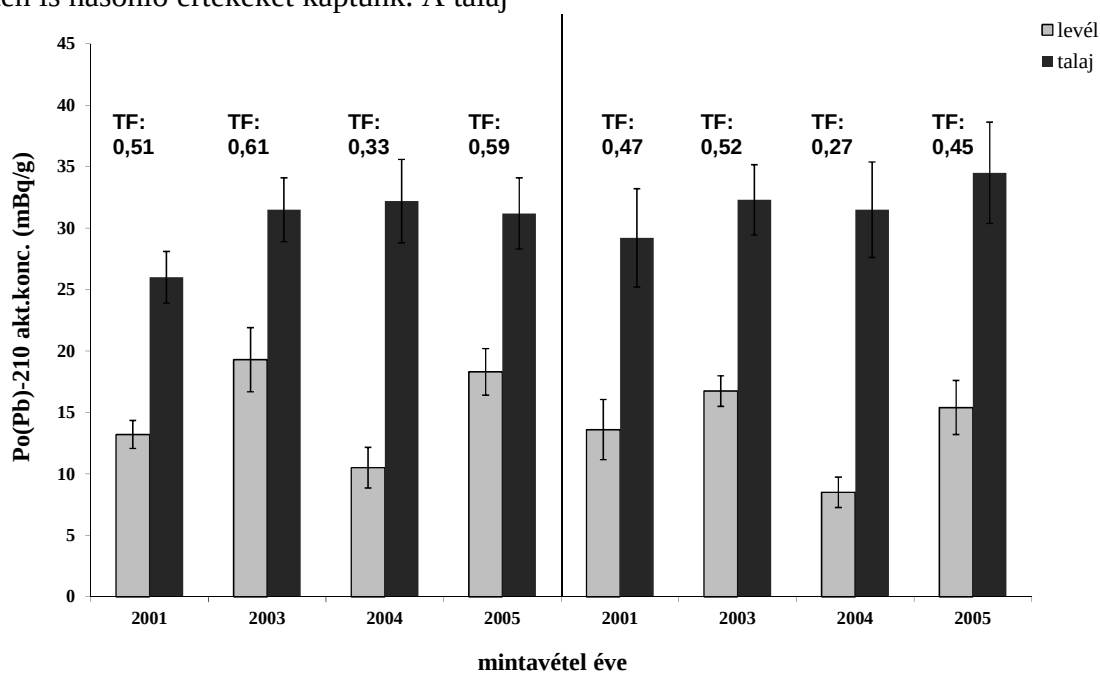
A zagytározóhoz legközelebbi faluban, Pellérden 5 különböző helyen ültettünk növényeket. Az alábbi diagramon az 5 minta éves átlagértéke látható, az évi maximum és minimum értékekkel.

Látható, hogy sem a mintahelyek egy évre vonatkoztatott átlagának szórásában, sem a különböző években mért értékek között nincs szignifikáns eltérés, talajok esetén 30-40 mBq/g-os, míg a leveleknél 10-20 mBq/g-os Po(Pb)-210 koncentrációkat mértünk.

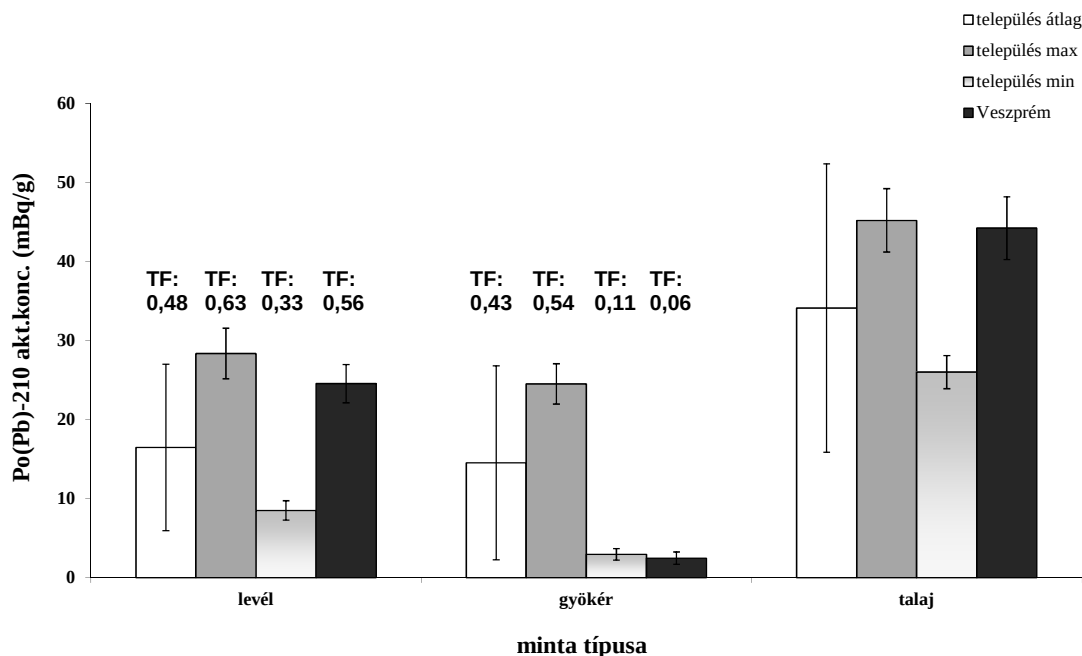
Kővágószőlős, Bakonya

A pár km-el távolabb található településeken, Bakonya és Kővágószőlős esetén is hasonló értékeket kaptunk. A talaj

esetén 25-35 mBq/g, ehhez társulóan a levélben 8-20 mBq/g Po(Pb) koncentrációt mértünk.



a) Kővágószőlős b) Bakonya
4. ábra A kővágószőlősi (a) és bakonyai (b) dohány- és talajminták Po(Pb)-210 koncentrációja



5. ábra A településeken mért aktivitásértékek összehasonlítása az ország más területéről származó mintával

Összehasonlítás

A 3., 4., valamint a fenti ábra alapján megállapítható, hogy az uránbánya környékéről származó minták átlagértékeit

összehasonlítva egy, az ország más területéről, Veszprémből származó mintával, nem kapunk jelentős eltérést, azaz ezek alapján elmondható, hogy

radionuklid migráció a területre nem történt, a zagy fedése és szigetelése megfelelő, hiszen nem jutott ki zagy a településekig.

Összefoglalás

A munka eredményeit összefoglalva: 2001 óta több, mint 200 dohány és talajminta Po(Pb) aktivitás-koncentrációját határoztuk meg.

Az eredmények alapján látható volt, hogy a lefedett zagyártározóról és a környékbéli településekből származó minták Po(Pb) koncentrációi nem térnek el jelentősen az ország más területéről (Veszprémből) származó mintákétól, azaz Po(Pb) migráció nem történt a területen, a zagyártározó fedése megfelelően funkcionál.

Másrészt megállapítható, hogy szoros kapcsolat van a dohánynövény és a talaj Po(Pb) koncentrációja között, így ezek alapján a dohánynövény javasolható, mint indikátornövény a remediáció ellenőrzésére.

Viszont az akkumulációs útvonal pontosítása az anomáliák meghatározása, tisztázása miatt elengedhetetlen, fontos jövőbeli feladat.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket szeretnénk kifejezni Mecsekérc Zrt. és Mecsek-Öko Zrt. dolgozóinak, akik rendelkezésünkre bocsátották a talajmintákat és gondoskodtak a növényekről.

Irodalom

Ajab H., Yasmeen S., Yaqub A., Ajab Z., Junaid M., Siddique M., Farooq R., Malik S.A. (2008): Evaluation of trace metals in tobacco of local and imported cigarette brands used in Pakistan by spectrophotometer through microwave digestion. *J. Toxicol. Sci.* 33(4): 415–420.

Currie L. A. (1968): Limits for detection and quantitative determination. *Analytical Chemistry*. 40 (3): 586–593.

Desideri D., Meli M. A., Feduzi L., Roselli C., (2007): 210Po and 210Pb inhalation by cigarette smoking in Italy. *Health Phys.* 92(1): 58–63.

Kovács T., Nagy K., Somlai J., Szeiler G. (2007): 210Po and 210Pb concentration of cigarettes traded in Hungary and their estimated dose contribution due to smoking *Radiat. Meas.* 42: 1737–1741.

Martell E. A. (1974): Radioactivity of tobacco trichomes and insoluble cigarette smoke particles. *Nature (London, U. K.)*. 249(454): 215–217.

Martell E. A. (1975): Tobacco radioactivity and cancer in smokers. *Am. Sci.* 63: 404–412.

Naina M., Chauhan R. P., Chakravarti S. K. (2008): Alpha radioactivity in tobacco leaves: Effect of fertilizers. *Radiat. Meas.* 43: 515–519.

Radford E. P., Hunt V. R. (1964): Polonium-210: a volatile radioelement in cigarettes. *Science*. 143(1603): 247–249.

Robyn L., Prueitt J. E., Goodman P. A. (2009): Valberg Radionuclides in cigarettes may lead to carcinogenesis via p16(INK4a) inactivation. *J. Environ. Radioact.* 100: 157–161.

Skwarzec B., Strumińska D. I., Ulatowski J., Golebiowski M. (2001): Determination and Distribution of 210Po in Tobacco Plants from Poland. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 250(2): 319–322.

Somlai J., Gorjancz Z., Várhegyi A., Kovács T. (2006): Radon concentration in houses over a closed Hungarian uranium mine. *Sci. Total Environ.* 367(2-3): 653–665.

Tso T. C., Harley N., Alexander L. T. (1966): Source of Lead-210 and Polonium-210 in Tobacco. *Science*. 153(3738): 880–882.

Wang W., Finlayson-Pitts B. J. (2003): Measurement of Trace Metals in Tobacco and Cigarette Ash by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy. *J. Chem. Educ.* 80(1): 83.

Biotesztek alkalmazási lehetőségei mikotoxikológiai vizsgálatokban

Kakasi Balázs

Témavezetők: Dr Nagy Szabolcs és Dr Lepossa Anita

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az élelmiszerbiztonság kérdése az utóbbi években egyre nagyobb hangsúlyt kap. A penészek mikotoxinjai közül az aflatoxinok jelentik a legsúlyosabb állat- és humán-egészségügyi problémát. Az élelmiszer- és takarmányminták toxinszintjének analitikai vizsgálata mellett egyre erősebb az igény biotesztek alkalmazására is. Jelen dolgozatban tiszta (Kontroll) és aflatoxinnal szennyezett (Toxinos) kukorica-alapanyagból indított rázatott lombikos fermentáción átesett minták mikotoxikológiai vizsgálatát végeztem különböző biotesztekkel. Az SOS-chromotest™ a sejtek ún. „SOS javító rendszerét” hasznosítja a genotoxicitás detektálására, melyhez egy erre a célra kitenyésztett baktériumtörzset használ. A ToxAlert® 100 teszt a *Vibrio fischeri* baktériumok biolumineszcenciájának mérésén alapul. A különböző toxikus kemikáliák a toxicitás mértékével arányosan csökkentik a mérhető biolumineszcens jelet. A fluoreszcens mikroszkópos élősejt arány meghatározása során a Live/Dead Fixable Kit (Invitrogen™) alkalmazásával szelektíven jelöltem az elpusztult élesztősejteket. Az SOS Chromotest egyértelmű színreakcióval reagál a genotoxikus anyagok hatására (pl. aflatoxin), ám az elvégzett hígítási tartományban nem jelzett genotoxicitást az aflatoxinnal fertőzött minta esetében. A ToxAlert teszt elvégzésekor kapott IC₅₀ értékek között jelentős eltérés mutatkozott a Toxinos és a Kontroll csoport között (6,96 mg/ml vs. 21,7 mg/ml). A fluoreszcens festékekkel végzett élesztő-élősejt %-os meghatározások kapcsán a Toxinos

csoportban mértünk nagyobb élősejt-arányt (37%, míg a Kontroll esetében 8%). Az SOS-chromotest™ és a ToxAlert® 100 teszt eredményei alapján további mintaelőkészítési opciókat tartunk szükségesnek. A fluoreszcens sejtszámlálás eredményei további vizsgálatok szükségességét jelzik: a toxinnal fertőzött kukoricamintában talált nagyobb élősejt % esetleg emelkedett stresszfehérje-szinttel magyarázható, ennek érdekében a jövőben HSP-specifikus ELISA tesztek bevezetését is tervezzük.

Bevezetés

Az emberi egészség megőrzésének érdekében fontos feladatunk törekedni arra, hogy az élelmiszerek és a takarmányok az ésszerűen elérhető legkisebb mennyiségben tartalmazzanak szennyezőanyagokat, köztük mikotoxinokat. Emiatt az élelmiszerbiztonság kérdése egyre nagyobb jelentőséggel bír (www1). A takarmányok már a szántóföldeken, de a raktározás ideje alatt is fertőződhetnek különböző penészgomba fajokkal, melyek életfolyamataik során mikotoxinokkal szennyezhetik a fogyasztásra szánt élelmiszert. A penészgombák kártétele nem csak az élelmiszerek tápanyagtartalmának és biológiailag aktív vegyületeinek csökkentésében jelentkezik, hanem sok olyan faj van, melyek anyagcsere-termékei az állatokra, vagy az emberre is komoly veszélyt jelentenek (Tornyos, 2007). Élelmiszerbiztonsági szempontból a minőségellenőrzés meglehetősen nagy jelentőségű és ennek fontos részterülete a mikotoxinok rendszeres és átfogó tanulmányozása,

toxikológiájuk megismerése, a védekezési módok fejlesztése és a kimutatási eljárások tökéletesítése (www2). A mikotoxinok analitikai vizsgálata mellett egyre inkább előtérbe kerülnek a biotesztek is, mert viszonylag gyorsak, egyszerűek, gazdaságosak és kiegészítik az analitikai tesztek eredményeit. Külön figyelmet kell fordítani az egymás mellett előforduló toxinokra, ezért érdemes multi-toxin vizsgálatokat is végezni.

A mikotoxikológiai vizsgálatok időszaka az aflatoxinok felfedezésével indult. Azóta számos gomba által termelt mikotoxint fedeztek fel, melyek közül sok olyan, amelyekről csak idővel bizonyosodott be, hogy mérgező. Az élelmiszerbiztonsági értékelések alapján a mikotoxinok rendszeres, átfogó vizsgálata indokolt és szükséges. A legfontosabb mikotoxin csoportok az aflatoxinok, a trichotecének, a fumonizinek, a zearalenonok, az ochratoxin A, és az ergot-alkaloidák, melyek közül a legnagyobb károkat az aflatoxinok okozzák (www2).

Célkitűzések

A munkám céljával a szakirodalomban (Krifaton és mtsai., 2009) már tiszta mikotoxinokra letesztelt biotesztek alkalmazhatóságának vizsgálatát tűztem ki, melyhez fermentáción átesett, aflatoxint tartalmazó kukorica-szuszpenzió mintákat használtam. Ehhez kíséreltem meg megfelelő mintaelőkészítési eljárást és protokollt kidolgozni. Jelen dolgozatban a Pannon Egyetem Műszaki Kémiai Kutató Intézetében zajló bioetanol előállítási kísérletekhez kapcsolódóan enzimes keményítőbontáson átesett tiszta kukoricahidrolizátum (továbbiakban Kontroll), valamint *Aspergillus flavus*szal fertőzött alapanyagból származó, aflatoxin tartalmú kukoricahidrolizátum (továbbiakban Toxinos) fermentációját követően az alkoholtartalmú fermentlevek mikotoxikológiai vizsgálatát végeztem biotesztekkel. A 62 órán át tartó rázatott lombikos fermentáció végeztével a Kontroll és a Toxinos szuszpenziókat a

Pannon Egyetem Környezettudományi Intézetében három különböző bioteszt-módszerrel vizsgáltam.

A ToxAlert® 100 teszt baktériumok biolumineszcenciájának mérésén alapul. A módszer a *Vibrio fischeri* baktériumfajt használja, melynek biolumineszcens tulajdonságait a közeg különböző toxikus vegyületei a toxicitás mértékével arányosan csökkentik. A baktériumok által keltett lumineszcens jel egy megfelelően kalibrált luminométerrel könnyedén mérhető. Az SOS-chromotest™ a genotoxicitás detektálására a sejtek egy természetes mechanizmusát, az úgynevezett „SOS javító rendszert” használja. A sejtekben sérülés hatására aktiválódik az SOS rendszer, ami megpróbálja kijavítani az elszenvedett károsodást. Az SOS-chromotest™ a teszthez egy génmódosított *E. coli* baktériumtörzset használ melyben az SOS operon β -galaktozidáz operonhoz van kapcsolva (ami eredetileg hiányzik ebből a baktériumtörzsből). Ha az SOS rendszer genotoxikus vegyületek hatására aktiválódik, akkor β -galaktozidáz enzim is termelődik, melyhez a megfelelő reagenst hozzáadva színreakció játszódik le, ami egyszerű kolorimetriás módszerrel detektálható. Az epifluoreszcens mikroszkópos vizsgálatok során az elpusztult élesztősejteket az Invitrogen™ által forgalmazott Live/Dead® Red fluoreszcens festék alkalmazásával szelektíven jelöltem. Ennek segítségével határoztam meg a Kontroll és a Toxinos minták esetén az élősejt arányt.

Anyag és módszer

Fermentáció, mintavételezés

A fermentáció egy olyan folyamat, melynek során mikroorganizmusokat tenyésztünk optimális körülmények között, ezáltal metabolitok előállítására használhatóak. Ezt a folyamatot javarészt baktériumok vagy élesztőgombák hajtják végre. A leggyakoribb az alkoholos

erjedés, a tejsavas erjedés és az ecetsavas erjedés.

A Pannon Egyetem, Műszaki Informatikai Kar, Műszaki Kémiai Kutató Intézetében (MÜKKI) zajló élelmiszerbiztonság fokozására irányuló projekt keretében a gabona alapanyagok mikotoxin szennyezettségének csökkentésével is foglalkoznak. A bioetanol előállítás során első lépésében enzimes keményítőt bontást végeztünk:

- 20%-os kiindulási szárazanyag-tartalmú, tiszta kukorica-szuszpenzióból (Kontroll), valamint
- 20%-os kiindulási szárazanyag-tartalmú, *Aspergillus flavus*szal mesterségesen fertőzött kukorica-alapanyagot tartalmazó, aflatoxinos kukorica-szuszpenzióból (Toxinos).

Ezt követi mindkét minta esetén egy 62 órás rázatott lombikos fermentáció, az alábbiak szerint:

100ml-es steril Erlenmeyer lombikokba, 50-50g sterilizált (15 perc, 125°C) kukoricahidrolizátumot, valamint 7g/kg kukorica-szuszpenzió szárított élesztő-koncentrációnak megfelelő élesztőtejet adagoltunk. (Az élesztőtej előállítása: 1g szárított élesztő (Ethanol Red®, FERMENTIS termék kód: 42138), 12ml steril desztillált vízben 30 percig rehidratálva, majd 5 percig keverve, keverés alatt a lombikokba 4,2 ml-t hozzáadva.).

A lombikokat steril gézdugóval és alufóliával zártuk le, majd 62 órán keresztül ráztuk 34°C-on, 200 rpm keverés mellett. A 62 óra letelte után a minták közt szemmel látható eltérés mutatkozott: a Toxinos minta (T1, T2, T3) sokkal sötétebb, zavarosabb színű, mint a Kontroll (K1, K2, K3).

A Kontroll minta toxinmentességét analitikai vizsgálatokkal igazolták, míg a Toxinos minták esetén a mérések szerint a kiindulási kukoricaörlemény aflatoxin B₁-koncentrációja 4725 µg/kg, a

szuszpenzióra vonatkoztatott toxin-koncentráció pedig 499 µg/kg volt.

A Kontroll és Toxinos kukorica-szuszpenziókból származó mintákat a továbbiakban a mikotoxikológiai vizsgálatokhoz használtunk fel.

ToxAlert® 100 teszt

A mérés megkezdéséhez először a hosszú tárolási idejű fagyasztva szárított baktériumokat kell reszuszpendálni. Az reszuszpendáláshoz és a baktériumokat tartalmazó törzsoldat készítéséhez is megfelelő (Merck) rekonstitúciós oldatot használunk. A *Vibrio fischeri* gram-negatív, pálcika alakú baktérium, mely világoszerte előfordul tengeri környezetekben. (www3) A NaCl tartalmú rekonstitúciós oldat a faj számára tengervízhez hasonló körülményeket biztosít. Az így elkészített baktériumszuszpenzióból 500µl-t pipettázunk minden használandó küvetába és 15 perc pre-inkubációs idő után megmérjük a lumineszcencia intenzitását (RLU – relative luminescence unit). Következő lépésként meghatározott keverési arányokban (1:2:4:8:16...) hígítási sort készítünk a mintákból (Kontroll és Toxinos minták), majd minden baktériumszuszpenziót tartalmazó küvetához hozzáadunk 500-500µl-t és 30 perc inkubációs idő (kontaktidő) után újra megmérjük a biolumineszcencia értékeit. (Kováts és mtsai., 2005) (www4) (Szalay, 2006) A mintákban mérhető biolumineszcens jel kisebb intenzitással jelentkezik a kiindulási állapothoz, és a vizsgálati kontrollhoz viszonyítva.

A vizsgálat célja, az úgynevezett EC₅₀ (effektív koncentráció) érték meghatározása, ami azt a mintatöménységet jelöli, ahol a baktériumok Lux-ban meghatározott kezdeti biolumineszcenciája (a 30 perces inkubációs idő után) a felére csökken. Azért nem használható a toxikológiai teszteknel megszokott LD₅₀ érték, mert a lumineszcencia csökkenését nem csak a tesztorganizmus elpusztulása okozhatja.

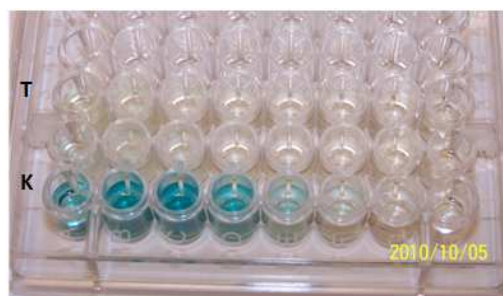
Bármely, a baktérium életfolyamatait zavaró körülmény hatására csökken az általa kibocsátott biolumineszcencia intenzitása. A mérést befolyásolják azok a szennyező anyagok is, melyek illékonyak, vagy kevésbé-, vagy egyáltalán nem oldódnak fel a mintaoldatban (www5). Mivel a toxinok a sejtekre és sejtstruktúrákra fejtik ki biológiai hatásaikat, ezért a teszteredményeiből a magasabb rendű élőlényekre nézve is lehet következtetéseket levonni, hiszen ezek minden élőlényben hasonlóak. Az eljárás megbízható és gyors, továbbá a vele járó költségek meg sem közelítik az analitikai módszerekkel történő mérések költségeit (Szeitzerné Szabó, 2007).

SOS-chromotest™

Az SOS-chromotest™ kit tartalma. (A) tenyésztő közeg a baktériumtörzsnek; (B) fagyasztva szárított baktériumtörzs; (C) 10% DMSO (dimetil-szulfoxid) diluens; (D) Standard genotoxikus oldat (10µg/mL 4-nitro-kinolin-oxid (4NQO) 10% DMSO-ban); (F) Kék kromogén oldat; (G) Diluens alkalin-foszfátáz szubsztráthoz; (H) Szárított alkalin-foszfátáz; (I) Stop oldat.

A zavaros fázisú mintákat Celltrics 100µm-lyukbőségű szűrővel átszűrtem a mérés előtt és a méréshez a szűrletet használtam. A mérést megelőzően a fagyasztva szárított baktériumokat meghatározott protokoll szerint rehidratáltam. Mivel a baktériumok különböző oldatokban máshogy viselkednek, ezért minden mintához ugyanazt a 10% DMSO oldatot szükséges használni. A mikrolemez 1. oszlopába a pozitív kontroll (4NQO) hígítási sora került, ami hatszor 10µL 10% DMSO-ban egymáshoz képest kétszeresen hígított mintából áll. Ezt követi a 2. oszlopban a Kontroll minta, valamint a 3. oszlopban a Toxinos minta hígítási sora a pozitív kontrollhoz hasonló eljárással. Minden lyukba 10µL kívánt töménységű mintát pipettáztam. Ezután 100µL előkészített és megfelelő optikai denzitásúra (10mL baktérium szuszpenzió OD600nm értéke

0,05) hígított baktériumszuszpenziót pipettáztam minden mintát tartalmazó lyukba, majd két órán át 37°C-on inkubáltam.



15. ábra: Alulról az első sor a pozitív kontroll (P), a második sor a Kontroll (K), a harmadik sor a Toxinos (T) minta hígítási sora

A két órás inkubációs idő alatt a genotoxikus komponensek kölcsönhatásba lépnek a baktériumok DNS-ével, ezzel indukálva a β -galaktozidáz enzim szintézisét. A mérés utolsó szakaszában a két órás inkubációs idő lejártával hozzáadtam 100µL kék kromogén oldatot minden használatban lévő lyukhoz, és 37°C-on 90 percig inkubáltam.

Az elvégzett hígítási tartományban a pozitív kontroll mintákban teljes mértékben megjelent a kék szín, ám a Toxinos minták esetében (az aflatoxin elméleti jelenléte mellett) és a Kontroll minták esetén sem jelzett genotoxicitást.

Fluoreszcens mikroszkópia – élősejt arány meghatározás

A mikroszkópos vizsgálatokat egy Nikon Eclipse E400 típusú epifluoreszcens mikroszkóppal végeztem a Pannon Egyetem Limnológia Intézeti Tanszékén, mely egy 100W-os Hg gőzlámpával és három szűrőrendszerrel van felszerelve. A szűrőrendszer jellemzői a következők:

1. UV gerjesztési szűrő blokk UV-1A (keskeny sávúUV gerjesztés):

Gerjesztési filter hullámhosszak: 360-370nm (bandpass, 365 CWL)

Dikroikus tükör levágási hullámhossz: 380nm (longpass, LP)

Barrier szűrő hullámhosszak: 420nm levágás (longpass, LP)

2. Kék gerjesztési szűrő blokk B-2A (közép sávú kék gerjesztés):

Gerjesztési filter hullámhosszak: 450-490nm (bandpass, 470 CWL)

Dikroikus tükör levágási hullámhossz: 500nm (longpass, LP)

Barrier szűrő hullámhosszak: 515nm levágás (longpass, LP)

3. Zöld gerjesztési szűrő blokk G-2A (széles sávú zöld gerjesztés):

Gerjesztési filter hullámhosszak: 510-560nm (bandpass, 535 CWL)

Dikroikus tükör levágási hullámhossz: 565nm (longpass, LP)

Barrier szűrő hullámhosszak: 590nm levágás (longpass, LP)

A fluoreszcens mikroszkópos élősejt arány meghatározása során a Live/Dead® Fixable Cell Stain Kit (Invitrogen™) alkalmazásával szelektíven jelöltem az elpusztult élesztősejteket. A festék működési mechanizmusát a fluoreszcens festék és a sejtfehérjék aminjai közti reakció képezi. A festék képes áthatolni az elpusztult sejtek sérült membránjain, így a membrán külső- és belső felületén lévő foszfatidil-etanol-amin csoportokkal is reagál, ami a belső membránban sokkal nagyobb mennyiségben van jelen. Ezzel szemben az élő sejtek esetében kizárólag csak a külső membránon lévő foszfatidil-etanol-aminok képesek reagálni a festékekkel. Ennek eredményeképpen egy homályos, nagyon kis intenzitású festés jön létre. A fluoreszcencia intenzitás különbsége az élő és elpusztult sejtek közt jellemzően ötvenszeresnél is nagyobb. Ez az intenzitáskülönbség tartósan megőrizhető, ha a mintát formaldehidben fixáljuk. Ez a vizsgálati módszer teljesen alkalmas elpusztult sejtek mikroszkópos detektálására.

A tömény kukoricahidrolizátum mintákat (Kontroll és Toxinos) Celltrics 100µm-es szűrőn (www6) átszűrtem, hogy a növényi maradványokat eltávolítsam. Az

így kapott tisztább fázist PBS-ben (foszfát pufferelt sóoldat) mostam, majd Bürker kamrában leszámoltam az élesztősejteket, így 60millió sejt/ml értéket kaptam, amit 1 millió sejt/ml-re hígítottam PBS-el. Ezt a sejtuszuspenziót az Invitrogen™ Molecular Probes® által meghatározott protokollt pontosan követve festettem meg.



2. ábra: Elpusztult élesztősejt fluoreszcens képe Live/Dead Red festékkel megfestve

Az 1 millió sejt/ml töménységű sejtuszuspenziót első lépésben centrifugáltam, majd 1 ml PBS-ben mostam, és felvortexeltem 1 ml PBS-ben. Ezt követte 1µl Live/Dead Red fluoreszcens festék hozzáadása az 1ml sejtuszuspenzióhoz, majd alapos vortexelés. 30 perc szobahőmérsékletű, fénytől védett inkubáció után mosás 1ml PBS-ben, és újrászuspendálás 900µl-ben. Ehhez adtam 100µl 35%-os formaldehidet a fixálás érdekében, majd 15 percig szobahőmérsékleten inkubáltam. Az inkubációs idő lejártá után újra 1ml PBS-ben kimostam.

Az így fixált mintákat (Toxinos és Kontroll) a fent említett Nikon Eclipse E400 típusú epifluoreszcens mikroszkóppal vizsgáltam.

Az élősejt arány meghatározásához a Toxinos és a Kontroll mintában is leszámoltam 200-200db élesztősejtet.

Eredmények és értékelés

ToxAlert® 100 teszt

Az EPA Probit analízis programmal számított LC/EC értékek a következők: a Kontroll minta esetén az LC/EC₅₀ értéke 10,849 (6,732 alsó és 14,452 felső

határral), míg a Toxinosa minta esetén az LC/EC₅₀ értéke 3,482 (0,590 alsó és 7,082 felső határral).

A ToxAlert teszt elvégzésekor kapott IC₅₀ értékek között jelentős eltérés mutatkozott a Toxinosa és a Kontroll csoport között (6,96 mg/ml vs. 21,7 mg/ml). Fontos azonban kiemelni, hogy a tiszta Kontroll minta esetén is jelentős gátlás lépett fel. A Kontroll minta toxinmentes, fermentáción átesett kukoricahidrolizátum.

A Kontroll mintában tapasztalt biolumineszcencia-gátlásra, magyarázatként szolgálhat, hogy a kukoricahidrolizátum olyan oldott vegyületeket tartalmaz, melyek allelopatikus hatással vannak a baktériumokra nézve. Ez azt jelenti, hogy a kukoricaszemekben olyan növényi anyagok termelődnek, melyek zavaró hatással vannak a teszt-szervezet életfolyamataira. A kukoricaszemekben számos allelopatikus hatású vegyületet mutattak ki növényekre nézve (Kato-Noguchi és mtsai., 2000), több penészgombák elleni védelmi mechanizmust felfedeztek (Chen és mtsai., 2004) és több mikrobiális folyamatot gátló vegyületet is kimutattak (Duvick és mtsai., 1992). A legtöbb növényi lektin a növény önvédelmi rendszerének része. Ez a magasabb rendű szervezetekkel szemben nyilvánvalóan bizonyított, de ritkább esetekben vírusokkal és mikroorganizmusokkal szemben is gátló hatásúak lehetnek (Peumans és Van Damme, 1995).

A ToxAlert® 100 teszt legfőbb hátránya, hogy a legtöbb mintában jelen lévő valamilyen szín, vagy feloldatlan szemcsék Tyndall szórása gyengíti a baktériumok által kibocsátott lumineszcens fényt. Mivel a minták eredendően zavaros szuszpenziók voltak és a Toxinosa minta jóval sötétebb színű, elképzelhető, hogy a módszer hibájából fakad az eltérés a kapott értékek között. Ennek kiküszöbölésére a továbbiakban szeretnénk a BioTox™ Flash

tesztet alkalmazni. A BioTox™ Flash teszt egy tökéletesített *Vibrio fischeri* teszt, amit víz- és talajminták gyors vizsgálatára fejlesztettek ki. A módszert egy eredendően szilárd minták mérésére alkalmas módszerből fejlesztették tovább. A teszt előnye az, hogy a mérés pontosságát nem zavarja a minta színe és turbiditása. Az eljárás kinetikus módban egy automata luminométerrel (a méréshez rendelkezésünkre áll egy Luminoskan® Ascent microplate luminometer) (www7) alkalmas arra, hogy a mintát elkészítse és rögtön mérje. A Flash módszerben az előkészítés során a mintába kerülnek a *Vibrio fischeri* baktériumok. Az így előkészített minták luminozitását folyamatosan, 30 másodpercen keresztül méri a készülék. A maximum jel rögtön a beadagolás után jelentkezik, és ezt hasonlítjuk a 30 másodperces inkubációs idő elteltével mért értékhez. A legtöbb kemikália és toxin mérgező hatása néhány másodperces inkubációs idő után azonnal érzékelhető a luminozitás csökkenéseként. Természetesen vannak olyan vegyületek is, melyek hatása csak hosszabb inkubáció után jelentkezik. A módszer meglehetősen gyors, a mérés mindössze 15-30 percet vesz igénybe (www8).

SOS-chromotest™

Az előzetes SOS-chromotest™ vizsgálat során a minták előkészítésekor nem használtam olyan oldószereket, melyek a toxint a durva kukoricaszemcsés fázisból az oldatba vitték volna. Az aflatoxinok metanolban, acetonban, kloroformban jól, ám vízben alig oldódnak. (www9) Ezzel kívántuk a potenciálisan toxinnal fertőzött kukorica élelmiszerláncban való transzportját imitálni. Mivel a mintában lévő toxin a kukoricaszemek belsejében termelődik, a durva fázisú kukoricadarabokba kötődve van jelen (Chen és mtsai., 2004; Iwahashi és mtsai., 2004). Az, hogy a teszt nem jelzett genotoxicitást a Toxinosa minta esetén, valószínűleg annak a következménye, hogy ebből a durva fázisból a vizes oldatba nem

került át, mert a minták előkészítésekor a szűrés során (Celltrics 100 μ m) (www6) a nagyobb szemcséket eltávolítottuk a mintából, így ez nem kerülhetett közvetlen kapcsolatba a baktériumokkal. A későbbiekben a kukoricaszuszpenzió minták megfelelő aprításával és homogenizálásával, valamint olyan oldószerek alkalmazásával, melyek jól oldják az aflatoxinokat készítettünk egy teljes toxicitás vizsgálatot. Konklúzióként levonható, hogy valószínűleg a nem megfelelő mintaelőkészítés következménye az, hogy a teszt a Toxinos mintában sem mutatott genotoxicitást.

Fluoreszcens mikroszkópia – élősejt arány meghatározás

Az élősejt arány meghatározásához a Toxinos és a Kontroll mintában is leszámoltam 200-200 db élesztősejtet. Meglepő módon a Toxikus mintában sokkal nagyobb élősejt arány volt (37%), mint a Kontroll mintában (8%). Elvégeztem a khi-négyzet-próbát a Statistica (www10) programot használva. A khi-négyzet-próbát alapul véve kijelenthető, hogy a két minta között az élősejt arány jelentősen eltérő ($p < 0,001$). A várttal ellentétben a Toxinos mintában tapasztaltam a nagyobb élősejt arányt, és nem a toxinmentes Kontroll mintában. A kapott eredményekre lehetséges magyarázatként a toxin okozta stressz miatt a sejtekben megnőhetett a HSP stresszfehérjék szintje, ezáltal azok a sejtek, amelyek nem pusztultak el közvetlenül a toxin hatására, a megemelkedett HSP fehérjeszintnek köszönhetően toleránsabbá váltak a különböző stresszhatásokkal szemben (Villmer és mtsai., 2004).

A toxinos minta esetén az etil-alkohol kihozatal 6,08 V/V%, ami megközelítőleg 2,5%-al kevesebb, mint a Kontroll mintából nyert 8,59V/V%. Ez az eltérés elegendő lehetett ahhoz, hogy a Kontroll mintában az élesztősejtek nagyobb mértékű pusztulását okozza. Ezzel szemben a Toxinos mintában, a már

említett HSP fehérjék szintje a toxin hatására megemelkedett, ezáltal a Kontrollhoz képest kisebb mértékű alkoholos közeg okozta stresszt jobban tolerálták az élesztősejtek.

A továbbiakban tervezzük HSP specifikus ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) tesztek alkalmazását az elgondolás helyességének igazolására (vagy cáfolására).

Az élősejt arány ismételt vizsgálatai elengedhetetlenek. Ehhez tervezzük további fluoreszcens festékek kipróbálását is, melyekkel az élő sejteket is szelektíven festenénk az elpusztult sejtek mellett. Korábbiakban végeztünk erre irányuló kísérleteket és a Hoechst (Invitrogen™) festék ígéretesnek mutatkozott. A kék színnel fluoreszkáló Hoechst festék a sejtek nukleinsav állományához kötődik.

Összefoglalás

A dolgozatban arra a kérdésre kerestem a választ, hogy miként lehet három különböző biotesztet effektíven alkalmazni természetes, fermentáción átesett kukoricahidrolizátum mintákon a mikotoxicitás kimutatására. A kutatás kapcsán még sok a teendő, de az eddigi eredményeimet összegezve, az alábbi következtetések vonhatóak le:

Az előzetes ToxAlert® 100 teszt eredményeit alapul véve, megkérdőjelezhető a teszt alkalmazhatósága a dolgozat alapját képező kukoricahidrolizátum minták esetén, hiszen a minták színe és a szuszpenzió turbiditása miatt egy részről korrigálásra szorul a teszt által szolgáltatott információ, másik részről pedig a kukoricaszemekből felszabaduló vegyületek *Vibrio fischeri*-re gyakorolt allelopatikus hatása nem tisztázott mértékben befolyásolja a mérést. A további vizsgálataink során a ToxAlert® 100 teszt mellett a BioTox™ Flash tesztet is alkalmazni kívánjuk. A BioTox™ Flash teszt által szolgáltatott adatokat a ToxAlert® 100 eredményeivel

összehasonlítva információt nyerhetünk a ToxAlert® tesztet befolyásoló szín és turbiditás zavarás mértékét illetően, sőt az allelopatias hatás mértékéről is.

Az SOS-chromotest™ negatív eredményei a mintaelőkészítés módszereinek tökéletesítését igénylik. A kukoricahidrolizátum szemcséinek finomabb frakciójává tétele elengedhetetlen fontosságú ahhoz, hogy egy részről az oldószerként használt vízbe bekerülhessen az aflatoxin, továbbá szükséges olyan oldószerek kipróbálása is, mely könnyen kioldja a szemcsékben található toxint.

A fluoreszcens mikroszkópos élősejt számlálásos vizsgálatok esetén nem várt eredmény született, hiszen a Toxinos mintában jóval nagyobb volt az élő élesztősejtek aránya, mint a tiszta Kontroll mintában. Ezt, a várthoz képest fordított arányt, elképzeléseink szerint okozhatja a fermentáció során a Kontroll mintában keletkezett nagyobb etil-alkohol mennyiség, valamint közre játszhat a Toxinos mintában az élesztősejtekben nagyobb mértékben termelődő stresszfehérjék mennyisége. A stresszfehérjék detektálására specifikus ELISA tesztekét kívánunk alkalmazni. A sejtszámlálást szükséges több fermentációból származó mintákból több alkalommal megismételni, ahhoz, hogy általános következtetéseket vonhassunk le. A számlálás pontosabbá tételéhez fontos az elpusztult sejtek mellett az élő sejtek megfestése is, hogy a mikroszkóp alatt könnyebben elkülöníthetők legyenek.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Nagy Szabolcs és Dr. Lepossa Anita témavezetőimnek, valamint Dr. Ács Andrásnak és Kovács Anikónak a ToxAlert® mérések során nyújtott segítségért. Munkámat az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

- Chen Z-Y., Brown R. L., Cleveland T. E. (2004): Evidence for an association in corn between stress tolerance and resistance to *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination. *African Journal of Biotechnology* 3: 693-699.
- Duvick J. P., Rood T., Rao A. G., Marshak D. R. (1992): Purification and characterization of a novel antimicrobial peptide from maize (*Zea mays* L.) kernels. *The Journal of Biological Chemistry* 267: 18814-18820.
- Iwahashi H., Odani M., Ishidou E., Kitagawa E. (2004): Progress in Elucidating the Molecular Basis of the Host Plant: *Aspergillus flavus* Interaction, a Basis for Devising Strategies to Reduce Aflatoxin Contamination in Crops. *Journal of Toxicology, Toxin Reviews* 23: 345-380.
- Kato-Noguchi H., Sakata Y., Takenokuchi K., Kosemura S., Yamamura S. (2000): Allelopathy in Maize I. Isolation and identification of allelochemicals in maize seedlings. *Plant Production Science* 3: 43-46.
- Kováts N., Kovács J., Paulovits G., Hiripi L. (2005): ToxAlert® 100 teszt alkalmazása felszíni vizek szennyezésének kimutatására. *Hidrológiai tájékoztató* 10-13.
- Krifaton Cs., Kukolya J., Cserháti M., Szoboszlai S., Kriszt B. (2009): Adaptation of bacterial biotests for mycotoxin monitoring. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 56: 189-190
- Peumans W. J., Van Damme E. J. M. (1995): Lectins as Plant Defense Proteins. *Plant Physiology* 109: 347-352.
- Szalay T. (2006): Vegyipari elfolyóvizek ökotoxikológiai vizsgálata. Doktori (PhD) disszertáció. Pannon Egyetem, Kémiai és Környezettudományi Doktori Iskola.
- Szeitzerné Szabó M. (2007): A táplálékláncba került mikotoxinok populációs szintű egészségkockázatának elemzése, különös tekintettel a hazai forgalmazású paprika aflatoxin és ochratoxin tartalmára. Doktori (PhD) disszertáció. Kaposvári Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola.
- Tornyos G. (2007): A fumonizin B1 okozta elváltozások vizsgálata a dózis és az expozíciós idő függvényében sertésben. Doktori (PhD) disszertáció. Kaposvári Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
- Villmer P., Stone G., Johnston I. (2000) *Environmental physiology of animals.*

Blackwell Science Ltd., UK, Beccles, Suffolk 200-201.

Netes források

www1: A mikotoxinok élelmiszerbiztonsági vonatkozásai

http://www.mebih.gov.hu/attachments/622_SzT_M.pdf (2010-10-24)

www2: A mikotoxinokról általában

<http://www.soltub.hu/down/mt/mikotoxinok.pdf> (2010-10-18)

www3: Vibrio fischeri baktérium

http://en.wikipedia.org/wiki/Vibrio_fischeri (2010-10-24)

www4: Vibrio fischeri biolumineszcencia-gátlási teszt

http://hu.wikipedia.org/wiki/Vibrio_fischeri_biolumineszcencia-g%C3%A1tl%C3%A1si_teszt (2010-10-24)

www5: A Gödöllő-Isaszegi Tórendszer analitikai és toxikológiai vizsgálati eredményeinek

értékelése <http://www.hkve.org/node/309> (2010-10-24)

www6: PartecCellTrics®

http://www.partec.com/cms/front_content.php?idcat=139 (2010-10-24)

www7: Luminoskan® Ascent microplate luminometer

<http://www.thermo-reading-room.com/reference/luminometry/luminoskan-ascent.htm> (2010-10-24)

www8: The BioTox™ Flash Test

http://aboatox.com/environmental_analysis.html#toxic (2010-10-24)

www9: Amit az aflatoxinról érdemes tudni - Tájékoztató az aflatoxinokról (EÜM)

<http://www.eum.hu/archivum/jo-tudni/amit-aflatoxinrol> (2010-10-18)

www10: Statistica - data analysis software system, ver.8.0 www.statsoft.com

Az urbanizáció és a predációs kockázatvállalás kapcsolata házi verebeknél (*Passer domesticus*)

Kanizsai Barbara

Témavezetők: Dr. Bókony Veronika, Dr. Liker András

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: A növekvő városiasodás egészen más élőhelyeket alakít ki a természetes környezethez képest, mely a vadállatokat a megszokottól eltérő kihívások elé állítja. A házi veréb populációk az utóbbi néhány évtizedben jelentős csökkenésnek indultak, leginkább a nyugat-európai nagyvárosokban, egyelőre ismeretlen okból. Egy lehetséges magyarázat a városi predáció erősödése, ugyanis a házi veréb fő ragadozóinak (karvaly, házi macska) állománya egyre növekszik. Egy korábbi vizsgálat azt találta, hogy a városi verebek erősebb viselkedéses választ adnak a predációs veszélyre, mint a vidéki fajtársaik, ami arra utal, hogy a városi egyedek nagyobb predációs nyomás alatt élnek. Annak kiértékelésére, hogy vajon a különböző élőhelyekről származó madarak eltérő kockázatvállalása genetikai elkülönülés eredménye-e, városi és vidéki élőhelyekről befogott madarak utódainak viselkedését hasonlítottam össze többféle predációs tesztben. Ezek során azt mértem, hogy a madarak milyen hamar közelítik meg az etetőt illetve kezdenek el enni egy szimulált ragadozótámadás után. Az elemzések során a potenciális zavaró változókat figyelembe véve azt találtam, hogy a városi madarak utódai szignifikánsan később közelítették meg az etetőt a predációs kockázat hatására, mint a vidéki társaik utódai. Ez az eredmény arra utal, hogy az urbanizáció úgy szelektál, hogy a városi populációk egyedei kisebb kockázatot vállalnak, ami a magasabb predációs nyomáshoz való alkalmazkodás lehet. A kockázatvállalásra magas, marginálisan szignifikáns heritabilitás-bebecslést kaptam, ezért egy alternatív

magyarázat lehet az, hogy a kockázatvállalási viselkedés az urbanizációtól független, öröklődő személyiségjegy. A kérdés tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

Bevezetés

A növekvő civilizáció, a városok egyre több és több teret nyernek és a beépített területek még az emberi populációnál is gyorsabban növekednek (Marzluff és mtsai., 2001; 2008). Bár az elvárosiasított területek hozzávetőlegesen még csak 1-6 %-át fedik be a Föld felszínének, azonban rendkívül nagy és komplex hatást gyakorolnak az ökoszisztémákra.

A Föld népessége több mint tízszeresére nőtt az elmúlt század folyamán, 224 millióról 2,9 milliárdra 1900-tól 1999-ig. Az ENSZ szerint 2000-től 2030-ig számított népességnövekedés (hozzávetőleg 2 milliárd ember) a városi térségekben fog összpontosulni. 2030-ra a becsült világnépesség (8,1 milliárd ember) több mint 60%-a (4,9 milliárd) városokban fog élni (Marzluff és mtsai., 2008). A városi lakosság összességében több mint háromszorosára nőtt 1950-től 2007-ig, a folyamat egyre gyorsuló ütemben zajlott illetve zajlik most is (United Nations, 2008). A világ lakosságának 1950-ben még csupán 29,1%-a volt városlakó (a fejlett országokban 52,5%, a kevésbé fejlett országokban 18%); 2007-ben ez az arány már 49,4% volt, és jóval nagyobb mértékben nőtt a kevésbé fejlett országokban (43,8%), mint a fejlett országokban (74,4%) (United Nations, 2008).

Napjainkban tehát rohamosan zajlik az urbanizáció folyamata. Maga a szó a latin *urbs* (város) szóból ered és egy olyan folyamatot jelez, amely a városok létrejöttét eredményezi. Két elemét különböztethetjük meg az urbanizációnak, melyek jól elhatárolhatók időrendben is, a városodás és a városiasodás (Fórián, 2007). A városodás során egy adott településen rövid idő alatt gyorsan nő a lélekszám, például mert az emberek a falvakból nagyobb településekre költöznek. Ezt követi a városiasodás, ami a települések kvalitatív jellegű megváltozását, átalakulását jelenti. Ahogy a városi lélekszám növekszik, úgy nő a városok által elfoglalt területek mérete is, de ez a két folyamat nem is feltétlenül egyenesen arányos, mert pl. fejlett országokban a városok mérete gyorsabban nő, mint a lakosságé (Marzluff és mtsai., 2001). Ezeken a területeken egyre több lakóház épül, illetve egy sor egyéb épület is megjelenik, ami a városi populáció fenntartásához szükséges (pl. üzletek, parkolók). Mindez együtt jár a zöld területek csökkenésével is, megváltozik a napi ritmus, a városok képe.

A terjeszkedő városok jelentősen megváltoztatják a természetes élőhelyeket, a vadvilág számára új, speciális környezetet jelentenek (Marzluff és mtsai., 2001; 2008). Ahogy egyre több terület kerül beépítésre, úgy szorulnak vissza egyre inkább a zöld területek, olyan fajok tűnnek fel, melyeknek nem ez az eredeti élőhelye, rengeteg hulladék termelődik, egyre nő a szennyezettség is. Ezeket a megváltozott körülményeket sok állatfaj nem képes tolerálni, ez azzal jár együtt, hogy ezek a fajok kiszorulnak a városokból. Ugyanakkor a jól alkalmazkodó fajok jelentősen elszaporodhatnak a városokban. A háttérben meghúzódó okokról egyelőre keveset tudunk. Mivel a városok egyre több természetes élőhelyet foglalnak el, fontos kideríteni, milyen feltételek szükségesek a városi élethez való alkalmazkodáshoz, hogy ebbe az újfajta

életterbe került fajokat megőrizhessük. Ennek érdekében meg kell ismernünk, hogyan változnak az urbanizációval a populációkat szabályozó ökológiai tényezők, mint például a predációs nyomás (Shochat és mtsai., 2006).

A városiasodásnak egyértelmű ökológiai hatásai vannak, általában csökkentik a fajdiverzitást, és a természetes élőhelyekhez képest kevés, de nagy egyedszámban előforduló fajokat találhatunk a városokban (Marzluff és mtsai., 2001). Azonban sokkal kevesebbet tudunk a városiasodás okozta változásokról a populációk és az egyedek szintjén.

Egy legutóbbi elmélet, a „hitelkártya hipotézis” (Shochat, 2004) szerint a rosszabb kondícióban lévő egyedek túlélése jobb a városi, mint a vidéki élőhelyeken, ezért a városi populációk nagyobb arányban tartalmazhatnak gyengébb egyedeket. Érdekes módon az ilyen gyengébb egyedek által uralt populációk stabilak tudnak lenni, ezt matematikai modellezés is megerősítette (Anderies és mtsai., 2007). Ehhez két feltétel teljesülése szükséges: a hipotézis szerint a városokban kiszámíthatóbb a táplálékellátottság és kisebb a predáció általi mortalitás, mint a természetes élőhelyeken. Ez a két feltétel nagy populációméretekhez és erős kompetícióhoz vezet, ezáltal az egyedek átlagos táplálkozási sikere csökken. Összességében tehát a modell azt jósolja, hogy a városokban élő populációk nagyrészt gyengébb képességű egyedekből állnak, vagyis a populáció összetétele a rosszabb minőségű egyedek felé tolódik a természetes populációkhoz képest (Shochat, 2004).

A felnőtt egyedekre nehezedő predációs nyomás az egyik legfontosabb szabályozó tényező lehet a városi populációk dinamikájában, azonban kevés és ellentmondásos bizonyíték van arra, hogy a városokban valóban alacsony a predáció. A városokban igen magas lehet a háziasított ragadozók száma (pl. kutyák, macskák), ez

az egyik fő okozója lehet néhány madárfaj mortalitásának; sőt a ragadozók jelenlétének erősen káros hatása lehet a préda populációkra közvetett módon is, például a ragadozók előli rejtőzködés miatt csökkenhet a táplálkozásra fordítható idő, illetve a predációs veszély okozta stressz ronthatja a szaporodási sikert (Beckerman és mtsai., 2007). A városokban a természetes ragadozóknak nem minden faja található meg, de például a karvaly illetve héja populációk jól alkalmazkodtak az urbanizált körülményekhez, állományuk nő számos városban (Rutz, 2008). Egy terepi tanulmányban megállapították, hogy városi területeken a madarak táplálkozaskor egyforma mértékben használták a biztonságosabb és kevésbé biztonságos helyeket, míg sivatagos élőhelyeken előnyben részesítették a biztonságos etetőket, ami arra utal, hogy a sivatagban nagyobb predációs nyomásnak vannak kitéve, mint a városokban (Shochat és mtsai., 2004). Ugyanakkor más élőhelytípusokról nem állnak rendelkezésre hasonló adatok. Összefoglalva az a valószínű, hogy az urbanizáció hatása a predációs veszélyre jelentősen változhat a prédafajok között (pl. attól függően, milyenek az elsődleges ragadozóik), illetve eltérhet a különböző típusú városi élőhelyek között is (Sorace és Gustin, 2008).

A házi veréb (*Passer domesticus*) változatos élőhelyeket foglal el az urbanizációs gradiens mentén, és elsődleges prédaállata számos ragadozófajnak, köztük az elvadult macskáknak és városi ragadozó madaraknak, pl. karvalynak (Anderson, 2006), ezért remek modellfaj az urbanizáció és a predációs kockázat kapcsolatának vizsgálatához. Az ezzel foglalkozó kutatások azért is nagyon aktuálisak, mivel az utóbbi 1-2 évtizedben a házi veréb állományai jelentős fogyatkozásnak indultak szerte a világon, és ez a csökkenés különösen a városi populációkat érinti. Angliában például 1970 és 2000 között a városi populációk

csökkenése nagyobb mértékű volt, mint a vidéki populációké (Robinson és mtsai., 2005). egyes nagyvárosokból szinte teljesen eltűntek már a verebek.

A házi verebek fogyatkozásának oka egyelőre kevésbé ismert, de több lehetséges magyarázat is napvilágot látott már ezzel kapcsolatban. Az egyik feltételezés szerint a városok oly módon alakulnak át szocio-ökonómiai szempontból (pl. tisztább utcák, felújított épületek), amely miatt a madarak nem találnak fészkelésre alkalmas helyeket illetve elegendő élelmet a fiókáik számára (Shaw és mtsai., 2008). Ugyanakkor a városi ragadozók populációinak (karvaly, házi macska) növekedése is hozzájárulhatott a folyamathoz.

Jelen munkát megelőzően a Pannon Egyetem Ornitológiai Csoportja több vizsgálatot is végzett a házi verebekkel kapcsolatban. Egy előző tanulmányukban azt vizsgálták, hogy vajon hatással van-e az élőhelyek urbanizáltsága a felnőtt verebek testméretére illetve kondíciójára. Azonos módon fogták be a madarakat városi, szuburbán és vidéki élőhelyekről, melyek urbanizáltságának mértékét a növényzet, az épületek és az utak sűrűsége alapján számszerűsítették. Az eredmények azt mutatták, hogy szoros kapcsolat áll fenn a madarak tulajdonságai (tömeg, testméret, kondíció) és a között, hogy mennyire volt urbanizált az adott élőhely: a városi verebek kisebb méretűek és jóval soványabbak (testméretükhöz képest alacsonyabb testtömegűek) voltak, mint vidéki fajtársaik (Liker és mtsai., 2008).

Egy ezt követő tanulmányban annak vizsgálatára került sor, hogy a városi madarak soványsága mennyire van kapcsolatban az egyedi minőséggel és kompetitív képességgel. Városi és vidéki madarakat tartottak közös csapatokban, megfigyelve azt, hogy a táplálékért folyó harc különböző eseteiben milyen sikeresek. A kompetitív képességet különböző változókon keresztül vizsgálták, mint az agresszív és nemagresszív versengés, illetve a táplálék felderítése. Az

eredmények azt mutatták, hogy az eltérő urbanizáltságú helyekről származó madarak hasonlóan sikeresnek bizonyultak a táplálékért folytatott versengésben, annak ellenére is, hogy a városi egyedek fogságban is alacsonyabb testtömegűek maradtak, mint a vidékiek (Bókonyi és mtsai., 2009). Ez az eredmény felveti azt a lehetőséget, hogy a városi verebek soványsága nem a gyengébb minőség vagy rosszabb kondíció jele, hanem esetleg egy előnyös tulajdonság. A könnyebb súly ugyanis előnyös a ragadozók elől való menekülésben, és az énekesmadarak gyakran csökkentik a testtömegüket a nagyobb ragadozóveszélynek kitett élőhelyeken, így például a házi verebek alacsonyabb tömeget tartanak fent karvalylakta élőhelyeken, mint olyan területeken, ahol nem élnek karvalyok (MacLeod és mtsai., 2006).

Dolgozatom közvetlen előkísérletében került sor annak vizsgálatára, hogy a verebek miként alkalmazkodtak az általuk tapasztalt ragadozóveszélyhez a különböző élőhelyeken. Városi és vidéki élőhelyekről fogtak be házi verebeket, melyeket azonos körülmények között tartottak, s közben megfigyelték kockázatvállalási viselkedésüket. Feltevésük az volt, hogy a madarak válasza a ragadozóveszélyre tükrözi azt a predációs nyomást, amihez élőhelyükön alkalmazkodtak. Ezt a feltételezést megerősítette egy átfogó meta-elemzés, ami kimutatta, hogy a predátorokkal kapcsolatos tapasztalatok felerősítik a veszélyérzetet: az állatok általában óvatosabbak, ha gyakrabban ki vannak téve potenciális predátoroknak (Stankowich és Blumstein, 2005). Az eredmények azt mutatták, hogy a városi házi verebek érzékenyebbek a predációs kockázatra, mint vidéki fajtársaik: egy karvaly makett rövid jelenléte után később közelítették meg az etetőjüket és később kezdtek enni (Kulcsár és mtsai., 2009). Ezek az eredmények ellentmondanak a „hitelkártya hipotézis” feltételezésének (Shochat, 2004; Anderies és mtsai., 2007) és a kevés létező tapasztalati adatnak

(Shochat és mtsai., 2004), amelyek szerint alacsonyabb a predációs kockázat a madarak számára a jobban urbanizálódott területeken. A vizsgált élőhelyekről nincs adatunk a ragadozók (karvaly, házimacska) egyedszámára vonatkozóan, de a városi verebek kockázatkerülőbb viselkedéséből arra lehet következtetni, hogy a városi populációkban nagyobb a predációs nyomás (legalábbis a házi veréb és a karvaly viszonyában).

Dolgozatom célja annak vizsgálata volt, hogy a városi verebek kockázatkerülőbb viselkedése genetikai adaptáció eredménye-e. A várakozásom az volt, hogy ha a városi és a vidéki populációk viselkedése már genetikailag is elkülönült, akkor azonos körülmények között nevelkedett madarak közül is a városi szülők utódai lesznek a kockázatkerülőbbek. Ennek kiderítésére az elővizsgálatban tesztelt városi és vidéki verebeket közös helyen, fogságban szaporítottuk két évig, és vizsgáltuk a felnevelt utódaik predációs veszélyre adott viselkedési válaszait.

Anyag és Módszer

A szülőmadarak 2007 októberében lettek befogva függönyhálóval 2 városi (Budapest, Veszprém) és 2 vidéki (Üllő-Dóramajor, Nemesvámos) helyről. A befogott 60 házi veréb mindegyike egy számozott alumínium és 3 színes műanyag gyűrűt kapott egyedi azonosítás céljából. A madarakat Veszprémbe szállították és négy kültéri röpdében helyezték el az állatkert területén. Mindegyik röpde kb. 3×4 m alapterületű és 3 m magas volt, és tartalmazott ülfákat és kis dobozokat búvóhelynek. A madarak korlátlan mennyiségben kaptak vizet és táplálékot (köles, búza és napraforgómagokat), és rendszeresen kaptak multivitamin cseppeket az ivóvízben. A befogások és a tartás a hatályos magyar törvényeknek megfelelően történt, és a Balaton-felvidéki Nemzeti Park engedélyezte (engedély száma: 9135-2/2004).

A szülőmadarak viselkedésteztjeire 2007-2008 telén került sor (lásd a fent leírt elővizsgálat). Ezek közül a madarak közül 2008 márciusában 40 véletlenszerűen választott egyedet megtartottunk, a többit a befogás helyén szabadon engedték. A megtartott madarakat úgy osztottuk el, hogy minden röpdébe 5 hím és 5 tojó került, és 2 röpdé csak városi, 2 röpdé pedig csak vidéki egyedeket tartalmazott. A 2008-as és a 2009-es szaporodási időszakban (márciustól augusztusig) bőségesen biztosítottuk a madarak számára a szaporodáshoz szükséges feltételeket: fészekodúkat, fészekanyagot (széna, tyúktoll), és a fiókák etetéséhez való táplálékot (liszt kukac, légylárva). Hetente legalább kétszer végeztünk megfigyeléseket és fészekellenőrzést, hogy megállapítsuk a madarak fészkelési státuszát (van-e fészke, párja, tojása illetve fiókája) és nyomon kövessük a költségeket. A fiókákat 9-11 napos korukban a szüleikhez hasonló módon egyedi gyűrűkóddal láttuk el. Szeptemberben, amikor a fiatalok már függetlenné váltak szüleiktől, befogtuk őket és a másik, ugyanolyan élőhelyről származó madarakat tartalmazó röpdébe helyeztük át, hogy a 2008-ban kelt madarak részt vehessenek a szaporodásban 2009-ben.

A röpdékben a fiókák jó kondícióban fejlődtek a fészkekben: nagyobb tömeget értek el és jobb volt a túlélésük (gyűrűzési súly: $24,52 \pm 0,30$ g, túlélési esély: $0,94 \pm 0,03$), mint az ugyanabban az időben a röpdék közelében szabadon fészkelő természetes populáció fiókái (súly: $20,61 \pm 0,37$ g, túlélés $0,66 \pm 0,05$; kétmintás t-próbával mindkét összehasonlításra $p < 0,001$). A kirepülés utáni időszakban azonban a természetes populációkra jellemző 42-92%-os mortalitáshoz hasonlóan (Anderson, 2006) a röpdékben jelentős volt a fiókapusztulás: az első évben 26 meggyűrűzött fiókából 13, a második évben 112 meggyűrűzött fiókából 10 érte meg a szeptembert. A második év különösen magas mortalitásának fertőző betegségek voltak

az okai, amelyeket többszöri antibiotikumos és bélélősködők elleni kezelésekkkel sem tudtunk leküzdeni. A felnőtt madarak túlélése a vizsgálat során végig magas volt, szemben a szabadon élő verebek évi 40-50%-os mortalitási rátájával (Anderson, 2006), a szaporodásra megtartott 40 madárból 7 pusztult el a két év alatt a röpdékben.

A röpdékben felnevelkedett fiatal madarak viselkedésteztjeire 2008 és 2009 őszi-téli időszakában került sor egyhetes teszt sorozatokban. Minden teszt sorozat kezdetén (péntek délutánonként) az állatkertben lévő röpdékből kerültek befogásra a tesztmadarak (hetente 3-4 egyed) függönyhálóval, majd rugós mérleggel lemértük a madarak testtömegét, és külön épületben levő kalitkába szállítottuk őket. Minden kalitka tartalmazott egy etetőtálkát, egy itatót, egy búvóhelyet (faodú) és ülőrudakat. Az etetőtálkákat az elülső részbe helyeztük, megkönnyítve ezzel a táplálkozó madarak megfigyelését. A 2008-as tesztekben a kalitkák párosával helyezkedtek el, két egymás alatt lévő polcon, a 2009-es tesztekben a négy kalitka egymás mellett volt. A kalitkák műanyag lapokkal vizuálisan el voltak választva egymástól, azonban akusztikailag nem (a madarak hallhatták egymást).

A madarak a ketrecekben véletlenszerűen voltak elhelyezve, egyesével. A verebeket két napra magukra hagytuk elegendő élelemmel (köles) és vízzel ellátva őket, majd ezt követő 5 napban viselkedési teszt sorozatban vettek részt (az első három nap tesztjét nem ismertetem, mivel azok nem az én vizsgálatomhoz tartoztak). Minden tesztre az éjszakai éhezést követően reggel került sor, amikor a teli etetőket a kalitkába helyeztük, majd 60 percen keresztül megfigyeltük és videóra rögzítettük a madarak viselkedését. A megfigyelést egy ajtón keresztül végeztük, melynek ablaka visszatükröződő anyaggal volt leragasztva, így a madarak nem láthatták a megfigyelőt.

A kockázatvállalási tesztek kontrolljára a 4. tesztenapon (csütörtök), a ragadozótesztre pedig az 5. tesztenapon (péntek) került sor.

A 2008 őszén végzett kockázatvállalási tesztek során a madarak egy ülő helyzetben lévő makett madarat láthattak, amely 5 percig volt a kalitkák elé helyezve a teszt kezdetén. A kontroll tesztben a makett egy kitömött balkáni gerle volt, a ragadozótesztben pedig egy karvaly. Ez a protokoll megegyezett a szülőmadarakon végzett tesztekével. Mivel a fiatal madarak látszólag kevésbé reagáltak az ülő karvalyra (lásd Eredmények), ezért a teljes teszt sorozatot megismételtük úgy, hogy minden egyed négy héttel az első teszt sorozata után került újra sorra, és a ragadozótesztben egy ülő, de kitárt szárnyú egerészölyv makettjét használtuk, továbbá riasztóhangot játszottunk le az alatt az 5 perc alatt, amíg a makett a kalitkák előtt volt (a hangfelvétel a tesztmadarak szüleinek „ülő karvaly” tesztje során készült az előző évben). Mivel ez a makett sem bizonyult elég hatásosnak (lásd Eredmények), ezért 2009 januárjában a madarak egy újabb teszt sorozatban vettek részt, melynek során egy kitárt szárnyú kitömött karvalyt alkalmaztunk, melyet a madarak kalitkái felett egy zsinóron végighúzva mozgattunk. Ezt a „repülő predátort” megfigyeléseink szerint már valóban veszélyként észlelték a fiatal verebek (lásd Eredmények), ezért a következő évben (2009 őszén) már csak ezt a ragadozótesztet használtuk.

A „repülő karvaly” tesztekben olyan etetőket alkalmaztunk a kalitkáknál, amelyeknek lecsukható fedele volt, így reggel, a teszt kezdetén nem kellett a jelenlétünkkel a madarakat zavarni, hanem a megfigyelőablak mögött állva, egy zsinór segítségével „távirányítással” fel tudtuk nyitni az etetőket. Ekkor a ragadozóteszt megelőző „kontroll” napon gerle makettet nem használtunk, pusztán az etetők felnyitása után egy órán át figyeltük a madarakat. A ragadozótesztben pedig a karvaly makettet akkor húztuk elő a

rejtekhelyéről, amikor a tesztmadarak bármelyike először megközelítette az etetőjét. Mivel az első évi (2009. január) tesztek azt mutatták, hogy az etetőfedél felnyitása első alkalommal ijesztő a madarak számára (lásd Eredmények), ezért a második évben (2009 őszén) a „kontroll tesztet” megelőző három napban is így nyitottuk fel reggel az etetőket, ezzel szoktatva a madarakat a procedúrához.

Az első évben 11 fiatal madár maradt életben a tesztek megkezdéséig („ülő karvaly teszt”), azonban az egyikük a második teszt sorozata („ülő ölyv teszt”) előtt elpusztult, a „repülő karvaly tesztben” pedig a 10 egyed közül csak 8-ról sikerült adatot gyűjtenünk (2 egyedről nem készült felvétel). A második évben (2009. ősz) a 10 azévi fiatalembert teszteltük, és az előző évben kelt madarak közül még életben levő 7 egyeden is újra elvégeztük a „repülő karvaly tesztet” (mivel az első ilyen tesztjükben még nem lettek hozzászoktatva az etetőfedél felnyitásához). A tesztek után a madarakat újra lemértük és visszaengedtük a röpdébe.

A videofelvételekből gyűjtöttem le a statisztikai elemzéshez szükséges adatokat. Két változót mértem, hogy számszerűsítsem a verebek kockázatvállalását a makett jelenlétének hatására: (1) a táplálék megközelítésének latenciája, vagyis a teszt kezdetétől addig eltelt idő (másodpercben), amíg a madár először szállt rá az etetőtálkára; (2) evés latenciája, vagyis az addig eltelt idő, amíg a madár először csippentett a tálkából. A teszt kezdetének a 2008-as tesztekben az számított, hogy a kísérletet végző személy eltűnt, miután táplálékot adott és elhelyezte a makettet a kalitkák előtt, a 2009-es tesztekben pedig az etetőfedél kinyílása volt a teszt kezdet.

A tesztek hatásosságának vizsgálatához kontroll és a ragadozótesztben mért latenciákat páros t-próbákkal hasonlítottam össze. Ezután először kétmintás t-próbával hasonlítottam össze a latenciákat a városi és vidéki származású verebek között, majd

kevert lineáris modelleket (LME) használtam lépésenkénti („stepwise”) modellszelekcióval, amelyben figyelembe vettem minden egyed minden adatát és a potenciális zavaró változókat is. A kezdeti modellek tartalmazták az egyed eredetét (városi vagy vidéki szülők utóda-e), az ivart, a tesztet megelőzően mért testtömeget, a kalitkák helyzetét, az ismétlést (első vagy második teszt sorozata-e az egyednek az adott teszt típuson [ülő, repülő] belül), a kort (azévi vagy előző évi madár), a teszt dátumát (első vagy második év), a makett mozgását (ülő vagy mozgó), és a kontroll tesztben mért latenciát (logaritmizálva) magyarázó változókként, a gyűrűszámot random faktorként (így vettem figyelembe azt, hogy egy adott egyed különböző tesztekben mért adatai nem függetlenek egymástól), míg függő változóként a latenciák (első közelítés, illetve első evés) logaritmikus transzformáltját használtam. Ezután redukáltam a modelleket úgy, hogy kihagytam a legmagasabb P-értékű hatást lépésenként egészen addig, amíg csak szignifikáns ($P < 0,05$) és marginálisan szignifikáns ($P < 0,10$) hatások maradtak, de a random faktort és az eredetet mindig a modellben tartottam.

A predációs válasz heritabilitásának becslésére szülő-utód regressziót alkalmaztam. Ehhez minden családra kiszámoltam a szülők ragadozóválaszának átlagát (első közelítés latenciája az „ülő karvaly” tesztben, a Bevezetésben ismertetett elővizsgálatból) és az utódok ragadozóválaszának átlagát (első közelítés latenciája a „repülő karvaly” tesztben a 4. teszt sorozatban, mivel ez a teszt mutatta a legerősebb hatást a madarak viselkedésére; lásd Eredmények). Ezután lineáris regresszióval egyenest illesztettem a szülők és az utódok latenciájának összefüggésére, és az egyenes meredekségével becsültem a heritabilitás (h^2) mértékét. Minden statisztikai elemzést az R 2.2.1 programban végeztem. Az LME modellekhez az nlme csomagot használtam.

Eredmények

Az első két teszt sorozatban az ülö makettek a röpdében felnöött madarak nem adtak szignifikáns választ: latenciájuk nem különbözött a kontroll tesztben mérttől (1. táblázat, 1. ábra). A 3. teszt sorozatban szignifikánsan nagyobb latenciákat találtam a „kontroll” tesztben, mint a „repülő karvaly” tesztben (1. táblázat, 1. ábra), ami valószínűleg annak tudható be, hogy a madarak a „kontroll” tesztben találkoztak először az etetőfedél fölnyitódásával. A 4. teszt sorozatban viszont szignifikánsan később közelítették meg az etetőt és kezdtek el enni a „repülő karvaly” tesztben, mint a kontroll tesztben (1. táblázat, 1. ábra), ez a teszt tehát hatásos volt a predációs válasz kiváltására.

A 4. teszt sorozatban mért latenciákat vizsgálva az eredmények azt mutatták, hogy bár a városi eredetű madarak valamelyest később közelítették meg az etetőt és kezdtek enni az ijesztés után, mint a vidékiek (2. ábra), ez a különbség nem volt szignifikáns (2. táblázat).

Azonban a kis mintaszám miatt az előbbi tesztek ereje gyenge, ráadásul a predációs veszélyre adott válasz során fontos szerepe lehet egyéb változóknak is. Ha a rendelkezésemre álló összes információt figyelembe vettem a vizsgált egyedekről, a teljes kevert modellek is azt a tendenciát mutatták, hogy a vidéki eredetű madarak latenciái rövidebbek, mint a városi eredetű madarakéi (3. táblázat). A végső modellben kapott eredmény azt mutatta, hogy a városi eredetű madarak szignifikánsan később közelítették meg az etetőt a ragadozótesztekben, mint a vidéki eredetűek, az első evés latenciájában viszont nem volt szignifikáns ez a különbség (3. táblázat). Emellett a dátum, a makett mozgása és a kontroll tesztben mért latencia is hatással voltak a madarak kockázatvállalására, viszont az ivar, a kor, a testtömeg, az ismétlés és a ketrec pozíciója nem (3. táblázat).

A szülők és utódaik ragadozóválaszát összevetve marginálisan szignifikáns

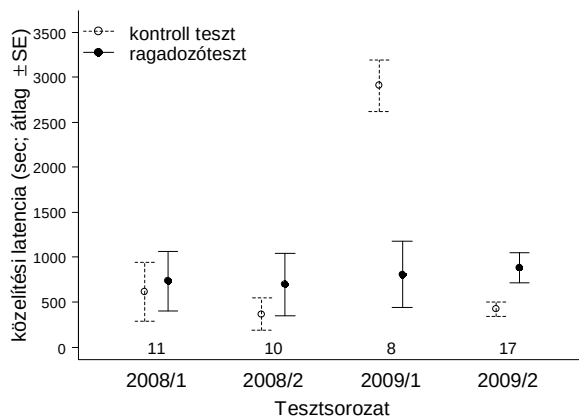
heritabilitásbecslést kaptam: $h^2 = 0,5 \pm 0,25$, $p = 0,081$ (3. ábra).

1. táblázat A ragadozótesztet hatásossága a röpdében nevelkedett madaraknál: kontroll és ragadozótesztben mért latenciák összehasonlítása páros t-próbákkal

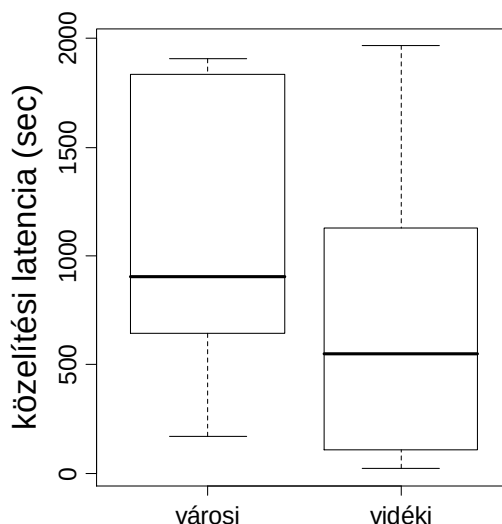
Teszt sorozat	t	df	p
1. teszt sorozat: "ülő karvaly"			
közelítési latencia	0,27	10	0,793
evési latencia	1,04	10	0,325
2. teszt sorozat: "ülő ölyv"			
közelítési latencia	0,88	9	0,402
evési latencia	0,95	9	0,368
3. teszt sorozat: „repülő karvaly"			
közelítési latencia	4,58	7	0,003
evési latencia	4,55	7	0,003
4. teszt sorozat: „repülő karvaly" szoktatással			
közelítési latencia	2,44	16	0,027
evési latencia	3,20	16	0,006

2. táblázat 2009 őszi ragadozóteszt („repülő karvaly" teszt) latenciáinak összevetése 2-mintás t-próbával (Welch-próbával) a városi és a vidéki szülőpárok utódai között

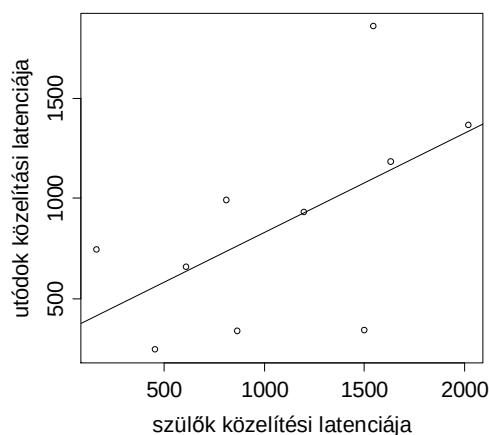
Teszt	t	df	p
közelítési latencia a „repülő karvaly" tesztben	1,04	14,392	0,314
evési latencia a „repülő karvaly" tesztben	0,48	14,915	0,640



1. ábra A kezelések hatása az etető első megközelítéséig eltelt időre. A kontroll teszt 2008-ban egy ülő gerle makett bemutatása, 2009-ben az etető fedelének felnyitása volt. A ragadozóteszt 2008-ban az 1. teszt sorozatban egy ülő karvaly makett, a 2. teszt sorozatban egy ülő ölyv makett bemutatása volt, 2009-ben pedig mindkét (3-4.) teszt sorozatban egy repülő karvaly makett. A teszt sorozatok minta elemszámát a diagramok alatti számok mutatják.



2. ábra A röpdében nevelkedett madarak válasza a „repülő karvaly" tesztben (9 városi és 8 vidéki eredetű egyed).



3. ábra Szülő-utód regresszió a ragadozótesztben mért közelítési latencia (másodpercben) heritabilitásának mérésére (n=10 család).

3. táblázat Az összes ragadozóteszt adatait figyelembe vevő LME modellek

	β	SE	df	t	p
Közelítési latencia - teljes modell					
főátlag (intercept)	-1,74	4,20	19	-0,41	0,683
kontroll latencia	0,80	0,09	17	9,02	<0,001
ivar (hím – tojó)	-0,09	0,53	17	-0,18	0,862
év (első – második)	2,20	0,68	17	3,24	0,005
ketrec pozíciója (1. – 4.)	-0,14	0,15	17	-0,96	0,351
teszt előtti testtömeg	0,08	0,15	17	0,56	0,583
kor (azévi – előző évi)	-0,12	0,67	17	-0,18	0,859
makett mozgása (repül – ül)	1,05	0,49	17	2,16	0,046
ismétlés (1. – 2.)	-0,03	0,29	17	-0,10	0,923
eredet (város – vidék)	-1,14	0,56	19	-2,03	0,056
Közelítési latencia - végső modell					
főátlag (intercept)	0,32	0,78	22	0,42	0,681
kontroll latencia	0,80	0,08	22	9,78	<0,001
év (első – második)	1,96	0,39	22	5,05	<0,001
makett mozgása (repül– ül)	1,03	0,42	22	2,44	0,023
eredet (város – vidék)	-1,16	0,53	19	-2,21	0,040
Evési latencia - teljes modell					
főátlag (intercept)	2,20	3,79	19	0,58	0,569
kontroll latencia	0,80	0,09	17	8,79	<0,001
ivar (hím – tojó)	-0,18	0,45	17	-0,4	0,695
év (első – második)	2,51	0,56	17	4,46	<0,001
ketrec pozíciója (1. – 4.)	0,02	0,14	17	0,17	0,864
teszt előtti testtömeg	-0,08	0,14	17	-0,57	0,577
kor (azévi – előző évi)	-0,37	0,56	17	-0,66	0,518
makett mozgása (repül – ül)	1,08	0,49	17	2,21	0,041
ismétlés (1. – 2.)	0,07	0,29	17	0,24	0,813
eredet (város – vidék)	-0,70	0,42	19	-1,68	0,110
Evési latencia - végső modell					
főátlag (intercept)	0,22	0,75	22	0,3	0,771
kontroll latencia	0,79	0,08	22	9,44	<0,001
év (első – második)	2,30	0,38	22	6,09	<0,001
makett mozgása (repül – ül)	1,02	0,42	22	2,45	0,023
eredet (város – vidék)	-0,67	0,39	19	-1,71	0,103

Diszkusszió

Dolgozatomban azt vizsgáltam, hogy vajon genetikai adaptáció eredménye-e a városi verebek kockázatkerülőbb viselkedése. Vizsgálatom során több tesztprocedúra kipróbálására is sor került, mivel a szabadból befogott, felnőtt madarakon sikerrel alkalmazott protokollról munkám során kiderült, hogy a fogságban nevelkedett madarak esetében nem hatásos. A 2008-as teszt sorozatban használt ülő karvaly illetve ölyv esetén a kapott eredmények alapján ugyanis nem volt szignifikáns különbség a kontroll és a ragadozóteszt között a madarak kockázatvállalásában.. A 2009-es 3. teszt sorozatban a szoktatás hiánya miatt nem a repülő karvallyal való találkozásnál közelítették meg a madarak később az etetőt illetve ettek, hanem a kontroll teszt alatt. A 4. teszt sorozat viszont sikeresnek bizonyult, itt a fiókák a várakozásoknak megfelelően reagáltak, szignifikánsan később közelítették meg az etetőt illetve ettek a ragadozó jelenléte után, mint a kontroll tesztben. Minden bizonnyal hatással volt az eredményekre az, hogy kerestük a legmegfelelőbb teszteljárást, így a kísérlet fontos gyakorlati eredményének tekinthető, hogy sikerült egy olyan procedúrát kidolgoznunk, amely alkalmasnak bizonyult az egyes egyedek predációs kockázatvállalásának mérésére fogságban nevelt házi verebek esetében.

Az, hogy a röpdében nevelkedett fiókák jóval kevésbé reagáltak a ragadozóra, mint a szabadon felnőtt szüleik, már önmagában is egy érdekes eredménynek tekinthető. Mindez arra enged következtetni, hogy a ragadozófelismerés és/vagy a ragadozóellenes válasz nem kizárólagosan a szülőktől örökölt tulajdonság, nem teljes mértékben genetikailag meghatározott, hanem nagymértékben befolyásolja, hogy egy egyed milyen tapasztalatokat szerez a környezetében, milyenek az élőhelyének körülményei. Az, hogy a 2008-as teszt sorozatban a fiókák kevésbé reagáltak az ülő ragadozó maketre, mint a szüleik,

összefüggésben lehet azon feltételezéssel, miszerint ha az egyedek nem vagy csak kevés alkalommal találkoznak ragadozókkal, akkor ezen egyedeknek magasabb lesz a kockázatvállalása, míg azon egyedek, melyek természetes élőhelyükön gyakrabban szerezhettek tapasztalatot ragadozótámadások során, jóval kockázatkerülőbbek lesznek (Stankowich és Blumstein, 2005). Tehát a magyarázat arra, hogy az ülő makettek miért nem váltottak ki nagyobb mértékű válaszreakciót, az lehet, hogy a röpdében nevelkedett fiókák nem tapasztalhatták, meg milyen egy valódi ragadozótámadás, ezért kevésbé voltak óvatosak. Azonban mivel a későbbi tesztben, ahol már repülő makettet használtunk, megfelelő választ adtak (hosszabb latenciákat, mint a kontroll tesztben), így az nem valószínű, hogy egyáltalán nem ismerték volna fel a ragadozót. A vizsgálat két éve alatt többször is láttunk karvalyt és házi macskát a röpdék közelében, sőt mindkét faj esetében szemtanúi voltunk olyan esetnek is, amikor a ragadozó a röpdében levő madarakat próbálta támadni. A fiókáknak tehát volt lehetőségük a szüleiktől tanulni mind a ragadozófelismerés, mint a predációs válasz tekintetében, de valószínűleg kevesebb, mint a szabadban nevelkedő madaraknak. Az, hogy a vadon befogott madarak (szülők) jobban reagáltak az ülő karvalyra, valószínűleg nem azért volt, mert átlagosan öregebbek lettek volna, az eredményeim alapján ugyanis a röpdében felnőtt madaraknál a kornak nem volt szignifikáns hatása a ragadozóválaszra. Mindebből arra lehet következtetni, hogy nem a kor, ami meghatározónak bizonyul az egyes egyedek válaszreakcióiban, hanem az ezzel járó tapasztalat (a vadon élő madaraknál) segíti elő a hatékonyabb ragadozó-elkerülést.

A vizsgálatot több váratlan probléma is nehezítette: a jelentős fiókapusztulás miatt a mintaszám nem volt magas, továbbá a madarak csekély reaktivitása miatt a protokollon többször változtatni kellett.

Arra, hogy több tesztben nem találtam szignifikáns különbséget, magyarázatot adhatnak az előbbieken említett problémák. Ha azonban figyelembe vettem minden rendelkezésre álló információt az egyedekről (potenciális zavaró változókat, ismételt tesztekben mutatott viselkedésüket), akkor szignifikáns különbséget találtam a városi és vidéki fiókák között a ragadozótesztben az első közelítés latenciájában. Ez az eredmény azt mutatja, hogy a röpdés fiókák között is (a szülőmadarakhoz hasonlóan) a városi eredetű madarak bizonyultak kockázatkerülőbbnek. Ezt az eredményt alátámasztotta a kockázatvállalás heritabilitására végzett elemzés is. Az eredmények értelmezésének két alternatív magyarázata lehetséges. Az egyik, hogy a városi populációk erősebb ragadozó-ellenes reakciókra (kisebb kockázatvállalásra) vannak szelektálva, azaz valóban genetikai adaptációról van szó. A másik, pedig, hogy a kockázatvállalás nem más, mint egy heritabilis személyiségjegy, ami az urbanizációtól független, és a véletlen műve, hogy pont a városi populációkból fogtunk kockázatkerülőbb egyedeket, amelyek utódai is kockázatkerülőbbnek bizonyultak, szüleiktől továbbörökölve ezen tulajdonságot.

A kockázatvállalás heritabilitása arra utal, hogy ez a tulajdonság egy személyiségjegy lehet a verebeknél. A személyiség egy nehezen megfogható fogalom, ha mégis szeretnénk meghatározni, azt mondhatjuk, konzisztens és öröklődő egyedi különbségek a viselkedésben (például, ha egy egyed félénkebb volt, mint egy másik, akkor más időpontban vagy más szituációban is az lesz). Ezek az egyedi különbségek viszonylag jól mérhetők, az egyes egyedek különbözőképpen reagálnak adott élethelyzetekre. Mindez jól megfigyelhető volt jelen kísérletben is, hiszen azon túl, hogy a városi szülők utódai kockázatkerülőbbnek bizonyultak, az egyes egyedek konzisztens viselkedési

formákat mutattak a tesztek során, pl. voltak kifejezetten óvatos madarak, voltak melyek végig bátrabban viselkedtek vagy éppen kifejezetten nyugodtak maradtak a teszt alatt, míg más madarak idegesen repkedtek. Az ilyen viselkedésbeli különbségeknek fontos szerepe van a természetben. Egy színcinegéken végzett vizsgálatban, mely során különböző években (táplálékban szegényebb és gazdagabb évek) vizsgálták a hímek és tojók sikerességét, azt találták, hogy a személyiség hatással volt az egyes egyedek túlélési és szaporodási sikerére (Dingemanse és mtsai., 2004). Egy másik vizsgálatban, amit kanadai vadjuhokon végeztek, szintén arra az eredményre jutottak, hogy az egyedi viselkedésbeli különbségeknek jelentős fitness következményei vannak mind a nőstények (Réale és Festa-Bianchet 2003), mind a hímek esetében (Réale és mtsai., 2009).

Összegezve, eredményeim szerint a városi házi verebek fiókái azonos körülmények között felnevelkedve is kockázatkerülőbbnek bizonyultak, mint a vidéki madarak utódai. Kérdés viszont, hogy a vizsgált minta kellően reprezentatív-e a városi populációkra nézve, mivel mindössze 2 városi és 2 vidéki élőhelyről származtak a madarak. Annak tisztázása, hogy a kockázatvállalási viselkedés az urbanizációtól független, öröklődő személyiségjegy, vagy pedig valóban az urbanizáció szelektál úgy, hogy a városi populációk egyedei kisebb kockázatot vállaljanak, további vizsgálatokat igényel. A munkám során kidolgozott ragadozóteszt protokoll megalapozott egy következő vizsgálatot, amely, az urbanizációs gradiens több pontjáról származó egyedek vizsgálatával általánosíthatóbb képet ad az élőhely-urbanizáció és a predációs nyomás kapcsolatáról. (Seress és mtsai., 2010).

Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti a Pannon Egyetem Ornitológiai Csoportjának munkatársát, Seress Gábort, valamint Lázár Diánát,

Balázs Viktóriát és Gulyás Polettet, akik segítettek a röpdés madarak befogásában, gondozásában és az adatok gyűjtésében, továbbá a veszprémi Kittenberger Kálmán Növény- és Vadaspark igazgatóját, Török Lászlót és dolgozóit, akik biztosították a lehetőséget, hogy az állatkert területén dolgozhassunk. A kutatást az OTKA (K72827 sz. pályázat), az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

- Anderies J. M., Katti M., Shochat E. (2007): Living in the city: Resource availability, predation, and bird population dynamics in urban areas. *Journal of Theoretical Biology* 247: 36-49.
- Anderson T. R. (2006): *Biology of the ubiquitous House Sparrow: from genes to population*. Oxford, UK, Oxford University Press.
- Beckerman A. P., Boots M., Gaston K. J. (2007): Urban bird declines and the fear of cats. *Animal Conservation* 10: 320-325.
- Bókony V., Kulcsár A., Liker A. (2009): Does urbanization select for weak competitors in house sparrows?. *Oikos* 119: 437-444.
- De Laet J., Summers-Smith J. D. (2007): The status of the urban house sparrow *Passer domesticus* in north-western Europe: a review. *Journal of Ornithology* 148: 5275-5278.
- Dingemanse N. J., Both C., Drent P. J., Tinbergen J. M. (2004): Fitness consequences of avian personalities in a fluctuating environment. *Proceedings of The Royal Society London B* 271: 847-852.
- Fórián S. (2007): Urbanizációs folyamat és annak néhány hatása a környezetre. *Debreceni Műszaki Közlemények* 6: 5-17.
- Kulcsár A., Bókony V., Liker A., Tóth Z. (2009): Neophobia and risk-taking of urban and rural house sparrows (*Passer domesticus*). Előadás. 10th Behavioural Ecology Meeting: Cooperation in Animal Societies, Kolozsvar, Románia.
- Liker A., Papp Z., Bókony V., Lendvai Á. Z. (2008): Lean birds in the city: body size and condition of house sparrows along the urbanization gradient. *Journal of Animal Ecology* 77: 789-795.
- Macleod R., Barnett P., Clark J., Cresswell W. (2006): Mass-dependent predation risk as a mechanism for house sparrow declines?. *Biology Letters* 2: 43-46.
- Marzluff J. M., Bowman R., Donnelly R. (2001): *Avian ecology and conservation in an urbanizing world*. Boston, UK, Kluwer Academic Publishers.
- Marzluff J. M., Shulenberger E., Endlicher W., Alberti M., Bradley G., Ryan C., Simon U., ZumBrunnen C. (2008): *Urban Ecology: an international perspective on the interaction between humans and nature*. New York, USA, Springer.
- Réale D., Festa-Bianchet M. (2003): Predator-induced natural selection on temperament in bighorn ewes. *Animal Behaviour* 65: 463-470.
- Réale D., Martin J., Coltman D. W., Poissant J., Festa-Bianchet M. (2009): Male personality, life-history strategies and reproductive success in a promiscuous mammal. *Journal of Evolutionary Biology* 22: 1599-1607.
- Robinson R. A., Siriwardena G. M., Crick H. Q. P. (2005): Size and trends of the House Sparrow *Passer domesticus* population in Great Britain. *Ibis* 147: 552-562.
- Rutz C. (2008): The establishment of an urban bird population. *Journal of Animal Ecology* 77: 1008-1019.
- Seress G., Bókony V., Heszberger J., Liker A. (2010): Verebek, karvalyok és macskák: házi verebek viselkedési válasza ragadozóveszélyre. Előadás. A Magyar Etológiai Társaság XII. Kongresszusa, Veszprém
- Shaw L. M., Chamberlain D., Evans M. (2008): The House Sparrow *Passer domesticus* in urban areas: reviewing a possible link between post-decline distribution and human socioeconomic status. *Journal of Ornithology* 149: 293-299.
- Shochat E. (2004): Credit or debit? Resource input changes population dynamics of city-slicker birds. *Oikos* 106: 622-626.
- Shochat E., Lerman S. B., Katti M., Lewis D. B. (2004): Linking optimal foraging behavior to bird community structure in an urban-desert landscape: field experiments with artificial food patches. *American Naturalist* 164: 232-243.
- Shochat E., Warren P. S., Faeth S. H., McIntyre N. E., Hope D. (2006): From patterns to emerging processes in mechanistic urban ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 186-191.
- Sorace A., Gustin M. (2008): Distribution of generalist and specialist predators along urban gradients. *Landscape and Urban Planning* 90: 111-118.
- Stankowich T., Blumstein D. T., (2005): Fear in animals: a meta-analysis and review of risk

assessment. Proceedings of The Royal Society
London B 272: 2627-2634.

United Nations (2008): World Urbanization
Prospects - The 2007 Revision. New York,
USA.

Párhuzamos töltött rétegek közé adszorbeálódott elektrolitok Monte Carlo szimulációs vizsgálata

Kovács Róbert

Témavezető: Boda Dezső

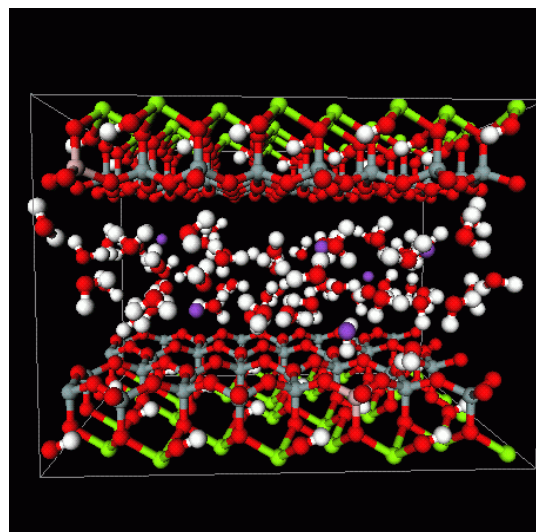
Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémiai Intézet, Fizikai Kémiai Intézeti Tanszék

Kivonat: A két töltött fal között lévő elektrolit egy szokásos szimulációs elrendezés az elektromos kettősréteg vizsgálatára. Elektromos kettősréteg egy töltött fal és egy elektrolit határfelületén alakul ki. Amennyiben a két fal elég távol van egymástól, a falak mellett kialakuló kettősrétegek egymástól függetlenek és középen kialakul egy semleges tömbfázis. Ha azonban a két fal közel van egymáshoz (rés, "slit"), a kettősrétegek átlapolódnak és a tömbfázis nem jelenik meg. Ez a geometria nagykanonikus sokaságon vizsgálható jól, ahol a tömbfázis egy adott kémiai potenciálokkal jellemzett virtuális, külső tároló. A valóságban mindig több rés létezik egymás mellett, szilárdfázisú töltött rétegekkel elválasztva egymástól (mint pl. rétegszilikát ásványokban). A dolgozatban ezt a rendszert vizsgáljuk nagykanonikus Monte Carlo szimulációkkal, sűrűség-, töltés-, elektromos tér, és elektromos potenciál profilok számolásával. Vizsgálataink középpontjában a résrendszer elektromos viszonyai állnak. Megvizsgáljuk, hogy több egymás mellett lévő rés (résrendszer) mennyiben különbözik az elszigetelt réstől. Mivel a résrendszerbe adszorbeálódó részecskék ionok, ezeknek le kell győzni egy elektromos potenciálgátat, hogy beléphessenek a rendszerbe, ezért azt ebben az esetben korrektebb a rendszert az öt határoló tömbfázisokkal együtt vizsgálni (az elszigetelt résre vonatkozó szimuláció erről nem ad felvilágosítást). A legyőzendő potenciálgát nagysága elsősorban a rendszert határoló kettősrétegek szerkezetétől függ, de azt találtuk, hogy

ehhez még hozzáadódik egy a résrendszer külső rétegeinek polarizációjából adódó potenciálkülönbség.

Bevezetés

A különféle rétegszilikátok (montmorillonit-félék, kaolinit, stb.) fontos szerepet játszanak mindennapjainkban környezeti, technológiai, ipari szempontból egyaránt (lásd 1. ábra). Ezeknek az anyagoknak a kristályrácsát – az SiO_4 -tetraéderek két irányú összekapcsolódása révén – végtelen síkok építik fel. A réteges szerkezetük miatt hasadásuk és formázhatóságuk kiváló (www1). Jó és gyakran szelektív adszorpciós képességük is hozzájárul technológiai alkalmazásukhoz.



1 ábra A montmorillonit felépítése

Ezen ásványok töltött síkjai között sokszor valamilyen elektrolit helyezkedik el. Amellett, hogy a rendszer ettől globálisan töltésemleges lesz, a töltött

lapok mellett elhelyezkedő kettősrétegek közötti kölcsönhatás a lapok közötti kohézióhoz is hozzájárul. Az azonos töltésű makrorészecskék (rétegszilikátok rétegei, kolloidrészecskék, biológiai makromolekulák – fehérjék, DNS) közötti vonzó kölcsönhatás mechanizmusának felderítése egy érdekes kihívás volt az utóbbi évtizedek tudományos kutatása számára. Mára egyetértés van abban, hogy ez a vonzó jellegű kölcsönhatás a divalens kationokat tartalmazó átlapolódó kettősrétegek közötti vonzás eredménye (Delville és mtsai., 1998; Jönsson és mtsai., 2004a, 2004b; Pegado és mtsai., 2008).

Mindezek miatt a rétegek közötti elektrolitok tanulmányozása a statisztikus mechanikai kutatások egy fontos fejezetét képezi (Patrykiewicz és mtsai., 2004; Pizio és mtsai., 2004; Borowko és mtsai., 2005; Pizio és mtsai., 2005; Pizio és Sokolowski., 2005; Yu és mtsai., 2006). Ezeket a vizsgálatokat különféle elméleti és szimulációs módszerekkel végezték el.

A makroszkopikus és mikroszkopikus tulajdonságok közötti kapcsolatok felderítése a statisztikus mechanika alapvető feladata. A statisztikus termodinamika a kölcsönhatási potenciál ismeretében határozza meg a rendszer makroszkopikus termodinamikai tulajdonságait. Az intermolekuláris potenciálok meghatározása meglehetősen bonyolult, ezért egyszerűbb modellpotenciálok bevezetése a célszerű, így a vonzó és taszító potenciáljárulékok külön-külön és egymástól függetlenül is vizsgálhatóak.

Egy rendszer adott tulajdonságának vizsgálatára három alapvető módszer áll a kutatók rendelkezésére: a kísérlet, az elmélet és a szimuláció. Egy reális rendszerről modellt alkotunk, amit elméleti és szimulációs módszerekkel tanulmányozhatunk. Az elméleti módszerek gyakran közelítéseket és elhanyagolásokat tartalmaznak. A szimulációk az adott modellre egzakt eredményeket szolgáltatnak, így egy

elmélet vizsgálatára, tesztelésére szempontjából a szimulációs adatok „kísérleti” adatoknak tekinthetők. A modell tesztelésére akkor nyílik lehetőség, ha a valósággal hasonlítjuk össze a szimulációs eredményeket. A kísérlethez képest a szimulációk az elmélet szerepét töltik be.

Az elektromos kettősréteg egy töltött fal és egy elektrolit határtartományában alakul ki. A két töltött fal között lévő elektrolit egy szokásos szimulációs elrendezés az elektromos kettősréteg vizsgálatára. Amennyiben a két fal elég távol van egymástól, a falak mellett kialakuló kettősrétegek egymástól függetlenek és középen kialakul egy semleges tömbfázis. Ha azonban a két fal közel van egymáshoz (rés, „slit”), a kettősrétegek átlapolódnak és a tömbfázis nem jelenik meg. A valóságban gyakran több rés létezik egymás mellett szilárdfázisú töltött rétegekkel elválasztva egymástól.

Ebben az értekezésben az ilyen rendszerekben kialakuló elektromos kettősrétegekkel, az adszorbeálódott elektrolitok különböző tulajdonságaival foglalkozunk. Ezt a rendszert vizsgáljuk nagykanonikus Monte Carlo (GCMC) szimulációkkal, sűrűség-, töltés-, elektromos térerősség és elektromos potenciálprofilok számolásával. A rés elektromos viszonyait tanulmányoztuk, és hogy az mennyiben különbözik az elszigetelt résben tapasztalttól.

A témában már több publikáció született (Patrykiewicz és mtsai., 2004; Pizio és mtsai., 2004; Borowko és mtsai., 2005; Pizio és mtsai., 2005; Pizio és Sokolowski., 2005; Yu és mtsai., 2006), ezek általában egy-egy individuális rést vizsgáltak. A nagykanonikus sokaság lehetőséget ad arra, hogy egyértelműen definiáljuk azt a tömbfázisú elektrolitot, amellyel a rés termodinamikai egyensúlyban van. Ebben a szimulációs eljárásban a szimulációs cellában lévő rendszer egy külső, virtuális tömbfázissal van egyensúlyban, amit csupán a

hőmérsékletével és kémiai potenciáljaival definiálunk.

Most a rés elektrosztatikai viszonyaira koncentrálnak, tehát meghatározzuk a résben az elektromos töltés-, térerősség- és potenciálprofilokat. A potenciálprofil számolásánál már nem elegendő a külső, virtuális tömbfázis használata. A potenciál folytonosan változik a rés és környezete között és mi tudni szeretnénk, hogy egy adott, a tömbfázisból érkező ionnak mekkora elektromos potenciálját kell legyőznie, hogy a résbe adszorbeálódjon. Ehhez a rést és az őt körülvevő tömbfázist egy szimulációs cellán belül, együtt kell vizsgálnunk. Ebben a dolgozatban ez a fő célkitűzés.

Amellett, hogy a rést környezetével együtt szimuláljuk, megvizsgáljuk annak hatását is, ha több, egymás mellett lévő rés van a rendszerünkben, ezzel egyfajta egyszerű modelljét adva a fent említett rétegszilikátoknak is.

Modell

A kettősréteg klasszikus elméletei

Az elektromos kettősréteget töltött részecskék hozzák létre a töltött elektród közelében. Elektród alatt itt bármilyen töltött fal értendő: fémelektródok mellett ide sorolhatók pl. a sejtmembrán, töltött makromolekulák, kolloidrészecskék, ásványok töltött rétegei, stb. A legelső és legegyszerűbb elképzelés a Helmholtz-féle síkkondenzátor modell, amely azon alapul, hogy a fémen levő töltést az ellenkező töltésű ionok az oldat felőli részen kompenzálják egy rétegben. Az ionok a fém töltésének vonzó hatása miatt dúsulnak fel a fém felületén, ott rögzítődnek és képezik a síkkondenzátor másik fegyverzetét.

A kettősréteg hagyományos elméletét Gouy (1910) és Chapman (1913) (GC) dolgozták ki a XX. század elején. Ebben a modellben a fémmel ellentétes töltésű ionok hőmozgása miatt egy, a felülettől számított véges tartományban (diffúz

rétegben) alakul ki a fém töltését kompenzáló ionok által létrehozott tértöltés. Az ionokat azok eloszlásfüggvényével írja le, az oldószert pedig egy dielektromos kontinuumként kezeli. Az ellenionok igyekeznek az elektrosztatikus vonzásnak megfelelően az elektród mellé sorakozni, de a hőmozgásnak köszönhetően részben szétszóródnak a térben, ezt hívjuk diffúz rétegnek. Az elmélet gyakorlatilag a Poisson egyenletet oldja meg Boltzmann eloszlás feltételezésével, tehát a Poisson-Boltzmann elmélet speciális esete síkszimmetriával rendelkező rendszerre. A modell legnagyobb hibája, hogy az ionok átmérőjét elhanyagolja, azokat pontszerűnek tekinti, és hogy az ionok közötti többtest-korrelációkat elhanyagolja.

A Stern-féle kétrétegű modell (Stern, 1924) a Helmholtz- és a GC-elmélet kombinációjaként képzelhető el. Gyakran Gouy-Chapman-Stern (GCS) elméletként is emlegetik. Eszerint az ionok méretét végesnek feltételezik az elektródnál illetve definiálnak egy távolságot amennyire egy ion középpontja a felületet megközelítheti ("distance of closest approach"). A kettősréteghez egy kapacitás rendelhető és így az egy kondenzátorral reprezentálható. A GCS elmélet tehát a teljes kettősréteget a Helmholtz és a diffúz réteg együtteseként, mint két sorbakötött kondenzátort reprezentálja.

Ezek a feltételezések csak kis koncentráció esetén érvényesek, de nagy előrelépést jelent az ionok véges méretének figyelembe vétele az elektród és az elektrolit határfelületén. Fontos megjegyezni azonban, hogy az ion-ion kölcsönhatások tekintetében ez a modell is pontszerűnek tekinti az ionokat.

A résrendszer modellje

Az első olyan molekuláris modell, amely az ionokat véges mérettel rendelkező részecskéknek tekinti, az elektrolitok primitív modellje (PM). Ebben a modellben az ionokat töltött merev gömbökkel, az oldószert folytonos

dielektromos állandójú közeggel (ϵ) modellezzük.

Az elektródot tökéletes végtelen síknak feltételezzük, ami egy adott folytonos töltéssűrűséget hordoz. A legtöbb tanulmány azon alapszik, hogy az oldószer és az elektród dielektromos állandója megegyezik. Így nem alakulhat ki polarizációs töltés az elektródon. Ebben a munkában mi is így járunk el.

Az ionok, mint töltött merevgömbök közötti kölcsönhatást leíró párpotenciál:

$$(1) u(r_{ij}) = \begin{cases} \infty & \text{ha } r_{ij} < R_i + R_j \\ \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} & \text{ha } r_{ij} \geq R_i + R_j \end{cases}$$

ahol r_{ij} a két ion távolsága, q_i az i -edik ion töltése ($q_i = z_i e$, ahol z_i az ion töltésszáma, e az elektron töltése). Az ionok töltése a gömbök közepén helyezkedik el. Az egyenlet első sora a merevgömb potenciált adja, ami az ionok átlapolódását tiltja. A második sor a Coulomb potenciál ami az ionok közepén lévő ϵ -nal árnyékolt ponttöltések közötti kölcsönhatást adja. Ennek a látszólag egyszerű modell segítségével reprodukálni lehetett az elektrolitok aktivitási együtthatójának nem-monoton koncentrációfüggését (Vincze és mtsai., 2010).

Az elektródot töltött merev (áthatalmatlan) fallal modellezzük. Az elektród és az i -edik ion közötti kölcsönhatási potenciál az elektródtól mért merőleges távolság $|x|$ függvényében:

$$(2) v(|x|) = \begin{cases} \infty & \text{ha } |x| < R_i \\ -\frac{z_i e E |x|}{\epsilon} & \text{ha } r_{ij} \geq R_i + R_j \end{cases}$$

ahol (3) $E = \frac{\sigma}{2\epsilon_0}$

a σ elektródtöltés által keltett térerősség. Az egyenlet első sora a merevgömb és a merev fal átlapolódását tiltja. A második sor az elektródtöltés és az ionok közepén lévő ponttöltés közötti Coulomb kölcsönhatását adja.

A résrendszerben N_M db membrán található. Az α -adik membrán bal oldali

fala az x_{α}^L , míg a jobb oldali fala az x_{α}^R pozícióban található. A bal oldali fal σ_{α}^L töltéssűrűséget, míg a jobb oldali fal σ_{α}^R töltéssűrűséget hordoz. Ebben a dolgozatban a $\sigma_M = \sigma_{\alpha}^L = \sigma_{\alpha}^R$ esetre mutatunk csak eredményeket. A membrán falai tehát töltött merev falak és membrán belsejéből az ionok ki vannak tiltva. A membrán két fala L_M távolságra van egymástól, ez tehát a membrán vastagsága. Az L_S a rés szélessége. A rések száma értelemszerűen $N_S = N_M - 1$. A résrendszer két oldalán két tömbfázis található, amelyeknek L_B a szélessége. A rendszert bal és jobb oldalon egy-egy merev fal határolja. Ezek a határoló falak is hordozhatnak töltést (σ_L és σ_R), amik egy külső elektromos teret létesítenek az egész résrendszer felett.

Monte Carlo szimulációs módszer

A molekuláris szimulációs módszereket olyan nagy részecskeszámú rendszerekben használjuk, ahol ismerjük a mikroszkopikus szintű törvényeket, azaz a molekulák között ható erőket/potenciálokat (Allen és Tildesley, 1987; Frenkel és Smit, 1996). A molekuladinamikai módszer során a potenciálfüggvény alapján kiszámítjuk a rendszer összes atomjára ható erőt majd a newtoni mozgásegyenleteket egy kis Δt (1-10 fs) nagyságú időlépésre megoldjuk, és a részecskéket a rájuk ható erő szerinti távolságra elmozdítjuk. Ilyen módon a részecskék mozgásegyenleteit numerikusan integráljuk, tehát a nyomás, a hőmérséklet és más makroszkopikus tulajdonságok meghatározhatóak az időbeli átlagokból.

Egy egyensúlyban lévő makroszkopikus rendszer a mikroállapotok sokaságának adott arányú megvalósulása. Kanonikus sokaság esetén az egyes mikroállapotok megvalósulásának valószínűsége a következő Boltzmann faktorral arányos:

$$(4) w_i \approx \exp\left(-\frac{U_i}{k_B T}\right)$$

ahol U_i a mikroállapot belső energiája, k_B a Boltzmann állandó és T az abszolút rendszerhőmérséklet. Így ha véletlenszerűen választott minták alkotják a statisztikai mintát, akkor valamely M mennyiség makroszkopikus értékét kanonikus sokaságon az

$$(5) \langle M \rangle = \frac{\sum_i M_i \exp(-U_i/kT)}{\sum_i \exp(-U_i/kT)}$$

összefüggéssel kapjuk, ami az M változó egyes mikroállapotok fölött vett értékeinek Boltzmann-faktorral súlyozott átlaga (sokaságátlag).

A fontosság szerinti mintavételezés (importance sampling) során a konfigurációs térből vett mintáinkat nem egyenletesen sorsoljuk, hanem az 2.4 *egyenletbeli* valószínűség alapján a valószínűbb állapotokat nagyobb valószínűséggel válogatjuk be a mintába. Ekkor Boltzmann mintavételezésről beszélünk, a sokaságátlagot pedig az M_i értékek egyszerű számtani közepeként kapjuk. A Metropolis mintavételezés ezt úgy valósítja meg, hogy pl. egy tetszőlegesen kiválasztott részecskét véletlenszerűen sorsolt új pozícióba mozgatunk, kiszámítjuk a mozgatás energiaváltozását (ΔU), majd a mozgatást egy jól definiált kritérium alapján elutasítjuk vagy elfogadjuk. Ha a művelet végrehajtása után a rendszer energiája csökkent, elfogadjuk a lépést. Ha nem csökkent, akkor a mozgást a $p = \exp(-\Delta U/k_B T)$ valószínűséggel fogadjuk el, azaz $1-p$ valószínűséggel elvetjük. Ezeket a szimulációs lépéseket úgy tervezik meg, hogy kielégüljön a mikroszkopikus reverzibilitás feltétele.

A gyakorlatban a szimulációt egy adott geometriájú cellában végezzük. A határfelületi effektusok elkerülése végett egy kis mintát periodikusan reprodukálunk a tér azon irányában, amely irányban a rendszer homogén. Ha tömbfázist szimulálunk, akkor pl. a tér mindhárom irányába ezt az ún. periodikus határfeltételt alkalmazzuk. Ha egy inhomogén rendszert

vizsgálunk, mint ahogy mi tesszük, a periodicitást csak a tér azon dimenzióiban alkalmazzuk, amelyekben a rendszer homogén. A periodikus irányokban a központi szimulációs cellán kívüli ionokkal való kölcsönhatást (a hosszú távú korrekciót) a töltött lap ('charged sheet') módszerrel (Boda és mtsai., 1998) számítottuk.

Egy (általában véletlenszerűen előállított) kezdeti állapotból indulunk ki, ami nem feltétlenül van az egyensúlyi állapot közelében. Ezért általában egy egyensúlyba hozatali periódusra van szükség és ezután következik a szimuláció azon része, amire az átlagolást elvégezzük.

A rendszer definiálásakor az intermolekuláris kölcsönhatások (1 *egyenlet*), különféle geometriai kényszerek (2 *egyenlet*) mellett szükséges a rendszer szabadsági fokainak megfelelő számú termodinamikai állapotjelzőt is rögzíteni, azaz definiálni a sokaságot. Kanonikus sokaságon pl. a hőmérséklet T , a térfogat V , illetve a komponensek részecskeszáma N_i rögzített.

A nagykanonikus Monte Carlo (GCMC, Grand Canonical Monte Carlo) eljárás esetén a részecskeszámok helyett a komponensek kémiai potenciáljait μ_i rögzítjük a rendszerben. Ekkor a részecskemozgatások mellett új MC lépések végrehajtása szükséges. Mivel a részecskék száma fluktuál, ezeket véletlenszerűen változtatnunk kell. Ezt úgy hajtjuk végre, hogy időnként egy véletlenszerűen kiválasztott helyre behelyezünk egy részecskét, illetve időnként egy véletlenszerűen kiválasztott részecskét eltávolítunk. Ezeket a lépéseket szintén jól meghatározott valószínűségekkel fogadjuk el, amikben az energiaváltozás mellett a kémiai potenciál szerepel.

Elektrolitokban viszont szokásos az, hogy nem egy iont mozgatunk így, hanem ionok egy töltésszemleges csoportját (Valleau és Cohen, 1980). 1:1 elektrolit

esetén pl. egy kationt és egy aniont, míg 2:1 elektrolit esetén 1 divalens kationt és két aniont. Így elérhetjük, hogy a rendszer a szimuláció során mindig töltéssemleges.

A mi esetünkben a szimuláció eredményeképpen kapott legfontosabb mennyiség a bevezetett sűrűség- illetve koncentrációprofilok. Ezeket úgy számoljuk, hogy felosztjuk a cellát kis Δx szélességű (Δx térfogatú) szeletekre és ezekben számoljuk a különféle komponensek átlagos számát (ΔN_i). Ezekből az ionok töltéeloszlása (töltésprofilja) a következőképpen számítható:

$$(6) \quad q(x) = \sum_i z_i e \rho_i(x)$$

A töltésprofilból (6 egyenlet) ki kell számítanunk az elektromos tér és potenciálprofilokat. Neumann peremfeltételt használunk, ahol a rendszert balról és jobbról határoló falak külső felületén definiáljuk a normál irányú (x irányú) elektromos teret. Ezt a teret viszont egzaktul ismerjük, mivel a résrendszer töltéssemleges, így a Gauss tétel értelmében a normál elektromos tér a rendszeren kívül zérus.

A kiindulópontunk a Poisson egyenlet

$$(7) \quad \frac{d^2 \Phi(x)}{dx^2} = \frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} q_{\text{tot}}(x)$$

ahol $q_{\text{tot}}(x)$ a rendszerben lévő összes töltések sűrűsége és $\Phi(x)$ az elektromos potenciál. Ha a rendszerben az ionok töltéeloszlásán kívül ($q(x)$) jelen van n db töltött fal $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ pozíciókban $\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3, \dots, \sigma_n$ felületi töltéssűrűségekkel, akkor a teljes töltés a következőképpen írható fel:

$$(8) \quad q_{\text{tot}}(x) = q(x) + \sum_i \sigma_i \delta(x - x_i)$$

Ezt a differenciálegyenletet megfelelő peremfeltételekkel meg kell oldanunk. Egyszeri integrálás után kapjuk:

$$(9) \quad \frac{d\Phi(x)}{dx} = -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \int_{-\infty}^x q_{\text{tot}}(x') dx' + C_1 = -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \int_{-\infty}^x q_{\text{tot}}(x') dx' - \frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \sum_{i: (x_i < x)} \sigma_i + C_1$$

Itt a szumma alatt a $i(x_i < x)$ jelölés azt jelenti, hogy a szummába csak azokat a

síkokat vesszük bele, amelyeknek pozíciója x -től balra van. A numerikus integrálást a téglalap-formulával végeztük. Az elektromos tér a potenciál negatív gradiense:

$$(10) \quad E(x) = -\frac{d\Phi(x)}{dx}$$

A rendszerünk töltéssemleges, tehát a rendszerünkön kívüli elektromos tér zérus. Az első peremfeltételünk tehát:

$$(11) \quad E(-\infty) = 0$$

Ebből a C_1 integrálási változóra zérus értéket kapunk. Újabb integrálás után az eredmény:

$$(12) \quad \Phi(x) = -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \int_{-\infty}^x \left[\int_{-\infty}^{x'} q_{\text{tot}}(x'') dx'' \right] dx + C_1 x + C_2 = -\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \int_{-\infty}^x \left[\int_{-\infty}^{x'} q_{\text{tot}}(x'') dx'' \right] dx' + \left(\frac{1}{\epsilon_0 \epsilon} \sum_{i: (x_i < x)} \sigma_i \right) + C_2$$

ahol felhasználtuk, hogy $C_1=0$. A numerikus integrálást a trapéz-formulával végeztük el. A potenciál nullszintje tetszőleges, ezért azt tulajdonképpen tetszés szerint megválaszthatjuk.

Eredmények

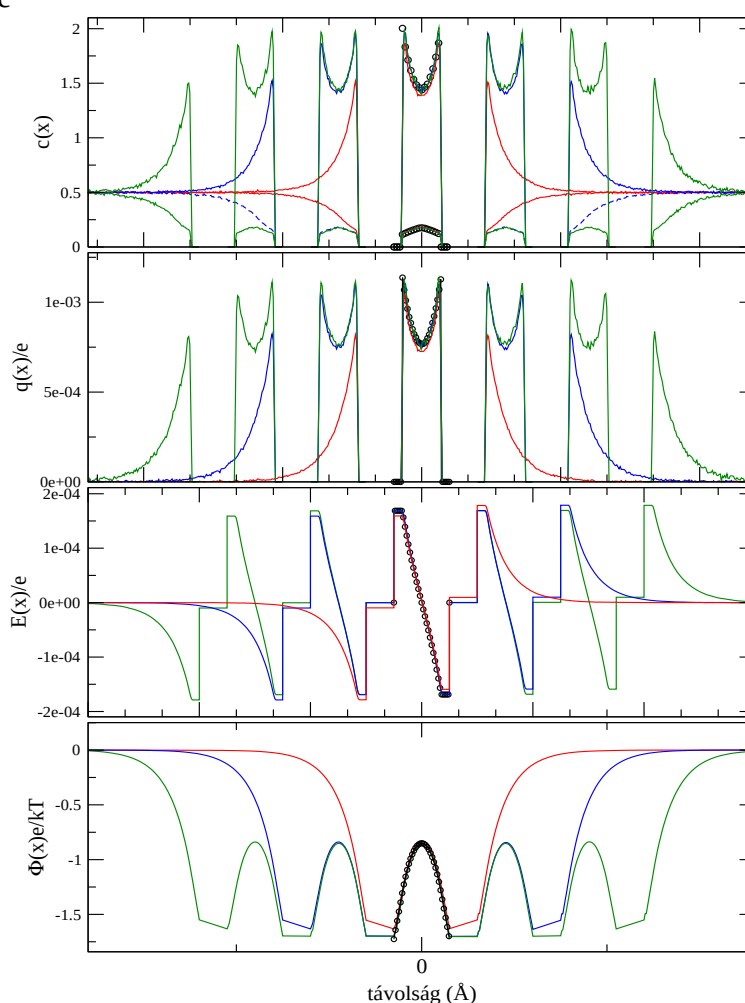
Minden szimulációnkhoz rögzített kémiai potenciált használtunk. Az első feladat ennek kiszámolása volt. A programunkban meg kellett adnunk a használt só anionjainak és kationjainak töltését (z_i), sugarát ($R_i=1,5$ Å kationra is és anionra is), tömbfázisbeli koncentrációját, ($c^{B,i}$ [c-vel jelöltük a só koncentrációját, ami ebben a dolgozatban megegyezett a kation koncentrációjával]) továbbá az oldószer dielektromos állandóját $\epsilon=78,4$ és a hőmérsékletét $T=298,15$ K. Munkánk során monovalens (töltés +1) kationt, és monovalens (töltés -1) aniont használunk, azaz 1:1 elektrolitot.

Az eredmények ábrázolásánál az alábbi struktúrájú ábrákat állítottuk fel (4 részes diagramm): ionok (anion és kation) koncentrációprofilja, $c_i(x)$ függvény (mértékegység: mol/dm³), töltésprofil, $q(x)/e$ függvény (mértékegység: Å⁻³),

elektromos térerősség profil, $E(x)/e$ függvény (mértékegység: $\text{\AA}^{-2}$), elektromos potenciálprofil, $e\Phi(x)/k_B T$ függvény (dimenzió nélküli). A szimulációs cella szélessége az y és z dimenziókban az 50-150 és 100-300 $\text{\AA}$ tartományban mozgott. Egy tipikus szimulációban a minta 10^8 , azaz százmillió konfigurációt tartalmazott, míg a lefutási időtartama 12-24 óra között változott.

A tömbfázisban az ionkoncentráció profilok a tömbfázisbeli állandó értékhez ($c^{B,i}$), a töltés-, a térerősség- és potenciálprofilok pedig nullához tartanak. Az is látható e

negatíván töltött membránokat semlegesítendő több kation fog adszorbeálódni a résekbe, mint anion (lévén a membrántöltés negatív). Ez a töltésprofilon is megmutatkozik. A töltésprofilon az is látható, hogy a résekben nagyobb a töltéssűrűség mint a résrendszer két oldalán elhelyezkedő kettősrétegekben, mivel a résekben kis helyre kell bezsúfolni a membrántöltés semlegesítéséhez szükséges ellenionokat, míg a tömbfázisban van hely hogy egy szélesebb "szétterpeszkedő" diffúzióréteg lássa el ezt a feladatot.



2 ábra Az eredmények függése a rések számától: $N_S=1$ tömbfázis nélkül – fekete karikák, $N_S=1$ tömbfázissal a két membrán két oldalán – piros vonal, $N_S=3$ – kék vonal, $N_S=5$ – zöld vonal. (1:1 elektrolit, $c=0.5$ M koncentráción, $L_S=5$ Å, $L_M=10$ Å, $\sigma_M = -0,05$ Cm $^{-2}$)

Ezen széles kettősrétegek miatt a résrendszerben az elektromos potenciál mélyebb lesz, mint a tömbfázisban. A tömbfázisban balról indulva a bal oldali

kettősrétegen áthaladva elér egy negatív értéket, ezután a réseken áthaladva fluktuáló viselkedést mutat, majd a jobb

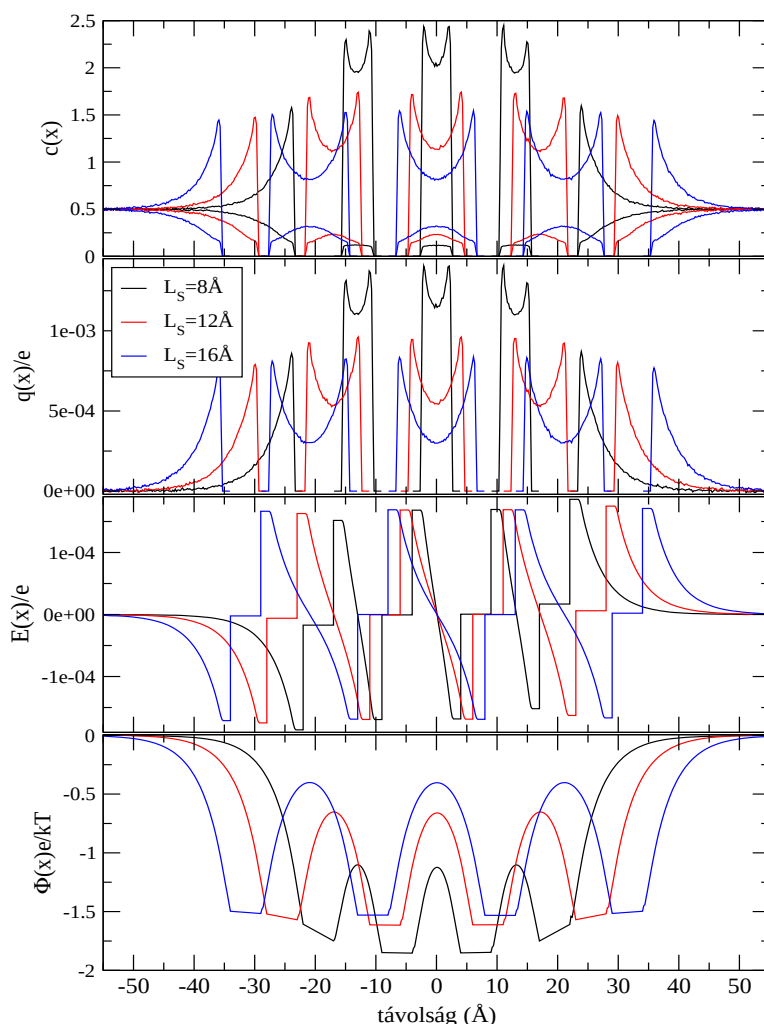
oldalon lévő kettősrétegen áthaladva visszatér a zérus értékhez.

Az elektromos térre vonatkozó profilt (ami a töltésprofil integráljának a mínusz egyszerese) szemlélve azt láthatjuk, hogy a membránokban a tér zérushoz közeli értékkel bír, tehát az ionokból és a falakból eredő töltés jó közelítéssel semlegesíti egymást. Az elektromos tér profiljának akkor van véges ugrása, amikor az integrállal áthaladunk egy töltött falon (9 egyenlet).

A rések számának hatása

Az irodalomban több tanulmány is foglalkozik egy különálló rés

tulajdonságaival, amely egy GCMC szimuláción keresztül egy virtuális tömbfázissal van egyensúlyban. Az erre az esetre vonatkozó szimulációink és azok értelmezése során felmerült az a probléma, hogy ha a réssel egyensúlyt tartó tömbfázis virtuális, akkor honnan tudjuk ennek a tömbfázisnak a potenciálját. Nem mindegy ugyanis, hogy a résbe belépő ionoknak milyen elektromos potenciálját kell legyőzniük, hogy a résbe adszorbeálódhassanak.



3 ábra A rés szélességének ($L_s=8 \text{ Å}$ - fekete vonal, $L_s=12 \text{ Å}$ - piros vonal, $L_s=16 \text{ Å}$ - kék vonal) hatása (1:1 elektrolit, $c=0.5 \text{ M}$ koncentráción, $N_s=3$, $L_M=5 \text{ Å}$, $\sigma_M=-0.05 \text{ Cm}^{-2}$).

A 2 ábrán körökkel jelöltük a magányos résre vonatkozó eredményeinket. Mivel nincs információnk a potenciál nullszintjéről, ezért azt önkényesen úgy toltuk el, hogy megegyezzen a többi szimuláció által adottal.

Ezután fokozatosan egyre több rést helyeztünk ezen központi rés mellé két oldalra. Látható, hogy ebben az esetben a rendszerben megjelenik egy jól definiált tömbfázis amihez képest a résben mért potenciált viszonyítani tudjuk. Ezért ez a potenciál az előbb említett okoknál fogva negatív. A résrendszer határfelületein tehát kialakulnak azok a kettősrétegek, amelyek ezt a potenciálesést produkálják, és amikről a magányos résre vonatkozó szimuláció nem ad számot. A valóságban egy ilyen résrendszert mindig elválaszt egy valós határfelület az elektrolittól, tehát a rést a környezetével együtt szimulálni elektromos szempontból egy jóval realisztikusabb modell.

A legszembetűnőbb eltérés az hogy a magányos résnél a töltésprofil egy csúcsot mutat a membrán fala mellett kontakthelyzetben, míg a többi résnél a töltés egy maximumot mutat, majd a falhoz közeledve csökken. Ez feltehetőleg a többi résben és elsősorban a külső kettősrétegekben felhalmozódott töltés taszító hatásának a következménye. Ez a taszító hatás világosan látható annál a szimulációnál, ahol egy rés két oldalán helyezkedik el a két tömbfázis (piros vonallal). Ekkor a kettősrétegek közel vannak, taszító hatásuk erősebb és a középső rést ezek a kettősrétegek kívülről semlegesítik. Ezáltal a résben kevesebb töltés fog felhalmozódni.

Ha további réseket adunk a rendszerhez, az eredményeink egyre inkább megközelítik a magányos résre vonatkozó

eredményeinket, mivel a külső kettősrétegek zavaró hatása jobban érvényesül a résrendszer határfelületéhez közelebbi résekben.

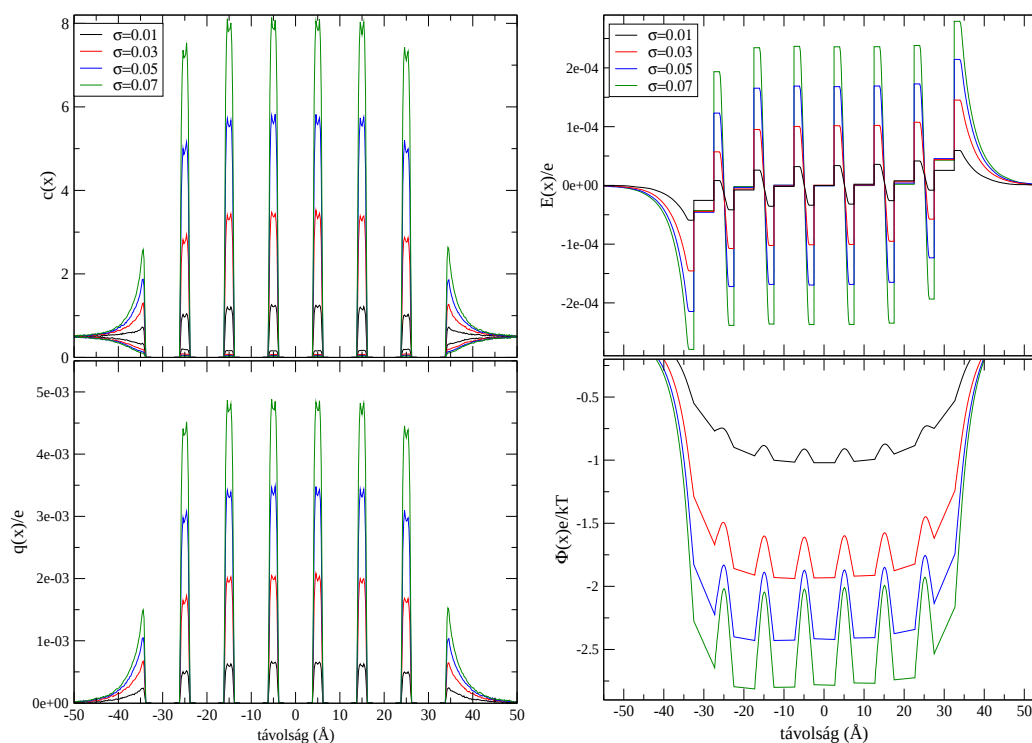
A rés szélességének hatása

Ha a rés elég széles, akkor a résen belül is kialakul egy tömbfázis és a rés két falánál kialakuló kettősréteg nem lapolódik át. Ekkor a rendszer független kettősrétegek sorozatának tekinthető. Ekkor a potenciál ezeken a kettősrétegeken keresztül haladva fluktuálna, de a membránokban és a résbeli tömbfázisokban mindig nulla lenne.

Ha azonban a rés elég keskeny (szélessége kisebb, mint az árnyékolási hossz az elektrolitban, ez tehát koncentrációfüggő) akkor a rés két falánál lévő két kettősréteg átlapolódik. Minél keskenyebb a rés, annál nagyobb problémát jelent az ellenionok számára, hogy a résben helyet találjanak maguknak a membrántöltés semlegesítése céljából.

Ekkor a rések helyett az ellenionok hajlamosabbak lesznek a külső kettősrétegekből semlegesíteni a membrántöltéseket. A résekben felborul a töltésemlegesség, a résrendszer polarizálódik, és potenciálja egyre mélyebb lesz ahogy az 3 ábrán látható.

Látható hogy a legszélesebb réshez tartozó kék görbe a rés közepén közeledik nullához. Az elektromos tér profilon az látszik hogy a legszűkebb réshez tartozó fekete színnel jelölt profil a szélső membránokban nem zérus, tehát a külső kettősrétegben többlettöltés van. A potenciálgödör tehát két hatás miatt is kialakul ebben az esetben: egyszer a réseknél szélesebb külső kettősréteg potenciálesése miatt, másrészt a külső kettősréteg és a rések közötti töltésszétválasztódás (polarizáció) miatt.



4 ábra A membrántöltés (σ_M , az ábrán a számok Cm^{-2} -ben értendőek) hatása. (1:1 elektrolit, $c=0.5 \text{ M}$ koncentráció, $N_S=6$, $L_S=5 \text{ Å}$, $L_M=5 \text{ Å}$)

A membrántöltés hatása 1:1 elektrolit esetén

A 4 ábra a membránok falain lévő töltések hatását érzékelteti. Minél nagyobb a semlegesítésre váró töltés a membránok falain, annál nagyobb a résekbe adszorbeált töltések mennyisége. Ekkor azonban a külső kettősrétegek is szélesebbek lesznek és több töltést tartalmaznak. Tehát a résrendszer potenciálgödre is egyre mélyebb lesz. Az elektromos térerősség profiljai azt mutatják, hogy nagyobb membrántöltés esetén a szélső kettősrétegek többlettöltése is növekszik. Ez onnan látható, hogy a szélső membránokban a térerősség egyre jobban különbözik zérustól. A membrántöltés növekedésével a résrendszer tehát egyre inkább távolodik a töltésemlegességtől: a rendszert “kívülről”, a rendszer határainál elhelyezkedő kettősrétegekben felhalmozódott töltéseknek kell semlegesíteni. A résrendszer potenciálja a membránok töltésétől láthatólag nem lineárisan függ. A résrendszer töltését növelve egy telítési görbéhez hasonló viselkedést mutat. Ezt a jelenséget már

individuális kettősrétegek esetében is megfigyelték (Boda és mtsai., 2002).

Összefoglalás

Egy réteges vagy pórusos rendszerbe adszorbeálódott elektrolit tulajdonságait vizsgálva óvatosan kell eljárunk, amennyiben a rendszer elektromos viszonyaira vagyunk kíváncsiak. Mivel az adszorbeálódó részecskék ionok, ezeknek le kell győzni egy elektromos potenciálgátat, hogy beléphessenek a rendszerbe. Ezért ebben az esetben korrektebb a rendszert az őt határoló tömbfázisokkal együtt vizsgálni. Ez az elektromos potenciálgát valójában része a többlet kémiai potenciálnak, de fizikai kémiában szokásos definiálni az elektrokémiai potenciált, amiben ez az elektromos potenciál explicite is megjelenik. Egy elszigetelt rés szimulációjából semmit sem tudunk meg erről a potenciálgátról, mert ezen potenciálgát forrása elsősorban a résen magán kívül keresendő

A legyőzendő potenciálgát nagysága elsősorban a rendszert határoló kettősrétegek szerkezetétől függ, de azt

találtuk, hogy ehhez még hozzáadódik egy a rendszer külső rétegeinek polarizációjából adódó potenciálkülönbség. Míg a rendszer belső rétegeiben az adszorbeálódó ionok hatékonyabban semlegesítik a membrántöltéseket, a rendszer külső, határfelületi rétegeiben az adszorbeálódó ionok csak részben végzik el ezt a feladatot, a külső kettősrétegben lévő töltés is hozzájárul ehhez a semlegesítéshez. Szemléletesen, ez a külső kettősréteg mintegy "behatol" a rendszer határfelületi rétegeibe.

Ez a polarizáció annál erősebb, minél problematikusabb az ionok számára a membrántöltések semlegesítése. Ez abban az esetben lép fel, ha nagy a membránpotenciál, vagy kicsi az ionkoncentráció.

További kutatási terveink között említhetjük a két kation szelektív versengését a résekben. Megvizsgálánk, hogy adott összetételű elektrolitelegyből melyik kation hajlamos inkább adszorbeálódni az anyagba. Egy érdekes továbblépési irány az, ahol az ionok adszorpciója a membrán belsejében is megengedett, természetesen kisebb valószínűséggel, mint a résben. Ezt egy konstans potenciálgáttal szabályoznánk hasonlóan Boda és mtsai szimulációihoz, akik egy membrán két oldalán vizsgálták az elektrolit viselkedését (Boda és mtsai., 1999, 2000).

Irodalomjegyzék

- Allen M. P., Tildesley D. J. (1987): *Computer Simulation of Liquids*. Oxford, New York.
- Boda D., Chan K. Y., Henderson D. (1998): Monte Carlo simulation of an ion-dipole mixture as a model of an electrical double layer. *J. Chem. Phys.* 109: 7362–7371.
- Boda D., Fawcett W. R., Henderson D., Sokolowski S. (2002): Monte Carlo, density functional theory, and Poisson-Boltzmann theory study of the structure of an electrolyte near an electrode. *J. Chem. Phys.* 116: 7170–7176.
- Boda D., Henderson D., Patrykiewicz A., Sokolowski S. (2000): Simulation and density functional study of a simple membrane. II. Solvent effects using the solvent primitive model. *J. Chem. Phys.* 113: 802–806.
- Boda D., Henderson D., Rowley R., Sokolowski S. (1999): Simulation and density functional study of a simple membrane separating two restricted primitive model electrolytes. *J. Chem. Phys.* 111: 9382–9388.
- Borowko M., Bucior K., Sokolowski S., Staszewski T. (2005): Adsorption of fluids in slitlike pores containing a small amount of mobile ions. *J. Coll. Interf. Sci.* 291: 223–228.
- Chapman D. L. (1913): A contribution to the theory of electrocapillarity. *Phil. Mag.* 25: 475.
- Delville A., Gasmi N., Pellenq R. J. M., Caillol J. M., Van Damme, Langmuir H. (1998): Correlations between the stability of charged interfaces and ionic exchange capacity : A monte carlo study. *J. Phys. Chem.* 14: 5077.
- Frenkel D., Smit B. (1996): *Understanding molecular simulations*. Academic Press, San Diego.
- Gouy G. (1910): Constitution of the electric charge at the surface of an electrolyte. *J. Phys.* 9: 457.
- Jönsson B., Wennerström H., Cabane B., Nonat A., Langmuir B. (2004a): Onset of cohesion in cement paste. *Phys. Chem.* 20: 6702.
- Jönsson B., Wennerström H., Labbez C., Nonat A., Cabane B., Langmuir B. (2004b): Controlling the cohesion of cement paste. *J. Phys. Chem.* 21: 9211.
- Patrykiewicz A., Pizio O., Sokolowski S. (2004): Demixing transitions in a binary Gaussian-core fluid confined in narrow slit-like pores. *Mol. Phys.* 102: 801–810.
- Pegado L., Jönsson B., Wennerström H. (2008): Like-charge attraction in a slit system: pressure components for the primitive model and molecular solvent simulations. *J. Phys.: Condens. Matt.* 20: 494235.
- Pizio O., Patrykiewicz A., Sokolowski S. (2005): Towards the description of the phase behavior of electrolyte solutions in slit-like pores. density functional approach for the restricted primitive model. *Condens. Matt. Phys.* 7:709–792.
- Pizio O., Patrykiewicz A., Sokolowski S. (2004): Phase behavior of ionic fluids in slitlike pores: A density functional approach for the restricted primitive model. *J. Chem. Phys.* 121:11957–11964.
- Pizio O., Sokolowski S. (2005): Phase behavior of the restricted primitive model of ionic fluids with association in slitlike pores. Density-functional approach. *J. Chem. Phys.* 122: 144707.

Stern O. (1924): Zur theorie der elektrolytischen Doppelschicht. Zeit. Elektrochemie 30: 508.

Valleau J. P., Cohen L. K. (1980): Primitive model electrolytes. 1. grand canonical Monte-Carlo computations. J. Chem. Phys. 72: 5935–5941.

Vincze J., Valiskó M., Boda D. (2010): The non-monotonic concentration dependence of the mean activity coefficient of electrolytes is a result of a balance between solvation and ion-ion correlations. J. Chem. Phys. 133: 154507.

Yu J., Aguilar-Pineda G. E., Antillon A., Dong S. H., Lozada-Cassou M. (2006): The effects of unequal ionic sizes for an electrolyte in a charged slit. J. Coll. Interf. Sci. 295: 124–134.

Netes források

www1:

http://hu.wikipedia.org/wiki/Szilik%C3%A1tok_%28%C3%A1sv%C3%A1nytan%29.

Az urbanizáció és a neofóbia kapcsolata házi verebeknél (*Passer domesticus*)

Lázár Diána

Témavezetők: Dr. Bókony Veronika, Dr. Liker András

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az urbanizáció, vagyis városiasodás napjaink egyik jelentős problémája, ami az emberlakta települések terjeszkedését és a meglévők korszerűsödését jelenti. Az urbanizáció új környezetet teremt a vadon élő állatok számára, amihez a különböző fajok különböző mértékben képesek alkalmazkodni. A sikeres urbanizáció egyik kulcsa a viselkedésbeli flexibilitás lehet (pl. új források kiaknázása, új veszélyek elkerülése). Egy korábbi vizsgálat azt találta, hogy a városi házi verebek nagyobb neofóbiát mutatnak, mint vidéken élő társaik. Ennek két oka lehet, egyrészt lehet egy egyedi szintű alkalmazkodás a környezethez: ha például a városi madarak több veszélyes tárggyal találkoztak életükben, akkor tanulás révén óvatosabbakká válhattak. Másrészt lehet egy genetikai adaptáció is: ha a városi környezetben az óvatosabb egyedeknek jobb a túlélése, akkor az óvatos viselkedés a természetes szelekció útján terjedhet a városi populációkban. Ennek tesztelésére egy „common garden” típusú eljárást alkalmaztam. Különböző élőhelyekről (2 városi, 2 vidéki) befogott madarak fiókáit közös helyen neveltük fel azonos körülmények között. Az így felnevelt madarakon neofóbia tesztekkel végeztem el, melyek során azt mértem, mekkora latenciával közelítik meg az új tárgyat és új táplálékot, és mennyi időt töltenek a közelében. Az eredményeim egyöntetűen azt mutatták, hogy az eredet nem befolyásolja a neofóbiát, azaz a vidéki illetve városi szülőpárok utódai nem különböztek az újdonságokra adott válaszukban. Ez arra utal, hogy a városi

madarak az urbanizált környezetben szerzett tapasztalat alapján lettek neofóbikusabbak, nem pedig genetikai adaptáció révén.

Bevezetés

Az urbanizáció, vagyis városiasodás napjaink egyik jelentős természetvédelmi problémája, ami az emberlakta települések terjeszkedését és a meglévők korszerűsödését jelenti. A folyamat a XX. században gyorsult fel (United Nations, 2008). A városokban élők száma háromszorosára nőtt 1950-től 2007-ig és ez a folyamat egyre gyorsuló ütemben zajlik. Természetesen a városi lélekszám növekedésével a városok által elfoglalt területek mérete is növekszik, sőt a városok mérete gyakran gyorsabban nő, mint a lakosságé (Marzluff és mtsai., 2001), mivel nemcsak lakóházak épülnek, hanem pl. üzletek, parkolók is. Ezáltal az ember egyre több természetes vagy természetközeli élőhelyet alakít át urbanizált területté, ami jelentős hatással van az élővilágra (Marzluff és mtsai., 2001, 2008).

Ahogy a városok egyre terjeszkednek, egyre több faj települ be és adaptálódik a városi élőhelyhez, vagy éppen kiszorul onnan (Shochat és mtsai., 2006). Ez a folyamat számos változást idéz elő az élőlényközösségek összetételében és az egyes fajok tulajdonságaiban is, többek között az állatok viselkedésében is (Ditchkoff és mtsai., 2006). Az átalakuló környezet kihívásaira ugyanis az állatok gyakran viselkedésük megváltoztatásával válaszolnak. Több madárfaj esetében ismert például, hogy a városi egyedek

gyorsan alkalmazkodnak az emberek közelségéhez. A legtöbb járókelő nem jelent valódi veszélyt a madarakra, viszont az előlük való állandó menekülés lehetetlenné tenné a megfelelő táplálkozást, ezért a városi rigók, verebek és szarkák jóval kisebb távolságra bevárják az embereket, mint a vidéki fajtársaik, akik ritkábban találkoznak környezetükben emberekkel (Marzluff és mtsai., 2001). A fekete medvék (*Ursus americanus*) egyes populációi a városi kukákból szerzik a táplálékukat, ami látványosan megváltoztatta az életciklusukat: nappal helyett éjszaka aktívak és jóval kevesebb ideig alszanak téli álmat, mint az erdei populációk (Beckmann és Berger, 2003). A széncinege (*Parus major*) magasabb frekvencián énekel az urbanizált területeken, mint természetes élőhelyeken, mert az alacsonyabb frekvenciájú mesterséges zajok a városban akadályozzák a hanggal történő kommunikációt (Slabbekoorn és Peet, 2003). A téli sármánypinty (*Junco hyemalis*) egy populációja a korai 1980-as években telepedett meg egy kaliforniai városban, és mára számos tulajdonságában megváltozott a természetes populációkhoz képest. Az eredeti élőhelyén a faj a földön fészkel, de a városi egyedek viszonylag nagy része (~20%) magasabb helyekre (bokrokra, fákra, épületekre) építi a fészket. Ennek a fészkelési módszernek nagy előnye van: azt állapították meg, hogy a nem földi fészkekben 80%-kal nagyobb az utódok túlélési esélye, mint a földi fészkekben (Yeh és mtsai., 2007). Ez azzal magyarázható, hogy a természetes élőhelyeken a magaslati fészkek vannak jobban kitéve a fészkepédátoroknak (mókusok, menyétfélék), a városokban viszont inkább a földön mozgó ragadozók jelentenek veszélyt a tojásokra és a fiókákra (pl. házi macskák, patkányok).

Számos elbeszélés és tudományos tanulmány szól tehát olyan fajokról, amelyek képesek kihasználni az új lehetőségeket a városokban, míg mások elkerülik ezt az új élőhelyet. Milyen

tulajdonságok szükségesek ahhoz, hogy a fajok sikeresek legyenek a városi környezetben? Az új vagy erősen változó élőhelyekhez való alkalmazkodás megköveteli az újfajta viselkedést, mint pl. a mesterséges fészkelőhelyek és a szokatlan táplálék, mint például az emberi szemét, elfogadását. A városi környezet nagyon változatos mind időben, mind térben, az ember akarva vagy akaratlanul folyamatosan új lehetőségeket vagy új kihívásokat állít az állatok elé, és ilyen környezetben előnyös lehet a flexibilis viselkedés, azaz pl. ha az egyedek kevésbé félnek az újdonságoktól illetve jobban érdeklődnek irántuk, vagy hajlamosabbak új viselkedésformákat kialakítani, például új táplálékszerzési technikákat „feltalálni”. Ez utóbbit szokás problémamegoldásnak vagy innovációnak nevezni, melynek a klasszikus példája az az eset, amikor az angliai cinegék megtanulták felnyitni a tejesüvegek tetejét (Reader és Laland, 2003). Az ilyen viselkedésbeli rugalmasság lehet az egyik kulcs az urbanizációs sikerhez.

Az új élőhelyeken való megtelepedés és elterjedés sikerében ezek a tulajdonságok fontos szerepet játszanak. Sol és mtsai. (2002) összehasonlító tanulmányában bizonyította, hogy az invazív madarak sokkal fogékonyabbak az újdonságokra: azok a fajok, amelyeknél gyakran figyeltek meg innovatív viselkedésformákat, sikerebben maradnak fenn és terjednek el szándékos vagy véletlen betelepedések során az új élőhelyeken. Martin és Fitzgerald (2005) egyéni neofóbia teszteket végzett házi verebeken, és kimutatták, hogy egy aktívan terjeszkedő (invazív) populációból származó egyedek kisebb neofóbiát mutattak: hamarabb közelítették és kóstolták meg az ismeretlen táplálékot, mint a rezidens populációból származók. Møller (2009) városi és vidéki madárfajok összehasonlításával azt találta, hogy az urbanizált fajoknál gyakrabban figyeltek meg innovatív viselkedésformákat (újfajta táplálkozási módokat). Mindezek alapján feltételezhető, hogy a flexibilis viselkedés

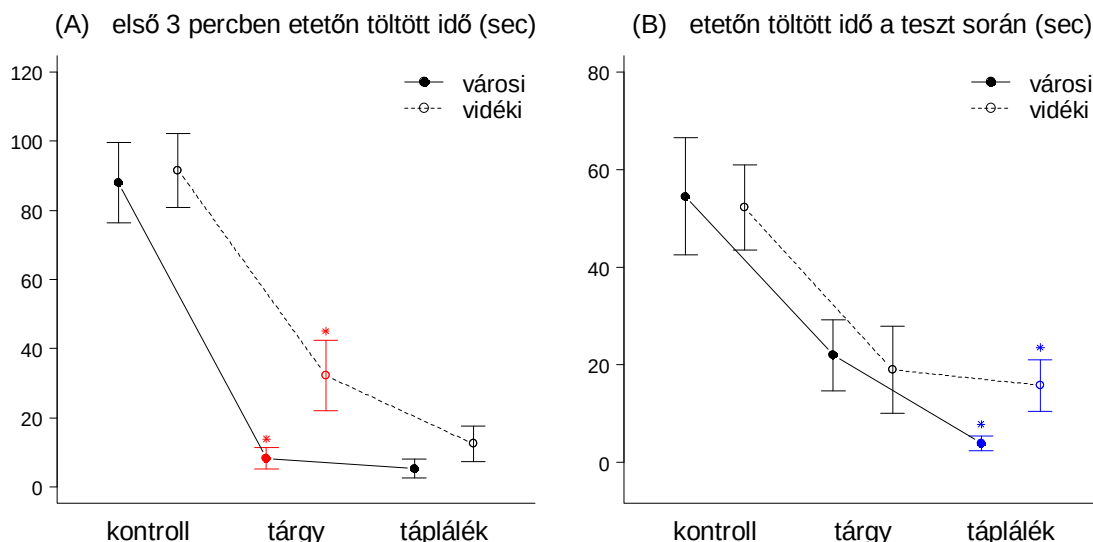
előnyös lehet az urbanizációhoz való alkalmazkodás során.

Ennek az elképzelésnek a tesztelésére a házi veréb ideális modell faj, mivel élőhelyek széles skáláját hódítja meg egészen a vidéki farmoktól az erősen urbanizált területekig, és sokféle táplálékforrást képes kiaknázni (Anderson, 2006); a madárfajok között viszonylag nagy számú agymérettel rendelkezik, és számos táplálkozási innovációja ismert (Sol és mtsai., 2002). Például egy újjeländi buszállomáson a házi verebek megtanulták, hogy ha a fotocellás ajtó érzékelője előtt lebegnek, akkor bejuthatnak a morzsákkal teli váróterembe (Breitwisch és Breitwisch, 1991). Úgy tűnik tehát, hogy az innovatív problémamegoldás a faj egyik fontos jellemzője. A házi verebek nem vándorló életmódot folytatnak és kis mozgáskörzeten belül élnek az életüket (Anderson, 2006), emiatt akár egymáshoz viszonylag közeli populációk is genetikailag izoláltak lehetnek (Fulgione és mtsai., 2000), ami elősegíti az alkalmazkodásukat a lokális környezethez. Mindezek alapján várható, hogy amennyiben az urbanizáció viselkedési flexibilitásra szelektál, akkor a városi és a vidéki verébpopulációk különböznek az újdonságokkal szembeni viselkedési válaszaikban.

Ezt a feltételezést tesztelték egy korábbi vizsgálatban Kulcsár és munkatársai (2009). Két városi és két vidéki élőhelyről fogtak be házi verebeket, és egyedi neofóbia tesztekben vizsgálták a reakcióikat az új tárgyakkal és ismeretlen táplálékkal szemben. Az éjszakai éhezést követő első reggeli etetéskor az „új tárgy” tesztben egy ismeretlen tárgyat helyeztek a maggal teli etető mellé, az „új táplálék”

tesztben pedig az etetőt egy ismeretlen táplálékkal töltötték meg magkeverék helyett. Azt találták, hogy a városi madarak szignifikánsan kevesebb időt töltöttek az újdonságok közelében, mint a vidékiek (1. ábra). Ez az eredmény meglepő, hiszen a változatos, új források kiaknázásához előnyösebbnek tűnik a kisebb neofóbia, azaz kisebb félelem az újdonságoktól. Ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy a neofób viselkedés nem zárja ki a neofíliát, azaz az újdonságok iránti érdeklődést vagy vonzódást: egy olyan környezetben, ahol az újdonságok gyakoriak, de veszélyesek lehetnek, ezek megközelítése során a kezdeti óvatosság előnyös lehet (Echeverría és Vassallo, 2008).

Ez az eredmény felveti azt a kérdést, hogy mi az oka a városi és vidéki madarak viselkedésében talált különbségnek. Vizsgálatom célja ennek a megválaszolása volt. Ha a városi madarak több veszélyes tárggyal vagy mérgező táplálékkal találkoznak, akkor egyedi tanulás révén neofóbikusabbá válhatnak életük során. Ugyanakkor, ha a városi környezetben az óvatosabb egyedeknek jobb a túlélése, akkor a neofóbia természetes szelekció útján terjedhet a városi populációkban, ami genetikai elkülönüléshez vezethet a városi és vidéki populációk viselkedésében. Ennek tesztelésére azonos körülmények között felnevelt, városi illetve vidéki szülőktől származó madarak neofóbiáját hasonlítottam össze. Váramozásom, hogy ha a városi verebek nagyobb neofóbiája genetikai adaptáció eredménye, akkor a városi szülők utódai neofóbikusabbak lesznek akkor is, ha olyan környezetben nevelkednek fel, ahol ugyanannyi újdonsággal találkoznak, mint a vidéki szülők utódai.



1. ábra Vadon befogott házi verebek viselkedése neofóbia tesztekben (Kulcsár és mtsai., 2009). A városi madarak az „új tárgy” tesztben az etető első megközelítését követő 3 percben kevesebb időt töltöttek az etetőn (A ábra; $p=0.031$), az „új táplálék” teszt során pedig összességében kevesebb időt töltöttek az etetőn, mint a vidékiek (B ábra; $p=0.019$).

Anyag és módszerek

Az elővizsgálat során tesztelt madarakat 2007-ben fogták be 2 városi (Budapest, Veszprém) és 2 vidéki (Üllő-Dóramajor, Nemesvámos) élőhelyről, majd 2007-2008-ban hajtották végre rajtuk a neofóbiateszteket. 2008 márciusában a hatvan madárból 20 hím és 20 tojót megtartottak, a többit elengedték a befogás helyén. A megtartott madarak kiválasztása véletlenszerűen történt azzal a kitételrel, hogy egyenlő arányban legyenek városi és vidéki madarak. Négy szaporodó csapatot hoztak létre, csapatonként 5 hím és 5 tojót helyeztek 3m×4m×3m méretű kültéri röpdébe a veszprémi állatkert területén (2 városi, 2 vidéki csapat). A madarak azonos körülmények között voltak tartva, mindegyik röpdé tartalmazott bokrokat és fészekodúkat. A madarak két évben, 2008 és 2009 között szaporodhattak. Elláttuk őket bőségesen fészekanyaggal (széna, tyúktoll) és táplálékkal (magkeverék). A fiókák etetéséhez lisztkekacot és légylárvát kaptak, ezt időnként kiegészítettük főtt tojással, macskaeledellel, almával és répával. Szabályos időközönként megfigyeztük a madarakat a szaporodási időszakokban (márciustól augusztusig mindkét évben). Egyrészt a röpdé falához

épített megfigyelőbódékból, egyirányban átlátszó ablakon keresztül állapítottuk meg a színes gyűrűkkel egyedileg azonosított madarak szaporodási státuszát (párok és fészkeik azonosítása). Másrészt a fészkeket ellenőriztük hetente legalább kétszer, és megszámláltuk, mennyi tojás és mennyi fióká volt bennük. A kikelt fiókákat a 9-11. napon meggyűrűztük, és lemértük a súlyukat. Szeptemberig együtt maradtak a fiókák a szüleikkel, míg teljesen önállóak nem lettek. Ezután a másik, ugyanolyan élőhelyi származású madarakat tartalmazó csapatba kerültek át, hogy később ne szaporodhassanak a szüleikkel. A 2008-ban életben maradt fiatal madarak (4 hím, 3 tojó) részt vehettek a 2009-es szaporodásban. 2010 tavaszán az összes madarat szabadon engedték. A madarak befogását és tartását a Balatoni-felvidéki Nemzeti Park engedélyezte (engedélyszám: 2255/2008).

A neofóbia tesztek 2008 és 2009 őszén végeztem, a szülőmadarakon alkalmazott protokollt követve (Kulcsár és mtsai., 2009). Egy hétig tartó tesztperiódusokban (turnusokban) egyidejűleg 3-4 egyedet teszteltem. A fiókák a kikelésük (gyűrűzésük) sorrendjében kerültek sorra, hogy a

vedlésen túl legyenek. Egy turnusba lehetőleg azonos ivarú madarakat választottunk, és minden turnusban volt városi és vidéki eredetű egyed is. A turnus kezdetén (pénteken) befogtuk a választott madarakat a röpdékből, lemértük a súlyukat, és mindegyiküket egy külön kalitkába helyeztük egy beltéri madárházban. Mindegyik kalitka tartalmazott egy etető tálat, egy vizes tálat, ülőrudakat és egy búvóhelyet. A 4 ketrec 2008-ban 2 polcon volt elhelyezve, egymás fölött 2 oszlopban, 2009-ben pedig egymás mellett egyetlen polcon. A madarak nem látták, de hallották egymást (a kalitkákat műanyag lapokkal választottuk el). A ketrecekben való elhelyezés után a madarak 2 napig zavartalanul lehettek, kaptak elegendő kölest, búzát, vizet. A következő 3 napban (hétfő-szerda) került sor a viselkedési tesztekre, amelyek során a madarak reggel 8-tól délután 4-ig férhettek hozzá a táplálékhoz, és minden reggel az éjszakai éhezést követő első etetéskor, 8-tól 9-ig figyeltük őket különböző tesztszituációkban egy egyirányú ablakon át, illetve videokamera is rögzítette az egyórás tesztet. A tesztek menete a következő volt:

1. nap (kontroll): Miután a videót bekapcsoltam, a megszokott magkeveréket tartalmazó etetőket a kalitkába raktam, majd elbújtam a megfigyelő ajtó mögé és egy óráig figyeltem a madarak viselkedését.

2. nap (új tárgy teszt): A megfigyelés elején egy új tárgyat (színes teniszlabdát) helyeztem az etető tál mellé. Az egy órás figyelés után kivettem a tárgyakat és a madarak 4-ig zavartalanul ehettek.

3. nap (új táplálék teszt): A madarak új táplálékot (reszelt sajtot) kaptak a megfigyelés elején a megszokott magkeverék helyett. Az egyórás megfigyelés után a táplálékot a megszokottra cseréltem. A tesztek végeztével a madarakat visszaengedtük a röpdébe.

Az első évben (2008) célunk volt az is, hogy megvizsgáljuk a tesztek ismételhetőségét, ezért az első tesztsorozat után 4 héttel minden egyeden megismételtük a protokollt. A minta méretének növelése érdekében a 11 röpdében nevelkedett fiatal mellett két öreg röpdés szülőmadarat és két, az állatkerti szabad populációból származó, de ember által kézzel nevelt fiataalt is bevontunk a 2008-as tesztekbe. A 11 röpdés fiatal közül egy elpusztult a két tesztsorozat között, ezért az ismételhetőség vizsgálatához összesen 14 egyedről lett adat. A második évben (2009) a 10 azévi fiataalt teszteltük, és az előző évben kelt madarakból életben maradt 7 másodéves egyedet is újra teszteltük.

A videofelvételekről 4 változót mértem az egyedek neofóbiájának jellemzésére:

1. Az etető első megközelítéséig eltelt idő (sec): a teszt kezdetétől (attól a pillanattól, amikor elbújtam a megfigyelő ajtó mögött) az első olyan időpontig, amikor a madár az etetőre vagy közvetlenül az etető mellé ment. Abban az esetben, ha a madár a teljes teszt során nem ment az etetőre, maximális latenciát kapott (3600 másodperc = 60 perc).

2. Az első evésig eltelt idő: az előzőhöz hasonlóan, az első olyan időpontig, amikor a madár csippentett az etetőjéből. Az eltelt időket latenciának nevezem a továbbiakban.

3. Az etetőn töltött idő (sec) a táplálék első megközelítése utáni 3 percben (ezzel mérjük a kezdeti óvatosságot).

4. A teszt során etetőn töltött idő (sec) a 60 perces felvételtől 10 percenként egy-egy véletlenszerűen választott egy perc során (ezzel becsüljük a teljes teszt során az etetőn töltött időt, mivel a teljes 60 perc elemzése túl időigényes lenne).

Először Kendall-féle nemparaméteres korrelációkkal vizsgáltam, hogy a madarak viselkedése konzisztens-e a tesztekben, tehát ha egy egyed óvatosabb a többiekénél az első tesztjében, akkor az ismételt

tesztben is óvatosabb marad-e (azaz a tesztek ismételhetőek-e). Ezután páros tesztekkel hasonlítottam össze az egyedek kontroll és neofóbia tesztekben mért változóit, azaz hogy volt-e hatása az újdonságok jelenlétének a madarak viselkedésére a kontroll szituációhoz képest (ehhez a 2008-as ismételt tesztek adatait nem használtam). Végül összehasonlítottam a városi és vidéki eredetű röpdés madarak neofóbia-változóit. Kevert lineáris modelleket (LME) használtam, amelyekbe random faktorként bevettem az egyedek azonosítóját (gyűrűszámát), ezáltal minden egyed minden adatát figyelembe tudtam venni ismételt mérésekként. A kiindulási modellekbe a következő potenciális magyarázó változókat vettem be: a kontroll tesztben mért változó (latencia vagy etetén töltött idő), a befogáskori súly, ivar, kor (első- vagy másodéves), év (2008 vagy 2009), a kalitka pozíciója, sorrend (hányadik turnusban került sorra az egyed), ismétlés (első vagy ismételt tesztje-e az adott egyednek), és az eredet (városi vagy vidéki szülőpár utóda-e). Ezután lépésenként kizártam a nem szignifikáns ($p > 0.05$) változókat, de a random faktort, a kontroll tesztben mért változót és az eredetet mindig a modellben tartottam. Az elemzéseket az **R** statisztikai programmal végeztem. Az eredményeket átlag $\pm$ SE

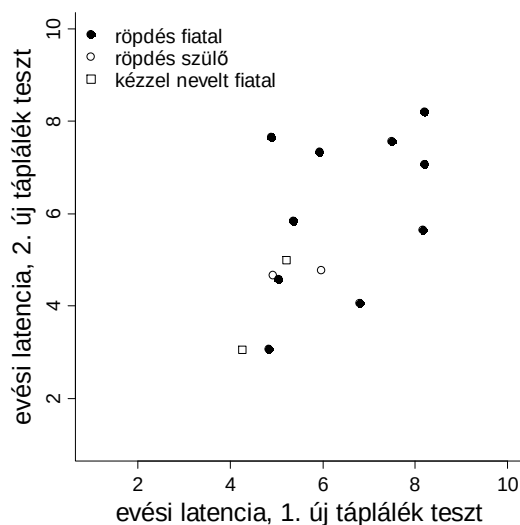
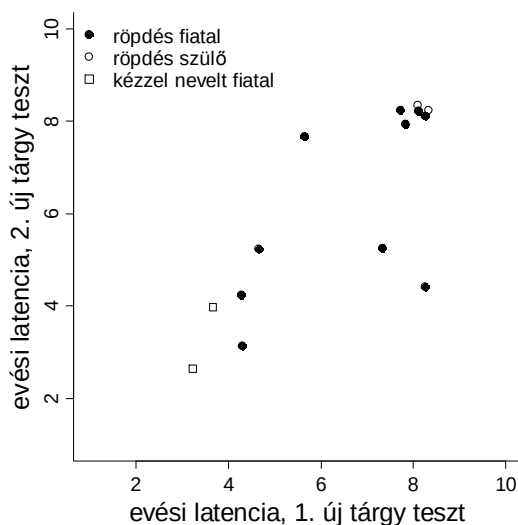
formában mutatom be, valamint a tesztek kétoldali p-értékeit adom meg.

Eredmények

A Kendall-korrelációk során a legtöbb változóra azt az eredményt kaptam, hogy a madarak viselkedése konzisztens a tesztekben, mivel az első alkalommal mért változók (latenciák, etetén töltött idők) szignifikánsan pozitívan korreláltak a 4 hét múlva megismételt tesztekben mértekkel (1. táblázat, 2. ábra). Csak a kontroll és az új táplálék tesztben mért etetén töltött idők nem voltak konzisztensek az egyedeken belül, de utóbbiról meg kell jegyezni, hogy egy videofelvétel hiánya miatt a mintaszám 3 egyeddel kevesebb.

1. táblázat Kendall-korrelációk az első és az ismételt tesztben mért változók között (2008, n=14 madár; *az új táplálék tesztben az etetén töltött időkre n=11 madár).

	Tau	p
Kontroll teszt:		
közelítési latencia	0,398	0,048
evési latencia	0,412	0,046
első 3 percben az etetén töltött idő	0,022	0,912
teszt során az etetén töltött idő	0,110	0,583
Új tárgy teszt		
közelítési latencia	0,723	0,001
evési latencia	0,753	<0,001
első 3 percben az etetén töltött idő	0,469	0,029
teszt során az etetén töltött idő	0,740	<0,001
Új táplálék teszt		
közelítési latencia	0,575	0,004
evési latencia	0,398	0,048
első 3 percben az etetén töltött idő*	0,411	0,083
teszt során az etetén töltött idő*	-0,163	0,542

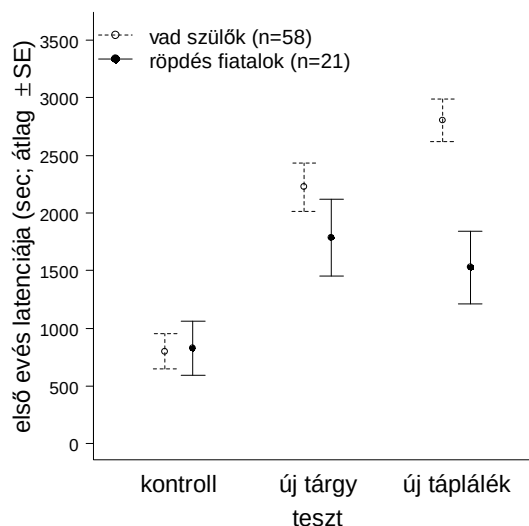


2. ábra Az ismételt teszteredmények közötti korrelációk (a tengelyeken az első évés latenciáinak természetes alapú logaritmus van feltüntetve).

A páros tesztek azt mutatták, hogy az új tárgy tesztben a madarak szignifikánsan később közelítették meg az etetőt, később kezdtek enni, és kevesebb időt töltöttek az etetőn, mint a kontroll tesztben (2. táblázat, 3. ábra). Hasonló tendencia volt megfigyelhető az új táplálék tesztben is, bár ez nem minden változóra volt statisztikailag szignifikáns (2. táblázat, 3. ábra), azonban itt is fontos megemlíteni, hogy az egyik videófelvétel nem sikerült, ezért az új táplálék tesztben az etetőn töltött időt 3 egyed esetében nem tudtam megmérni.

2. táblázat Az új tárgy és az új táplálék hatása a madarak viselkedésére a kontroll teszthez képest (2008 és 2009 első tesztjei; páros t-próba és előjelpróba).

	t-próba			előjelpróba
	t	df	p	p
Új tárgy teszt				
közelítési	4,135	31	<0,001	<0,001
latencia				
evési latencia	4,325	31	<0,001	<0,001
első 3 percben az	-3,157	31	0,003	<0,001
etetőn töltött idő				
teszt során az	-1,391	31	0,174	0,035
etetőn töltött idő				
Új táplálék teszt				
közelítési	0,295	31	0,769	0,473
latencia				
evési latencia	2,403	31	0,022	0,070
első 3 percben az	-3,940	28	<0,001	0,035
etetőn töltött idő				
teszt során az	1,339	28	0,191	0,326
etetőn töltött idő				



3. ábra A röpdés madarak evési latenciája a tesztekben.

A többváltozós elemzések egyöntetűen azt mutatták, hogy nincs különbség a városi és a vidéki szülőpárok utódai között sem tárgy-, sem táplálék-neofóbiában (3. táblázat): az eredet hatása sem a kezdeti, sem a végső modellekben nem volt szignifikáns. A vizsgált potenciális magyarázó változók egyike sem befolyásolta szignifikánsan a madarak viselkedését, csak az adott változónak a kontroll tesztben mért értéke (3. táblázat).

3. táblázat A neofóbiatesztekben mért változókat potenciálisan befolyásoló tényezők végső LME modelljei (minden egyed minden mért adata; 12 városi és 9 vidéki eredetű madár).

	β	SE_{β}	df	t	p
A) Új tárgy teszt					
1. Megközelítési latencia					
Intercept	4.4	0.8	19	5.5	<0.001
Kontroll közelítési latencia	0.4	0.1	16	3.5	0.003
Eredet	-0.5	0.6	19	-0.7	0.478
2. Evési latencia					
Intercept	1308.3	341.7	19	3.8	0.001
Kontroll evési latencia	0.7	0.2	16	4.2	0.007
Eredet	-423.7	470.3	19	-0.9	0.378
3. Etetőn töltött idő az első 3 percben					
Intercept	-427.4	120.1	19	-3.6	0.002
Kontroll tesztben etetőn töltött idő	0.4	0.1	15	4.0	0.001
Súly	16.0	4.3	15	3.7	0.002
Eredet	30.0	19.4	19	1.6	0.137
4. Etetőn töltött idő a teszt során					
Intercept	10.1	10.6	19	0.9	0.354
Kontroll tesztben etetőn töltött idő	0.1	0.1	16	1.8	0.096
Eredet	25.9	15.2	19	1.7	0.105
B) Új táplálék teszt					
1. Megközelítési latencia					
Intercept	284.9	268.1	19	1.1	0.301
Kontroll közelítési latencia	0.7	0.1	16	5.1	<0.001
Eredet	154.5	373.5	19	0.4	0.583
2. Evési latencia					
Intercept	854.8	359.9	19	2.4	0.028
Kontroll evési latencia	0.5	0.2	16	2.7	0.017
Eredet	401.6	502.4	19	0.8	0.434
3. Etetőn töltött idő az első 3 percben					
Intercept	-2.6	20.3	19	-0.1	0.900
Kontroll tesztben etetőn töltött idő	0.3	0.1	12	2.4	0.034
Ismétlés	65.5	17.0	12	3.8	0.002
Eredet	-15.9	21.0	19	-0.8	0.457
4. Etetőn töltött idő a teszt során					
Intercept	1.9	0.7	19	2.6	0.017
Kontroll tesztben etetőn töltött idő	0.3	0.2	13	1.7	0.121
Eredet	-0.4	0.6	19	-0.7	0.486

Diszkusszió

Vizsgálatomban két éven keresztül sikerült fogságban szaporítani a vadon befogott házi verebeket. A különböző mértékben urbanizált élőhelyekről befogott szülőktől származó, de azonos környezetben felnevelkedett fiatal madarak neofóbia-vizsgálata során kiderült, hogy a városi és vidéki eredetű egyedek semmilyen szempontból nem különböztek a tárgy- és táplálék-neofóbia mértékében, minden elemzés egybehangzóan ezt mutatta. Ez arra utal, hogy a szüleiknél megfigyelt különbség, miszerint a városi madarak bizonyos szempontokból neofóbikusabbak voltak a vidékieknél, nem a populációk közötti genetikai elkülönülés, hanem az egyedfejlődés során tapasztalt környezeti különbségek eredménye. Bár a sajnálatosan magas fiókapusztulás miatt vizsgálatomat csak kis mintán (21 röpdés fiókán) tudtam elvégezni, a neofóbia tesztek sikeresek voltak abban az értelemben, hogy a tesztek eredménye jól ismételtető volt, azaz a madaraknak valamilyen egyedileg konzisztens viselkedését sikerült a tesztek során számszerűsíteni: amelyik egyed az első teszt sorozatban óvatos volt a többiekhez képest, az a másodikban is az volt. Továbbá a tesztek során használt új tárgy illetve táplálék a vártnak megfelelő szignifikáns változásokat idéztek elő a madarak viselkedésében: később közelítették meg és kevesebb időt töltöttek az etetőn az újdonságok jelenlétében, mint a kontroll tesztben, tehát sikerült neofóbia-válaszokat kiváltani. Ezek alapján úgy gondolom, hogy a tesztek elég hatékonyak voltak ahhoz, hogy különbségeket mutathassanak ki a vizsgált csoportok között. Ezért az, hogy nem találtam különbséget a városi és a vidéki eredetű röpdés fiókák között egyik neofóbia-változóban sem, azt mutatja, hogy az újdonságokkal szembeni reakciókat elsősorban az aktuális környezeti körülmények határozzák meg, és kevésbé a genetikai tényezők. Két további eredményem is alátámasztja ezt. Egyrészt,

ahogy a 6. ábráról látható, a rödpében felnevelkedett madarak neofóbiája kisebb volt, mint a szabadban felnőtt szüleiké, feltehetőleg azért, mert a röpdés fiókák számára kevésbé lehetett szokatlan a teniszlabda és a reszelt sajt, mivel egyedfejlődésük során ezekhez hasonló tárgyak és táplálékok (pl. reszelt alma-répa, macskaeledel, műanyag etetők) is jelen voltak a környezetükben. (Érdemes megfigyelni, hogy ugyanakkor a kontroll tesztben a szülők és fiókáik hasonló latenciákat produkáltak, tehát a neofóbiájukban vélhetően nem pusztán amiatt találtam különbséget, hogy az emberi zavarásra vagy a tesztkörnyezetre eltérő mértékben lettek volna érzékenyek.) Másrészt, ahogy az 5. ábráról leolvasható, az ember által kézzel felnevelt madarak mind az új tárgy, mind az új táplálék tesztekben nagyon alacsony neofóbiát mutattak, valószínűleg azért, mert az emberi környezetben felnőtt egyedek nagyon sokféle újdonsághoz „szokhattak hozzá” életük során. Eredményeim tehát egybecsengenek korábbi, más madárfajokon végzett neofóbia-kísérletekkel, amelyek azt mutatták, hogy a kirepülés utáni időszakban szerzett korai tapasztalatok nagyon fontosak a neofóbia alakulásában, pl. ha az egyed komplex környezetben nevelkedik, akkor neofóbiája csökken, egyszerű és kiszámítható környezetben viszont nő (Greenberg, 2003).

Felvetődik az a kérdés hogy ezek az eredmények mennyire általánosíthatók, mennyire jellemzőek az összes többi szabadon élő madárra. Ebben a vizsgálatban 2 városi és 2 vidéki populációból származtak a szülők, és latenciáikban nem, csak az etetőn töltött idejükben mutattak különbséget a neofóbia tesztekben (1. ábra; Kulcsár és mtsai., 2009). Azóta több más tanulmány is megjelent, amelyekben neofóbia tesztek végeztek különböző urbanizáltságú házi verebeken. Az egyik ilyen vizsgálatban vidéki és városi csapatok problémamegoldó képességét és tárgy-

neofóbiáját hasonlították össze fogságban (Liker és Bókony, 2009). Az új tárgy itt is neofóbikus viselkedést váltott ki a csapatoknál, amit az etetőre történő érkezés átlagosan kb. 15 perccel hosszabb latenciája mutatott, azonban ez a latencia nem különbözött a városi és vidéki csapatok között (az új tárgy közelében töltött időt viszont nem mérték). Ugyanakkor a városi csapatok jobban boldogultak az új táplálékszerzési feladat megoldásával, mint a vidéki csapatok: gyorsabban nyitották ki az etető nyílásait lezáró fedeleket, és a teszt során összességében több fedőt nyitottak ki. Ez utóbbi eredmény összhangban van azzal a hipotézissel, miszerint a viselkedésbeli flexibilitás és az új viselkedésformák fontosak lehetnek a városi környezethez történő sikeres adaptációban (Sol és mtsai., 2002, Shochat és mtsai., 2006).

Egy másik vizsgálat sorozatot szabadon élő madarakon végeztek Argentínában. Az első vizsgálatuk helyszíne egy falusi terület volt, ahol különböző fajok neofóbiáját figyelték meg madáretetőkön. A tesztekben az etető köré 6 egyforma új tárgyat helyeztek el. Azt találták, hogy a vizsgált 8 faj közül a házi verebek mutatták a legnagyobb neofóbiát: míg a kontroll tesztekben jellemzően másodikként érkeztek az etetőre, a neofobia tesztekben (amikor az új tárgyak az etetőn voltak) csak 4-5-ikként; az új tárgyak jelenlétében érkezési latenciájuk 290%-kal nőtt, az etetőn tartózkodási idejük 60%-kal csökkent, és a közelben tartózkodó egyedek közül az etetőre látogatók aránya 78%-kal alacsonyabb volt, mint a kontroll tesztekben (Echeverría és mtsai., 2006). Ezt a vizsgálatot 2 évvel később megismételték egy sűrűn lakott városban, bár a protokoll nem volt teljesen ugyanaz, mivel itt már csak 1 db új tárgyat helyeztek el a madáretető közelében. A madarak itt is szignifikáns neofóbiát mutattak. Az előző vizsgálattal összehasonlítva azt találták, hogy a városi és a falusi verebek nem különböztek sem az etetőre érkezési latenciában, sem az etetőn töltött időben,

viszont a közelben tartózkodó madarak közül az etetőre látogatók aránya kisebb volt a városban, mint vidéken. Ebből a szerzők azt a következtetést vonták le, hogy a verebek óvatosabbak az urbanizáltabb környezetben, valószínűleg azért, mert ez a környezet komplexebb és veszélyesebb, mint a természetközeli élőhelyek (Echeverría és Vassallo, 2008).

Összegezve az eddigi tanulmányok és saját munkám eredményeit, úgy tűnik, hogy a városi populációk legalábbis bizonyos változókból óvatosabbak az újdonságokkal szemben, mint a vidékiek, de ez a különbség nem genetikai szintű alkalmazkodásból adódik, hanem valószínűleg az adott környezeti körülményekre adott flexibilis viselkedési válasz. Tehát az egyedek a változatos városi környezetben úgy tudnak életben maradni, vagy úgy tudják a környezet adta lehetőségeket kiaknázni, ha tanulás révén neofóbakká válnak. Az ember közelségében élő fajok ugyanis gyakran vonzódnak az újdonságokhoz úgy, hogy kezdetben nagyon óvatosak, ami feltehetőleg védelmet jelent számukra az olyan környezetben, ahol az ismeretlen dolgok egy része veszélyes lehet (Greenberg, 2003).

Eredményeim egy további érdekessége, hogy a tesztek során észlelt konzisztencia az egyedek viselkedésében arra utal, hogy a neofobia egy személyiségjegy lehet a verebeknél. A személyiségjegyek egy egyszerű definíció szerint öröklődő, viszonylag állandó viselkedési jellemzők, amelyek az egyed élete során különböző szituációkban konzisztensen nyilvánulnak meg (Réale és mtsai., 2007). Vizsgálatomban például a kezdetben félénkebb egyedek a későbbi tesztekben is a többiekhez képest félénkebb bizonyultak, pedig az újdonságok mindannyiuk számára egyformán ismeretlennek számítottak. Ilyen viselkedési tendenciák a természetben is előfordulnak, és jelentős szerepük lehet az állatok életében (Réale és mtsai., 2007). Például széncinegéknek a

kevésbé neofób, exploratívabb szülők fiókái nagyobb távolságokra jutnak el a kirepülés utáni elvándorlás során (Dingemanse és mtsai., 2003). További vizsgálatokkal érdemes lenne kideríteni, hogy az újdonságokkal szembeni reakció a házi verebeknél is személyiségjegynek tekinthető-e, és hogy ennek milyen következményei lehetnek a vadon élő madarak fitnessze szempontjából.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani szakmai segítségéért témavezetőimnek, Dr. Bókony Veronikának és Dr. Liker Andrásnak. A Pannon Egyetem Ornitológiai Csoportjának munkatársa, Seress Gábor, és hallgatótársaim, Kanizsai Barbara, Balázs Viktória és Gulyás Polett segítettek a röpdés madarak befogásában, gondozásában és az adatok gyűjtésében. Külön köszönöm segítségét Kanizsai Barbarának, akivel a videófelvételek egy részét együtt elemeztük, és Tapolczai Kálmánnak, aki az angol szöveg fordításának nehézségeiben nyújtott támaszt, valamint a veszprémi Kittenberger Kálmán Növény- és Vadaspark igazgatójának, Török Lászlónak és dolgozóinak, amiért lehetővé tették számunkra az állatkert területén végzett vizsgálatokat. A kutatást az OTKA (K72827 sz. pályázat), az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

Anderson T. R. (2006): Biology of the ubiquitous house sparrow: from genes to population. Oxford University Press.

Breitwisch R., Breitwisch M. (1991): House Sparrows open an automatic door. Wilson Bulletin 103: 725-726.

De Laet, J., Summers-Smith J. D. (2007): The status of the urban house sparrow *Passer domesticus* in north-western Europe: a review. Journal of Ornithology 148: 5275-5278.

Dingemanse N. J., Both C., van Noordwijk A. J., Rutten A. L., Drent P. J. (2003): Natal dispersal and personalities in great tits (*Parus major*). Proceedings of The Royal Society London B 270: 741-747.

Ditchkoff S. S., Saalfeld S. T., Gibson C. J. (2006): Animal behavior in urban ecosystems: Modifications due to human-induced stress. Urban Ecosystems 9: 5-12.

Echeverría A. I., Vassallo A. I. (2008): Novelty responses in a bird assemblage inhabiting an urban area. Ethology 114: 616-624.

Echeverría A. I., Vassallo A. I., Isacch J. P. (2008): Experimental analysis of novelty responses in a bird assemblage inhabiting a suburban marsh. Canadian Journal of Zoology 84: 974-980.

Fulgione D., Procaccini G., Milone M. (2000): Urbanisation and the genetic structure of *Passer italiae* (Vieillot 1817) populations in the South of Italy. Ethology Ecology és Evolution 12: 123-130.

Greenberg R. (2003): The role of neophobia and neophilia in the development of innovative behaviour of birds. In: Animal Innovation (Reader S. M. és Laland K. N. szerk.), Oxford University Press.

Kulcsár A., Bókony V., Liker A., Tóth Z. (2009): Neophobia and risk-taking of urban and rural house sparrows (*Passer domesticus*). Előadás. 10th Behavioural Ecology Meeting: Cooperation in Animal Societies, Kolozsvár, Románia.

Liker A., Bókony V. (2009): Large groups are more successful in innovative problem solving in house sparrows. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 106: 7893-7898.

Martin L. B. II, Fitzgerald L. (2005): A taste for novelty in invading house sparrows (*Passer domesticus*). Behavioral Ecology 6: 702-707.

Marzluff J. M., Bowman R., McGowan R., Donnelly R. (2001): Avian ecology and conservation in an urbanizing world. Kluwer Academic Publishers.

Marzluff J. M., Shulenberg E., Endlicher W., Alberti M., Bradley G., Ryan C., ZumBrunner C., Simon U. (2008): Urban ecology: an international perspective on the interaction between humans and nature. Springer.

Møller A. P. (2009): Successful city dwellers: a comparative study of the ecological characteristics of urban birds in the Western Palearctic. Oecologia 159: 849-858.

Reader S. M., Laland K. N. (2003): Animal Innovation. Oxford University Press.

Réale D., Reader S. M., Sol D., McDougall P. T., Dingemanse N. J. (2007): Integrating animal temperament within ecology and evolution. Biological Reviews 82: 291-318.

Shaw L. M., Chamberlain D., Evans M. (2008): The House Sparrows *Passer domesticus* in

- urban areas: reviewing a possible link between post-decline distribution and human socioeconomic status. *Journal of Ornithology* 149: 293-299.
- Shochat E., Warren P. S., Faeth S. H., McIntyre N. E., Hope D. (2006): From patterns to emerging processes in mechanistic urban ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 186-191.
- Slabbekoorn H., Peet M. (2003): Birds sing at a higher pitch in urban noise – great tits hit the high notes to ensure that their mating calls are heard above the city's din. *Nature* 424: 267–267.
- Sol D., Timmermans S., Lefebvre L. (2002): Behavioural flexibility and invasion success in birds. *Animal Behaviour* 63: 495-502.
- United Nations (2008): World Urbanization Prospects - The 2007 Revision. United Nations.
- Yeh P. J., Hauber M. E., Price T. D. (2007): Alternative nesting behaviours following colonisation of a novel environment by a passerine bird. *Oikos* 116: 1473-1480.

Avarlebontási kísérletek dombvidéki kisvízfolyásokon

Selmeczy Géza Balázs

Témavezető: Kovács Kata

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: A kisvízfolyások felső szakaszainak energiaforrása kiemelkedő mértékben allochton jellegű, melynek feldolgozásában nagy szerepe van a mikrobiális-, és a makrogerinctelen szervezeteknek. Munkám során a Csigere-patakban és a Vázsonyi-sédben végeztem avarbomlási kísérleteket egy nyári és egy téli időszak alatt, melynek során többek között az avarbomlás ütemét, a hőmérséklet összefüggéseit, valamint az aprítók avarfajta preferenciáját vizsgáltam. Vizsgálatomban *Salix alba* és a *Populus tremula* fák avarját használtam, melyek „k” avarfogyási együtthatója nyáron „gyors”, télen pedig „közepes” kategóriába esett. Az avarzsákokban a leggyakoribb aprító faj a *Gammarus fossarum* és a *Gammarus roeseli* volt.

Bevezetés

Az alsóbbrendű hegyi és dombvidéki patakokban a partmenti erdős vegetáció ősszel lehulló levelei jelentik a legfőbb energiaforrást (Stewart és Davies, 1988; Wetzel, 1995). A vízbe hullott avar lebomlása több részfolyamatból áll, melyben nagy szerepe van a mikrobiális szervezeteknek és makrogerincteleneknek, valamint a fizikai aprózódásnak (Gessner és mtsai., 2003). Egy patak ökológiai állapotának becslésére jól alkalmazhatók a hagyományos módszerek mellett a funkcionális táplálkozási csoportok vizsgálata, mint pl. az aprító makrogerinctelen szervezetek fajösszetétele és azok abundancia viszonyai, melynek következtében kibővíülhetnek a vízi ökoszisztémákkal kapcsolatos ismereteink (Gessner és Chauvet, 2002). A makroszkópikus

gerinctelen élőlények a következő táplálkozási csoportok valamelyikébe besorolhatóak: legelők, aprítók, aktív szűrők, passzív szűrők, törmelékevők, ragadozók, élősködők.

Célkitűzés

Munkám egyik fő célja az volt, hogy az avarlebontás sebességét avarzsákos módszerrel tanulmányozzam a közel természetes állapotú Vázsonyi-séd és az enyhén módosított jellegű Csigere-patak egy-egy kiválasztott pontján, egy nyári és egy téli vizsgálati időszak alatt. A kutatás során kíváncsi voltam az avarlebontási ráta, az aprító szervezetek mennyisége és a hőmérséklet összefüggéseire, valamint az aprítók avarfaj preferenciájára.

Anyag és módszer

A kísérleteket a Devecser közelében található Csigere-patakon (N47°07'08,1"; E17°25'24,4"; Tfm: 176 m) és a Nagyvázszyonon keresztül folyó Vázsonyi-séden végeztem (N 46°59'41,9"; E 17°39'11,3", Tfm: 209 m) Pula falu közelében. Az elsőnek említett vizsgálati helyszínen a patak mindkét oldalán szántóterület található, így a természetes fás vegetáció hiánya miatt a víztér nem árnyékolt. A patak hidrológiai típusa permanens, és a kutatási helyszín felett nagyjából négy és fél kilométerre a Székitó nevű állóvíz található. A patakon a víz mélysége és a sodrás erőssége nagymértékben változik, amikor a tó vízállását szabályozzák. A Vázsonyi-séd sokkal természetesebb környezetű, mint a Csigere-patak, mivel a patak jobb partján természetes fás vegetáció található nagyjából 200 méter szélességben. A

vízfolyás bal partján szántó terület, viszont a patak és a szántóföld között egy 3-5 méter széles fás vegetáció található.

A kutatás során kétféle avar bomlását vizsgáltam, az egyik a rezgő nyár (*Populus tremula*), a másik pedig a fehér fűz (*Salix alba*) volt. 2008 őszén frissen hullott avart légszáraz állapotban tároltam a vizsgálat megkezdéséig. Az előkészítési munkálatok során az avart NÜVE FN500 típusú szárítószekrényben 70°C-on tömegállandóságig szárítottam, majd kétféle lyukbőségű ($\varnothing_1$: 3 mm, $\varnothing_2$: 100 μ m). 15x15 cm méretű avarzsákokba töltöttem 10 $\pm$ 0,1 grammot. A zsákot fémrácsra erősítettem fel, majd a patakba helyeztem és rögzítettem az aljzaton. A kísérlet egy nyári (2009.05.27-2009.10.14) és egy téli (2010.01.04-2010.05.24) időszakból állt össze. Mindkét időszak alatt 4 rácst helyeztem ki, melyek egyenként 8 hetes vizsgálati periódust öleltek fel. Az egyes rácok kihelyezése között eltelt idő 4 hét volt, tehát az egymást követő vizsgálati periódusok átfedtek. Kéthetente 3 párhuzamos mintát vettem, mind a négyféle avarzsákból, melyeket a begyűjtés után a laboratóriumba szállítottam. Ezután kiválogattam az avarból a makrogerinctelen szervezeteket, majd szitába helyeztem az avart és óvatosan leöblítettem róla a rátapadt mederanyagot. A kiválogatott makrogerincteleneket 70%-os etanolban tartósítottam, majd meghatároztam és táplálkozási csoportba soroltam őket az Asterics 3.1.1. program (AQEM Consortium, 2002) alapján. A megtisztított avart újra tömegállandóságig szárítottam és megmértem a tömegét. A nagy lyukbőségű avarzsákokban található avar tömegcsökkenésének vizsgálatához az exponenciális bomlási modell egyenletét használtam fel:

$$M_t = M_0 \cdot e^{-kt}$$

ahol

- M_t = a t-edik napon az avar tömege

- M_0 = a kihelyezett avar tömege
- k = az exponenciális lebomlási koefficiens
- t = a kihelyezéstől számított idő napokban.

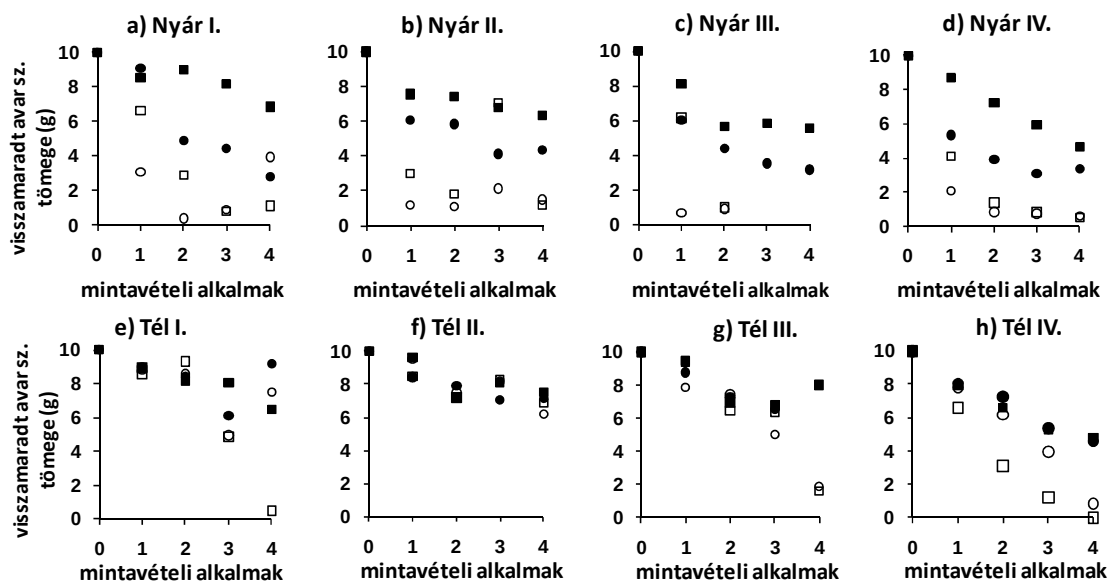
A k értéke alapján „gyors” ($k < 0,005$), „közepes” ($k = 0,005-0,01$) és „lassú” ($k > 0,01$) lebomlási sebességről beszélünk (Petersen és Cummins, 1974).

A mintavételek során mértem a víz néhány fizikai és kémiai paraméterét (hőmérséklet, vezetőképesség, oldott oxigén tartalom, oxigén telítettség, pH) valamint vízmintát vettem, melyben vizsgáltam a NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , TP és az NH_4^+ mennyiségét (APHA, 1998; Wetzel és Likens, 2000). A vízkémiai adatok értékelését az MSZ 12749 jelű „Felszíni vizek minősége, minőségi jellemzők és minősítés” című szabvány alapján végeztem. Ezen kívül 2009. június 10-én mindkét mintavételi helyszínen mennyiségi makrozoobentosz mintát is vettem az AQEM protokoll alapján (AQEM Consortium, 2002). Az adatok elemzését Excel, Origin és R-programcsomag felhasználásával végeztem.

Eredmények és értékelés

Avartömeg csökkenés

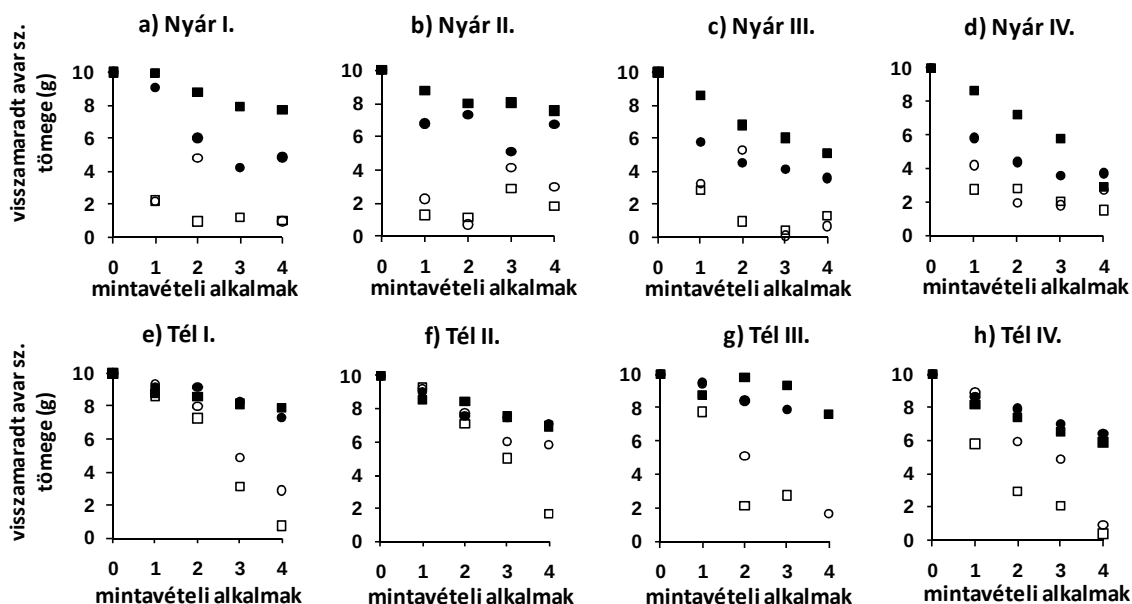
A kihelyezett avar tömegcsökkenését a két vizsgálati időszak alatt a Csigere-patakon az 1. ábra mutatja be. Az egyes diagramokat figyelve, elsőként a jól elkülönülő kis és nagy lyukbőségű avarzsák típusok eltérő csökkenési trendjei láthatók. Nyáron, az első két rácson tapasztalt értékek még meglehetősen szórtnak, majd a harmadik és negyedik rácson csökken a szórás mértéke. A nyári mintázás során végig hasonló csökkenési tendenciákat láthatunk, míg a téli periódus alatt szembetűnő, hogy az első két rácson kismértékű a csökkenés üteme a negyedik rácshoz képest. Ez összefüggésben lehet azzal, hogy az első két sorozat alatt, átlagosan 2-4°C volt, míg a negyedik sorozat mintavételei során már 16-18°C volt a víz hőmérséklet.



1. ábra A Csigere-patakon végzett nyári (a, b, c, d) illetve téli (e, f, g, h) periódusának avarfogyási tendenciái (□=nagy lyukbőségű háló fűz avarral, ○=nagy lyukbőségű háló nyár avarral, ■=kis lyukbőségű háló fűz avarral, ●= kis lyukbőségű háló nyár avarral)

A Vázsonyi-sédbe kihelyezett minták eredményeit figyelve, hasonló tendenciákat láthatunk, mint a Csigere-pataknál. Itt is természetesen kitűnik, a kis- és nagy lyukbőségű minták különbözősége, valamint a két évszak eltérő avarfogyási ütemei (2. ábra). A télen kihelyezett mintáknál is megfigyelhető, hogy a

negyedik mintavételi sorozat valamelyest intenzívebb ütemben csökken, mint a tél elején kihelyezett minták. Ez is a hőmérséklet hatásával magyarázható valószínűleg, mivel az első kihelyezéskor a vízhőmérséklet szintén 2-4°C volt, a negyediknél pedig 15-16°C.

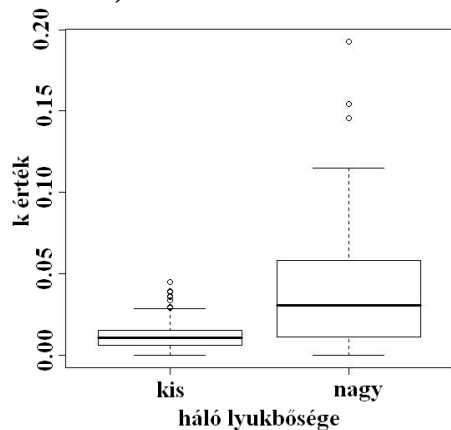


2. ábra A Vázsonyi-séden végzett nyári (a, b, c, d) illetve téli (e, f, g, h) periódusának avarfogyási tendenciái (□=nagy lyukbőségű háló fűz avarral, ○=nagy lyukbőségű háló nyár avarral, ■=kis lyukbőségű háló fűz avarral, ●= kis lyukbőségű háló nyár avarral)

A vizsgálat során ábrázoltam a nagy és a kis lyukbőségű zsákokban az avar

tömegének csökkenését a k-érték alapján (3. ábra). Ennek eredménye, hogy a kis

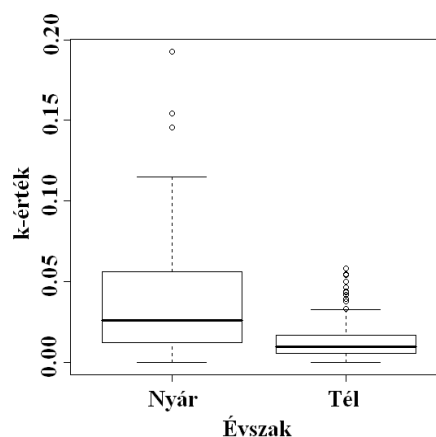
lyukbőségű zsákokban az avar jóval kevésbé fogy, mint a nagy lyukbőségű hálónál, melynek oka, hogy ez esetben több tényező (mikrobiális bomlás, makrogerinctelenek táplálkozása, kisodródás) is csökkenti az avar tömegét.



3. ábra A k-érték alakulása a hálótípus függvényében

Kétmintás t-próbával összehasonlítottam a nyári és a téli időszak alatt számított k-értékeket. Ekkor azt tapasztaltam, hogy a k-értékek télen szignifikánsan kisebbek voltak, mint nyáron ($t_{81,626} = -7,894$, $p < 0,001$; nyári k-értékek átlaga=0,061, SD=0,040; téli k-értékek átlaga=0,019, SD=0,015). Ebből jól látszik, hogy a télen kihelyezett avar

lassabb ütemben fogyott, mint a nyári (4. ábra).



4. ábra A k-érték eloszlása a két vizsgálati időszak függvényében

A nyári mintavételi időszak alatt a különböző avarzsák típusokban mért k-értékek átlagát és szórását az 1. táblázat mutatja be, míg a téli periódus alatt mért eredményeket a 2. táblázat foglalja össze. Amennyiben a k-értékeket besoroljuk az irodalomban található kategóriákba (gyors, közepes, lassú), akkor a nyári időszakban a bomlás mindkét lyukbőségű zsáktípusban „gyors” ütemű volt, viszont a téli vizsgálat alatt a k-értékek a kis lyukbőségű zsákok esetében már a „közepes” kategóriába kerültek.

1. táblázat A különböző avarzsák típusok k-értékei és azok szórása a nyári vizsgálat során

Helyszín	Csigere-patak				Vázsonyi-séd			
	nagy		kicsi		nagy		kicsi	
Lyukbőség Avar típusa	fűz	nyár	fűz	nyár	fűz	nyár	fűz	nyár
k-érték	0,0524	0,0834	0,0113	0,0251	0,0659	0,0575	0,0093	0,0210
SD	0,0215	0,0482	0,0046	0,0093	0,0334	0,0339	0,0051	0,0098

2. táblázat A különböző avarzsák típusok k-értékei és azok szórása a téli vizsgálat során

Helyszín	Csigere-patak				Vázsonyi-séd			
	nagy		kicsi		nagy		kicsi	
Lyukbőség Avar típusa	fűz	nyár	fűz	nyár	fűz	nyár	fűz	nyár
k-érték	0,0209	0,0149	0,0089	0,0099	0,0295	0,0158	0,0072	0,0067
SD	0,0176	0,0105	0,0045	0,0037	0,0169	0,0105	0,0037	0,0021

A k-értéket befolyásoló tényezők vizsgálata során az eredmények azt mutatják, hogy a téli periódus alatt az aprítók száma és a hőmérséklet is szignifikánsan növeli a k-értéket (3. táblázat). Ez az eredmény megfelel a várakozásoknak, hiszen több aprító szervezet több avar elfogyasztására képes,

valamint a magasabb hőmérséklet növeli a mikrobiális bomlás aktivitását.

Ezen kívül a téli időszak alatt a fűz avar szignifikánsan gyorsabban fogyott, mint a nyár avar, melynek egyik oka az lehet, hogy az aprítók ezt az avar preferálják. Egy másik lehetséges magyarázat, hogy egységnyi tömegű fűz avar felülete

valamelyest nagyobb, mint ugyanakkora mennyiségű nyáravaré, ebből kifolyólag a mikrobiális bomlásban részt vevő élőlények jobban hozzáférnek az avarhoz, ezáltal az gyorsabb ütemben fogy.

A nyári periódus alatt viszont csak az aprítók száma növelte szignifikánsan a k-értéket (4. táblázat). A k-értéket befolyásoló tényezők keresése során a változók (aprítók mennyisége, avar típus, hőmérséklet, patak, vizsgálati periódus) közötti interakciók vizsgálatát is elvégeztük, de ezek egyike sem volt szignifikáns. Így például a pataktípus és az aprítók száma közti interakció nem volt szignifikáns hatással a k-értékre, ami azt jelenti, hogy az aprítók egyedszáma a két patakban egyforma mértékben növelte a lebomlás sebességét.

3. táblázat A k-értéket a téli időszak alatt befolyásoló tényezők vizsgálatának eredményei (lineáris modell)

Tél	$\beta \pm SE$	t	P
főátlag	-0.0137 $\pm$ 0.0040	-3.387	0.00125
hőmérséklet	0.0020 $\pm$ 0.0003	7.428	<0.001
log(aprítószám)	0.0080 $\pm$ 0.0013	5.826	<0.001
avartípus	0.0079 $\pm$ 0.0026	2.978	0.00418

4. táblázat A k-értéket a nyári időszak alatt befolyásoló tényezők vizsgálatának eredményei (lineáris modell)

Nyár	$\beta \pm SE$	t	P
főátlag	0.0208 $\pm$ 0.0257	0.808	0.422
hőmérséklet	0.0007 $\pm$ 0.0013	0.541	0.591
log(aprítószám)	0.0172 $\pm$ 0.0030	5.849	<0.001
avartípus	-0.0105 $\pm$ 0.0081	-1.296	0.2

Makrozoobentosz az avarzsákokban

A nyári periódus alatt a Vázsonyi-sédbe kihelyezett nagy lyukbőségű avarzsákokban 1330 egyedet, míg a Csiger-patakban 3285 egyedet határoztam meg faj, vagy család szinten. A téli időszak alatt pedig a Vázsonyi-sédbe kihelyezett avarzsákokban 5651 egyedet, a Csiger-patakban viszont csak 1639 egyedet találtam.

A vizsgálat nyári ciklusa alatt a Vázsonyi-sédben 14, míg a Csigerében 20 fajt tudtunk elkülöníteni, viszont a téli időszak alatt a Vázsonyi-sédben 25, a Csigerében pedig 28 fajt tudtunk kimutatni az avarzsákokból, melyek között aprító,

törmelékevő, passzív szűrő, legelő, ragadozó és aktív szűrő életmódot folytató állatok is voltak.

A nyári időszak alatt mindkét patakban, az avarzsákokban az egyedszám alapján történő összehasonlítás során az aprítók domináltak, hiszen a Csigerében az egyedek 89%-a (4 faj), míg a Vázsonyi-sédben 96%-a (3 faj) tartozott az aprítók közé. A fajszerkezet alapján történő összehasonlítás azt mutatja, hogy a Csigerében az avarzsákokban a ragadozó életmódúak domináltak, melyek a meghatározott fajok 40 százalékát tették ki. Ezután következett a legelő és az aprító életmódúak csoportja, melybe a fajok 20 illetve 15%-a tartozott. A Vázsonyi-sédben a különböző táplálkozási csoportok nagyjából egyenlő mértékben voltak jelen, átlagban 2-3 fajjal.

A téli periódus alatt is az aprítók voltak jelen a legnagyobb egyedszámban mindkét vízfolyásban. A Csigerében magas volt a ragadozók aránya télen is (21%). Taxonszám alapján a Csigerében az aprító és a ragadozó életmódú csoportokból került ki a legtöbb faj, mivel az összfajszerkezet 30-30 százaléka került ki e csoportokból. A Vázsonyi-sédben az aprítók domináltak 8 fajjal, majd őket követte a ragadozó és a legelő életmódot folytató fajok 6 - 6 taxonnal.

Az aprító életmódúak közül a Csigerében a *Gammarus roeselii*, míg a Vázsonyi-sédben a *Gammarus fossarum* volt a meghatározó, mindkét időszak alatt. A vizsgálatok során az avarzsákokban az aprító szervezetek egyedszámbeli dominanciája, véleményem szerint annak tulajdonítható, hogy a kihelyezett avar megfelelő és könnyen elérhető táplálékot nyújt ezen szervezetek számára. A törmelékevő fajok alacsony egyedszáma az avarzsákokban annak köszönhető, hogy az aprítók által hátrahagyott kis darabokat az állandó sodrás kimossa az avarzsákokból, így nem áll rendelkezésre olyan mennyiségben, hogy ezen fajokat nagy egyedszámban „eltartsa”. A passzív szűrő

életmódúak előfordulása főleg a Csigerére volt jellemző, a nyári szezonban a *Hydropsyche angustipennis*, a téli időszak alatt pedig a *Simuliidae* fajok jellemezték a csoportot. A legelők mindkét időszak alatt, mindkét patakban rendkívül kis egyedszámban voltak jelen az avarzsákokban, jelenlétüket azzal magyarázzuk, hogy esetleg az avarzsák nyújtotta mérsékelt áramlási viszonyokat használják ki. A ragadozók nagy egyedszáma a zsákokban azzal magyarázható, hogy ezek a predátorok azért keresik fel az avarzsákokat, mert ott nagy denzitással vannak jelen a prédaszervezetek.

Az összegyedszámokat tekintve, a Vázsonyi-sédben a téli időszakban több mint négyszer annyi egyedet találtunk a zsákokban, mint nyáron. Ennek oka feltehetően, hogy az őszi levélhullás után a patakban az aprítók mennyisége a táplálékforrás bősége miatt megnő, viszont a téli időszakban az avarzsákok kihelyezése januárban történt és ekkorra már a lehullott avar nagy része elfogyhatott, így érdekükben állt az aprítóknak felkeresni az avarzsákokat.

A Csigerében viszont a nyári időszak alatt kétszer annyi egyedet tudtunk kimutatni az avarzsákokból, mint télen, mivel e patak partján nincs partmenti fás vegetáció, ezért télen élelemforrás hiányában nem tud a patak nagyszámú aprítót „eltartani”.

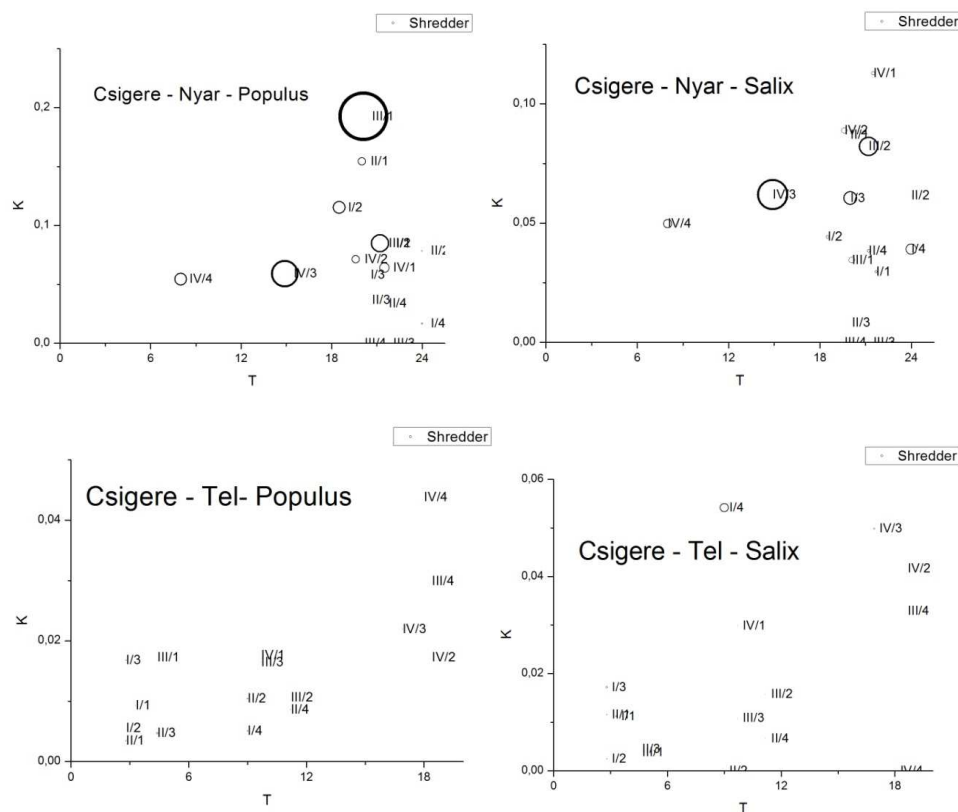
A mennyiségi mintavétel során a Vázsonyi-sédből a *Heptagenidea* spp.

Chaeopteryx fusca, *Phyacophila dorsalis*, *Platambus masculatus*, *Agabus*, *paludosus*, a Csigeréből pedig a *Aphelocheirus aestivalis*, *Nepa cinerea*, *Platycnemididae*, és *Oligocheata* egyedek kerültek elő az avarzsákokban megtalált fajokon kívül.

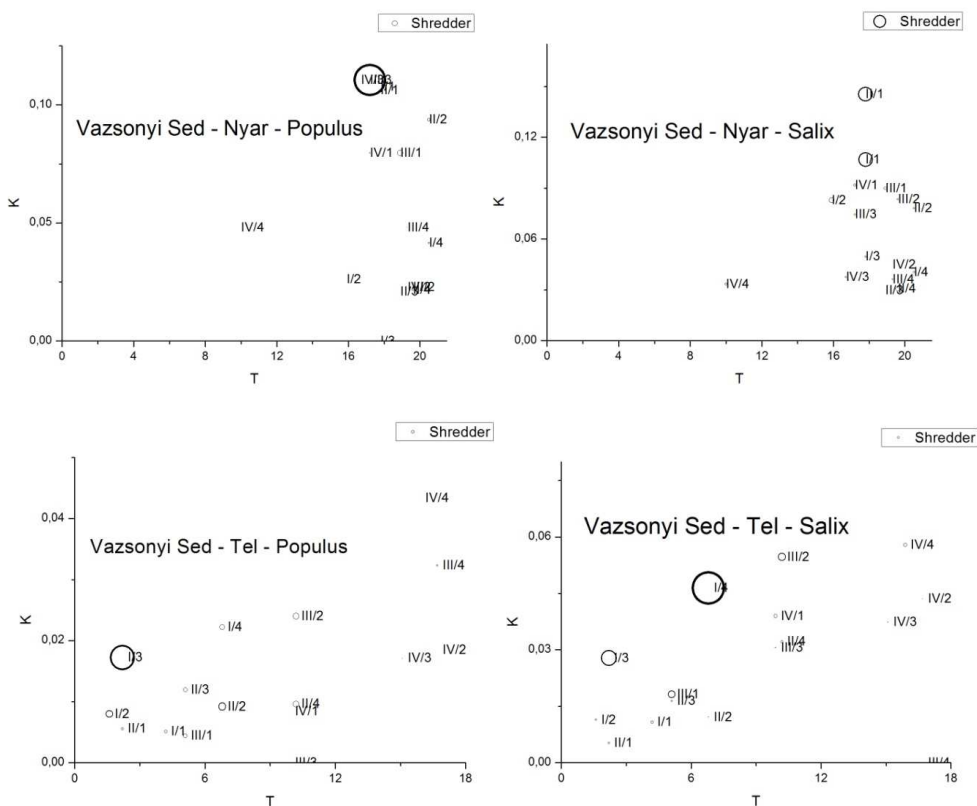
Az alábbi 2 diagramon (5. és 6. ábra) ábrázoltam a nagy lukbőségű avarzsákok k-értékeit a hőmérséklet függvényében úgy, hogy az adott pontot körrel jelöltem, melynek nagysága az aprítók mennyiségével arányos. Az ábrákon a római számok a kihelyezett rácsra utalnak, az arab számok pedig, hogy az adott rácson hányadik mintavételről van szó.

A Csigere-patakba a nyári periódusban kihelyezett nyáravarral töltött mintáknál, a harmadik rácsot a kihelyezés után szinte megrohanták az aprítók, így ez az adat rendelkezik a legnagyobb méretű körrel, valamint ennek a mintának a legnagyobb a k-értéke is, tehát az avar itt fogyott a leggyorsabban, mely összefüggésben lehet az aprítók táplálkozásával. Megfigyelhető még az ábrán, hogy a rácsok első két mintavételi idejekor mértük a legnagyobb k-értékeket.

A téli periódus során a hőmérséklet jóval nagyobb intervallumban mozgott, mint a nyári időszak alatt. A nyárral töltött avarzsákoknál, megfigyelhetünk egy gyenge tendenciát, miszerint a nagyobb hőmérsékletkor nagyobb a k-értéke. Ezen kívül a téli minták elemzése során láthatjuk, hogy jóval kisebb az aprítók egyedszáma, mint nyáron.



5. ábra A k-érték és a hőmérséklet összehasonlítása az aprítók kolonizációs egyedszámának maximális mennyiségével a Csigere-patakban a két vizsgálati periódus során



6. ábra A k-érték és a hőmérséklet összehasonlítása az aprítók kolonizációs egyedszámának maximális mennyiségével a Csigere-patakban a két vizsgálati periódus során

A Vázsonyi-sédbe kihelyezett minták diagramjai hasonló jellegűek (6. ábra), mint amit a Csigere-pataknál tapasztaltunk. A nyári minták a téliekhez képest kis hőmérsékleti tartományban mozognak, kivéve az utolsó mintavételi időpontot, melynél a víz hőmérséklet 10 °C körül volt. Ezen kívül a Vázsony-sédben is a téli adatok elemzése során megfigyelhetjük a k-érték és a hőmérséklet közötti párhuzamot.

Vízkémiai jellemzők

A helyszíni mérések során a patakok fizikai tulajdonságai többnyire a „kiváló víz” kategóriába kerültek az MSZ 12749 szabvány szerint, kivéve a vezetőképesség

értékeit, melyek a „tűrhető víz” nevű osztályba kerültek. A vízkémiai eredmények közül a KOI és az NH_4^+ értékei főként „kiváló” kategóriájú, míg a nitrogén- és foszforháztartást befolyásoló paraméterek inkább csak jó vagy ennél rosszabb kategóriákba kerültek.

Mivel az általunk mért értékek (5. táblázat) megfelelnek a nyugat-magyarországi dombvidéki kisvízfolyásokra jellemző átlagos vízkémiai paramétereknek (Kiss és mtsai., 2004; Kovács és mtsai., 2005), ezért úgy gondolom, hogy az aprító fajokra és a kísérlet kimenetelére vonatkozóan a vízkémiai értékek nem voltak befolyással.

5. táblázat A Csigérében és a Vázsonyi-sédben mért vízkémiai paraméterek átlagos értékei és szórása

vizsgált paraméter mértékegység			NO_2^- $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	NH_4^+ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	KOI $\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$	NO_3^- $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	PO_4^{3-} $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	TP $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
Csigere	nyár	átlag	43.5	0.05	4.34	2.99	527.4	819.3
		szórás	48.3	0.04	1.36	2.42	103.0	303.9
	tél	átlag	106.6	1.85	6.67	3.9	189.2	379.8
		szórás	67.1	1.64	1.27	0.94	141.2	130.6
Vázsonyi-séd	nyár	átlag	35.3	0.02	1.77	19.11	52.3	367.7
		szórás	35.7	0.01	0.8	17.44	16.2	150.8
	tél	átlag	32.3	0.05	3.67	7.62	32.5	211.7
		szórás	9.6	0.03	0.62	0.65	8.4	72.4

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani elsősorban témavezetőmnek Kovács Katának odaadó munkájáért, valamint Mikos Katalinnak az avarzsákok varrásában nyújtott segítségéért. Ezen kívül szeretnék köszönetet mondani Kucserka Tamásnak, Kálmán Csabának és Németh Dávidnak a minták begyűjtésében nyújtott segítségéért, valamint köszönöm a segítséget Dr. Bókony Veronikának, aki sokat segített az R-programcsomag használatának elsajátításában. Munkámat az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

APHA – American Public Health Association (1998): Standard methods for the examination of water and wastewater 20th Edition. United Book Press, Inc., Baltimore, Maryland, USA.

AQEM Consortium (2002): Manual for the application of the AQEM system. A comprehensive method to assess European

streams using benthic macroinvertebrates, developed for the purpose of the Water Framework Directive. Version 1.0.

Gessner M. O., Chauvet E. (2002): A case for using litter breakdown to assess functional stream integrity. *Ecological Applications* 12: 498-510.

Gessner, M. O., Bärlocher F., Chauvet E. (2003): Qualitative and quantitative analyses of aquatic hyphomycetes in streams. In Tsui, C. K. és K. D. Hyde eds., *Freshwater Mycology*. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany.

Kiss Z., Kovács C., Padisák J., Schmidt A. (2004): Hydro-geographical and water chemical features of some creeks in middle Hungary. *Hidrológiai Közlöny* 84: 79-81.

Kovács Z., Kovács Cs., Királykúti I., Soróczky-Pintér É., Padisák J. (2005): Classification of Hungarian watercourses with different typology according to the EC Water Framework directive. *Hidrológiai Közlöny* 85: 78-80.

Petersen R. C., Cummins K. W. (1974): Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology* 4: 343-368.

Stewart B. A., Davies B. R. (1988): The influence of different litter bag designs on the breakdown

of leaf material in a small mountain stream. *Hydrobiologia* 183: 173-177.

Wetzel R. G. (1995): Death, detritus, and energy flow in aquatic ecosystems. *Freshwater Biology* 33: 89–89.

Wetzel R. G., Likens G. E. (2000): *Limnological Analysis*, Springer-Verlag, New York, Inc.

Szabványok

MSZ 12749: 1993: Felszíni vizek minősége, minőségi jellemzők és minősítés.

L-Fenilalanin fotodegradációja

Somogyi Katalin

Témavezetők: Szabóné Dr. Bárdos Erzsébet, Dr. Horváth Attila

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Általános és Szervetlen Kémia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az elmúlt években egyre nagyobb figyelmet fordítanak a biológiai aktív molekulák fotokatalitikus vizsgálatára. Kísérleteinkhez modellvegyületként az aromás gyűrűt tartalmazó L-fenilalanint választottuk, amely esszenciális aminosav. Élettani szempontból fontos tulajdonságai, hogy csökkentheti az étvágyat, a stresszt és a depressziót, javíthatja a kedélyállapotot, a vitalitást és a memóriát (Pohle-Krauze és mtsai., 2008). Fotokatalitikus reakciók szempontjából kitüntetett sajátosságú, ugyanis mindhárom funkciós csoportja reakcióba léphet a katalizátor gerjesztésekor képződő reaktív részecskékkel: (i) az aminocsoport képes a gerjesztett félvezető vezetési sávjából elektront „átvenni”, (ii) a karboxilcsoport a vegyértéksávban képződő lyuknak adhat át elektront, (iii) a fenilcsoportot a lyuk és a vízmolekulák reakciójában képződő hidroxilgyök támadhatja meg. A kísérleteket 3 dm³ térfogatú reaktorban végeztem, katalizátorként Degussa P25 TiO₂-ot használtam. A degradációt a folyadék fázis pH-jának, TOC-tartalmának mérésével, a képződő NH₄⁺ koncentrációjának meghatározásával, valamint a spektrális változások megfigyelésével és értékelésével követtem nyomon. Végrehajtottuk a modellvegyület bevilágítását anaerob és aerob rendszerekben is. A lejátszódó folyamatok részletes vizsgálatokor elektronakceptorként Ag⁺ ionokat alkalmaztunk. A reakcióelegyhez adagolt H₂O₂ a fotogenerált részecskéket mindkét tagjával reakcióba lép argonnal kevert rendszerben. HPLC-MS vizsgálatokkal kimutattuk, hogy az L-fenilalanin

fotobomlásakor hidroxil (pl. L-tirozin)-, illetve dihidroxil (pl. L-dopa) intermedierek keletkeznek, melyek argonnal kevert rendszerekben felhalmozódnak, míg levegő jelenlétében degradálódnak. Anaerob körülmények között gyűrűfelnyílás nem történik, aerob rendszerekben a hidroxileződött intermedierek és az oxigéntartalmú aktív részecskék (szuperoxid-gyök, hidroperoxilgyök, vagy a szingulett oxigén) reakciója vezet el a gyűrűfelnyíláshoz.

Bevezetés

A heterogén fotokatalitikus rendszerek kulcsfontosságú alkotórészei a kisméretű félvezető részecskék, melyeket speciális elektronszerkezetük tesz alkalmassá a folyamatok katalizálására. A betöltött vegyértéksávot meghatározott, az anyagi minőségre jellemző energiaszélességű tiltott sáv választja el a betöltetlen vezetési sávától. Ha a gerjesztés fénnel történik, a foton energiájának el kell érnie a vegyértéksáv és a vezetési sáv energiaszintjének különbségét. A foton abszorpcióját követően elektron kerül a vegyértéksávból a vezetési sávba, miközben a vegyértéksávban visszamarad egy elektronhiányos hely (lyuk). Az elektron-lyuk pár gyors rekombinációja a félvezető belsejében és a felületén is végbemehet. Ez utóbbi folyamatokkal versengenek a felületen lejátszódó töltésviteli reakciók, melyek során oxigén és víz jelenlétében erőteljes oxidálószer, szuperoxid-gyök, és hidroxilgyök keletkezhet. A módszerrel a szerves vegyületek széles köre lebontható

ártalmatlan vagy kevésbé környezetterhelő vegyületté (Dombi és mtsai., 2000).

Az aminosavak fotooxidációját heterogén közegben csak az elmúlt évtizedekben kezdték el vizsgálni. Hidaka és munkatársai számos α -aminosav fotodegradációját tanulmányozták gerjesztett Degussa P25 TiO_2 felületén, sugárforrásként 310-400 nm között emittáló 75W-os Hg-lámpát alkalmaztak (Hidaka és mtsai., 1997). Megállapították, hogy a vizsgált pH-tartományban (pH=6-7) a bomlási folyamatok a semleges aminosavak ikerionos formáin keresztül játszódnak le. Horikoshi és munkatársai az L-szerin, az L-alanin és az L-fenilalanin fotooxidációját vizsgálták TiO_2 katalizátor jelenlétében (Horikoshi és mtsai., 1998). Megállapították, hogy a mineralizáció sebessége a szerint tartalmazó oldatokban a legnagyobb, míg a fenilalanint tartalmazókban a legkisebb (59%-os a lebomlás). A szerzők munkájukban elméleti számításokkal meghatározták a modellvegyületek atomjaihoz tartozó elektronsűrűséget, ezek alapján valószínűsítették, hogy az L-szerin és az L-alanin a katalizátor felületén a karboxilcsoport oxigén atomján keresztül adszorbeálódik, míg az aromás vegyület, az L-fenilalanin a fenilcsoporton keresztül kötődik meg. Elsellami és munkatársai az L-fenilalanin mineralizációjakor a pH, a kezdeti reaktáns-koncentráció és a fényintenzitás hatását tanulmányozták (Elsellami és mtsai., 2009). A képződő köztitermékeket HPLC-MS vizsgálatokkal azonosították, a gyűrűfelylítéséért felelős részecskét nem azonosították. Eredményeik igazolták, hogy az aminosav adszorpciója leírható a Langmuir-Hindselwood modellel, azonban úgy tűnik, hogy a modell nem alkalmas a fotodegradáció leírására. Megállapították, hogy savas pH tartományban az aminosav adszorpciója kedvezményezett, ugyanakkor a bomlás sebessége kisebb, mint a lúgos pH tartományban.

Aromás vegyületek fotobomlásának vizsgálatakor fontos kérdés, hogy mely aktív részecske felelős a gyűrűfelylítéséért, azaz milyen reakciókon keresztül valósul meg a mineralizáció, s közben milyen köztitermékek keletkeznek. Több kutató foglalkozik ezzel a területtel, azonban publikációikban sok esetben nem részletezik a bomlás mechanizmusát, más esetekben viszont eltérő következtetésekre jutnak. Aktív reaktáns lehet a hidroxilgyök, a szuperoxid-gyökanion/hidroperoxilgyök, vagy a szingulett oxigén. A modellvegyület, az L-fenilalanin vizes szuszpenziójának anaerob és aerob körülmények közötti bevilágításával igyekeztünk választ adni a kérdésre.

Anyag és módszer

Felhasznált anyagok

Kísérleteinkhez a kereskedelembe beszerezhető következő vegyszereket használtuk további tisztítás nélkül: L-fenilalanin ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$, Alfa Aesar), L-tirozin ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$, Acros Organics), L-dopa ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}$, Alfa Aesar), titán-dioxid (Degussa P25 TiO_2 : 70% anatáz, 30% rutil), ezüst-szulfát (Ag_2SO_4 , Reanal), cc. kénsav (H_2SO_4 , Carlo Erba), nátrium-hidroxid (NaOH , Reanal), hidrogén-peroxid (H_2O_2 , Reanal), hidrogén-fluorid (HF , Carlo Erba), metanol (CH_3OH , Reanal), hangyasav (HCOOH , Reanal).

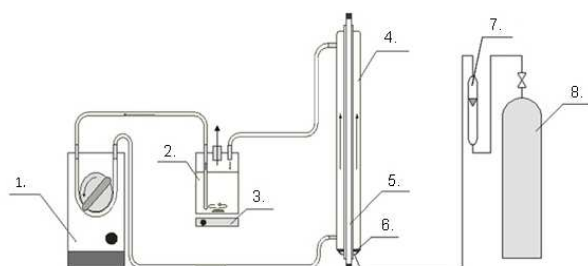
Vizsgálati módszerek

A modellvegyületek bevilágítását $1,6 \text{ dm}^3$ hasznos térfogatú, belső cirkulációs reaktorban végeztem (1. ábra). A berendezésben lehetőség nyílik anaerob és aerob kísérletek elvégzésére, melyet az átáramoltatott gáz (argon/levegő) változtatásával valósítunk meg.

A reaktor tengelyvonalában elhelyezett sugárforrás egy kifejezetten ilyen célra gyártott 40 W-os fénycső, amely kibocsátott energiájának döntő hányadát 300 nm felett adja le, s 350 nm-nél mutat maximális intenzitást.

A reaktor feltöltése után, a bevilágítás megkezdése előtt a reakcióelegyet a levegővel kevertetett kísérletekben kb. 40 percig cirkuláltattuk a megfelelő homogenizálás és az adszorpciós egyensúly beállása céljából. Argon atmoszférában végzett kísérleteknél a cirkuláltatás időtartama 90 perc volt, ez idő alatt oxigénmentessé vált a rendszer.

A bevilágított mintákban a szuszpenzió szilárd részét a folyadéktól először Millipor Millex-LCR típusú 0,45 μm -es, majd 0,25 μm -es szűrővel választottuk el. A reakcióelegy széntartalmának és nitrogéntartalmának meghatározása TOC-TN 1200 analizátorral történt. Az ammóniumion az aminosav fotobomlásának közterméke, koncentrációját spektrofotometriásan határoztuk meg. A fotodegradációkor bekövetkező változásokat a besugárzott minták fényelnyelési és emissziós színekének felvételével is nyomon követtük. A modellvegyület és a köztermékek abszorbancia spektrumát Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS spektrométerrel, az emissziós színekéket Perkin Elmer LS50B spektrofluoriméterrel vettük fel. Mindkét esetben 1 cm-es optikai úthosszú kvarc küvetát használtunk.



1. ábra A folyadék-keringtetéses fotokémiai reaktor vázlatos rajza

1. Perisztaltikus pumpa, 2. Puffertartály, 3. Mágneses keverő, 4. Fotoreaktor, 5. Sugárforrás, 6. Üvegfritt, 7. Rotaméter, 8. Gázpalack

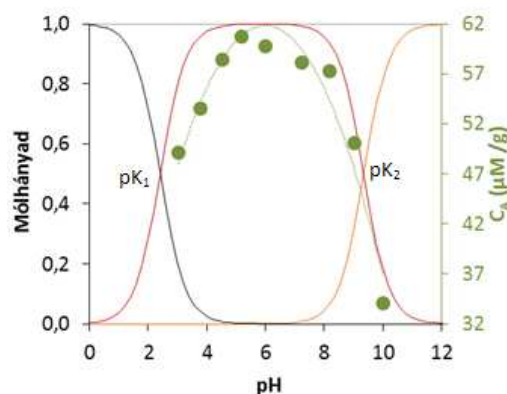
A minták HPLC-MS analízisét Agilent 1100-as készülékkel a Föld és Környezettudományi Intézeti Tanszék munkatársai végezték el. A mérések során kétféle eluens alkalmaztak: A eluens – 15 % metanol, 85 % Milli Q víz, 0,01 % hangyasav, B eluens – 10% metanol, 90%

Milli Q víz. Az áramlási sebesség 1 cm^3/perc , illetve 0,5 cm^3/perc volt. Az ezüstion aktuális koncentrációjának meghatározását szintén a Föld és Környezettudományi Intézeti Tanszék dolgozói végezték, OPTIMA DV2000 Perkin-Elmer induktív csatolású plazmaemissziós készülékkel.

Kísérleti eredmények

A reakcióelegy pH-jának hatása a felületi komplexképződésre

A modellvegyület, az L-fenilalanin adszorpcióját 2,4-9,3 pH-jú szuszpenziókban vizsgáltuk. Ebben a pH tartományban az ikerionos forma a domináns részecske – $\text{pK}_1=2,4$, $\text{pK}_2=9,3$ (Bartos és mtsai., 1984). A felületi komplexképződés mértéke jelentősen nő a pH növelésével, a pH=4-8 tartományban közel azonos, míg 9-es pH felett rohamosan csökken. Az adszorpció és az ikerionos forma pH szerinti változása hasonló tendenciát mutat (2. ábra). Figyelembe véve, hogy a katalizátor izoelektromos pontjánál, 6,25-nél kisebb pH-jú oldatokban a pozitív töltésű felület és a $-\text{COO}^-$ közötti vonzás, míg nagyobb pH-jú oldatokban a negatív töltésű felület és az $-\text{NH}_3^+$ közötti vonzás a meghatározó kölcsönhatás, valószínűsíthetjük, hogy a fenilalanin savas közegben a karboxilcsoporton, míg lúgos közegben az aminocsoporton keresztül kötődik a felülethez.

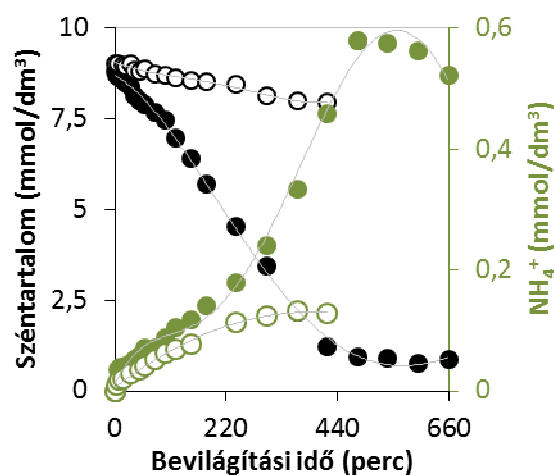


2. ábra A fenilalanin (Phe) adszorpciójának és a különböző mértékben protonált formák eloszlásának változása a pH függvényében
— PheH^+ — Phe — Phe^-

- – a felületi komplex egyensúlyi koncentrációja a megvilágítás előtt
 $c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$

Az L-fenilalanin fotokatalitikus reakciói

A folyadékfázis pH-ja argon atmoszférában gyakorlatilag nem változott, a levegő betáplálással végzett kísérletekben ($\text{pH}_0 = 4,5$) közel 3 egységgel nőtt. Argonnal kevert rendszerekben 7 óra alatt az aminosav 23%-a alakult át, aerob körülmények között 300 perces bevilágítás után a kiindulási szerves anyag a mintákban már nem detektálható. A reakcióelegy TOC értéke argon atmoszférában ~11%-kal, míg levegővel telített szuszpenziókban 420 perces bevilágítás alatt ~87%-kal csökkent (3. ábra).



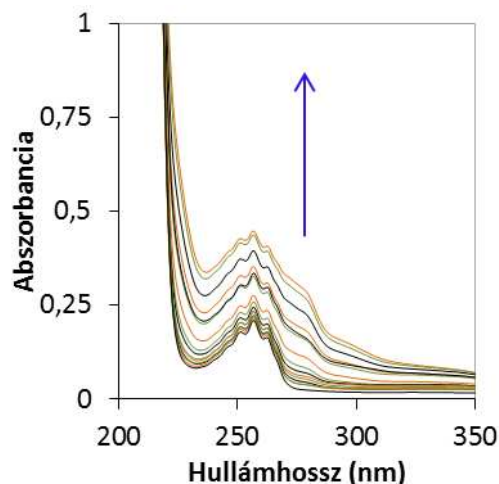
3. ábra A fenilalanin TOC és NH_4^+ koncentrációjának változása

- – TOC-levegő ○ – TOC-argon ● – NH_4^+ -levegő ○ – NH_4^+ -argon
- $c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$, $\text{pH}_0 = 4,5$

A fotogenerált elektron és az aminos csoport reakciójában képződő ammónia (ammóniumion) koncentrációja levegővel kevert rendszerben nagyobb UV-dózisnál csökken (3. ábra) – hasonlóan az aszparaginsav fotodegradációjakor tapasztaltakhoz (Szabó-Bárdos és mtsai., 2010) – a szerves kation lúgos közegben könnyen oxidálódik. Elsellami és munkatársai eredménye szerint is az NH_4^+ az elsődleges N-tartalmú termék a fenilalanin fotodegradációjakor, nitrátion képződését

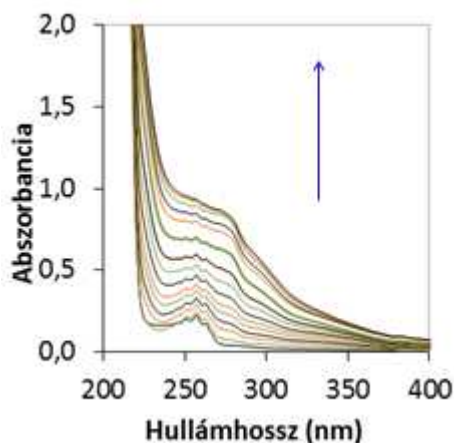
csak az aminosav teljes „eltűnése” után észlelték (Elsellami és mtsai., 2009).

A kísérleti eredmények alapján valószínűsíthető, hogy a fenilalanin fotokatalitikus bontásakor anaerob körülmények között csak a vegyület alifás oldallánca degradálódik. Aerob körülmények között megtörténik a gyűrűfelynyílás, amit az alifás intermedierek mineralizációja követ.

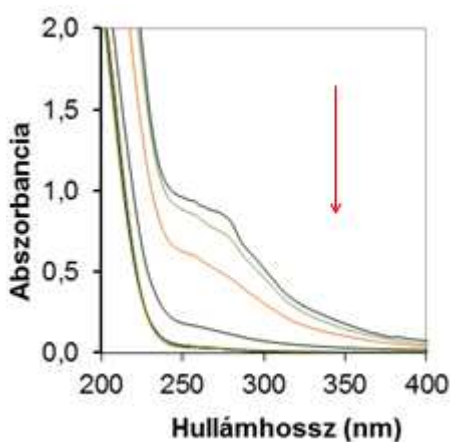


4. ábra A fényelnyelési színek változása a fenilalanin fotokatalízisekor anaerob körülmények között
 $c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$, $\text{pH}_0 = 4,5$, $l = 1 \text{ cm}$

A vegyület fényelnyelési színekében az aromás rendszerre jellemző $\pi \rightarrow \pi^*$ átmenethez tartozó sáv jellegzetes változást mutat a bevilágítás során. Anaerob körülmények között a fényelnyelés nő, a finom sáv szerkezet fokozatosan eltűnik, nagyobb hullámhosszaknál új sávok jelennek meg (4. ábra). Levegővel kevert rendszerekben a finom sáv szerkezet már 3 óras bevilágítás után eltűnik (5/A. ábra), majd csökken az abszorbancia (5/B. ábra). Argon atmoszférában a keletkező intermedierek felhalmozódnak, míg levegő jelenlétében elbomlanak.



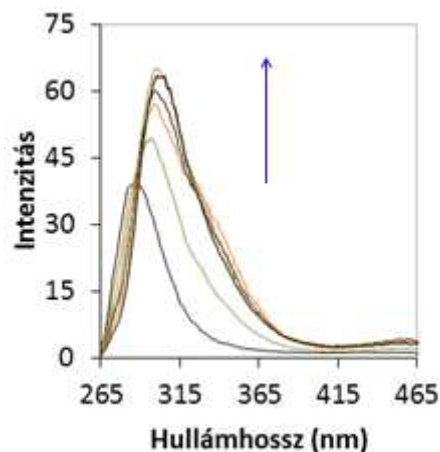
A: Fényelnyelés növekedése 0-180 perc



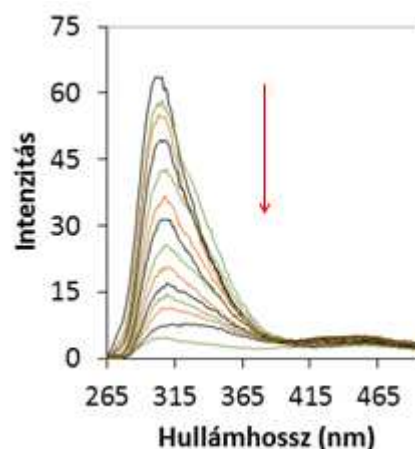
B: Fényelnyelés csökkenése 180-600 perc

5. ábra A fenilalanin fényelnyelésének változása levegővel kevert rendszerekben

A lumineszcencia színeképekben vörös eltolódást figyelhetünk meg. Argon jelenlétében az intenzitás határértékhez tart, melyet 21 nm-es sáveltolódás kísér. Aerob körülmények között az emisszió gyorsan nő (6/A. ábra), jelentős a sáveltolódás. Kb. 20 perc után a vegyületek emissziójának intenzitása csökken (6/B. ábra), a vörös eltolódás a 100. perc után fejeződik be. 7 óras bevilágítás után a reakcióelegy emittáló vegyületet nem tartalmaz.



A: Emisszió növekedése 0-12 perc



B: Emisszió csökkenése 12-360 perc

6. ábra A fenilalanin lumineszcencia intenzitásának változása levegő jelenlétében

Kísérleti eredményeinket összegezve:

(I) argonnal telített szuszpenziókban a színeképek kvalitatív értékelése alapján hidroxi- és dihidroxi-fenilalaninek képződése és felhalmozódása sejthető,

(II) levegővel telített szuszpenziókban a hidroxi- és dihidroxi-fenilalaninek köztitermék jellege és teljes mineralizációja is kimutatható.

Köztitermékek azonosítása HPLC-MS vizsgálatokkal

Anaerob körülmények között bevilágított minták kromatogramjaiban a különböző retenciók időknél felvett MS spektrumokban a fenilalanin – $m/z=166$ –, a hidroxi-fenilalanin, illetve a dihidroxi-fenilalanin izomerek molekulaionjaihoz (és fragmentumaikhoz) tartozóként

valószínűsített, nagy intenzitású – $m/z=182$ és $m/z=198$ – jeleket, valamint kisebb szénatomszámú, de aromás gyűrűt tartalmazó vegyületekre jellemző m/z jeleket találtunk. Aerob körülmények között kezelt reakcióelegyekben az aromás aminokarbonsav jelét, a hidroxileződött, illetve dihidroxileződött intermedierek molekulaionjaihoz tartozó jeleket, különböző m/z értékű molekulaionok jeleit (valószínűleg kis molekulatömegű, alifás szénláncú vegyületek) találtuk meg.

Standard vegyületekkel végzett ellenőrző mérésekkel igazoltuk, hogy a különböző körülmények (anaerob és aerob) között bevilágított minták kromatogramjaiban detektált $m/z=182$ jel valóban a hidroxifenilalanin, míg az $m/z=198$ jel a dihidroxifenilalanin molekulaionjához rendelhető (1. táblázat).

Az 1,8 (A), 2,1 (B) perces retenciós idejű hidroxivegyület a 4-hidroxifenilalanin (L-tirozin), míg az 1,4 (A), 1,6 (B) perces retenciós idejű dihidroxivegyület, a 3,4-dihidroxifenilalanin (L-dopa). A C18-as oszlopon a különböző izomerek retenciós ideje a *para* < *meta* < *orto* sorrendben változik. Elsellami és munkatársai (2009) is ezzel megegyező eredményre jutottak. Ennek megfelelően a 2,1 (A), 2,5 (B) perces retenciós idejű köztitermék a *meta*-hidroxifenilalanin, míg a 2,9 (A), 3,4 (B) perces az *orto*-hidroxifenilalanin.

1. táblázat A fenilalanin HPLC-MS vizsgálatakor azonosított különböző retenciós idejű intermedierek

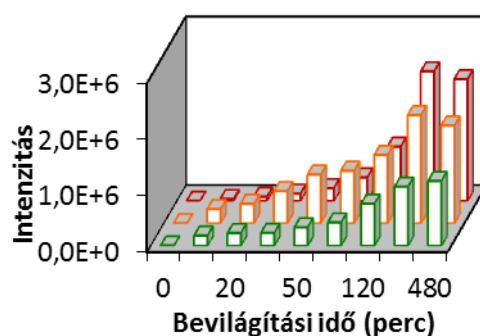
A eluens: 15% MeOH + 85% MilliQ víz + 0,01% HCOOH, áramlási sebesség 1 ml/perc

B eluens: 10% MeOH + 90% MilliQ víz, áramlási sebesség 1 ml/perc

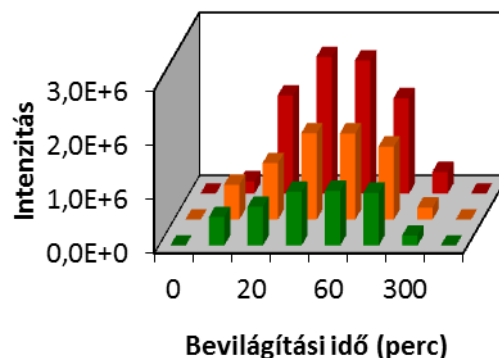
$c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$, $\text{pH}_0 = 4,5$

Vegyület	m/z	Retenciós idő (perc)	
		A eluens	B eluens
L-fenilalanin	166	3	3,5
L-hidroxifenilalanin	182	1,8	1,1
		2,1	1,4
		2,9	1,5
L-dihidroxifenilalanin	198	2,1	1,3
		2,5	1,6
		3,4	1,8

Argonnal kevert szuszpenziókban a hidroxileződött köztitermékek közül az *orto*- és a *meta*-hidroxifenilalanin mennyisége maximumon áthaladva enyhe csökkenést mutat, míg a tirozin ($t_R=1,8$ (A), 2,1 (B) perc) felhalmozódik a vizsgált idő intervallumban (7/A. ábra). A dihidroxizomereknél monoton, határértékhez tartó növekedés figyelhető meg (8/A. ábra). Levegővel telített rendszerekben az intermedierek nagyobb UV dózis hatására degradálódnak (7/B. és 8/B. ábrák).



A: Argon



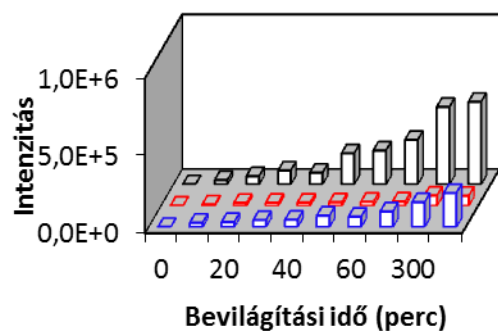
B: Levegő

7. ábra A fenilalanin HPLC-MS vizsgálata során azonosított hidroxiszármazékok (B eluens)

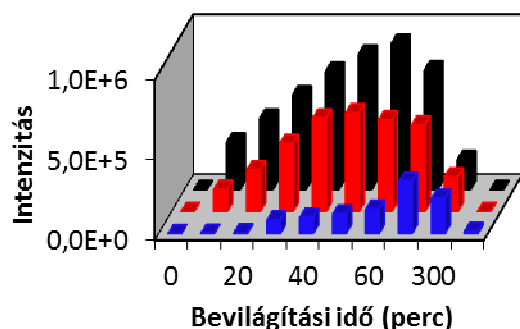
Retenciós idő(min): ● – 2,1 ● – 2,5 ● – 3,4
 $c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$

Levegőztetett szuszpenziókban a hatékony elektronbefogó, az oxigén jelenléte lecsökkenti az elektron-lyuk pár rekombinációjának valószínűségét, nagy

menyiségű $\cdot\text{OH}$ képződik, megnő a hidroxivegyületek képződésének kezdeti sebessége (8/A. ábra). Aerob körülmények között közel kétszeres mennyiségű dihidroxivegyület keletkezik, mint argon atmoszférában.



A: Argon



B: Levegő

8. ábra A fenilalanin HPLC-MS vizsgálata során azonosított dihidroxiszármazékok (B eluens)

Retenció idő (min): ● – 1,3 ● – 1,6 ● – 1,8
 $c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$

A dihidroxiszármazékok képződési sebességének nagyobb mértékű növekedését indokolhatja az is, hogy a hidroxileződött vegyületek és a hidroxilgyök vizes oldatban lejátszódó reakciójának sebessége együtthatója nagyobb (pl. tirozinra: $k = 1,3 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (Buxton és mtsai., 1988), mint a fenilalanin és a hidroxilgyök reakciójának sebessége együtthatója ($k = 6,5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (Buxton és mtsai., 1988). A felületen adszorbeálódott fenilalanin hidroxileződésének első lépését gyorsan követi a második hidroxilgyök

támadása, vagyis a hidroxiszármazék valószínűleg nem deszorbeálódik. Ezt az elképzelést alátámasztani látszik az a kísérleti tapasztalat, hogy a dihidroxiszármazékok képződése nem a hidroxiszármazékok koncentrációjának csökkenését követően kezd gyorsan nőni, hanem párhuzamosan.

A kísérleti eredmények alapján valószínűsítettük, hogy levegő jelenlétében a hidroxileződött molekulák, feltételezhetően a dihidroxileződött intermedierek és az oxigéntartalmú aktív részecskék reakciója vezet a gyűrű felnyílásához, majd a teljes mineralizációhoz.

A köztitermékek fotodegradációjának vizsgálata

A 4-hidroxi-fenilalanin(L-tirozin) fotobomlása

A 4-hidroxi-fenilalanin oldat bevilágításakor hasonló változásokat tapasztaltunk, mint a fenilalanin fotodegradációja során. Argonnal kevert rendszerekben csekély mennyiségű NH_3 (NH_4^+) keletkezik, a TOC $\sim 10\%$ -kal csökken. Aerob körülmények között a szerves széntartalom $\sim 47\%$ -kal csökken, míg az ammónia kezdeti képződési sebessége háromszorosára nő. A spektrális változások alapján feltételeztük, hogy a vegyület hidroxileződik.

Az anaerob körülmények között bevilágított minták kromatogramjaiban a különböző retenció időknél felvett MS spektrumokban két m/z értéknél találtunk intenzív jeleket, amelyek a kiindulási vegyület, a 4-hidroxi-fenilalanin – $m/z=182$ –, illetve az izomer dihidroxifenilalaninok – $m/z=198$ – molekulaionjaihoz tartoznak. A 4-hidroxi-fenilalaninból két dihidroxifenilalanin izomer képződhet a hidroxileződési reakciókban. Ezek közül a 3,4-dihidroxi-fenilalanin (L-dopa) standard vegyületként rendelkezésünkre állt (retenció ideje adott kísérleti körülmények között 1,6 (B) perc), így könnyen tudtuk azonosítani az 1,3 (B)

perces retenciós idejű vegyületet, amely csak a 2,4-dihidroxi-fenilalanin lehet. Anaerob rendszerek bevilágításakor a dihidroxileződött származékok felhalmozódnak, míg levegő jelenlétében degradálódnak.

A 3,4-dihidroxi-fenilalanin (L-dopa) fotokatalízise

A 10^{-3} mol/dm³ koncentrációjú L-dopa oldat bevilágításakor mind az argonnal, mind a levegővel kevert szuszpenziókban kisebb mértékű változást észleltünk, mint a fenilalanint vagy a tirozint tartalmazókban. A reakcióelegy szerves széntartalma 420 perc alatt argon atmoszférában 7 %-kal, míg oxigén jelenlétében 20 %-kal csökkent. Ammóniumion csekély mennyiségben képződött, a 300 perces bevilágítás alatt anaerob rendszerekben $5,34 \times 10^{-5}$ mol, míg a 420 perces besugárzás alatt aerob rendszerekben $1,58 \times 10^{-4}$ mol. A spektrális változások alapján ez esetben is ésszerű feltételezni a molekula további hidroxileződését.

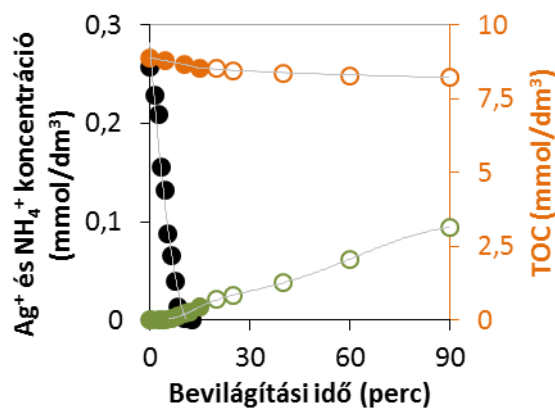
Az anaerob körülmények között bevilágított minták HPLC-MS kromatogramjaiban a trihidroxiszármazékokra jellemző $m/z=214$ MS vonal intenzitása kicsi, de a bevilágítási idő függvényében folyamatosan nő.

Fotodegradáció elektron- és lyukbefogók jelenlétében

Ezüstion – elektronbefogó

Az ezüstionokat tartalmazó TiO₂ szuszpenziókban UV-A sugárzás hatására a fémionok mind anaerob, mind aerob körülmények között redukálódnak (Szabó-Bárdos és mtsai., 2003). Az ezüst hatékony elektronbefogó, így lecsökkenti az elektron-lyuk párok rekombinációjának valószínűségét és a vegyértéksávbán, valamint a felületen nagyobb mennyiségű lyuk marad vissza (Czili és mtsai., 2008). Lehetőség nyílik a lyukak és a belőlük képződő hidroxilgyökök szerepének tanulmányozására. Továbbá rámutathatunk azokra az elsődleges folyamatokra, melyek

ezüstionok jelenlétében nem játszódnak le, az ezüst teljes leválása után, vagy fémionokat nem tartalmazó szuszpenziókban pedig mérhető mennyiségű közti-, illetve végtermékeket eredményeznek.



9. ábra Fenilalanin fotokatalízise ezüstionok jelenlétében argon atmoszférában

● – Ag⁺ ● – NH₄⁺ ● – TOC
●, ● – ezüstleválás alatt ○, ○ – ezüstleválás után
c(fenilalanin)₀ = 10^{-3} mol/dm³, 1 g/dm³ TiO₂

A fenilalanin lebomlását anaerob körülmények között 0,4 mM fémionokat tartalmazó szuszpenzióban tanulmányoztuk. A fotodegradáció első 15 perce alatt az ezüstionok koncentrációja kimutatási határ alá csökkent (9. ábra), mialatt NH₄⁺ ionok a reakcióelegyben nem képződtek. Az aminosav protonált aminocsoportja nem tud hatékonyan versenyezni az ezüstionokkal a fotogenerált elektronokért. A szerves széntartalom a fémleválás alatt gyorsan csökkent, továbbá az emissziós színekben is jelentős intenzitásnövekedést tapasztaltunk a hidroxilezett származékokra jellemző hullámhosszknál. Egyrészt a fotogenerált lyuk és az aminosav karboxilcsoportjának reakciójában CO₂ képződhet, másrészt ezzel versengve a lyuk oxidálhatja a vizet, a keletkező elektrofil [•]OH megtámadhatja a vegyület fenilcsoportját. A hidroxileződés, valamint a lyuk és a karboxilcsoport reakciójának sebessége is csökken a fémionok teljes redukciója után. Ekkor a fenilalanin protonált aminocsoportja az elektronakceptor.

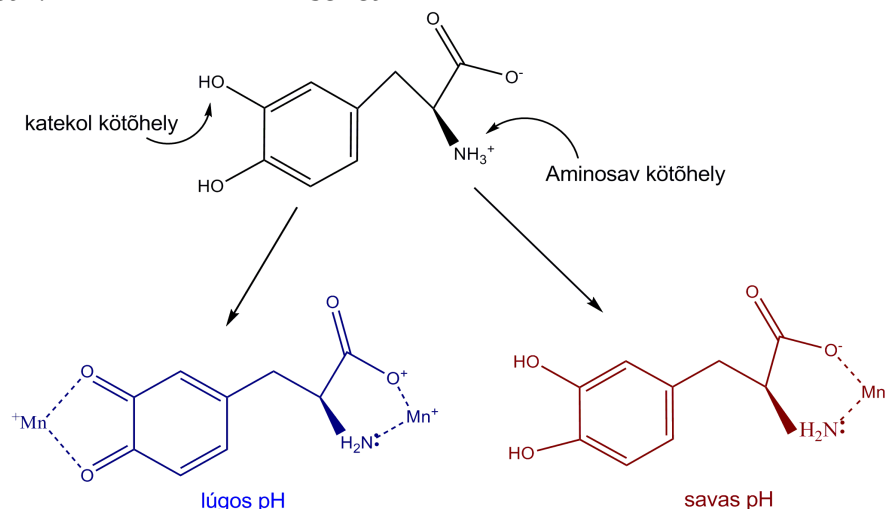
4-hidroxi-fenilalanin (*L*-tirozin)

Fenilalanint és tirozint tartalmazó szuszpenziókban ezüstionok jelenlétében hasonló folyamatok játszódnak le: a fémionok redukciója alatt NH_3 nem képződik, megnő a $\cdot\text{OH}$, ennek következtében a CO_2 és a hidroxileződött intermedierek képződésének sebessége is.

3,4-dihidroxi-fenilalanin (*L*-dopa)

Az *L*-dopa fotodegradációját is megvizsgáltuk ezüstion-tartalmú szuszpenziókban. A kísérlet

előkészítésekor hasonlóan jártam el, mint korábban. A bevilágítás előtt 90 percig argonnal kevertem a reakcióelegyet a teljes oxigénmentesítés céljából. Kb. 30 perces áramoltatás után a sárgás színű szuszpenzió szürkülni kezdett, 1 óra után a színe már sötétszürke volt. A 320 nm - 350 nm és 400 nm - 600 nm tartományban mérhető fényelnyelés, valamint az ezüstionok koncentrációja csökkent az oldatban. A reakcióelegy emissziójának intenzitása nőtt, a sávmaximum a kisebb hullámhosszak felé tolódott.



10. ábra A dopa komplexképződése (Hamada és mtsai., 2007)

Az ezüstionokat tartalmazó dopa szuszpenziókban kettős jelenséget figyeltünk meg. Egyrészt komplexképződés történik (10. ábra), ezt támasztja alá a fényelnyelési spektrum megváltozott karakterisztikája is. Új sáv jelenik meg, amely feltételezhetően a komplex képződésére utaló töltésátviteli sáv (LMCT) a közeli UV és a látható tartomány határán. Hamada és Rogers az *L*-dopa komplexképző sajátosságait vizsgálta több fémion: Al^{3+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} jelenlétében különböző pH-jú oldatokban (Hamada és mtsai., 2007). Spektrális változások alapján bizonyították a fém-dopa komplexek keletkezését (10. ábra).

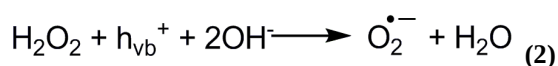
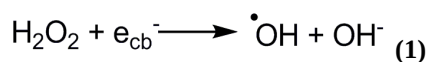
Másrészt termikus reakcióban koloid ezüst válik ki. Az ezüst redoxipotenciálja nagy ($\text{Ag}^+/\text{Ag}^0 = 0,779 \text{ V}$), könnyen oxidálhatja a hidroxilcsoportokat szomszédos helyzetben tartalmazó

dihidroxi-fenilalanint. Jól ismert tény, hogy a dihidroxi-benzolok redukáló tulajdonságúak, feltételezhetően a hosszabb szénlánc jelentősen nem befolyásolja az elektronsűrűség eloszlását az aromás gyűrűn.

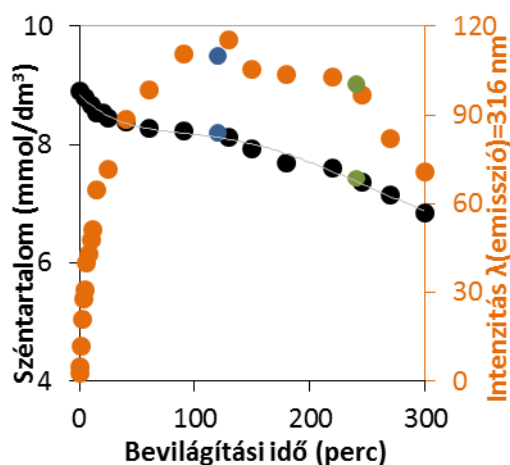
Hidrogén-peroxid – elektronbefogó és lyukbefogó

Az ezüst teljes leválása után tovább folytattuk a bevilágítást anaerob körülmények között. A 120. percben 30 m/m%-os H_2O_2 oldatot adagoltunk a reakcióelegyhez, majd a 240. percben argonról levegőre változtattuk az átáramoltatott gázt.

A H_2O_2 a fotogenerált részecskepár mindkét tagjával reakcióba léphet (1-2), aktív oxigéntartalmú részecskék képződését eredményezve.



A nagy oxidációs potenciálú részecskék megtámadhatják a fenilalanint és hidroxileződött származékait. A H_2O_2 adagolása után a hidroxileződött köztitermékek, főként a dihidroxiszármazékok emissziójának intenzitása kezdetben nőtt, majd csökkent (11. ábra). A reakcióelegy szerves széntartalmának jelentős csökkenése az aromás gyűrű bomlására utal, ami elvezet a vegyület teljes mineralizációjához.



11. ábra A H_2O_2 és az O_2 hatása a fenilalanin fotodegradációjára

1. Az ezüstionok redukciója argon alatt
2. A szuszpenzió bevilágításának folytatása anaerob körülmények között
3. 120. perc – $8,8 \times 10^{-3} \text{ M H}_2\text{O}_2$ hozzáadása (●)
4. 240. perctől levegővel kevertük a szuszpenziót (●)

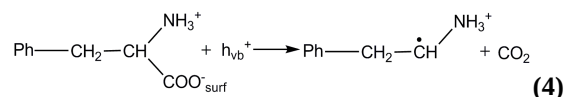
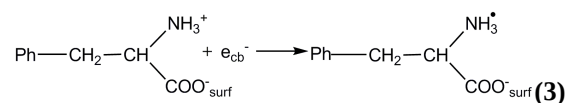
$c(\text{fenilalanin})_0 = 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$, $c(\text{Ag}^+)_0 = 4 \times 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$, $1 \text{ g/dm}^3 \text{ TiO}_2$, $\text{pH}_0 = 4,58$
 $\lambda(\text{gerjesztés}) = 278 \text{ nm}$, $\text{rés} = 5 \text{ nm}$, $\ell = 1 \text{ cm}$

A kísérletet aerob körülmények között folytatva, gyorsan csökken a dihidroxifenilalaninokra jellemző emisszió intenzitása, illetve a reakcióelegy TOC tartalma is.

A bomlási mechanizmus eddig megismert lépései

A katalizátor gerjesztésekor keletkező elektron-lyuk pár rekombinálódhat, illetve a rekombinációval versenghetnek a

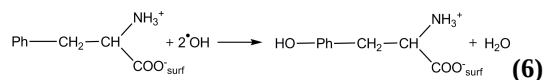
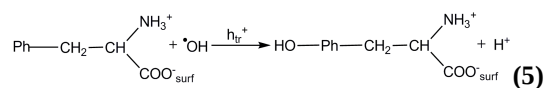
felületen lejátszódó töltésátviteli reakciók. A felületi komplexek és a töltéspár reakciója indítja el az aminosav bomlását (3-4):



Anaerob körülmények között közel kétszer annyi CO_2 képződik, mint NH_4^+ , aerob rendszerekben ez az arány ~15-szörös. Ennek egyik oka, hogy az $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ képződése különböző reakciókkal verseng, mint pl.: $\cdot\text{H}$ képződés vagy elektronátadás a vegyértéksávba, illetve oxigén jelenlétében a szuperoxid-gyökionon képződésével, ugyanis az oxigén hatékony elektronakceptor. A töltésátviteli reakciókban keletkező gyökök (3 és 4) további reakciókban vehetnek részt, amelyek NH_3 és CO_2 fejlődését eredményezhetik.

Aerob rendszerekben mind az oxigén molekulák, mind a keletkező szuperoxid-gyökionon megtámadhatják az elsődlegesen lejátszódó töltésátviteli reakciók termékeit. Az O_2 molekula addíciója révén szerves peroxilgyökök, a $\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$ támadásakor pedig különböző ketosavak, aldehidek és amidok keletkeznek (Matsushita és mtsai., 2007).

Az aromás gyűrűt tartalmazó fenilalanin fotokatalízisekor lejátszódó folyamatok elemzésekor a fentebb említett reakciókon túl figyelembe kell vennünk, hogy az elektrofil tulajdonságú hidroxilgyök megtámadhatja a fenilcsoportot, a molekula hidroxileződhet. Kísérleteinkben a fenilalanin átalakulási sebessége nagyobb, mint az ammóniumion és a széndioxid kezdeti képződési sebessége. Ez a különbség az aminosav hidroxileződésével magyarázható. A hidroxileződött köztitermékek képződésének lehetséges reakcióútjai:



A különböző reakciókban keletkező gyökök változatos reakciókban vehetnek részt mind anaerob, mind aerob körülmények között.

Ezüstion-tartalmú, argonnal kevert szuszpenziókban a fotogenerált elektronokat a fémionok befogják, a katalizátor felületén ezüstklaszterek képződnek. A (3) reakció a fémion redukciója során gátolt, NH_3 nem keletkezik. Ugyanakkor jelentősen megnő a vegyértéksávban a lyukak hozama, illetve a $\cdot\text{OH}$ képződésének valószínűsége, aminek következtében megnő a CO_2 (4) és a hidroxileződött köztitermékek képződésének (5-6) a hatékonysága is.

H_2O_2 -ot tartalmazó szuszpenziókban aktív, reakcióképes oxigéntartalmú gyökök keletkeznek, amelyek megtámadhatják a fenilalanint, illetve a hidrox- és dihidroxiszármazékokat is, megtörténik a gyűrű felnyílása.

Az argon atmoszférában végzett kísérletek bizonyították, hogy a hidroxilgyök támadása nem eredményez gyűrűfelnyílást. Így valószínűsíthetjük, hogy a gyűrűfelnyílás kulcsfontosságú lépése a hidroxileződött származékokon az oxigén-tartalmú, aktív részecskék, a $\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$ és/vagy a $\text{O}_2(^1\Delta\text{g})$ támadása, amely során dioxetán típusú köztitermékek keletkeznek (Wahab és mtsai., 2007).

Összefoglalás

Tudományos munkám során az L-fenilalanin, és a modellvegyület bomlása során keletkező, s azonosított hidroxileződött köztitermékek, az L-tirozin és az L-dopa fotokatalitikus degradációját vizsgáltam anaerob és aerob körülmények között.

Az L-fenilalanin fotokatalizált mintáinak elemzési adatai (NH_4^+ , TOC,

pH), illetve spektrális változásai egyértelműen igazolják, hogy az aromás aminosav fotokatalitikus degradációjakor az első lépés a vegyület hidroxileződése, a keletkezett köztitermékek anaerob körülmények között felhalmozódnak, levegő jelenlétében degradálódnak. HPLC-MS vizsgálatokkal standard vegyületek segítségével azonosítottuk az intermedierek között a 4-hidroxifenilalanint (L-tirozin) és a 3,4-dihidroxifenilalanint (L-dopa).

Ezüst-szulfátot tartalmazó szuszpenziókban (L-fenilalanin, L-dopa) a fémionok gyorsan redukálódnak, ez idő alatt NH_4^+ nem képződik, ugyanakkor megnő a hidroxileződött köztitermékek képződésének sebessége. Az L-dopa ezüst-tartalmú oldataiban két jelenséget figyeltünk meg: ezüst-dopa komplex képződését és az ezüst termikus redukcióját.

Kimutattuk, hogy az argon atmoszférában bevilágított szuszpenzióhoz hidrogén-peroxidot adagolva, megtörténik az aromás gyűrű felnyílása, azaz a H_2O_2 és a fotoindukált részecskepár reakciója oxidáló tulajdonságú gyökök keletkezéséhez vezet ($\text{O}_2^{\cdot-}/\text{HO}_2^{\cdot}$, $\text{O}_2(^1\Delta\text{g})$).

Valószínűsítettük, hogy a gyűrű felnyílása a hidroxiszármazékok és az aktív oxigén-tartalmú részecskék reakciójában történik meg.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőimnek Dr. Szabóné Dr. Bárdos Erzsébetnek és Dr. Horváth Attilának szakmai és erkölcsi támogatásukért, mind a munka kísérleti szakaszában, mind az adatok feldolgozásában és a dolgozat megírásában. Köszönöm a sok segítséget a Tanszék összes Dolgozójának, különösen Tilinger Ferencnének a széntartalom mérések elvégzését. Köszönöm a Föld- és Környezettudományi Intézeti Tanszéken dolgozó Földiné Dr. Polyák Klárának és Andirkó Lászlónénak az ezüstion koncentrációjának mérését, valamint Dr.

Kiss Gyulának és Törő Norbertnek a HPLC-MS vizsgálatok kivitelezését. Köszönöm az Analitikai Kémiai Intézeti Tanszéken dolgozó Dr. Horváth Krisztiánnak az ionkromatográfiás mérések elvégzését. Hálásan köszönöm családomnak és barátomnak a munkám során tanúsított türelmüket, biztatásukat és támogatásukat.

A kutatást a Nemzeti Fejlesztési Ügynökség támogatta a TÁMOP 4.2.2.-08/1/2008-0018, „Élhetőbb környezet, egészségesebb ember - Bioinnováció és zöld technológiák kutatása a Pannon Egyetemen” projekt keretében.

Irodalomjegyzék

- Bartos J.; Perez M. (1984): Pure. Appl. Chem., 54: 467.
- Buxton G. V.; Greenstock C. L., Helman W. P., Ross A. B. (1988): J. Phys. Chem. Ref. Data. 17: 513.
- Czili H.; Horváth A. (2008): Appl. Catal. B: Environ. 81: 295.
- Dombi A.; Ilisz I. (2000): „Nagyhatékonyságú oxidációs eljárások a környezeti kémiában”, A kémia legújabb eredményei, Akadémia Kiadó, Budapest.
- Elsellami L., Chartron V., Vocanson F., Conchon P., Felix C., Guillard C., Retailleau L., Houas A. (2009): J. Haz. Mat. 166: 1195-1200.
- Elsellami L., Vocanson F., Dappozze F., Puzenat E., Païsse O., Houas A., Guillard C. (2010): Appl. Catal. A. Gen. 380: 142.
- Hamada Y. Z., Rogers C. (2007): J. Coord. Chem. 60: 2149.
- Hidaka H., Horikoshi S., Ajisaka K., Zhao J., Serpone J. N. (1997): J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 108: 197.
- Horikoshi S., Serpone N., Zhao J., Hidaka H. (1998): J. Photochem. Photobiol. A: 118: 123.
- Matsushita M., Tran T. H., Nosaka A. Y. (2007): Cat. Tod. 120: 240.
- Pohle-Krauze J. R., Navia J. L., Madore E. Y. M., Nyrope J. E., Pelkman C. L. (2008): Appetite 51: 111.
- Szabó-Bárdos E., Baja B., Horváth A. (2010): J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 213: 37.
- Szabó-Bárdos E., Czili H., Horváth A. (2003): J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 154: 195.
- Wahab H. S., Bredow T., Aliwiand S. M. (2008): Chem. Phys. 353: 93.

A balatoni nádon növő kovaalga közösség fajösszetételének összehasonlítása a tó különböző pontjain

Szabó Beáta

Témavazató: Dr. Stenger-Kovács Csilla

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: A Balatonban található kovaalga fajok száma és a közösség diverzitása az előzetes vizsgálatok alapján igen nagynek mutatkozott, ezért a fajlista, a fajok tér és időbeli eloszlásának ismerete rendkívül fontos a további kutatások, gyakorlati biomonitoring vizsgálatok és a tó ökológiai állapotának megítélése szempontjából. A kutatás során a Balaton hat különböző pontjáról (Badacsony, Balatonszepezd, Tihany, Siófok, Szántód, Fonyód) származó mintákban vizsgáltam a nádon növő kovaalga közösség fajösszetételének időbeli alakulását 2007. március és 2007. november között. A mintavételek havi rendszerességgel történtek. Preparátumonként átlagosan 400 darab valvát számoltam meg. Az összesen 60 feldolgozott mintából 96 kovaalga fajt azonosítottam, ezek közül 39 fajt tekintettem dominánsnak pl. az *Amphora pediculus*, *Achnanthydium minutissimum*, *Cymbella excisa*, *Cocconeis placentula*, *Navicula cryptotenella*, *Fragilaria brevistriata*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, *Rhoicosphenia abbreviate* fajokat. Vizsgáltam az egyes mintavételi helyeken a fajok dominanciájának évszakos változását. A tavasz, nyár illetve ősz szerinti fajelkülönülés Badacsonynál és Balatonszepezden látszódot a legjobban. Fajösszetétel szempontjából igen jelentős különbségeket tapasztaltam az északi illetve déli part mintavételi helyei között. Néhány faj (pl.: *Diatoma vulgaris*, *Nitzschia dissipata*, *Cyclotella ocellata*, *Cocconeis placentula*, *Rhoicosphenia abbreviate*) dominanciája az északi parton igen szembetűnő volt, ugyanakkor ezek a fajok a déli parton csak egyes helyeken

kisebb számban, vagy egyáltalán nem jelentek meg. A déli parti minták is tartalmaztak olyan uralkodó fajokat, melyek dominanciája az északi parton nem volt jelentős (pl.: *Fragilaria brevistriata*, *Fragilaria construens* f. *venter*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*). A vizsgálat során kapott eredményeim jól tükrözik az északi illetve déli part közötti különbségeket, valamint az egyes mintavételi helyeken a fajok dominanciájának évszakos alakulását.

Bevezetés

A bentikus algák fontos szerepet töltenek be az energiaáramlásban és a vízi táplálékhálózatban, mivel jelentős az oxigén és szervesanyag-termelő tevékenységük (Ács és Kiss, 2004). Ezenkívül élőhelyet nyújtanak a vízben élő szervezetek számára, illetve az aljzat stabilizálásáért is felelősek (Ács és Kiss, 2004).

A fitobentoszt alkotó algák közül a kovaalgák különösen jó ökológiai indikátorok, mivel jelentős mennyiségben találhatók meg csaknem minden bevonatban (Lakatos és Bíró, 1991; Ács és Kiss, 2004). Jellemzőjük, hogy gyorsan reagálnak a környezeti tényezők megváltozására, köztük a más eszközökkel nem mért jellemzőkre is. A változást követő néhány héten belül követik a változásokat (Hajnal és mtsai., 2009).

A Balaton az egyik legkutatottabb tó a világon, kovaalga flórájáról és összetételéről azonban kevés ismeret áll rendelkezésre. Florisztikai vizsgálatot Pantocsek József végzett először az 1900-

as évek elején, az azonosított fajokat rajzaival illusztrálta (Pantocsek, 1901). Ezt követően Gallik (1926), Szemes (1957) és Tamás (Tamás és Gellért, 1958; Tamás, 1963) adatai jelentek meg. Az ezt követő időszakban több hazai algológus hozzájárult a flóra megismeréséhez. Uherkovich Gábor a balatoni nádön növény bevonat kovaalgáinak vertikális eloszlását és a balatoni üledék bevonatát is tanulmányozta (Uherkovich, 1988, 1996, 1998). Lakatos Gyula vizsgálta a nád perifitonjának kémiai összetételét a Kis-Balatonon (Lakatos és Bíró, 1991), ezt követően összehasonlította a balatoni nád és kőbevonat összetételét és mennyiségét. Bebizonyította, hogy kovaalgák teszik ki a balatoni nádbevonat jelentős részét, a klorofill tartalomban pedig nagymértékben csökkenő tendenciát talált a Keszthelyi-öböltől a Fűzfői-öböl felé haladva (Lakatos és mtsai., 2001). A tó recens üledékének vizsgálatát Tamás Gizellát és Uherkovich Gábort követően Vörös Lajos és munkatársai (Vörös és mtsai., 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006) végezték. Kimutatták, hogy az üledéken lévő fitobentosz biomaszájában nyugat-kelet irányú csökkenés figyelhető meg a Balatonban, illetve a déli parton nagyobb biomsz értékek mértek, mint a tó más területein. A kovaalgák mellett a cianobaktériumok mennyisége is szembetűnő volt. A fitoplankton és a fitobentosz együttes produkciója alapján a déli part sekély vízterei hipertrófok (Vörös és mtsai., 2002, 2003, 2005; Üveges és mtsai., 2009). A balatoni befolyók kovaalgáiról Ács Éva (Ács és mtsai., 2007) és Stenger-Kovács Csilla (Stenger-Kovács és mtsai. 2008) készítettek publikációt, melyek bebizonyították, hogy a minősítés alapfeltétele a pontos és alapos kovaalga taxonómiai ismereteken alapuló mikroszkópos számolás (Ács és mtsai., 2007), valamint átfogó képet kapunk a Balaton befolyóinak ökológiai állapotáról (Stenger-Kovács és mtsai., 2008).

Az Európai Unió Víz Keretirányelvének (VKI) célja, hogy a felszíni vizek jó

ökológiai állapotát elérje és fenntartsa (EC, 2000). Az elmúlt években a bevonatalkotó kovaalgák tanulmányozására egyre több hangsúlyt fektettek hazánkban, mivel a Víz Keretirányelv (EC, 2000) javasolja ezen élőlénycsoport vizsgálatát, hiszen ökológiai állapotbecslésre kiválóan alkalmas (Round, 1991). A kovaalgák csoportjának jelentőségét mutatja, hogy az Európai Unió tagállamai a kis vízfolyások vízminőségének megítélését e csoport vizsgálatával kívánta megoldani. Erre számos országban dolgoztak ki eljárásokat (Dell’Uomo, 1996; Hofmann, 1996).

Anyag és módszer

Munkám célja az volt, hogy a Balaton északi illetve déli partján három-három mintavételi ponton meghatározzam a kovaalga közösség fajösszetételét és az évszakos változásokat.

Mintáim a Balaton három északi illetve három déli pontjáról származnak: az északi partról Badacsonyról (Szigligeti medence), Balatonszepezdről (Balatonszemesi medence), Tihanyból (Siófoki medence); a déli partról Siófokról (Siófoki medence), Szántódról (Balatonszemesi medence) és Fonyódról (Balatonszemesi medence) (1.táblázat, 1. ábra).

1. táblázat A mintavételi helyek, GPS koordinátáik és kódjaik

Mintavételi hely	Minta kódja	GPS koordináta
Badacsony	BÉ2	46°47'55"/17°30'81"
Balatonszepezd	BÉ3	46°50'45"/17°39'10"
Tihany	BÉ4	46°54'53"/17°53'32"
Siófok	BD2	46°57'51"/18°02'20"
Szántód	BD3	46°52'72"/17°54'14"
Fonyód	BD4	46°45'29"/17°37'04"



1. ábra Mintavételi helyek

A mintavételezés a tó litorális régiójában 2007. márciustól 2007.

novemberig havonta egy alkalommal történt. A gyűjtéseket úgy végezték el, hogy a nádas nyíltvíz felőli oldalán 5-5 véletlenszerűen kiválasztott nádszárnak a vízfelszín alatti 10-30 cm közötti szakaszát levágták, majd rövid sertéjű fogkefével eltávolították a bevonatot róla. A mintákat 96 m/m %-os etanolban tartósították a feldolgozásig.

A nádszárakról eltávolított bevonat minták oxidálására forró hidrogén-peroxidos roncsolási módszert alkalmaztam.

Első lépésként a mintákat alaposan homogenizáltam, majd hőálló üvegedénybe kipipettáztam 3 cm³-t, amelyhez 1 cm³ 1 N-os HCL oldatot és 9 cm³ tömény H₂O₂-ot adtam. Ezeket 80 - 90°C-on meleg főzőlapon addig főztem, amíg a kivett minta a kezdeti térfogatára párolódott be. Ezt követően egy napig hagytam ülepedni a mintákat, dekantáltam, majd megtöltöttem az üvegcséket desztillált vízzel. A mosást egy nap elteltével újra elvégeztem. Ezt a folyamatot összesen háromszor ismételtam meg. A roncsolás utolsó lépéseként a minta egy cseppjét Pleurax gyantába (törésmutató: 1,7) ágyaztam be.

Az elkészített preparátumokat fénymikroszkóppal (Nikon Eclipse E600), 100-as objektívvel, 1000x-es nagyításon vizsgáltam, amelyhez immerziós olajat használtam. Mintánként véletlenszerűen átlagosan 400 darab valvát határoztam meg

faj vagy annál alacsonyabb szintig. A határozáshoz a Süßwasserflora von Mitteleuropa (Krammer és Lange-Bertalot, 1991, 1997, 1999a, 1999b), a Diatoms of Europe (Lange-Bertalot, 2002) és az Iconographia Diatomologica (Lange-Bertalot, 2000, 2004, 2008) kötetét használtam fel. A határozás során kapott adatokból relatív gyakoriságot számoltam.

Abban az esetben, ha egy faj relatív gyakorisága egy mintában elérte az 5%-ot, akkor azt dominánsnak tekintettem.

A mennyiségi adatok alapján cluster-analízist végeztem, amelyhez a SYNTAX programcsomagot (Podani, 2000) használtam. Az eredményeket dendogramon ábrázoltam.

Eredmények

Fajösszetétel

A mintáimban összesen 96 faj határoztam meg. Az átlagos fajszám a mintavételi helyeken 22 ± 5 (Badacsony) és 28 ± 5 (Fonyód) között változott. Az évszakos adatokat elemezve elmondható, hogy tavasszal 22 ± 4 és 29 ± 5 , nyáron 15 ± 1 és 27 ± 6 , ősszel 22 ± 1 és 28 ± 5 között volt az átlagos fajszám (2. táblázat). A legkisebb átlagos diverzitás értéket ősszel Szántódnál (1,5), a legnagyobbat pedig a tavaszi időszakban Badacsonynál (2,8) tapasztaltam. Az egyenletesség értékek viszonylag magasnak mondhatók, a három évszak során csak kismértékben változtak (0,5-0,8) (3. táblázat).

2. táblázat Átlagos fajszám és szórás a mintavételi helyeken (BÉ2-Badacsony, BÉ3-Balatonszepezd, BÉ4-Tihany, BD2-Siófok, BD3-Szántód, BD4-Fonyód)

Mintavételi helyek	Átlagos fajszám	Átlagos fajszám szórása	Átlagos fajszám tavasz	Átl. fajszám szórása tavasz	Átlagos fajszám nyár	Átl. fajszám szórása nyár	Átlagos fajszám őszi	Átl. fajszám szórása őszi
BÉ2	22	5	22	4	15	1	22	1
BÉ3	27	5	26	8	28	1	26	1
BÉ4	26	5	30	5	22	4	25	5
BD2	26	5	25	7	26	6	27	3
BD3	25	6	24	6	31	4	22	4
BD4	28	5	29	5	27	6	28	5

3. táblázat Diverzitás és egyenletesség a mintavételi helyeken (BÉ2-Badacsony, BÉ3-Balatonszepezd, BÉ4-Tihany, BD2-Siófok, BD3-Szántód, BD4-Fonyód)

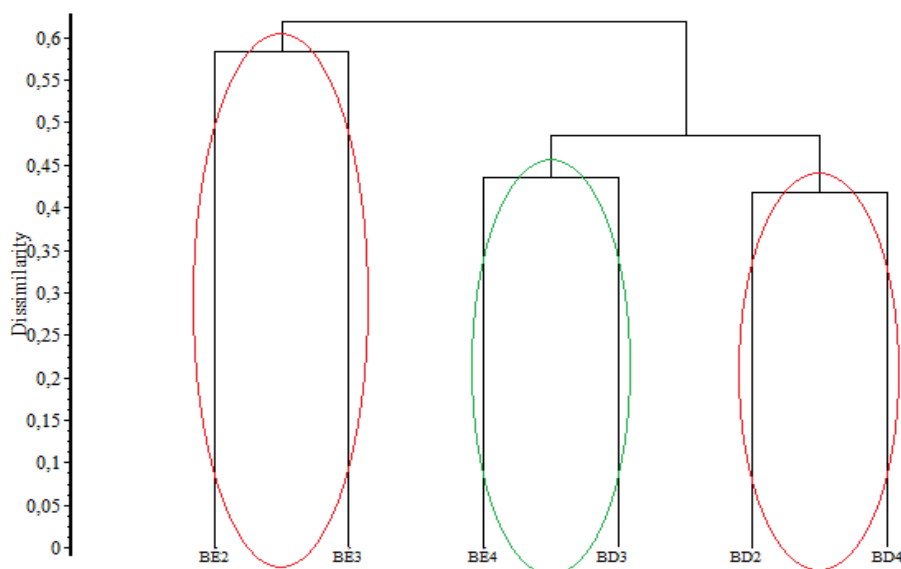
Mintavételi helyek	Átlagos diverzitás tavasz	Átlagos diverzitás nyár	Átlagos diverzitás ősz	Átlagos egyenletesség tavasz	Átlagos egyenletesség nyár	Átlagos egyenletesség ősz
BÉ2	2,8	1,8	2,3	0,8	0,6	0,7
BÉ3	2,1	2,6	2,1	0,6	0,8	0,6
BÉ4	2,6	2,3	1,8	0,7	0,7	0,5
BD2	2,1	2,5	2,4	0,6	0,8	0,7
BD3	1,9	2,6	1,5	0,6	0,7	0,5
BD4	2,2	2,4	2,6	0,6	0,7	0,7

A mintáimban összesen 39 faj volt domináns, amelyek közül a leggyakoribbak pl az *Amphora pediculus*, *Achnanthydium minutissimum*, *Gomphonema* sp., *Cymbella excisa*, *Cocconeis placentula*, *Navicula cryptotenella*, *Fragilaria brevistriata*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, *Rhoicosphenia abbreviata* voltak. Mind a hat mintavételi ponton megjelent domináns fajok: *Gomphonema* sp., *Amphora pediculus*, *Achnanthydium minutissimum*, *Navicula cryptotenella*.

Néhány faj dominanciája az északi parton kiemelkedő volt, de ezek a fajok a déli parton csak egyes helyeken kisebb számban, vagy egyáltalán nem jelentek meg. Ilyen fajok voltak pl. a *Diatoma*

vulgaris, *Nitzschia dissipata*, *Cyclotella ocellata*, *Cocconeis placentula*, és a *Rhoicosphenia abbreviata*. A Balaton déli partján is voltak olyan minták, amelyek tartalmaztak olyan uralkodó fajokat, melyek dominanciája az északi parton nem volt jelentős (pl.: *Fragilaria brevistriata*, *Fragilaria construens* f. *venter*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*).

A 2. ábrán jól látszik, hogy két déli parti (badacsonyi és balatonszepezdi), valamint két északi parti (siófoki és fonyódi) minta között hasonlóságok mutatkoznak. Ezenkívül megfigyelhető még, hogy egy északi és egy déli parti minta (tihanyi és szántódi) domináns fajai között is van kapcsolat.

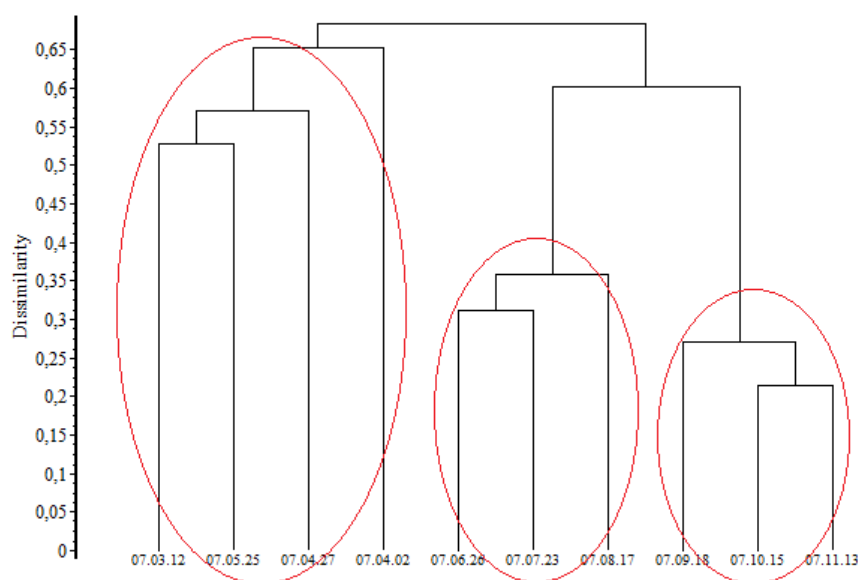


2. ábra A mintavételi helyek (BÉ2-Badacsony, BÉ3-Balatonszepezd, BÉ4-Tihany, BD2-Siófok, BD3-Szántód, BD4-Fonyód) domináns fajai alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

Badacsonynál igen magas arányban volt jelen a *Nitzschia palea* (12,02%) mint domináns faj, ezzel szemben a másik öt mintavételi helyen ennek aránya nem volt jelentős. Emellett nagy számban találtam még *Amphora pediculust* (14,67%) és *Rhoicosphenia abbreviatat* (14,01%). A balatonszepezdi mintákban a legjelentősebb domináns faj a *Cocconeis placentula* (16,34%) volt. Tihanynál az *Achnanthydium minutissimum* (25,85%) aránya volt kiemelkedő. Jelentős számban szerepeltek még a mintáimban a *Gomphonema* fajok (10,64%), de ezek fajszerű határozása nem mindig sikerült, mert gyakran oldalra fordulva jelentek meg a mintákban, így határozóbélyegeik nem voltak láthatóak. Siófoknál legnagyobb

arányban a *Fragilaria construens* f. *venter* (13,09%) volt domináns fajként jelen. Ezt követte az *Achnanthydium minutissimum* (11,59%). Szántódnál szintén kiemelkedően magas arányt ért el az *Achnanthydium minutissimum* (37,26%). Nagy számban fordult még elő *Amphora pediculus*, valamint *Encyonopsis minuta*. A fonyódi mintákban a legjelentősebbnek az *Achnanthydium minutissimum* (13,8%) és a *Diatoma tenuis* (13,68%) fajok bizonyultak. Emellett nagy arányban volt jelen a mintáimban *Cymbella excisa* és *Amphora pediculus* is.

A badacsonyi minták kovaalga fajösszetételében jól megfigyelhető az évszakos elkülönülés (3. ábra).

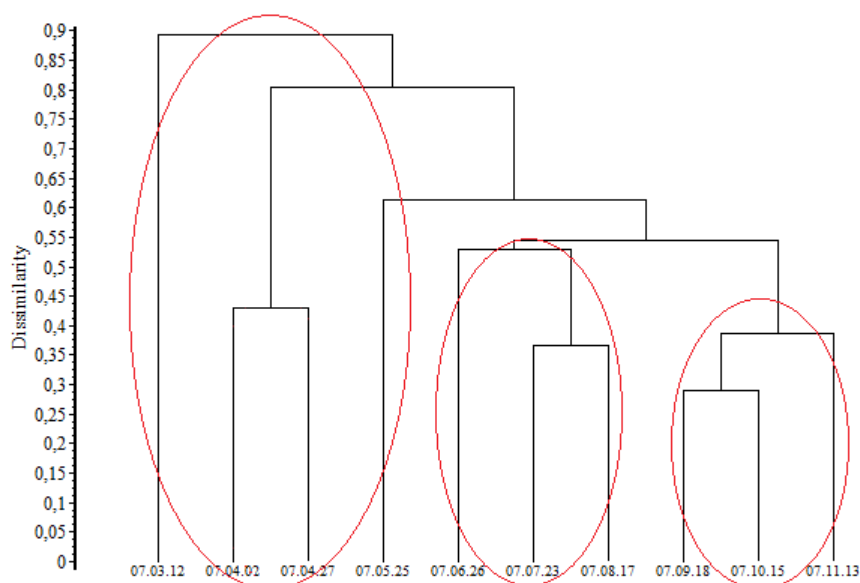


3. ábra Badacsony kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

Badacsonyan a *Gomphonema* sp., az *Achnanthydium minutissimum* és a *Nitzschia dissipata* mind a három évszakban megjelent domináns fajként. A tavaszi hónapokban a *Cymbella excisa* dominanciája volt jelentős. Az *Amphora pediculus* illetve a *Rhoicosphenia abbreviata* szinte az összes mintavételkor jelen volt, de legnagyobb számban a nyári

hónapokban voltak megtalálhatók. A *Nitzschia palea* dominanciája igen meghatározó volt ősszel, de kisebb arányban a tavaszi mintákban is előfordult.

Balatonszepezden is megjelent az évszakok szerinti elkülönülés, viszont a tavaszi minták között nincs olyan szoros kapcsolat, mint a nyári illetve őszi minták között (4. ábra).

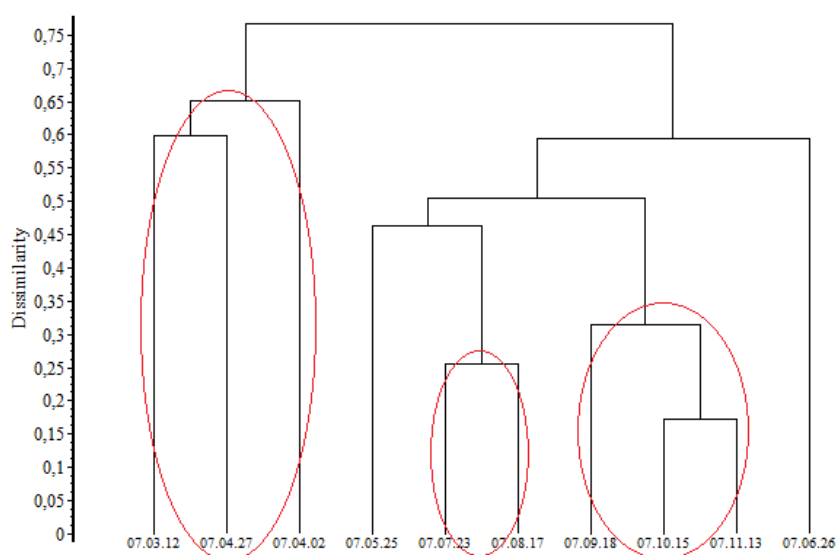


4. ábra Balatonszepezd kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

Balatonszepezden a tavaszi mintavételek legjellemzőbb domináns fajai a *Diatoma tenuis* és *Diatoma moniliformis* voltak, a *Navicula capitatoradiata* csak ebben az évszakban jelent meg domináns fajként. A *Rhoicosphenia abbreviata* dominanciája a nyári mintákban vált jelentőssé. A nyári illetve őszi hónapok domináns fajai közül a legjelentősebbek a *Melosira varians*, *Cocconeis placentula* és az *Amphora pediculus*. A balatonszepezdi

mintákban is jelen volt néhány taxon, amely minden évszakban domináns volt pl. *Gomphonema* sp., *Cocconeis placentula*.

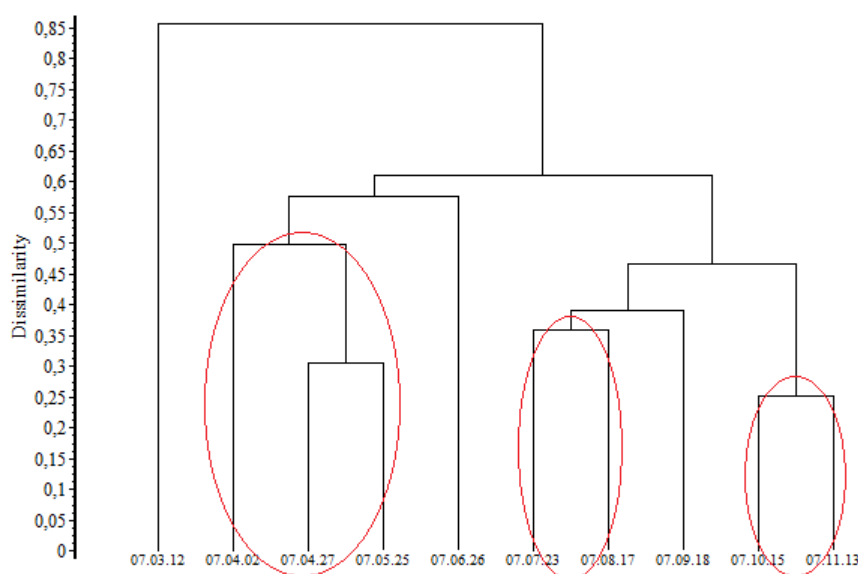
Tihanyban szintén jól megfigyelhető, hogy az egyes évszakokban hasonló fajok domináltak, viszont a májusi kovaalga fajösszetétel szorosabban kapcsolódott a nyári minták fajösszetételéhez, mint a tavasziakhoz. A júniusi minta sem köthető szorosan a nyári mintákhoz, az ősziakkal mutat hasonlóságot (5. ábra).



5. ábra Tihany kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

A *Diatoma moniliformis* kizárólag a tavaszi hónapokra jellemző domináns faj Tihanyban. A *Gomphonema* sp., az *Achnanthydium minutissimum*, *Cocconeis placentula* illetve az *Amphora pediculus* minden évszakban jelentős dominanciával bírtak. Nyáron és ősszel az *Achnanthydium minutissimum* dominanciája kiemelkedő volt, valamint az őszi minták jellemző faja volt még az *Encyonopsis minuta*.

Siófokon nem olyan éles a szezonális elkülönülés. Az egyes minták nem sorolhatók be egyértelműen a tavaszi, nyári illetve őszi csoportokba. A júniusi kovaalga fajösszetétel nagyobb hasonlóságot mutat a tavaszi kovaalga fajösszetétellel, mint a nyárral, valamint a szeptemberi minta is jobban köthető a nyári mintákhoz, mint az ősziékhöz (6. ábra).



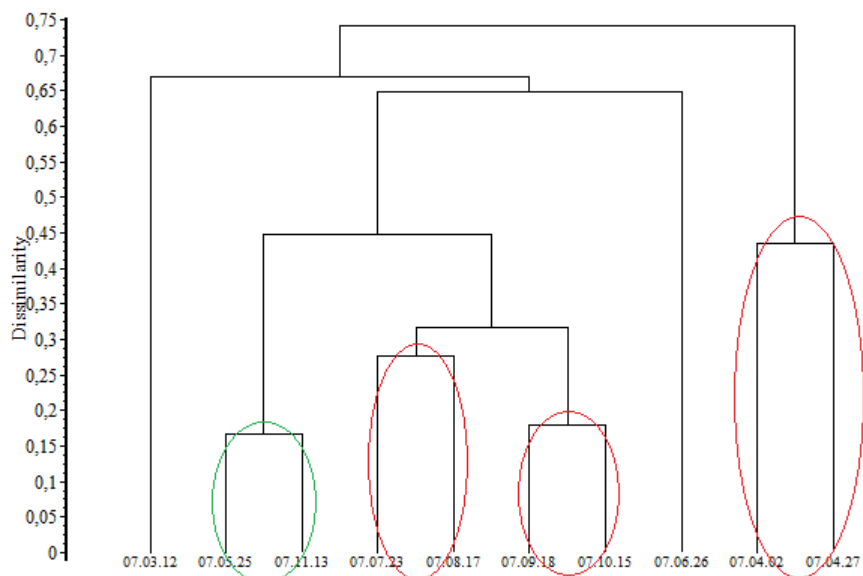
6. ábra Siófok kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

Siófokon a *Fragilaria construens* f. *venter*, *Fragilaria brevistriata*, *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae* és *Achnanthydium minutissimum* mindhárom évszakban domináns fajként volt jelen. A tavaszi hónapok domináns fajai a *Diatoma tenuis* és *Diatoma moniliformis*. Nyár elején a *Fragilaria construens* f. *venter* dominanciája volt szembetűnő. A *Cymbella excisa* leginkább ősszel volt meghatározó. Az őszi mintákban nagy arányban szerepelt még az *Achnanthydium minutissimum* és a *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*.

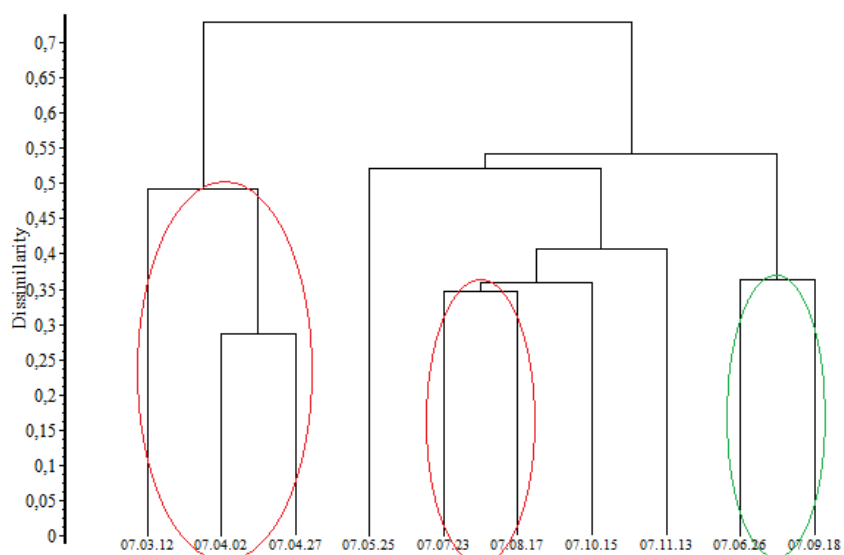
Szántód kovaalga fajösszetételében is megfigyelhető a tavasz, nyár illetve őszi szerinti elkülönülés, valamint megjelenik egy olyan csoport is, amelynél a májusi és novemberi minták (zölddel) közötti

hasonlóság mutatkozik meg (7. ábra). Szántódon az *Achnanthydium minutissimum* egész évben dominált a mintákban és az *Amphora pediculus* is minden évszakban megjelent. A *Diatoma tenuis* és *Diatoma moniliformis* ismételtén csak a tavaszi mintákra volt jellemző, ezzel szemben az *Encyonopsis minuta*, a *Navicula cryptotenella* illetve a *Cymbella excisa* csak nyáron és ősszel volt jelen a mintáimban.

Fonyódon legjellegzetesebben a tavaszi hónapok mintái különültek el. A nyári minták hasonlóságot mutatnak néhány őszi mintával, ezenkívül a júniusi és szeptemberi kovaalga fajok összetételében is hasonlóság figyelhető meg (zölddel) (8. ábra).



7. ábra Szántód kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)



8. ábra Fonyód kovaalga fajösszetétele alapján kapott dendrogram (Bray-Curtis index)

A fonyódi mintákban szintén kimagasló volt tavasszal a *Diatoma tenuis* aránya. Az *Amphora pediculus* és a *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae* itt is minden évszakban megjelent. Az *Achnantheidium minutissimum* és a *Cymbella excisa* tavasz végétől egészen őszig domináns fajként szerepeltek.

Értékelés

2007. március és november között összesen 6 mintavételi helyről származó, 60 preparátumban 96 kovaalga faj

határoztam meg, amelyek közül 39 volt domináns. A 2005. augusztusban a balatoni nádról vett mintákban 127, 2007-ben tavasszal pedig 116 fajt határoztak meg (Stenger-Kovács és Padisák, 2009). 2006. júniusban és szeptemberben összesen 162 kovaalga fajt (Ács és mtsai., 2007), 2007. és 2008. március között 74 fajt azonosítottak a Balaton nádbevonatának vizsgálatakor (Horváth és Stenger-Kovács, leadott). A fajszám különbségek a mintavételi helyek számával, a mintavétel gyakoriságával, az elektronmikroszkópos

vizsgálatokkal vagy azok hiányával, sőt az eltérő taxonómiai jártassággal is magyarázhatók. Mintáimban az átlagos fajszaám minden esetben 22 fölött volt, megközelítve előző vizsgálatok (Stenger-Kovács és Padisák, 2009) 31-es átlagos fajszaám értékét. A diverzitás illetve egyenletesség értékekben nem tapasztaltam túl nagy eltéréseket az egyes évszakokban és mintavételi helyeken. Az egyenletesség mind a három évszak során magasnak bizonyult.

A mintavételi helyek fajösszetételét megvizsgálva az állapítható meg, hogy az *Amphora pediculus* és az *Achnanthydium minutissimum* mind a hat helyen megjelent domináns fajok voltak. Az *Amphora pediculus* eutróf vizekre jellemző (Stenger-Kovács és mtsai., 2008), és az egyik legtöbb tapadási stratégiával rendelkező faj (Ács és mtsai., 1991). Az *Achnanthydium minutissimum*ot r-stratégista gyomfajnak tartják (Ács, 1998; Ács és mtsai., 2001), korábban a Velencei-tó és a Fertő egyik legdominánsabb fajaként jelent meg (Ács és mtsai., 1991), e faj a szemesi valamint a síófoki medence karakter fajának tekinthető (Ács és mtsai., 2007). Minden mintavételi helyen domináns fajként szerepelt még mintáimban a *Navicula cryptotenella*, amely ß-mezoszaprób vizekre jellemző, az eutrofizációval szemben toleráns faj (Stenger-Kovács és mtsai., 2008). Ezeket a fajokat a Balaton más mintavételi helyein is dominánsnak találták (Vonyarcvashegynél, Csopaknál, Balatonmáriafürdőnél illetve Balatonkenesénél) (Horváth és Stenger-Kovács, submitted).

A fajösszetétel alapján az tapasztalható, hogy az északi parti mintavételi helyek illetve a déli parti mintavételi helyek elkülönülnek. Az északi part legnagyobb arányban jelenlévő domináns faja a *Cocconeis placentula* volt, amely az eutróf vizeket preferálja (Stenger-Kovács és mtsai., 2008). Ez a faj egy másik vizsgálat során szintén jelentős domináns fajként jelent meg az északi parti helyeken

(Horváth és Stenger-Kovács, leadott), viszont a 2006-ban elvégzett vizsgálatok során nem volt kiemelkedő (Ács és mtsai., 2007). A déli parton a legszámottevőbb mennyiségben az *Achnanthydium minutissimum* volt megfigyelhető. Emellett kisebb arányban szerepelt a *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*, ami a mezotróf vizeket preferálja (Stenger-Kovács és mtsai., 2008), de dominanciája így sem volt elhanyagolható a déli parti mintákban. Ez a faj más déli parti mintavételi helyeken (Balatonmáriafürdő, Balatonkenese) jóval nagyobb dominanciára tett szert.

Fajösszetételbeli hasonlóság alapján három csoport különíthető el: (i) Badacsonynál illetve Balatonszepezdnél az eutróf vizek indikátorfajai jelentek meg nagy arányban (*Cocconeis placentula*, *Amphora pediculus*). (ii) A síófoki és fonyódi mintákban volt a legjelentősebb a *Fragilaria capucina* var. *vaucheriae* aránya, melynek jelenléte a tóba jutó fény mennyiségével függhet össze. A déli parti részeken rosszabb a fényklíma, ezért itt jellemző a *Fragilaria* fajok ezen környezethez való alkalmazkodása (Ács és mtsai., 2007). Ezen a két mintavételi helyen jelent meg legnagyobb számban a *Diatoma tenuis*, amely a mezotróf vizek indikátora (Stenger-Kovács és mtsai., 2007). (iii) Tihany és Szántód kovaalga fajösszetételében is jelentős hasonlóságot tapasztaltam, ami nem meglepő, hiszen két egymással szemben lévő, igen közeli, a Síófoki medencében fekvő helyekről van szó. Ezek a pontokon a többi mintavételi helyhez képest a legnagyobb arányban szerepelt az *Achnanthydium minutissimum*, illetve ezen a két helyen volt szembetűnő az *Encyonopsis minuta* jelenléte. Az *Achnanthydium minutissimum* és az *Encyonopsis microcephala* korábbi kutatások során is jelen voltak a szemesi illetve síófoki medence domináns fajai között (Ács és mtsai., 2007).

Néhány kivételtől eltekintve elmondható, hogy a mintákban 2007. március és november között legnagyobb

dominanciával az eutróf és mezotróf vizeket kedvelő fajok rendelkeztek. Azonban ennek a két csoportnak az arányaiban évszakos változás jelentkezett.

A tavaszi mintákban a mezotróf vizek indikátora volt kiemelkedő arányú, hiszen Badacsony és Tihany kivételével az összes helyen nagy számmal jelent meg a *Diatoma tenuis*. Ez a faj a csopaki mintákban is tömegesen jelen volt tavasszal (Horváth és Stenger-Kovács, submitted). Emellett Balatonszepezden, Siófokon és Szántódon a *Diatoma moniliformis* is jelentős volt. Tavasszal Tihanyban nagy arányban jelentek meg *Stephanodiscus* fajok is, amelyek az eutróf vizeket indikálják (Krammer és Lange-Bertalot, 1991). Nyáron kevésbé volt egységes a fajösszetétel. Az eutróf (*Melosira varians*, *Cocconeis placentula*, *Achnantheidium minutissimum*, *Amphora pediculus*) és mezotróf (*Fragilaria capucina* var. *vaucheriae*) vizekre jellemző kovaalga fajok mellett Badacsonyban nagy számmal jelent meg a *Rhoicosphenia abbreviata*, amely β - α -mesosaprob vizeket indikálja (Krammer és Lange-Bertalot, 1997). Ez a faj a két szikes tavunkban, a Fertő illetve a Velencei-tó júliusi mintáiban is nagyszámban fordult elő (Ács és mtsai., 1991). Ősszel szintén az eutróf valamint kisebb arányban mezotróf vizeket jelző fajok jelentek meg többségben a mintavételi helyeken. Az őszi badacsonyi minták egyik jellemző faja volt a *Nitzschia palea*, amelyet a változó nedvességtartalmú helyeken élő, valamint időszakos szárazságot elviselő talajalgák között tartanak számon (Krammer és Lange-Bertalot, 1999a).

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek Dr. Stenger-Kovács Csillának a dolgozat elkészítésében nyújtott szakmai segítségért. Köszönettel tartozom Dr. Üveges Viktóriának, Lengyel Edinának és Kovács Katának, hogy segítették a munkámat. Munkámat az

Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

- Ács É. (1998): Short-term fluctuations in the benthic algal compositions on artificial substratum in a large river (River Danube, near Budapest). Verh. Internat. Verein. Limnol. 26: 1653-1656.
- Ács É., Borics G., Kiss G., Reskóné Nagy M., Várbíró G., Kiss K. T. (2007): Fitobenton vizsgálatok tanulságai a Balaton és vízgyűjtője patakjainak példáján. Magyar Hidrológiai Társaság, Országos Vándorgyűlés CD kiadvány: 28.
- Ács É., Buczkó K. (1994): Daily changes of reed periphyton composition in a Hungarian shallow lake (Lake Velencei). In: Marino, D. és Montresor, M. (eds.): Proc. 13th Internat. Diatom Symp. Biopress Limited, Bristol, pp. 1-10.
- Ács É., Buczkó K., Lakatos Gy. (1991): A Velencei-tó és a Fertő nádbevonatának összehasonlító algológiai elővizsgálata. Botanikai Közlemények 78: 95-111.
- Ács É., Kiss K. T. (2004): Algológiai praktikum. ELTE Eötvös Kiadó Budapest. pp. 127-131.
- Ács É., Lakatos Gy., Reskóné Nagy M. (2001): A Velencei-tó nádbevonatában bekövetkezett változások. Hosszútávú algológiai vizsgálatok. Hidrológiai Közöny 81: 308-310.
- Buczkó K. (1986): A comparative study of the periphytic algae on three different flower plant species in Lake Hidegségi Fertő, Hungary. Studia Botanica Hungarica. 19: 63-71.
- Buczkó K. (1989): About the spatial distribution of the algae and the quantitative development of periphyton in the Hungarian part of Lake Fertő (Neusiedler See). BFB-Bericht. 71: 111-124.
- Buczkó K., Ács É. (1996/97): Zonation of periphytic algae in two Hungarian shallow lakes (Lake Velence and Fertő). Acta Botanica Hungarica 40: 21-34.
- Buczkó K., Padisák J. (1987/88): Perifiton vizsgálat a Fertő átjáró tavában. I. Kovaalgák. Botanikai Közlemények 74/75: 127-139.
- Dell'Uomo A. (1996): Assessment of water quality of an Appenine river as a pilot study for diatom-based monitoring of Italian watercourses. In: Whittom BA, Rott E (Eds) Use of algae for monitoring rivers II. Institute für Botanik, Universität Innsbruck. p.65-72
- European Union (2000): Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of

- 23 October 2000 Establishing a Framework for Community Action in the Field of Water Policy, PE-CONC 3639/1/00, REV 1, ENV 221, CODEC 513 pp. 152. Brussels.
- Gallik O. (1926): Balatoni Diatomaceaák. Archivum Balaticum. I. 116-128.
- Hajnal É., Stenger-Kovács Cs., Ács É., Padisák J. (2009): Tavak ökológiai állapotának szoftveres becslése a bentikus kovaalgák alapján. Hidrológiai Közlöny 89: 112-114.
- Hofmann G. (1996): Recent developments in the use of benthic diatoms for monitoring eutrofication and organic pollution in Germany and Austria. In: Whitton BA, Rott E (Eds) Use of algae for monitoring rivers II. Institute für Botanik, Universität Innsbruck. p.73-78
- Horváth R., Stenger-Kovács Cs. (leadott): A Balaton két különböző trofitású medencéjének kovaalga összetétele és ökológiai állapota. Hidrológiai Közlöny
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1991): Bacillariophyceae 3. Teil: Centrales, Fragilariaceae, Eunotiaceae. In: Pascher, Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2/3, Gustav Fischer Verlag, Hedielsberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1997): Bacillariophyceae 2. Teil: Bacillariaceae, Epithemiaceae, Surirellaceae. In: Pascher, Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2/2, Gustav Fischer Verlag, Hedielsberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1999a): Bacillariophyceae 1. Teil: Naviculaceae. In: Pascher, Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 1/2, Gustav Fischer Verlag, Hedielsberg Berlin.
- Krammer K., Lange-Bertalot H. (1999b): Bacillariophyceae 4. Teil: Achnanthaceae, Kritische Ergänzungen zu Navicula und Gomphonema. In: Pascher, Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 2/4, Gustav Fischer Verlag, Hedielsberg Berlin.
- Lakatos Gy. (1978): The phenomenon and significance of benthonic eutrophication in Lake Velencei, Hungary. Acta Biologica Debrecina 15: 147-168.
- Lakatos Gy., Bartha Zs. (1989): Plankton und Biotektonuntersuchungen im Velencei-See (Ungarn.). Acta Biologica Debrecina 21: 37-66.
- Lakatos Gy., Bíró P. (1991): Study on chemical composition of reed-periphyton in Lake Balaton. BFB-Bericht 77: 157-164.
- Lakatos Gy., Kozák L., Bíró P. (2001): Structure of epiphyton and epilithon in the littoral of Lake Balaton. Verh. Internat. Verein. Limnol. 27: 3893-3897.
- Lange-Bertalot H. (2000): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 9. Diatomeen der Anden. Koeltz Scientific Books.
- Lange-Bertalot H. (2002): Diatoms of European Inland Waters and Comparable Habitats Volume 3. Cymbella. A. R. G. Gantner Verlag K. G.
- Lange-Bertalot H. (2004): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 13. Ecology – Hidrogeology – Taxonomy. Koeltz Scientific Books.
- Lange-Bertalot H. (2008): Iconographia Diatomologica. Annotated Diatom Micrographs Volume 17. Diatoms of North America. Koeltz Scientific Books.
- Lászlóffy W. (1972): A Fertő-táj bibliográfiája. Bibliographie des Neusiedler See-Gebietes. Győr-Sopron megye Tanácsa.
- Padisák J. (1982): The periphyton of Lake Fertő: species composition and chlorophyll-a content. BFB-Bericht 43: 95-115.
- Padisák J., Molnár G., Soróczki-Pintér É., Hajnal É., Glen G. D. (2006): Four consecutive dry years in Lake Balaton (Hungary): consequences for phytoplankton biomass and composition. Verh. Internat. Verein. Limnol. 29: 1153-1159.
- Pantocsek J. (1901): Die Kieselalgen oder Bacillarien des Balaton. In: Resultate der wissenschaftlichen Erforschung des Baltonsees. II. Band. Budapest Druck der K. und K. Hofbuchdruckerei des Victor Hornyánszky. 134 pp.
- Pantocsek J. (1912): A Fertő tó kovamoszat viránya 1912. évben. Szerk: Kovács Lajos: A pozsonyi Orvos- Természettudományi Egyesület Közleményei. Pozsony. 43 pp.
- Podani J. (2000): Introduction to the exploration of multivariate biological data. Backhuys, Leiden.
- Round F. E. (1991): Use of diatoms for monitoring rivers. In: Whitton, B.A., E. Rott és G. Friedrich (eds), Use of Algae for Monitoring Rivers. Düsseldorf: 25-32.
- Stenger-Kovács Cs., Bíró P., Soróczki-Pintér É., Királykúti I., Padisák J. (2008): A Balaton befolyóinak ökológiai állapota a bevonatlakó kovaalgák alapján. Hidrológiai Közlöny 88: 192-194.
- Stenger-Kovács Cs., Buczkó K., Hajnal É., Padisák J. (2007): Epiphytic, littoral diatoms as bioindicators of shallow lake trophic status: Trophic Diatom Index for Lakes (TDIL)

- developed in Hungary. *Hydrobiologia*. 589: 141-154.
- Stenger-Kovács Cs., Padisák J. (2009): Kovaalga összetétel a Balaton különböző aljzatain. *Hidrológiai Közlöny* 89: 174-177.
- Szemes G. (1957): Die Diatomeen des Balatonsees. *Annal. Biol. Tihany*. 24: 193-270.
- Szemes G. (1959): Die Bacillariophyceen des Szelider Sees. *Die Binnengewässer Ungarns*. Band I. Budapest. 410 pp.
- Szilágyi F. (2009): A felszíni vizek biológiai minőségének továbbfejlesztése, összefoglaló jelentés. *ÖKO Zrt. Vezette Konzorcium*. pp. 40-42.
- Tamás G. (1959): Die Kieselalgen von Plankton des Teiches Belső-tó in Tihany. *Acta Botanica Hungarica* 501-505.
- Tamás G. (1963): Kieselalgen des Balaton-Sees 1965-1961. *Annal. Biol. Tihany* 30: 167-218.
- Tamás G., Gellért J. (1958): Parti kövek bevonatának kovamoszatai és csillósai a Tihanyi-félsziget keleti részén. *Annal. Biol. Tihany* 25: 241-250.
- Uherkovich G. (1988): Weitere Beiträge zur Kenntnis der Algenvegetation auf der Sedimentoberfläche im Balaton (Plattensee, Ungarn). *Limnologica (Berlin)* 18: 29-67.
- Uherkovich G. (1996): Adatok a Balaton nyugati medencéje üledékfelszíni algavegetációja ismeretéhez. *Somogyi múzeumok közleményei* XII: 223-255.
- Uherkovich G. (1998): A Balaton üledékfelszíni algavegetációja kutatása. *Hidrológiai Tájékoztató* I/163: 29-33.
- Üveges V., Kovács W. A., Somogyi B., Ágyi Á., Padisák J., Vörös L. (2009): A balatoni fitobentosz fotoszintézise II., *Hidrológiai Közlöny* 89: 185-187.
- Varga É., Krausz E., Górh D., Lakatos Gy. (2008): Composition of zootection in the stony shore of Lake Balaton (2003–2005) *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 54 (Suppl. 1): 85–93.
- Vörös L., Kovács A., Mózes A., Bányász D., Németh B. (2005): A Balaton planktonikus és üledéklakó algaegyütteseinek szerepe és szabályozó tényezői. In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2004. évi eredményei*: 7-15.
- Vörös L., Kovács A., Pajer Gy., Mózes A. (2004): A Balaton planktonikus és üledéklakó algaegyütteseinek szerepe és szabályozó tényezői. In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2003. évi eredményei*: 7-15.
- Vörös L., Kovács A., V.-Balogh K. (2002): A fitoplankton és a fitobentosz változásainak kutatása. In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2001. évi eredményei*: 13-21.
- Vörös L., Kovács A., V.-Balogh K. (2003): A fitoplankton és a fitobentosz változásainak kutatása. – In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2002. évi eredményei*: 9-17.
- Vörös L., Kovács A., V.-Balogh K., Tálos A. (2001): A fitoplankton és a fitobentosz változásainak kutatása. In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2000. évi eredményei*: 25-33.
- Vörös L., Somogyi B., V.-Balogh K., Németh B. (2006): A Balaton planktonikus és üledéklakó algaegyütteseinek szerepe és szabályozó tényezői. In: Mahunka S. és Banczerowski J. (eds): *A Balaton kutatásának 2006. évi eredményei*: 7-15.

Szteroid-ferrocén konjugátumok előállítása

Szánti-Pintér Eszter

Témavezető: Skodáné Dr. Földes Rita

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

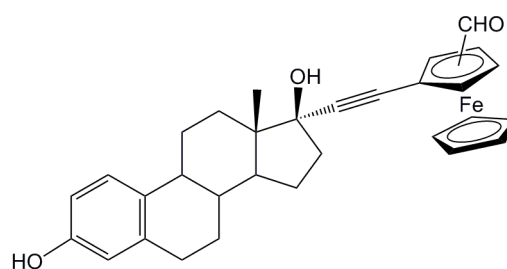
Kivonat: A szteroid-ferrocén konjugátumok több szempontból is jelentősek lehetnek: bizonyították folyadékkristályos viselkedésüket, antibakteriális hatásukat. A ferrocén jelenléte az emberi szervezetben előforduló szteroidhormonok elektrokémiai detektálását is lehetővé teszi. Másrészt a szteroidok heterociklusos származékai kedvező biológiai aktivitással rendelkezhetnek, 1,2,3-triazolilcsoportot tartalmazó vegyületek esetén HIV-ellenes, antibakteriális, allergiaellenes, béta-laktamáz inhibitor hatást mutattak ki. Kezdetben jód-ferrocén és etinil-szteroidok palládium-katalizált, karbonilezési körülmények között lejátszódó Sonogashira kapcsolási reakcióját vizsgáltam, mivel az így keletkezett alkinil-ke-tonok kiindulási vegyületet szolgáltathatnak heterociklusos származékok előállításához. A termékek azonban nem minden esetben keletkeztek jó hozammal, így a kapott vegyületek továbbalakítása heterociklust tartalmazó vegyületté jelentős anyagvesztéssel járt volna. Ennek kiküszöbölésére egy másik reakcióutat választottam, a réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciót, mellyel közvetlenül jutottam heterociklust tartalmazó származékokhoz. Elsőként rendelkezésemre álló etinil-szteroidokkal, valamint általam előállított ferrocén-azid származékkal vizsgáltam a cikloaddíciós reakció lejátszódását. További, új alkinil-szteroidokat magam állítottam elő aminokarbonilezési reakcióval. Az azid-alkin cikloaddíciós reakcióban az alkinil-szteroidok jelentős átalakulást mutattak a Sonogashira kapcsolási reakcióhoz képest. A kapott termékek új vegyületek, melyek

biológiai hatással rendelkezhetnek. A reakciók lejátszódását vékonyréteg-, illetve gázkromatográfiás módszerrel követtem. Az általam előállított vegyületek szerkezetét $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spektroszkópiával, illetve tömegspektrometriával igazoltam.

Bevezetés

Munkám során céлом szteroid-ferrocén konjugátumok előállítása volt. Olyan származékok szintézisét tűztam ki célul, melyekben a szteroidot és a ferrocénvázat heterociklust tartalmazó kapcsoló elem köti össze.

E vegyületek többféle jelentőséggel bírhatnak. A ferrocén jelenlétének köszönhetően lehetőség nyílik a hozzá kapcsolt molekulák elektrokémiai detektálására. Osella és munkatársai 17- α -(ferrocenil-etinil)-ösztradiolt szintetizáltak (Osella és mtsai., 2001).



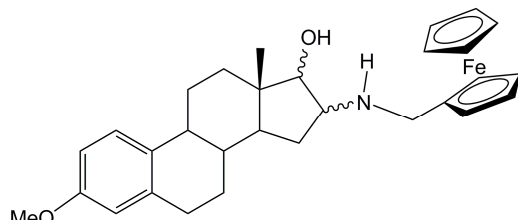
1. ábra 17- α -(ferrocenil-etinil)-ösztradiol (Osella és mtsai., 2001)

Bizonyították, hogy a molekulát az ösztrogén receptor annak ellenére is felismeri, hogy a szteroid 17-es pozíciójába a viszonylag nagy szubsztituens beépítették. Ezzel bizonyították azt, hogy szteroidhormonok ferrocén segítségével történő nyomon követése lehetséges, ennek feltétele a ferrocenilcsoport és a szteránváz megfelelő

távolsága (Coutouli-Argyropoulou és mtsai., 2003).

A szakirodalomban találhatunk példát olyan szteroid-ferrocén konjugátumokra, melyek folyadékkristályos viselkedést mutatnak. Gokel és munkatársai tették közzé az első publikációt arról, hogy a ferrocén molekula Fe(II) centrumának oxidációjával szupramolekulás rendszerek létrehozása lehetséges (Gokel és mtsai., 1991; Wang és mtsai., 1996). Megállapították, hogy a ferrocén-ferrocínium redox rendszer befolyásolni tudja a folyadékkristályok felépítését, keletkezését. Így a redoxaktív fémcentrumot tartalmazó molekula szupramolekulás szerkezetek ellenőrzött felépítésére alkalmazható. Ez teljesen új módszert jelent például membránok, micellák létrehozásában.

Szintetizáltak antimikrobiális hatással rendelkező (ferrocenil-metil)-amino-szteroid származékokat, melyek széles spektrumú aktivitást mutattak (Krieg és mtsai., 1998).



2. ábra Antimikrobiális aktivitást mutató vegyület (Krieg és mtsai., 1998)

A szteroidok kis koncentrációban is nagy biológiai aktivitással rendelkeznek, így fontos, hogy kis mennyiségüket is ki lehessen mutatni szövetekben, testnedvekben. Fontos a belső elválasztású mirigyek betegségeinek vizsgálata a diagnosztizálás, kezelés miatt. Az utóbbi időben általában LC-MS módszert alkalmaznak szteroidok detektálására, azonban a különböző ionizációs módszereknél az ionizáció hatékonysága sokszor kicsi. Állítottak elő szteroid-ferrocén származékokat annak érdekében, hogy neutrális szteroidok ESI-MS detektálásának érzékenységét növeljék

(Higashi és mtsai., 2004). A vizsgált származékok ionizációja kiváló volt, az electrospray folyamat alatt a ferrocén egy elektronos oxidációja kation kialakulásához vezetett.

Szteroid-ferrocén konjugátumok előállításához homogén katalitikus módszerek alkalmazhatóságát próbáltam ki, mivel e reakciók általában jó hozammal és szelektivitással játszódnak le. Olyan reakciókat alkalmaztam munkám során, melyeket korábban nem használtak szteroid és ferrocén összekapcsolására.

A palládium-katalizált karbonilezési reakciók során lehetőség nyílik olyan kis molekulák, így szén-monoxid aktiválására, amelyek alapvetően nem reakcióképesek szerves vegyületekkel szemben. Inert körülmények helyett szén-monoxid atmoszférában különböző karbonilvegyületek előállítására nyílik lehetőség. A karbonilatív Sonogashira reakció aril/alkenil-halogenidek, illetve –triflátok, valamint terminális alkinek összekapcsolására alkalmazható. A reakció során egy szén-monoxid molekula beépülésével alkinil-kezonok keletkeznek.

Egy másik, szintén szén-monoxid atmoszférában lejátszódó, palládium-katalizált folyamat az aminokarbonilezési reakció. Ez esetben aril/alkenil-halogenidek, illetve –triflátok primer vagy szekunder aminnal kapcsolódva eredményeznek amidokat.

Munkám során réz katalizált Huisgen 1,3-dipoláris cikloaddíciót is alkalmaztam. A reakció azidok és terminális alkinek között játszódik le, termékként 1,2,3-triazolok nyerhetők. Regioszelektivitása miatt körben alkalmazzák: 1,4-diszubsztituált-vegyületek keletkeznek. További előnye, hogy enyhe körülmények között lejátszódik, és oldószer-, valamint pH független.

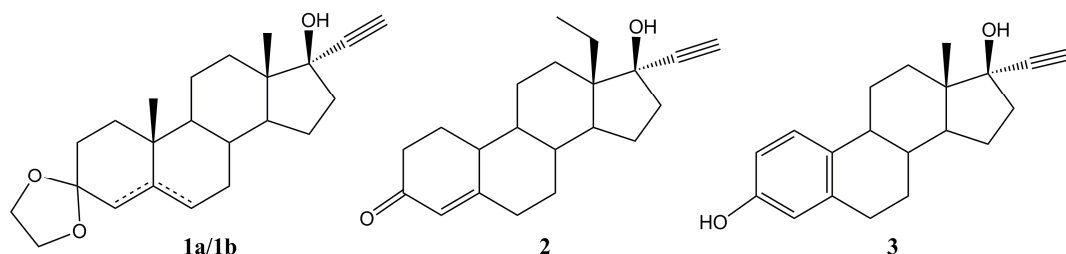
Anyag és módszer, eredmények

Kísérleti munkám során különböző alapvázal rendelkező szteroidok

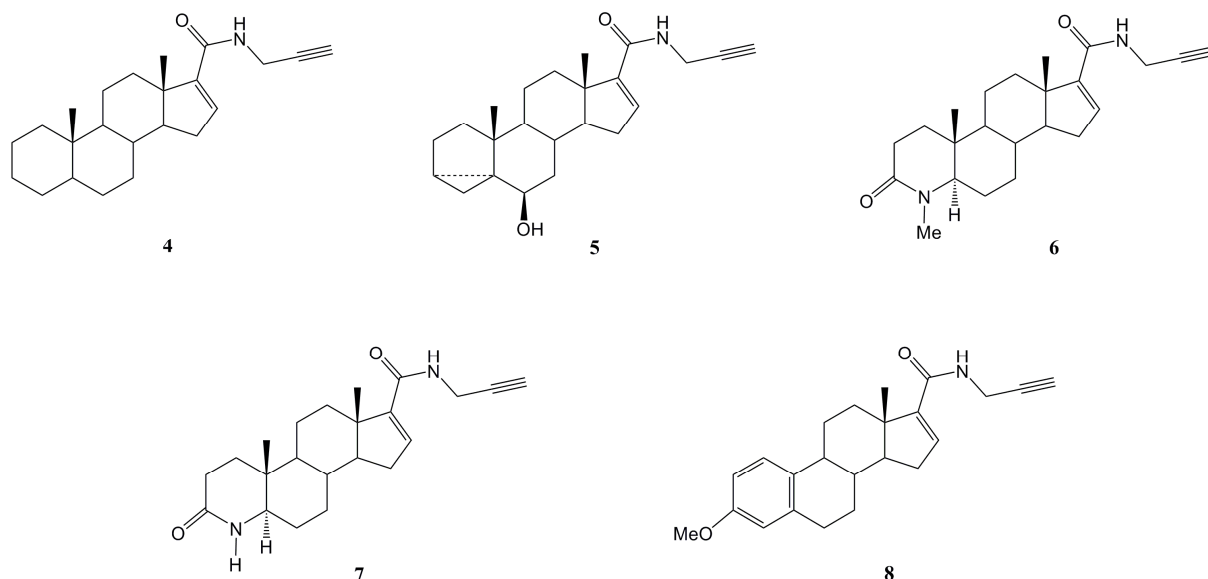
ferrocéntartalmú konjugátumait állítottam elő.

A felhasznált szteroidok egy része fogamzásgátló komponenseként használt vegyület, vagy annak származéka. A szintetikus progesztogén hormonok közé tartozik az etiszteron, melynek

származékai az **1a** és **1b** vegyületek. (A felhasznált etiszteron-ketál egy származék elegy, mely 79%-ban Δ^5 (**1a**), 21%-ban Δ^4 (**1b**) izomert tartalmaz.) A levonorgestrel (**2**) szintén gesztagén hatású szintetikus hormon, míg az etinil-ösztradiolt (**3**) a szintetikus ösztrogének közé soroljuk.



3. ábra Kiindulási etinil-szteroidok



4. ábra Aminokarbonilezési reakcióval előállított alkinil-szteroidok

További öt alkinil-szteroidot (**4-8**) magam állítottam elő alkenil-jodidokból aminokarbonilezési reakcióval.

A $3\alpha,5\alpha$ -cikloandrosztánok Δ^5 vegyületek előállításánál alkalmazott intermedierek (Lee és mtsai., 1981). A ciklopropil gyűrű kialakítása használható az 5-ös pozícióban levő kettős kötés védelmére, a szteroid a kívánt funkciós csoportok beépítése után visszaalakítható Δ^5 vegyületté.

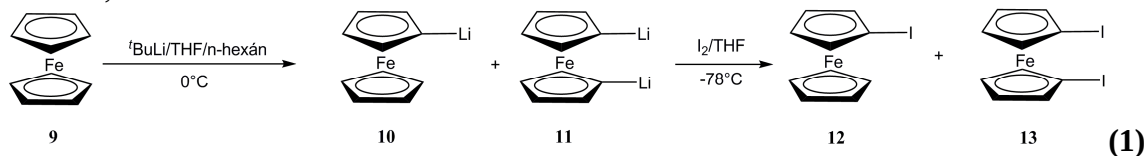
A laktám A-gyűrűt tartalmazó alapvázal rendelkező vegyületek közül néhány gyógyászati szempontból is

jelentős. 17-Karboxamid származékaik képesek gátolni a tesztoszteront dihidrotesztoszteronná redukáló 5α -reduktáz enzim működését. Gyógyszerkémiai szempontból ez a tulajdonság nagyon jelentős, mivel a megemelkedett dihidrotesztoszteron szintet számos betegség kialakulásával hozzák összefüggésbe (Morzycki és mtsai., 1995). Ilyen 5α -reduktáz inhibitor tulajdonsággal rendelkező vegyület a finaszterid, melyet férfiaknál bekövetkező jóindulatú prosztata megnagyobbodás gyógyítására használnak (Stoner és mtsai., 1990).

A 17-jód-5 α -androszt-16-én, illetve 3-metoxi-17-jód-öszt-1,3,5(10),16-tetraén származékai modellvegyületekként alkalmazhatók különböző szintézisekben.

1. A kiindulási jód-ferrocén, és alkinil-szteroidok előállítása

Kezdetben a rendelkezésemre álló etinil-szteroidok, valamint két általam előállított



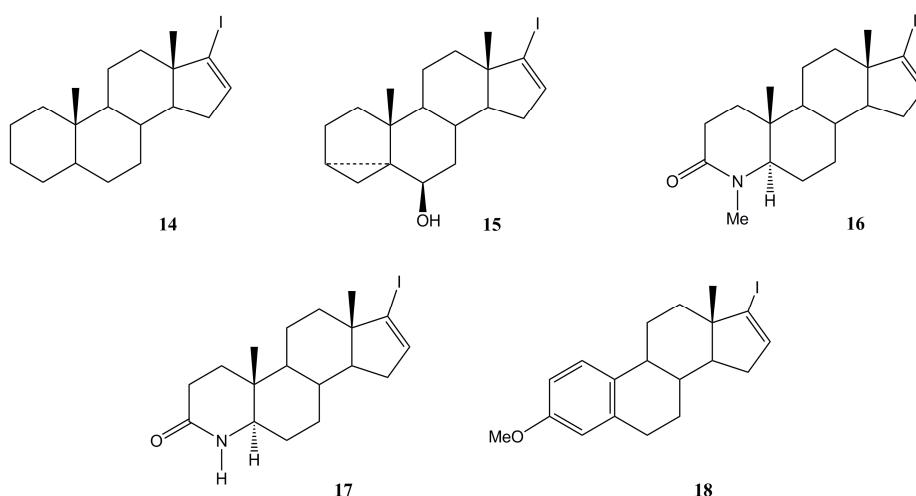
A ferrocén lítiálására t BuLi-ot használtam, THF-hexán elegyben dolgoztam. A hexán/THF elegy alkalmazása azért előnyös, mert a hexán elősegíti a jód-ferrocén kiválását, ezáltal mind bomlását, mind további lítiálását gátolja. A ferrocenil-lítiumot elkülönítés nélkül, jód hozzáadásával alakítottam a jódszármazékká.

alkinil-szteroid karbonilatív Sonogashira kapcsolási reakcióját vizsgáltam jód-ferrocén jelentétében.

A kiindulási jód-ferrocént két lépésben, Kagan (Guillaneux és mtsai., 1995) és Watanabe (Watanabe és mtsai., 1991) módszere szerint ferrocénből állítottam elő a következő reakcióegyenlet szerint:

A jód-ferrocént oszlopkromatográfiás tisztítás után 65%-os hozammal állítottam elő, melléktermékként 1,1'-dijód-ferrocén keletkezett (**13**).

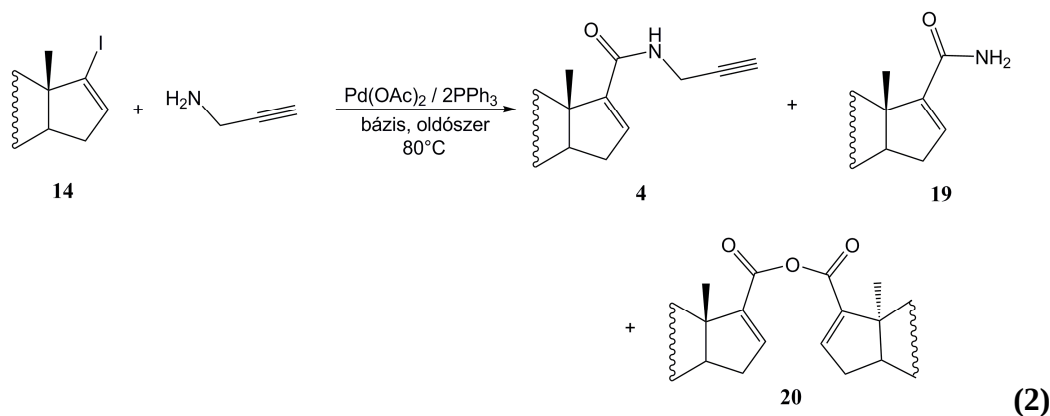
További kiindulási szteroidokat magam állítottam elő aminokarbonilezési reakcióval, mely során az 5. ábrán látható szteroid alkenil-halogenidekből indultam ki.



5. ábra Aminokarbonilezési reakcióban felhasznált szteroid alkenil-halogenidek

Reagensként propargil-amint, katalizátorként $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ és PPh_3 1:2 arányú elegyét alkalmaztam. A 17-jód-5 α -androszt-16-én esetén vizsgáltam a reakciókörülmények hatását, 80°C-on, különböző szén-monoxid nyomás, oldószerek és bázis jelenlétében. A reakciókat gázkromatográfiás és vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel

követtem. Az aminokarbonilezési reakciókban általánosan alkalmazott körülmények között — DMF oldószerben és Et_3N bázis jelenlétében — **14** átalakulása teljes volt, azonban a várt termék mellett két melléktermék, **19** és **20** keletkezését is tapasztaltam (1. táblázat, 1. sor).



1. táblázat 14 aminokarbonilezési reakciója propargil-amin jelenlétében.

Reakciókörülmények: propargil-amin/szteroid/bázis

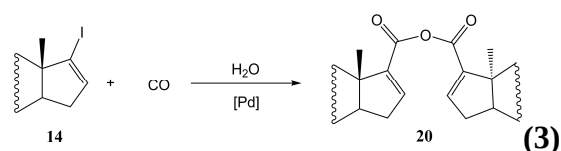
(mmol/mmol/mmol)=3/0,6/1,2; 80°C, 8 h

(a): a termék-melléktermék arányokat gázkromatográfiás mérés alapján határoztam meg

(b): a reakcióban ^1H -NMR mérés alapján 30%-ban 20 vegyület is keletkezett.

Sorszám	Nyomás (bar)	Bázis	Oldószer	Termékek aránya (%) (a)	
				4	19
1	1	Et_3N	DMF	47	23 (b)
2	1	Et_3N	toluol	87	13
3	6	Et_3N	toluol	92	8
4	1	Cs_2CO_3	1,4-dioxán	95	5

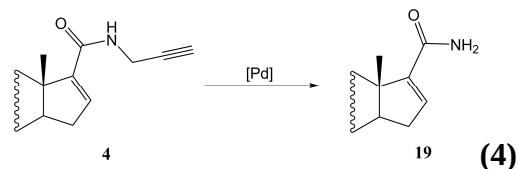
Korábban megfigyelték, hogy víznyomok jelenlétében, DMF oldószerben különféle 17-jód-16-én vegyületekből két szteránvázat tartalmazó savanhidridek képződtek (Skoda-Födes és mtsai., 1995). (3. egyenlet). A mellékreakció visszaszorítása érdekében a továbbiakban könnyebben vízmentesíthető oldószereket alkalmaztam. A vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálatok azt mutatták, hogy savanhidrid ezekben a reakciókban nem keletkezett.



Megpróbáltam magyarázatot találni a 19 vegyület képződésére. Ennek érdekében az oszlopkromatográfiás módszerrel elkülönített 4 vegyületet $\text{Pd}(\text{OAc})_2 + 2 \text{PPh}_3$, trietil-amin, toluol oldószer és 1 bar

CO jelenlétében 80°C-on kevertem. A gázkromatográfiás vizsgálat azt mutatta, hogy 4 óra elteltével 15%-ban képződött a 19 primer amid. A mellékterméket GC és GC-MS vizsgálatok alapján egy, a kutatócsoportban más módszerrel előállított (Balogh és mtsai., 2008), bizonyított szerkezetű vegyület segítségével azonosítottam.

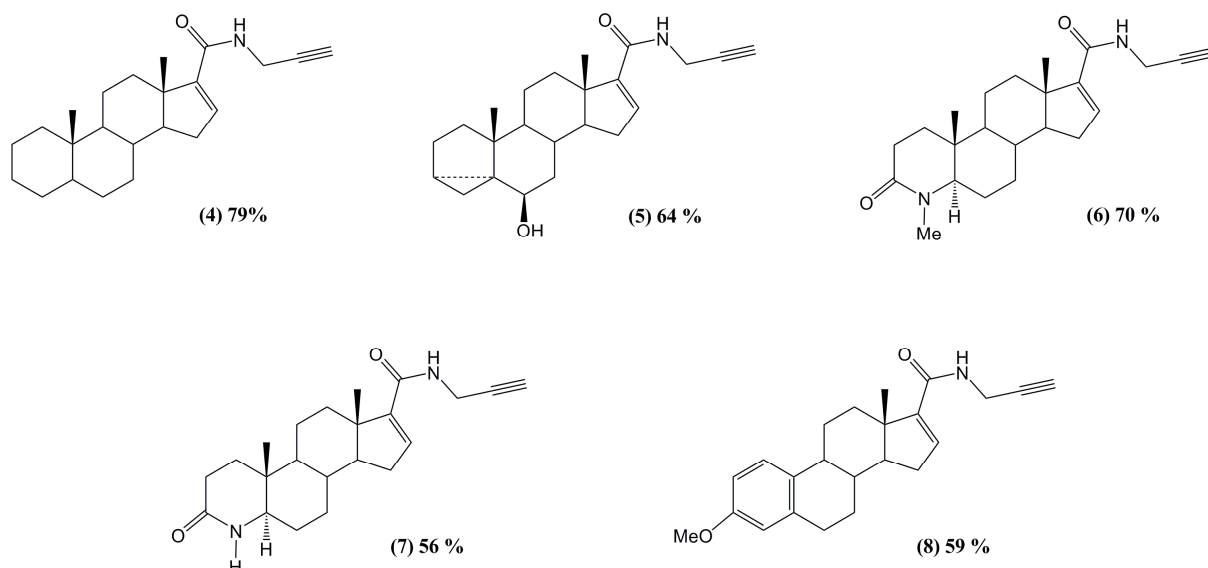
A kísérlet alapján 19 az aminokarbonilezés során keletkező 4 amid palládium-katalizátor jelenlétében lejátszódó hasadásával képződik (4. egyenlet).



A vizsgált reakciókörülmények közül legmegfelelőbbnek az 1 bar CO nyomás, 1,4-dioxán oldószer és Cs_2CO_3 bázis alkalmazása bizonyult (1. táblázat 4. sor).

A kísérletek alapján a többi szteránváz aszolenil-jodid (15-18) aminokarbonilezését is azonos körülmények között végeztem el.

A reakciók előrehaladását gázkromatográfiával, illetve vékonyréteg-kromatográfiával követtem. A kapott termékeket oszlopkromatográfiával tisztítottam, az így kapott hozamokat a 6. ábrán tüntettem fel.



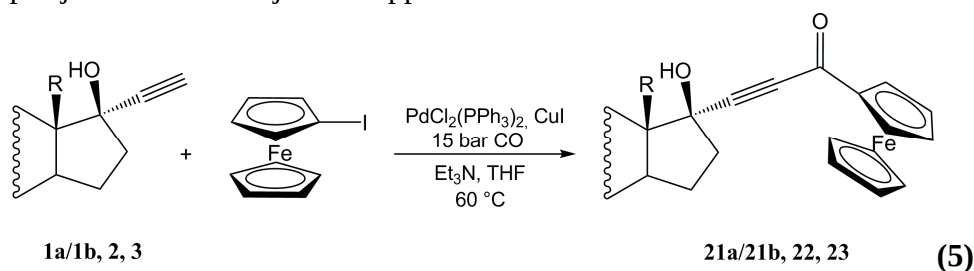
6. ábra Aminokarbonilezési reakcióval előállított alkinil-szteroidok és izolált hozamaik

A termékek szerkezetét ^1H -NMR és ^{13}C -NMR spektroszkópiával igazoltam. **4-8** ^1H -NMR spektrumában 5,68-5,91 ppm tartományban megjelent az amid protonjának tripléttje, és szintén ilyen jelalakot adott 2,15-2,23 ppm között az etinil csoport protonja. A propargil csoport metilénjének jele (dd) 4,03-4,10 ppm között jelent meg. ^{13}C -NMR-ben **4-8** vegyületeknél a vázhoz tartozó szénatomok jelein kívül több új jelet figyeltem meg: az oldallánc amidocsoportjának szénatomja 165 ppm

körüli, az acetilén-szénatomok pedig 70-80 ppm közötti eltolódásnál jelentkeztek. **4-8** szerkezetét a tömegspektrometriás mérés eredménye is alátámasztotta.

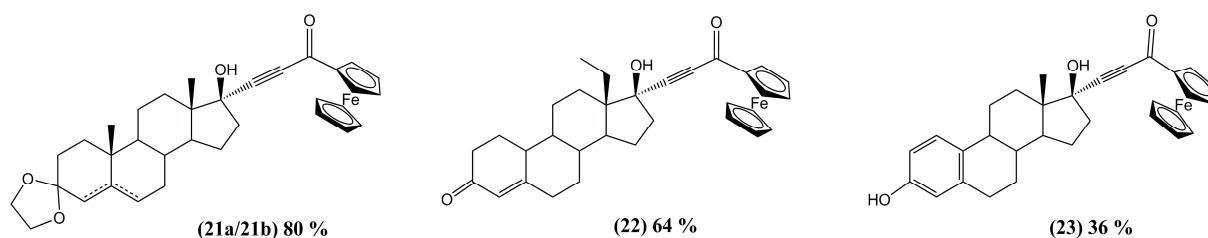
2. Szteroid-ferrocén konjugátumok előállítása karbonilatív Sonogashira reakcióval

Elsőként etinil-szteroidok palládium-katalizált karbonilezését vizsgáltam jód-ferrocén jelenlétében. Az **1a/1b**, **2** és **3** etinil-szteroidokat CO atmoszférában jód-ferrocénnel reagáltattam (5. egyenlet).



Katalizátorként az irodalmi adatok alapján legmegfelelőbbnek bizonyult $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ -ot, és CuI -ot alkalmaztam. Jód-ferrocén és fenil-acetilén hasonló reakcióját korábban részletesen vizsgálták a kutatócsoportban (Fehér és mtsai., 2009). Az ekkor nyert kísérleti tapasztalatok alapján választottam meg a reakciókörülményeket. THF oldószerben, Et_3N jelenlétében, 15 bar CO nyomáson és

60°C hőmérsékleten 12 óra elteltével 67%-os hozammal izoláltam a **21a**, **21b** termékekegyet. A reakció idejének növelésével (20 h) 80%-os kitermelést értem el, így a további termékek előállítása során az 5. egyenlet szerint feltüntetett körülményeket, és 20 h reakcióidőt alkalmaztam. A kapott termékek szerkezetét és izolált hozamát mutatja a 7. ábra.



7. ábra Karbonilatív Sonogashira reakcióval kapott termékek és izolált hozamai

21a, 21b azonosítása $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, IR spektroszkópiával, illetve tömegspektrometriával történt.

21a és 21b $^1\text{H-NMR}$ spektrumában megjelentek a ferrocén jelei 4,82 (2',5'-ciklopentadién (továbbiakban cp)), 4,56 (3',4'-cp), illetve 4,19 ppm-nél (nem szubsztituált cp). A kiindulási vegyület $^1\text{H-NMR}$ spektrumában jelentkező 21-H jele (2,54 ppm) eltűnt, ami a kapcsolás lejátszódását bizonyítja. A termékelegy izomer-összetétele a kiindulásihoz képest nem változott, amit az $^1\text{H-NMR}$ spektrum alátámaszt, mivel 6-H és 4-H intenzitásaránya 80, illetve 20% volt. A szén-monoxid beépülését bizonyítja az IR spektrumon 1584 cm^{-1} -nél a karbonil vegyértékrezgés megjelenése, valamint a $^{13}\text{C-NMR}$ -ben 181,1 ppm-nél a C-22 szingulettje. A tömegspektrometriás vizsgálat igazolta a keletkezett termék molekulatömegét.

22, 23 szerkezetét $^1\text{H-NMR}$, IR spektroszkópiával és tömegspektrometriával igazoltam. Az $^1\text{H-NMR}$ spektrumokban megjelentek a ferrocén 2',5'-cp, 3',4'-cp, és a nem szubsztituált ciklopentadién gyűrű protonjainak jelei: **22**-nél 4,88; 4,56; 4,2; **23** esetén 4,88; 4,6; 4,28 ppm-nél. **22** vegyületről $^{13}\text{C-NMR}$ felvétel is készült. A 181,1 ppm-nél található, karbonil szénnek megfelelő eltolódású jel alátámasztja a keton képződését. A szén-monoxid beépülését bizonyítja **22** és **23** IR spektrumában megjelenő karbonil vegyértékrezgés 1653 , illetve 1647 cm^{-1} -nél. A tömegspektrum alapján kapott molekulatömegek a feltételezett szerkezeteket igazolták.

A termékek elkülönítése során azt tapasztaltam, hogy **22** és **23** vegyület oldatban bomlásra érzékeny és az oszlopkromatográfiás elválasztás során is részleges bomlást szenved. Ez lehet a magyarázata annak, hogy e termékeket a korábbiánál alacsonyabb hozammal tudtam kinyerni.

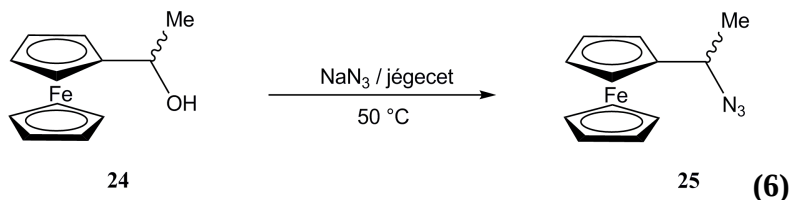
Az általam előállított alkinil-szteroidok közül **4** és **6** esetében vizsgáltam a karbonilezési reakció lejátszódását. A korábbiakban legmegfelelőbbnek bizonyult reakciókörülményeket választottam. Azonban a reakcióelegy gázkromatográfiás, illetve vékonyréteg-kromatográfiás vizsgálata során azt tapasztaltam, hogy bonyolult termékelegy keletkezett. A kapott termékek mennyisége nem volt elegendő különböző spektroszkópiai módszerekkel egyértelmű szerkezet meghatározásra, és oldatban részben el is bomlottak. Mivel a feltételezett termékek kis mennyiségben keletkeztek, és nem mutattak nagy stabilitást, úgy véltem, célszerűbb egy másik reakcióban is vizsgálni az alkinil-szteroidok reakciókészségét. A réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciót választottam, mivel a szakirodalomban számos példa van e reakció alkalmazására: enyhe körülmények között lejátszódik, és regioszelektív. Egy lépésben juthatunk heterociklusos származékokhoz, a keletkezett 1,2,3-triazol szerkezet stabilis.

3. Szteroid-ferrocén konjugátumok előállítása azid-alkin cikloaddícióval

További szteroid-ferrocén konjugátumokat réz-katalizált azid-alkin cikloaddícióval állítottam elő. A rendelkezésemre álló etinil-szteroidok és általam előállított alkinil-szteroidok esetében is vizsgáltam a

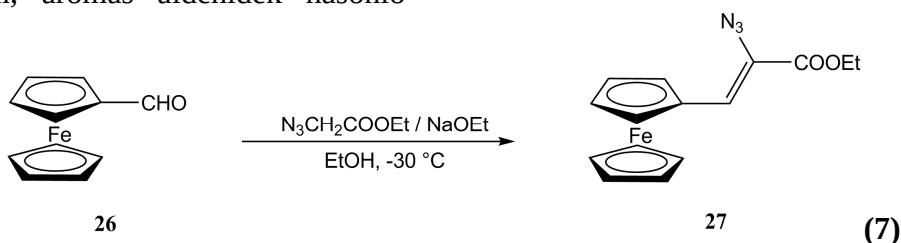
reakció lejátszódását különböző ferrocén-azid származékok jelenlétében.

A kiindulási ferrocén-azid származékokat magam állítottam elő, a reakciókörülményeket szakirodalom alapján választottam meg.



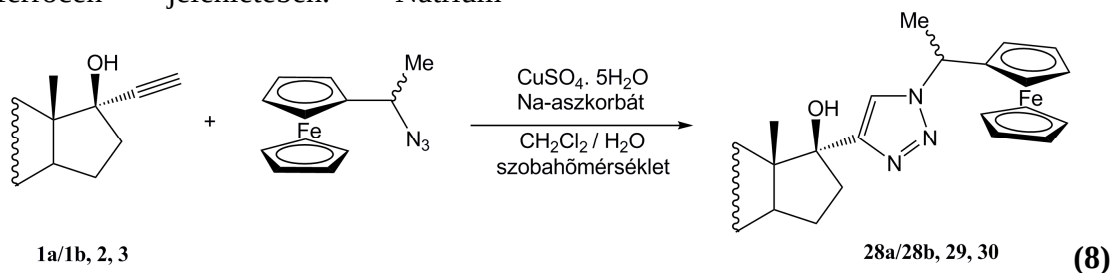
Az α -azido- β -ferrocenil-propénsav-etilészterhez ferrocén-karboxaldehid és etil-azido-acetát reakciójában jutottam, nátrium-etilát bázis jelenlétében. A körülményeket szakirodalom alapján választottam, aromás aldehidek hasonló

származékainak előállítása alapján: -30°C -on, etanol oldószer felhasználásával állítottam elő azid származékot (Murakami és mtsai., 1997). A terméket 35%-os hozammal állítottam elő.

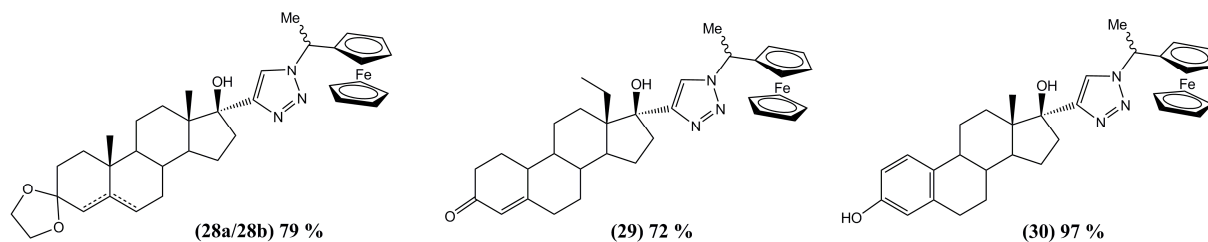


Elsőként a rendelkezésemre álló **1a/1b**, **2**, **3** etinil-szteroidokból állítottam elő heterociklusos származékokat cikloaddíciós reakcióban, 1-azido-etilferrocén jelenlétében. Nátrium-

aszorbát, réz-szulfát, illetve víz és diklórmetán oldószerek jelenlétében, szobahőmérsékleten 5 nap után jutottam **28a/28b**, **29**, **30** termékekhez.



Az oszlopkromatográfiával tisztított vegyületek hozamát a 8. ábra mutatja.



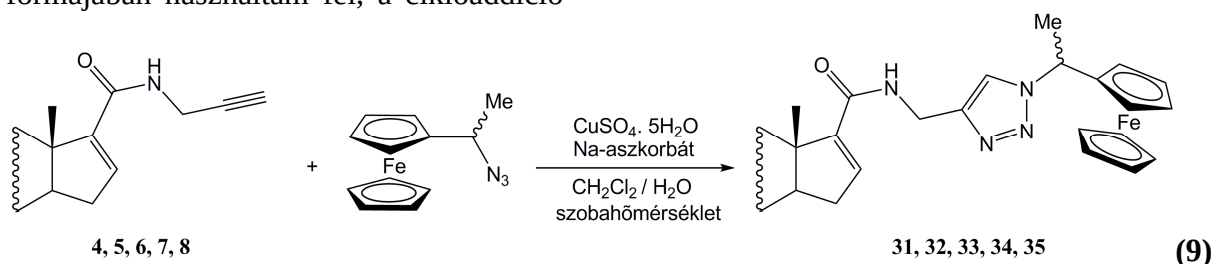
8. ábra Etinil-szteroidokból előállított termékek azid-alkin cikloaddíciós reakcióval

1a/1b esetében hasonló hozammal keletkezett a kívánt termék, mint a jódd-ferrocénnel történő karbonilatív Sonogashira kapcsolás során, míg **2**, **3** vegyületeknél a heterociklusos származékok hozama magasabb volt. **22**, **23** termékekkel ellentétben az 1,2,3-triazolilcsoportot tartalmazó **29**, **30** esetén nem tapasztaltam bomlást sem oldatban történő állás, sem oszlopkromatográfiás elválasztás során.

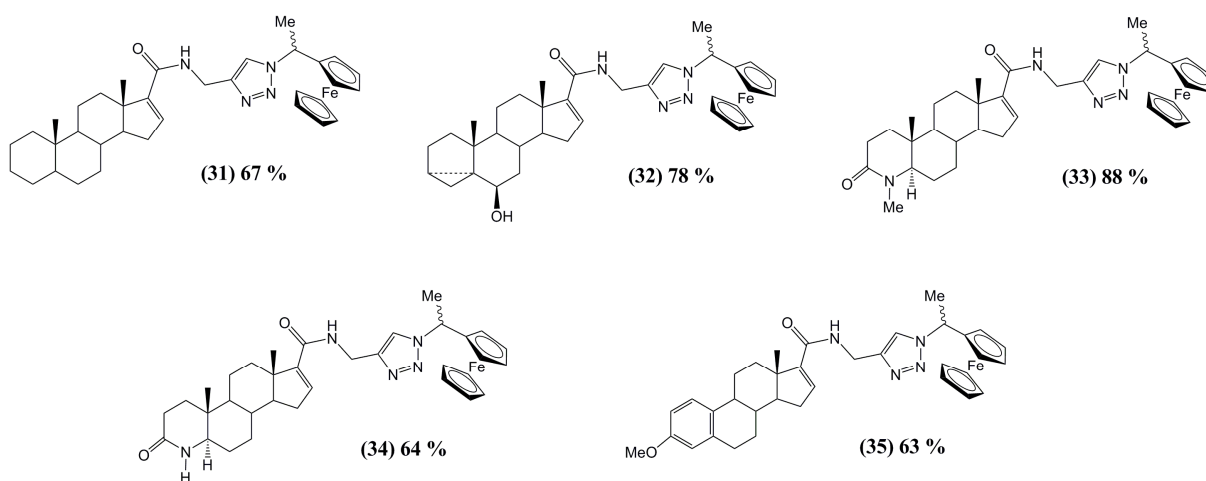
A kapott vegyületek szerkezetét ^1H -NMR spektroszkópiával igazoltam. 7,18-7,29 ppm között megjelent a triazolilcsoport protonjának jele, a ferrocén ciklopentadienil gyűrűjének protonjai pedig a 4,14-4,23 ppm tartományban adtak multiplettet. Mivel az 1-azido-etilferrocén királis vegyület, melyet racém elegy formájában használtam fel, a cikloaddíció

során a termék két epimere keletkezett. Az oldalláncban lévő metilcsoport így két dublett jelet adott az egyik, illetve másik epimernek megfelelően (1,85-1,88 ppm). **28a/28b**, **30** szerkezetét ^{13}C -NMR spektrum és tömegspektrometriás mérés is alátámasztotta. E vegyület esetén az ^1H -NMR spektrumban 4-H és 6-H intenzitásaránya változott a kiindulási izomerelegyhez képest, 4-H intenzitása 10% alá csökkent. Ez azt mutatja, hogy a kromatográfiás elválasztás során a termék a Δ^5 izomerben dúsult. A **29** termékek teljes szerkezetigazolása folyamatban van.

Az általam előállított alkinil-szteroidokkal (**4-8**) is vizsgáltam a cikloaddíció lejátszódását. Az etinil-szteroidok cikloaddíciójával azonos reakciókörülményeket alkalmaztam.



A 9. ábra mutatja a kapott termékek szerkezetét és izolált hozamát.

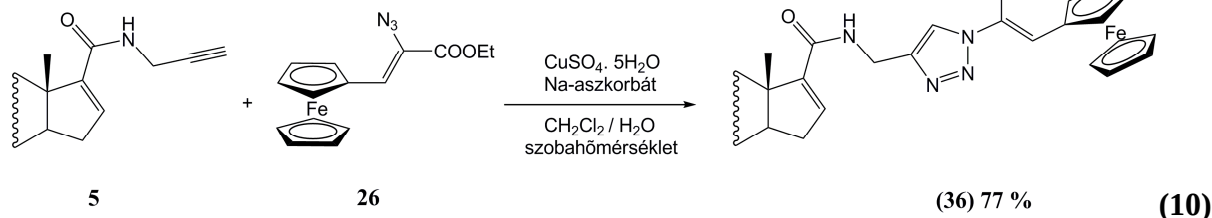


9. ábra Alkinil-szteroidokból előállított termékek azid-alkin cikloaddíciós reakcióval

A kapott vegyületek szerkezetét ^1H -NMR és ^{13}C -NMR spektroszkópiával igazoltam. ^1H -NMR-ben a ferrocén beépülését igazolják protonjainak jelei 3,98-4,34 ppm között, valamint a triazol szerkezet kialakulását a 7,34-7,44 ppm

között a metilidén proton jele. Ez esetben a ^1H -NMR spektrumban nem különböztethetők meg a két epimer jelei, ennek magyarázata lehet az új kiralitáscentrumnak a szteránváztól való nagyobb távolsága. ^{13}C -NMR-ben **31-35**

vegyületeknél a 144 és 120 ppm körüli vinil-szénatomok jeleinek megjelenése a triazolil csoport kialakulását támasztják alá. A ferrocén jelei az alábbi eltolódásoknál jelentkezték: 87,3-87,7 ppm tartományban az oldalláncot hordozó szénatom jele, a többi jel pedig 66,2 és 69,3 ppm között. A tömegspektrum alapján



A kapott termék szerkezetét ^1H -NMR spektroszkópiával igazoltam: a legmagasabb kémiai eltolódásnál a ferrocénhez kapcsolódó metilidén proton (7,85 ppm), majd a triazol szerkezet protonjának jele (7,54 ppm) jelentkezett. A ferrocén szubsztituált és nem szubsztituált ciklopentadién gyűrű jelei a következő kémiai eltolódásoknál jelentek meg: 4,65 (szubsztituált cp); 4,48 (szubsztituált cp); 4,32 ppm (nem szubsztituált cp). Az etilcsoport metilénjének kvartettje 4,22 ppm, metiljének triplettje 1,25 ppm eltolódásnál jelentkezett. ^{13}C -NMR-ben a 144,9 és 121 ppm-nél a vinil-szénatomok jelei a triazolil csoport kialakulását támasztják alá. A vegyület szerkezetét tömegspektrometriás mérés is igazolta.

Eredmények értékelése (Összefoglalás)

Munkám során etinil-, illetve alkinil-szteroidok palládium-katalizált karbonilezését vizsgáltam jód-ferrocénnel, valamint réz-katalizált azid-alkin cikloaddícióját ferrocén-azid származékok jelenlétében.

A kiindulási alkinil-szteroidokat magam állítottam elő palládium-katalizált aminokarbonilezési reakcióval, propargil-amin mint nukleofil reagens felhasználásával. Meghatároztam az optimális reakciókörülményeket, javaslatot tettem az egyik melléktermék keletkezésének módjára. Az előállított N-

kapott molekulatömegek **31-35** vegyületek esetén a feltételezett szerkezeteket támasztották alá.

Egy alkinil-szteroid esetében (**5**) egy másik ferrocén-azid reakciópartnerrel is vizsgáltam a cikloaddíció lejátszódását (10. egyenlet).

propargil-karboxamidok (**4-8**) új vegyületek, többségükben jó hozammal keletkeztek. Szerkezetüket ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, infravörös spektroszkópiával, illetve tömegspektrometriával igazoltam.

A jód-ferrocénnel történő karbonilatív Sonogashira kapcsolási reakció körülményeit **1a/1b** eleggyel vizsgáltam. A legmegfelelőbbnek bizonyult reakciókörülmények között 80%-os hozammal jutottam **21a/21b** termékekegyhez, mely azonosítása ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, IR spektroszkópiával, illetve tömegspektrometriával történt. **2** és **3** vegyületből keletkezett termékeket bomlékonyságuk miatt alacsonyabb hozammal különítettem el. **4** és **6** vegyületek esetén vizsgáltam a karbonilezési reakció lejátszódását, de bonyolult termékekegyhez jutottam.

A továbbiakban a **1a/1b-8** vegyületek 1-azido-etilferrocén reagenssel lejátszódó réz-katalizált azid-alkin cikloaddícióját vizsgáltam. Az azidot szintén magam állítottam elő.

A kívánt termékek (**28a/28b-35**) jó hozammal keletkeztek, és szintén új vegyületek. A karbonilezési reakcióban keletkezett alkinil-kezonokkal ellentétben nem mutattak bomlást. Egy esetben (**5** vegyülettel) vizsgáltam az α -azido- β -ferrocenil-propénsav-etilészter jelenlétében lejátszódó cikloaddíciót. A korábbiakkal

összhangban jó hozammal keletkezett a **36** termék. A kapott termékek szerkezetigazolása ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, infravörös spektroszkópiával, illetve tömegspektrumok alapján történt.

Bizonyítottam, hogy változatos szerkezetű etinil-, illetve alkinil-szteroidok réz-katalizált azid-alkin cikloaddíciónban hatékonyan átalakíthatók különböző azido-ferrocének jelenlétében.

Irodalomjegyzék

- Balogh J., Mahó S., Háda V., Kollár L., Skoda-Földes R. (2008): *Synthesis*: 3040.
- Casas-Solvas J. M., Vargas-Berenguel A., Capitán-Vallvey L. F., Santoyo-González F. (2004): *Org. Lett.* 6: 3687.
- Coutouli-Argyropoulou E., Tsitabani M., Petrantonakis G., Terzis A., Raptopoulou C. (2003): *Org. Biomol. Chem* 1: 1382.
- Fehér Cs., Kuik Á., Márk L., Kollár L., Skoda-Földes R. (2009): *J. Org. Chem.* 694: 4036.
- Gokel G. W., Echegoyen L., Chen Z., Gay I., Medina J. C. (1991): *J. Am. Chem. Soc.* 113: 365.
- Guillaneux D., Kagan H. B. (1995): *J. Org. Chem.* 60: 2502.
- Higashi T., Shimada K. (2004): *Anal. Bioanal. Chem.* 378: 875.
- Krieg R., Wyrwa R., Möllmann U., Görls H., Schönecker B. (1998): *Steroids* 63: 531.
- Lee E., Park S. K., Lee H. Y. (1981): *Bull. Kor. Chem. Soc.* 2: 105.
- Morzycki J. W., Lotowski Z. (1995): *Steroids* 60: 195.
- Murakami Y., Watanabe T., Suzuki H., Kotake N., Takahashi T., Toyonari K., Ohno M., Takase K., Suzuki T., Kondo K. (1997): *Chem. Pharm. Bull.* 45: 1739.
- Osella D., Nervi C., Galeotti F., Cavigiolio G., Vessieres A., Jaouen G. (2001): *Helv. Chim. Acta* 84: 3289.
- Skoda-Földes R., Csákai Z., Kollár L., Szalontai G., Horváth J., Tuba Z. (1995): *Steroids* 60: 786.
- Stoner E. J. (1990): *Steroid Biochem. Mol. Biol.* 37: 375.
- Wang K., Munoz S., Zhang L., Castro R., Kaifer A. E., Gokel G. W. (1996): *J. Am. Chem. Soc.* 118: 6707.
- Watanabe M., Araki S., Butsugan Y. (1991): *J. Org. Chem.* 56: 2218.

Neodímiumion síkon kívüli porfirin-komplexének képződése, fotofizikai és fotokémiai vizsgálata vizes közegben

Szentgyörgyi Csanád

Témavezetők: Dr. Valicsek Zsolt, Dr. Horváth Ottó

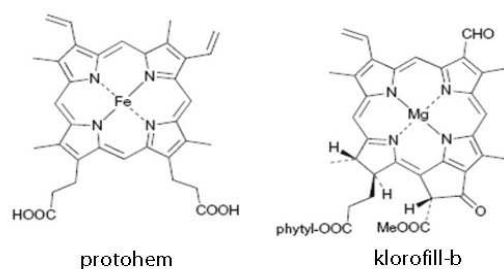
Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Általános és Szervetlen Kémia Intézeti Tanszék

Kivonat: A porfirin összetett vegyület, amelyben négy pirrolt kapcsolnak össze metilidin-hidak egy gyűrűs molekulát kialakítva konjugált π -elektronrendszerrel. Középső üregébe a négy nitrogénhez fémionok koordinálódhatnak. Kutatások indultak olyan fémionok körében, mint a lantanoidák, melyek nagyobb méretük következtében nem tudnak beilleszkedni a gyűrűbe, ezért arra „ráülnek” SAT („sitting-atop”) vagy síkon-kívüli komplexet képezve. A lantanoida-kontrakció lehetőséget kínál a fémion pozíciójának módosítására a ligandumhoz képest. Így a különböző jellemzők ebből adódó változása vizsgálható. A SAT komplexekben fény hatására töltésszeparáció valósul meg, és a redukált – megnövekedett méretű – fémion nem képes komplexben maradni, így az oldatba erős redukáló ágensként kerülve olyan reakciókat iniciálhat, melyek normál körülmények között nem játszódna le. Így ezen metallo-porfirinek katalizátorként is alkalmazhatók, mert megfelelő regenerálószerrel a kialakuló porfirin-gyűrűk is visszaalakítható, így előállhat újra a komplex. Kutatásaim során neodímium-komplexekkel foglalkoztam, és ezen eredményeket vettem össze a korábbi, cériumionnal végzett kísérleteim tapasztalataival. A komplex kialakulásának kinetikáját két hőmérsékleten és két különböző közegben vizsgáltam, melyek pufferáló - ionerősség-szabályozó szerepük mellett a metallo-porfirin kialakulását és a fémion oligomerizációs hajlamát is befolyásolják. A porfirinek családja a természetben a legnagyobb fényelnyeléssel bíró vegyületeket foglalja magába, így a komplex kialakulása spektrofotometrián

követhető. Az elnyelési színeképek változását figyelve információt kapunk a folyamatos koncentrációeloszlás-változásról, így nyomon követhető az átalakulás, és számolható a komplex stabilitása, képződésének sebességi állandója. A fotofizikai és fotokémiai kísérletek követése is spektrofotometrián történik, így megfigyelhető a fém-porfirin fénykissugárzása, illetve fotoindukált disszociációja és gyűrűszakadása.

Bevezetés

A porfirin négy pirrol-gyűrűből metilidin-hidakon keresztül összekapcsolódó összetett, síkban konjugált π -elektronrendszert tartalmazó gyűrűs vegyület. A porfirin-gyűrű a középső üregében fémionok koordinatív megkötésére alkalmas, amely fontos a napfény energiájának megkötésében. A klorofill-a és -b formájában Mg^{2+} -nal képez komplexet, valamint jelentős még a Fe^{2+} -nal képzett komplexe a protoporfirin-IX-nek (pl.: hem). A citokrómban a Fe^{3+}/Fe^{2+} átalakulás biztosítja az elektronszállítást, szintén porfirinhez kötődve. Az 1. ábra mutatja, hogy tipikusan hogyan néznek ki a természetben előforduló komplexek a központi fémionnal és az oldalláncokkal (Garret, 1999).



1. ábra A természetes fém-porfirinek szerkezete

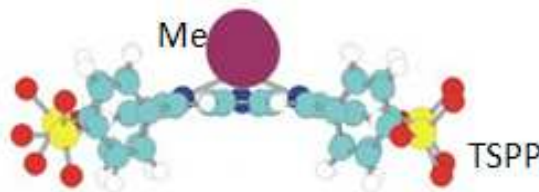
A spektrofotometriai tanulmányozást az teszi lehetővé, hogy a porfirinek családja a természetben legnagyobb fényelnyeléssel rendelkező vegyületeket foglalja magába. A szabad porfirinnek jelentősen eltér az ibolyántúli-látható fényelnyelési színe a komplexétől, így nyomon követhetők a komplexálódási folyamatok, és kvantitatíve is elemezhető a komplex kialakulása, illetve fotoindukált bomlása a szabad porfirin moláris elnyelésének ismeretében.

A vizsgált sávok a szingulett alapállapotról (S_0) a második szingulett állapotra (S_2) való gerjesztésből adódó, 350 nm – 500 nm-ig terjedő, ún. Soret- vagy B-sávok tartományában, ill. a $S_1 \leftarrow S_0$ átmenetből adódó, ún. Q-sávok tartományában (500–750 nm) találhatóak. Ezen utóbbi sávok a kétszeresen degenerált LUMO pályára való gerjesztésből és azok vibrációs felharmonikusából állnak, mely degeneráció a szabad porfirinekben (H_2P) jelenlévő két pirrol-proton miatt kismértékben megszűnik. A négy(-öt) csúcs rendre a ($Q_y(2,0), Q_y(1,0), Q_y(0,0), Q_x(1,0)$ és $Q_x(0,0)$), jelölést kapta hullámhosszuk növekvő sorrendjében (Gouterman, 1978). A porfirin moláris elnyelése a B- vagy Soret-sávon 413 nm-nél igen magas ($\epsilon_0 = 4,66 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), és a másik vizsgált sávon, a Q-sávon (500 nm–750 nm) is csak egy nagyságrenddel kisebb (Tabata, 1992).

Az előzőekben említett fémionok eléggé kicsik voltak ahhoz, hogy koplánárisan a gyűrűbe illeszkedjenek. Kutatások indultak azon fémionok körében, amelyek ionsugara túl nagy (75–80 pm-nél nagyobb) volt ahhoz, hogy beleférjen a koordinációs üregbe. Az eredmények szerint ezek a fémionok mintegy a gyűrűre „ülnek”, azaz a ligandum síkja felett tudnak csak elhelyezkedni, benyúlva a pirrol-

nitrogének közé. Így síkon kívüli (OOP=out-of-plane) vagy „tetején ülő” (SAT=sitting-atop) komplexet képeznek (2. ábra) (Horváth, 2006).

Ezzel a ligandumot jelentősen torzítják, és így erősebben kötődnek az egyik átló mentén elhelyezkedő nitrogénpárhoz, míg a másik átló mentén lévők az átellenes oldalról támadhatóvá válnak a felerősödő sp^3 hibridizációs jelleg miatt.

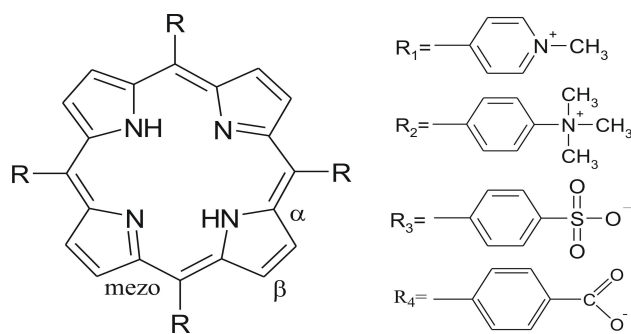


2. ábra Síkon-kívüli porfirin-komplex

A fémion helyzete és nagysága lehetőséget biztosít a fotoindukált, ligandumról fémionra irányuló töltésátvitel (LMCT) irreverzibilitásának megnövekedésére. Ezen alapulnak a SAT porfirinek esetleges felhasználási lehetőségei.

A vizsgálatok megkönnyítésére vizes közegben oldhatóvá kellett tenni a porfirineket, amit ionos oldalláncok felvitelével értek el (3. ábra). Így elkerülhető volt olyan segédanyagok alkalmazása, melyekkel a fémion a szerves közegbe vihető. Ennél fogva csökken a komplexálódás folyamatát és a metallo-porfirin szerkezetét esetlegesen befolyásoló tényezők száma (Hambright, 1971).

Az 5,10,15,20-tetrakis(4-szulfonátófenil)-porfirin anionban az oldallánc segíti a pozitív fémion megkötődését és az elektronátmenet hatékonyságát, illetőleg ez a forma a legelterjedtebben használatos analitikai célokra is (Biesaga, 2000).



3. ábra A metilidin-hídon helyettesített porfirinváz és a vízőldhatóságot biztosító gyakran használt csoportok: : R_1 esetén H_2TMPyP^{4+} =5,10,15,20-tetrakis(z(N-metil-piridinium-4-il)-porfirin-kation, R_2 esetén H_2TAPP^{4+} =5,10,15,20-tetrakis(z(4-trimetil-ammónium-fenil)-porfirin kation, R_3 esetén H_2TSPP^{4-} =5,10,15,20-tetrakis(z(4-szulfonátófenil)-porfirin-anion, R_4 esetén H_2TCPP^{4-} =5,10,15,20-tetrakis(z(4-karboxifenil)-porfirin anion

A lantanoida fémek ($Z=57-71$) a ritkaföldfémek közé tartoznak, a természetben hasonló tulajdonságaik miatt együtt fordulnak elő, elválasztásuk költségigényes folyamat. A páros és páratlan rendszámúak gyakoriságában is különbség tapasztalható, a páratlanok ritkábbak, sőt a prométium csak magátalakítással mesterségesen állítható elő. A kívülről számított harmadik ($n-2$) elektronhéjon f-elektronokat is tartalmaznak. A lantanoidák oxidációfoka legtöbbször +3, ezen kívül néhányuk még a +2 vagy +4 formában is stabilis (félig feltöltött, üres vagy teljesen feltöltött f-alháj kialakulása miatt). Elektronhéjuk alapállapotban a xenon nemesgázhéjára ($[Xe]4f^{0-14}6s^{0-2}5d^{0-1}$) épült. Koordinációs számuk az sp^3d^5 hibridizációból adódó maximálisan 9-nél az f pályák bevonásával nagyobb, akár 12 is lehet, de jellemzően okta- vagy nonakordinációra hajlamosak.

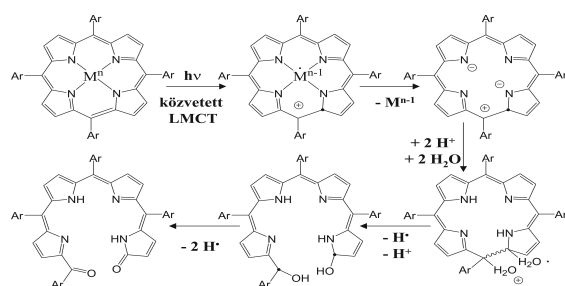
A lantanoidák néhány fontos fizikai tulajdonsága monoton változik a rendszámmal: a rendszám növekedésével az +3 töltésű ionok rádiusza csökken. Ezt a jelenséget hívjuk lantanoida-kontrakciónak, amely nagyon hasznos a SAT komplexek vizsgálata terén is.

A kísérletekben mért pirrol-nitrogén – fémion távolságok összhangban vannak a

lantanoida-kontrakció jelenségével, azaz, ahogy növekszik a rendszám, úgy közelebb kerül a fémion a koordinációs üreghez. A mért adatok szerint a Nd^{3+} 2,445 Å-re van a legközelebb eső nitrogénhez, ez a távolság az Er^{3+} esetében 2,370 Å, az Yb^{3+} -ében 2,352 Å. Ezzel magyarázható például az, hogy a Nd^{3+} és a Ce^{3+} komplexei kevésbé stabilisak, mint az Er^{3+} vagy az Yb^{3+} esetén megfigyeltek (He, 2004). Ezt vizsgálva azt is figyelembe kell venni, hogy a távolság függvényében a töltésszeparáció utáni fémion-leszakadás is más hatékonysággal, intenzitással következhet be. Azaz a komplex tulajdonságai nagyban függenek a fémion gyűrűtől való távolságától.

Technológiai szempontból elméletben elérhetővé vált a víz redukciója (Harriman, 1979), mely értékes üzemanyagot, hidrogént eredményez (Darwent, 1982). Ebben a folyamatban kulcsfontosságú lehet a SAT porfirinek szerepe, hiszen együtt tartalmazzák a fotoérzékenyítő anyagot és az elektrondonort, valamint megfelelő regenerálószerrel egyszerűen lehet zárni a ciklust. Ez azért lehetséges, mert a SAT tulajdonságból adódóan a ligandum fotoindukált $\pi\pi^*$ gerjesztése után könnyen bekövetkezik a ligandumról fémionra történő töltésátvitel (LMCT), és a felvett elektron hatására lecsökken a központi fémion töltése, és megnő a sugara, azaz a töltéssűrűsége is lecsökken, ami elősegíti koordinatív kötés felbomlását, és a redukált fémion disszociációját. Ha a fémion kezdetben a legstabilisabb oxidációfokú állapotban volt, akkor, ahogy az oldatba kerül, igen erős redukálószerként fog viselkedni redoxireakciókat beindítva. Ha ez a redoxipotenciál pH-tól függően eléggé nagy negatív érték, mely a lantanoida fémionok esetén teljesül (Valicsek, 2007), akkor a redukált fémion képes elbontani a vizet. A lantanoida SAT porfirinek éppen ezért jelentősek, mert instabilis alacsonyabb oxidációfokú formájuk nagy redukáló erővel bír. A ligandumról a fémionra irányuló töltésátvitel (LMCT)

következtében a porfiringyűrű oxidálódik, hosszú élettartamú π -gyökion jön létre. Ez rendkívül erős bázis, ezért a vízben rögtön protonálódik, és regenerációszer híján az egyik metilidin-hídján felszakad, bilinonná alakul (Evans, 1978), mert ahhoz nem elég erős oxidálószer, hogy a vizet elbontsa (legfeljebb nagyobb pH-n). Viszont ha regenerációszerként egyszerűbb alkoholt oldunk vízben, azt már képes aldehyddé, majd akár karbonsavvá oxidálni, így visszanyeri elektronjait, és az immáron már visszaoxidálódott fémionnal újra elő tud állni a komplex, ezzel zárva a katalitikus ciklust.



4. ábra Az LMCT folyamata és a porfirin oxidatív gyűrűbomlása regenerációszer hiányában, oxigénmentes közegben

Anyag és módszerek

A kísérletekhez analitikailag tiszta Millipore Milli-Q, kétszer desztillált, ioncserélt vízzel dolgoztam, mivel a porfirinek már nyomnyi mennyiségű fémion szennyezésre is érzékenyen reagálnak, ami a színeképeken tetten érhető. Az állandó pH és ionerősség biztosítására két, a komplexegyensúly szempontjából eltérő karakterű ionoldatot használtam. A pH szabályozására azért van szükség, mert az alkalmazott anionos porfirin pH=5 körül protonálódik, ami színeképbeli és egyensúlyi eltérésekhez is vezet. Az első alkalmazott ion az acetácion volt NaAc/ecetsav pufferoldat formájában 0,01 M-os koncentrációban 6-os pH-ra beállítva. A második ion a kloridion volt NaCl formájában szintén 0,01 M-os koncentrációban.

Munkám során a vízzeloldható porfirin-származékok közül az 5,10,15,20-tetrakis(4-szulfonátófenil)-porfirin

nátrium-sójt használtam $\sim 1 \times 10^{-6}$ M-os koncentrációban.

A Nd^{3+} és Ce^{3+} ionok klorid-sóinak 1×10^{-4} M-os oldatával készítettem el a titrálási sort, ahol a fémion koncentrációja változó, és a porfirin-koncentráció állandó, hiszen a porfirin elnyelési színeképeinek változásával vizsgáljuk a komplexálódási egyensúly beállítását.

A vizsgálatokat szobahőmérsékleten és 65°C-on termosztálva végeztem.

Színeképelemzés

A változásokat spektrofotometriásan az UV-látható- és a közeli infra (NIR) tartományban érdemes követni. Erre egyfényutas diódasoros Specord S-600 spektrofotométer állt a rendelkezésemre, melynek tízezredes nagyságrendű hibája és gyors válaszüzeje alkalmas a színeképek nagy pontosságú felvételére akkor is, ha azok hamar változnak. Így igen kis koncentráció is elég a vizsgálathoz és legfeljebb 1-3%-os hibával terhelt mennyiségi meghatározás is lehetséges, feltéve, ha maximális kb. 1,5-es abszorbancia határt nem lépjük túl, hisz ezen felül már az érzékelőbe igen kis intenzitású fény lép be (1-5%-a a kezdő intenzitásnak), ami által gerjesztett jel a detektorban már a zajból adódóan nagy hibával bír. Az abszorbancia az alábbi képlet alapján határozható meg az intenzitásokból:

$$A = -\lg\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

ahol I a detektorba beérkező fényintenzitás, és I_0 a lámpából kiinduló fény intenzitása.

Kompleképződés

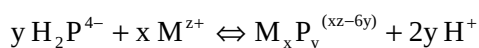
Az oldatban megtalálható, elnyeléssel bíró molekulák számának meghatározására egy mátrixrang-analízis programot használtam, mely Gauss-Jordan-eliminációs lépéseket alkalmaz (Peintler, 1997).

A mennyiségi meghatározásokat az alábbi képlettel végeztem:

$$A_{\lambda} = l \sum_{j=1}^n \varepsilon_{j\lambda} \beta_j \prod_{i=1}^k [c_i]^{\alpha_{ji}}$$

ahol A_{λ} a λ hullámhosszon mért abszorbancia, l a küvetta hossz (cm), $\varepsilon_{j\lambda}$ a j -edik részecske moláris abszorbanáciája ($M^{-1}cm^{-1}$) a λ hullámhosszon, β_j a j -edik részecske bruttó egyensúlyi állandója (M^m), $[c_i]$ az i -edik komponens egyensúlyi szabad koncentrációja (M), α_{ji} j -edik részecskében lévő i -edik komponens sztöchiometriai indexe.

A komplexképződés követésére a színeképvizsgálat során a szabad porfirin oldatának színekéből megállapítható annak pontos bemérési koncentrációja, majd a színeképsorozatból a fenti összefüggés alapján meghatározható a komplex egyedi moláris színe és stabilitási állandója a mért és számolt abszorbancia négyzetes különbségének minimalizálásával, mely a szabad és komplex formá(k)ban lévő porfirin móltörtjének függvénye. Ezt a MS Excel Solver nevű célértékkereső programjával oldottam meg. A komplexek stabilitási állandója az alábbi egyenlettel értelmezhető, melyek összetételének megállapítása is a mátrixrang-analízis és a színképi kiértékelés alapján történt.



$$\beta_i = \frac{\beta_i'}{[H^+]^{2y}} = \frac{[M_x P_y^{(xz-6y)}]}{[H_2P^{4-}]^y [M^{z+}]^x}$$

A kinetikai mérést ultratermosztátos hőmérséklettartással és a Specord S-600-as készülékkel követtem az egyensúlyi reakciók azon alapvető tulajdonságához igazodva, hogy a kezdeti szakaszban gyors, majd egyre lassabb az átalakulás. Így a mérés 20×3 percenként, majd 20×6 , 20×12 és 15×24 percenként történt. A kinetikai mérést több koncentráción elvégeztem a titrálásnál említett tartományban.

Az egyszerű kiértékelés elve ugyanaz, mint a titrálás kiértékelésénél, de a kapott eredmények a móltörteloszlás-változást adják. A kapott koncentrációkat az idő függvényében ábrázolva becsülhető a komplexképződés (odaalakulás) sebessége a kezdeti meredekség módszerével, illetve már ebből az adatból becsülhető a reakció

sebességi állandója és rendősége a fémionra nézve.

$$v = k_+ \{H_2P^{4-}\}^x \{Nd^{3+}\}^y$$

$$\lg v_0 = \lg k_+ + x \times \lg c_{H_2P^{4-}} + y \times \lg c_{Nd^{3+}}$$

A koncentrációeloszlás-változás ismeretében a kezdeti meredekség módszerével akartam becslést adni a neodímiumion rendűségére a sebességi egyenletben. Erre a fenti egyenletet használtam fel oly módon, hogy a kiindulási porfirin-koncentrációból meghatározott reakciósebességek logaritmusát a kezdeti fémion-koncentráció logaritmusának függvényében ábrázolva a meredekségből számoltam a reakció fémionra vonatkozó rendűségét, ezen felül becsülhető a komplex képződési sebességi állandója, amennyiben a porfirinre nézve ismertnek, egynek tekintjük a rendűséget.

Az egyensúly teljes kinetikai leírására (visszaalakulással is számolva) egy különleges, ZITA névre keresztelt, kinetikai programcsomagot használtam, mely Gauss – Newton – Marquardt módszerrel numerikus megoldást képes adni szinte bármilyen bonyolultságú problémára. A program a bevitt koncentrációeloszlás és a feltételezett reakciómechanizmus alapján számol sebességi állandókat és az azokból adódó koncentrációváltozást, mely így összevethető a mérési eredményekkel (Peintler, 1997).

Fotofizika

A fotofizikai vizsgálatok során a komplex emissziós színeképét szabad porfirin referenciával szemben vizsgáltam Perkin Elmer LS 50-B típusú spektrofluoriméter segítségével, mert standard értéként a témavezetőm által kimért adatok álltak rendelkezésemre. A kiértékelés során nem csak a különböző sávok fluoreszcencia-hatékonysága állapítható meg, hanem ezek arányából a belső konverziók hatásfoka is.

$$\Phi_i = \Phi_{\text{ref}} \frac{T_i}{T_{\text{ref}}}$$

A kvantumhatásfok meghatározására egyszerű numerikus integrálást (T_i , T_{ref}) használunk az energiával fordítottan arányos hullámhosszkáláról az energiával egyenesen arányos hullámszám skálára áttérve, és a fenti képlet alapján számolunk a standard értékekkel (referencia a szabad porfirin: Φ_{ref}) a minta és a referencia kisugárzási színekének izobesztkus (azonos abszorbanciájú) ponton történő gerjesztését követően, hogy az elnyelt fényhányadok egyezését biztosítsuk.

Fotokémia

A fotokémiai reakciókat intenzív besugárzás alkalmazása mellett lehet megfigyelni, melyet én 200 W-os Xe-Hg-gőzlámpát és monokromátort tartalmazó AMKO LTI fotolízis-berendezéssel tettem meg. A számításokhoz szükséges volt a lámpa fényintenzitásának ismerete a besugárzási hullámhosszon. Ezt multiméterhez kapcsolt Se félvezető detektorral mértem meg. Az aktuális besugárzási hullámhosszon (421 nm) kilépő fény fotonkoncentrációja $1,2 \times 10^{-5}$ (mol /dm³ foton/s)-nek adódott. Ezidáig csak a Soret-sávra szorítkoztam, mert a komplex ezen a hullámhosszon nyeli el a leghatékonyabban a fényt, így fotokémiai kvantumhasznosítási tényezője itt határozható meg legbiztosabban.

Az eredményeket számszerűsíteni a következőképpen lehet: a kezdeti meredekség módszerében az A vs. t függvényt vesszük fel, és a kezdeti meredekségéből határozzuk meg a kvantumhasznosítási tényezőt, melyben így az első időintervallumon vett abszorbancia-változás dominál. Ez a használt egyenletből is következik, mert a kezdeti A_0 abszorbancia értékével számol:

$$I_0 \Phi (1 - 10^{-A}) = \frac{dc}{dt} = -\frac{dA}{\epsilon l dt}$$

$$I_0 \Phi \epsilon l (1 - 10^{-A_0}) t = A_0 - A$$

Ezzel nem elhanyagolható hibát is véthetünk a számolásban, ezért célszerű az előző differenciálegyenlet megoldásaként adódó kifejezést alkalmazni a pontosabb számítás érdekében (Valicsek, 2007):

$$\Phi \int_0^t dt = -\frac{1}{I_0 \epsilon l} \int_{A_0}^A \frac{1}{1 - 10^{-A}} dA$$

$$\Phi t = \frac{A_0 - A + \lg \frac{1 - 10^{-A_0}}{1 - 10^{-A}}}{I_0 \epsilon l}$$

ahol I_0 a fény intenzitásának megfelelő, a küvettába időegység alatt érkező fotonok koncentrációja (Ms⁻¹), Φ a fotokémiai kvantumhasznosítási tényező, A az elnyelő részecske aktuális, A_0 a kezdeti abszorbanciája a besugárzási hullámhosszon, ϵ a kiindulási komplex moláris abszorbanciája a besugárzási hullámhosszon (M⁻¹cm⁻¹), l a küvettahossz (cm).

Kísérleti eredmények és értelmezésük

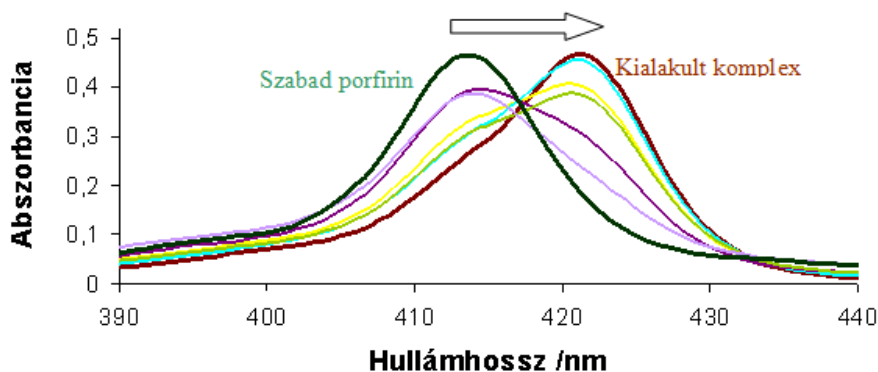
Fémionos titrálás acetátos közegben

Fém-komplex kialakulásakor a fényelnyelési sávok tolódnak, valamint a Q-sávon lévő négy(-öt) csúcs két(-három) csúccsá olvad össze. Kimondottan a SAT porfirinekre jellemző, hogy az előbb említett sávok vörösbe tolódnak (Horváth, 2006; Valicsek, 2007). Ez abból adódik, hogy a fémion atompályái a ligandum LUMO és LUMO+1 pályáival kedvezőbben lapolnak át, míg a normál komplexekben a kisebb fémionok orbitáljai a HOMO és HOMO-1 pályákkal, így előbbi esetben az alap- és a gerjesztett állapotok közötti energiarés csökken, míg utóbbi esetben nő. A Q-sávok összeolvadását pedig a kialakuló komplexben a LUMO pálya teljesen degenerálttá válása, vagyis a két pirrol-proton leszorulásával a négyértékű forgási szimmetria helyreállása magyarázza.

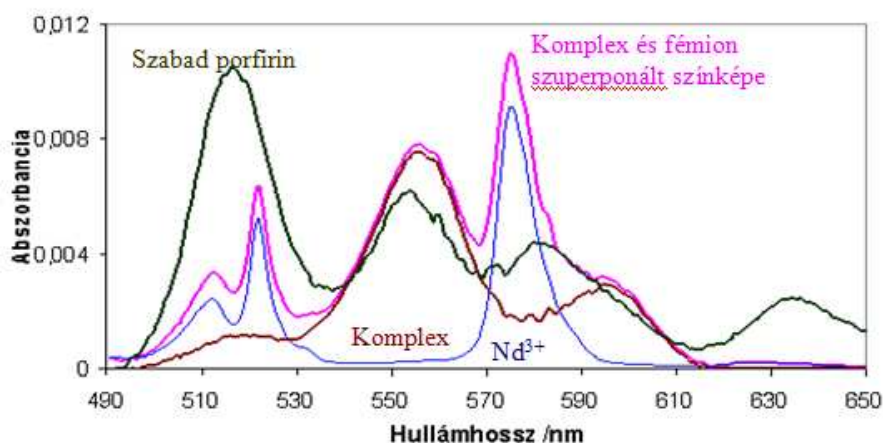
A szobahőmérsékleti kísérletek esetén négy nappal az oldatok összemérése után a titrálási színek felvételénél világosan

látszott, hogy SAT porfirinnel van dolgunk, hiszen a szabad porfirin Soret-csúcsa elkezdett a vörösbe tolódni (5. ábra). A szabad porfirin Soret-sávja két Gauss-görbével írható le a 413 nm körüli maximális elnyelésű helyen és a 395 nm

körüli vibrációs felharmonikuson. Ahogy a komplexálódás elkezdődik, a mérhető színek már a szabad porfirin és a komplex egyedi sávjaiból a titráltsági foknak megfelelő lineáris kombinációjaként állnak elő.



5. ábra A titrálás eredménye a neodímium-porfirin vizsgálata esetén B-tartományon, ahol a neodímium $1,3 \times 10^{-6}$ - 1×10^{-4} M koncentrációban van jelen



6. ábra A neodímium-porfirin komplexálódási folyamat színekének Q-sávjai, ahol a neodímium-ion $1,3 \times 10^{-6}$ - 1×10^{-4} M koncentrációban van jelen

A Q-sávokon pedig a szabad porfirin négy(-öt) csúcsa láthatóan elkezd két(-három) csúccsá összeolvadni, és a komplex 555 nm körüli legnagyobb csúcsa elkezd emelkedni, ami szintén a SAT komplex kialakulásának jelzője.

Ugyanitt (és a közeli infravörös tartományban) mérhetőek a nagyobb koncentrációknál a Nd^{3+} saját f-f elektronátmenetei, melyek a porfirin eredeti Q-sávjaira szuperponálódnak. Így ezeket el kell választani a kiértékelésnél a komplex egyedi sávjaitól (6. ábra).

A titrálási sorozatban szobahőmérsékleten két-három hét alatt áll

csak be az egyensúly, mely első közelítésben a lantanoida fémionok akvakomplexének már említett stabilitásának tudható be. Viszont ezt a kinetikai gátat a hőmérséklet nagyjából 40 °C-os emelésével sikerült áthidalni, és az egyensúlyi állapot így néhány nap alatt beálltnak tekinthető. A színeképekből a korábbi mérések következtetése beigazolódott: az ideális fémionkoncentráció a 10^{-6} és 10^{-4} M között van.

Ebből az elemzésből a komplex összetétele 1:1-esnek, az egyensúlyi állandója szobahőmérsékleten $K_{1:1}=3,5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ -nek becsülhető mindkét fémion esetében. Neodímium(III)ionnál a

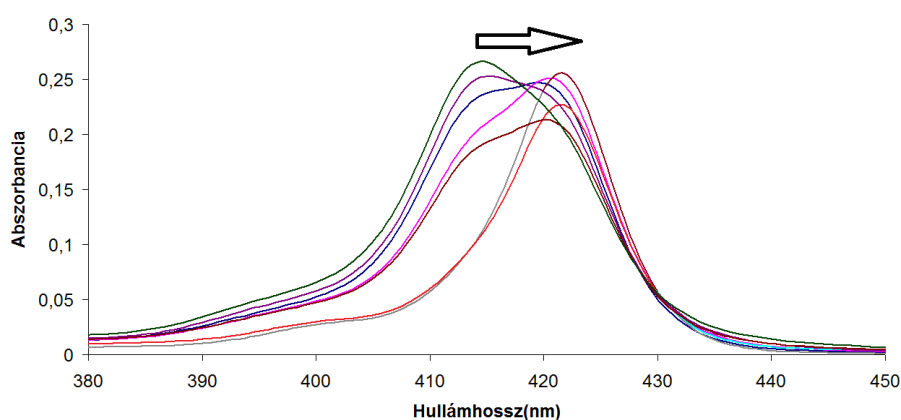
hőmérséklet emelésének hatására a stabilitási állandó körülbelül egy nagyságrenddel, $3,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ -re növekedett.

Fémionos titrálás kloridos közegben

A színeképeken látszik, hogy az abszorbancia nem növekszik a várt 0,5-0,7-ig, csak 0,25-0,3-ig, ami már gyanakvásra adhat okot, hogy biszporfirines rendszerrel van dolgunk, de ha ezt nem is jelenthetjük ki biztosan, azt feltételezhetjük a képből, hogy többporfirines komplex kezd kialakulni. Ettől eltekintve a színeképek

hasonlóak, sőt, a Q-sávok csaknem megegyeznek. Ebben az esetben is a 10^{-6} - 10^{-4} M tartomány bizonyult optimálisnak. A Solver segítségével történt kiértékelésből a komplexre 1:2-es összetételt valószínűsítve az egyensúlyi állandó értéke $K_{1,2} = 1,8 \times 10^{11} \text{ M}^{-2}$ -nek becsülhető. Látszik, hogy kloridionos közegben is a várt folyamat játszódott le, és magasabb rendű komplex állt elő.

A 2009-es ITDK-ra készült eredményekkel összevetve a Ce^{3+} is hasonló eredményeket mutat.



7. ábra A neodímium-porfirin színeképeinek B-sávjai, ahol az ion $1,3 \times 10^{-6}$ - $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ koncentrációban van jelen

A további méréseket a monoporfirines rendszerekkel végeztem, hogy előbb az „alacsonyabb rendű” komplexről megszerzett tudásanyaggal már célirányos kísérleteket tudjak végezni bonyolultabb rendszereken.

Kinetika

A kezdeti meredekség módszerével vizsgálva a kialakulást, a neodímium(III)-ra kapott átlagos rendűség 1/2 körüli kezdeti értéke a koncentráció növekedtével csökken 1/4 és 1/5-re. Ezért felmerült a gyanú, hogy a komplexálódás sebességmeghatározó lépéséhez a neodímiumion egy disszociatív

egyensúlyban szabadul fel. Erre a feltételezésre magyarázat a már La^{3+} esetén kimutatott jelenség a $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ esetében, melyben kettős hidroxó-híddal összekötött dimer alakul ki vizes oldatban. Ezért jutottunk arra a következtetésre, hogy az oligomerizáció lehetőségével NdCl_3 törzsoldatban is számolni kell. Így az értékelés alapját adó egyenlet pontosításra szorult, hogy a különböző rendű oligomerek képződésével és bomlásával is számolni lehessen a sebességi állandó meghatározásánál, és az átalakítással a neodímium oligomerizációjának a mértékét is meg lehet becsülni.

$$z\text{Nd}^{3+} \rightleftharpoons (\text{Nd}^{3+})_z \quad \beta_{(\text{Nd}^{3+})_z} = \frac{[(\text{Nd}^{3+})_z]}{[\text{Nd}^{3+}]^z} \Rightarrow [\text{Nd}^{3+}] = \left(\frac{[(\text{Nd}^{3+})_z]}{\beta_{(\text{Nd}^{3+})_z}} \right)^{\frac{1}{z}}$$

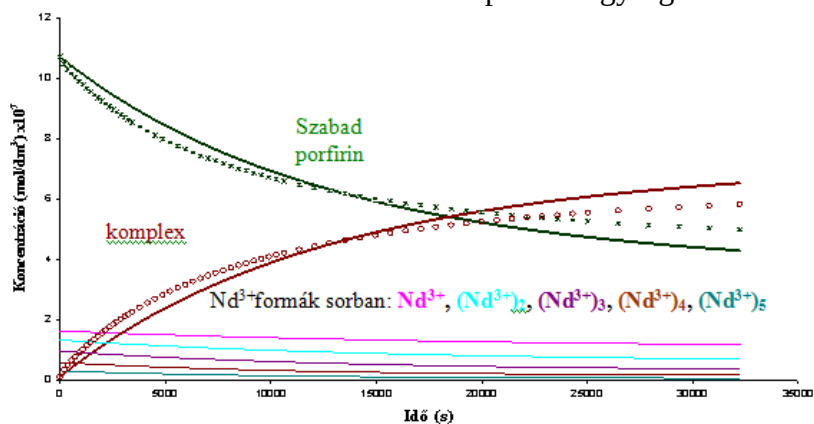
$$v = k_+ \{ \text{H}_2\text{P}^{4-} \} \{ \text{Nd}^{3+} \} = k_+ \{ \text{H}_2\text{P}^{4-} \} \left(\frac{[(\text{Nd}^{3+})_z]}{\beta_{(\text{Nd}^{3+})_z}} \right)^{\frac{1}{z}}$$

$$\lg v_0 = \lg k_+ + \lg c_{\text{H}_2\text{P}^{4-}} + \lg \{ \text{Nd}^{3+} \}_0 = \lg k_+ + \lg c_{\text{H}_2\text{P}^{4-}} + \frac{1}{z} \times \lg c_{\text{Nd}^{3+}} + \lg \left(\frac{1}{z \times K_{(\text{Nd}^{3+})_z}} \right)^{\frac{1}{z}}$$

Ebből a megvilágításból lehet értelmezni a törtszámú reakciórendet, azt meg lehet feleltetni az összetételnek, hiszen az illesztett egyenes meredeksége a továbbfejlesztett egyenlet szerint az oligomerizáció fokának reciprokát adja meg. Ezen felül a módosított egyenlet első és utolsó tagját összevonva becsülhető lenne a sebességi állandó az elemi lépések sebességi állandóival, de nem kezelhetjük a $\beta\{(\text{Nd}^{3+})_z\}$ bruttó stabilitással jellemezhető egyensúlyt gyors előegyensúlyként, hiszen az oligomerképződés vezet a porfirin-komplex lassú képződéséhez. Ezért folytattam a ZITA kinetikai programmal a kiértékelés pontosítását. Így a pontos kiértékelés érdekében a kinetikai programnak is be kellett adnom kezelendő paraméterként az oligomerizációs egyensúlyokat maximálisan pentamer kialakulását feltételezve. Kiindulásként itt is azt a feltételezést tettem, hogy a

komplexálódás és az oligomerképződés hasonló sebességgel játszódik le. A mérési sorokat rögtön egyszerre futtattam, mert ahogy előbb már bebizonyosodott, az egyenkénti futtatás eredményeiből nem lehet pontos következtetést levonni a teljes mechanizmusra (8. ábra **Hiba! A hivatkozási forrás nem található.**).

A program által számolt sebességi állandók és az abból számolt stabilitási állandók is megbízhatónak adódtak, de a kezdeti helyzetből az illesztés iterációs lépései során kiderült, hogy az oligomerizáció sokkal gyorsabban játszódik le, mint a komplexálódás, de az oligomerek stabilitása kisebb (a ZITA által számolt sebességi állandókból adódó konszekutív egyensúlyi állandókra alapozva), mint a kialakuló komplexszé, aminek a magyarázata abban keresendő, hogy a hidroxó- és kloro-hidas kapcsolódás gyengébb, mint a gyűrűs ligandummal képzett négyfogú kötődés (1. táblázat).



8. ábra A komplexképződés kinetikájának mért (jelölők) és ZITÁval számolt (folytonos vonal) koncentráció-eloszlása $1,09 \times 10^{-6}$ M bemérési Nd^{3+} -koncentráció esetén oligomereket is feltételezve

1. táblázat A korábbi mérési sorokat egyszerre kezelve legfeljebb pentamer neodímiumion-formára számítva a ZITA által számolt sebességi és stabilitási állandók

Megjelenő részecskék ki- és visszaalakulásának sebességi állandói			K (M^{-1})
NdP^{3-}	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$3,2 \times 10^2$	$1,8 \times 10^7$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$1,8 \times 10^{-5}$	
$(\text{Nd}^{3+})_2$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$8,7 \times 10^5$	$5,0 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$1,7 \times 10^{-1}$	
$(\text{Nd}^{3+})_3$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$8,7 \times 10^5$	$4,4 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$2,0 \times 10^{-1}$	
$(\text{Nd}^{3+})_4$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$3,6 \times 10^5$	$3,8 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$9,5 \times 10^{-2}$	
$(\text{Nd}^{3+})_5$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$9,7 \times 10^4$	$3,2 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$3,0 \times 10^{-2}$	

Ezzel magyarázatot nyer a neodímium-porfirin kialakulásának lassúsága, mely folyamat az oligomerizáció miatt lassul le, hiszen a fémion porfirinbe épülésére kapott tényleges sebességi állandó értéke a síkon kívüli porfirinek esetében a háromszorosan pozitív töltésű fémionok körében típusvegyületnek számító tallium(III)ion kinetikai állandójánál kissé nagyobb is $\{k_+(\text{TIP}^{3-})=270 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Horváth, 2006; Valicsek, 2007)}. Viszont az oda- és visszaalakulásra is hasonló nagyságú sebességi állandót $\{k_-(\text{TIP}^{3-})=2,8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ (Horváth, 2006; Valicsek, 2007)} hozott ki a ZITA a viszonylag kevés mérési pont és a bonyolult egyensúlyi rendszer ellenére, ami a számítási eredmények megbízhatóságát erősíti meg. Ennek tükrében a titrálás során kapott egyensúlyi állandót is újra kellett gondolni abból a szempontból, hogy az ott alkalmazott, ideálisnak bizonyult fémion-koncentrációnál mekkora volt a ténylegesen szabad neodímiumion parciális móltörtje ($\phi\{\text{Nd}^{3+}/(\text{Nd}^{3+})_z\}$). Így az ott kapott látszólagos egyensúlyi állandóból ($K_{1:1}=3,1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) számolható a valóságos stabilitási állandó:

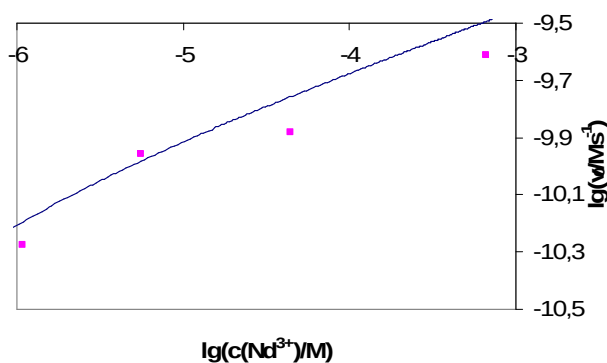
$$K'_{\text{NdP}^{3+}} = K_{\text{NdP}^{3+}} \times \phi(\text{Nd}^{3+}/(\text{Nd}^{3+})_z)$$

Eredményként $K_{1:1}=3,01 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ kaptam, mely közeli a ZITA által meghatározott sebességi állandók hányadosához. A kezdeti, meglehetősen kis parciális móltörtű szabad, vagyis nem oligomer formában lévő Nd^{3+} mennyisége a porfirinhez való koordinálódás során az oligomerizációs egyensúlyt eltolva újabb monomer neodímium(III) képződését eredményezi, hiszen a komplex stabilitása nagyobb, mint az oligomereké.

$$(\text{Nd}^{3+})_{z-1} + \text{Nd}^{3+} \rightleftharpoons (\text{Nd}^{3+})_z \quad K_{(\text{Nd}^{3+})_z} = \frac{[(\text{Nd}^{3+})_z]}{[(\text{Nd}^{3+})_{z-1}][\text{Nd}^{3+}]} = \frac{k_{z+}}{k_{z-}} \quad 1$$

Bár a sebességi állandók nagysága elfogadhatónak tűnik, az azok által számolható trendvonal nem eléggé illeszkedik a mérési pontokra (9. ábra), nem eléggé hajlik el, így a későbbiekben magasabb rendű oligomerekkel is számolni kell, hogy a koncentráció-eloszlás illesztése megfelelően pontos legyen, de ezt ennyi mérési pontra még nem érdemes

megtenni.



9. ábra A komplexképződés kinetikájának mért (jelölők) és oligomer egyensúly is feltételezve a ZITÁval újrászámolt (folytonos vonal) koncentrációeloszlása

A méréseket acetátiós közegben is elvégeztük, hogy felderítsük, hogy a viszonylag nagy koncentrációban (0,01 M) – mely axiális helyzetben koordinálódik is a neodímiumionhoz a porfirin koordinációs üregében, szemben a kloridionnal –, hogyan befolyásolja a komplexálódási

egyensúlyt. A mérési sorokon egyszerre futtatott kiértékelés arra mutatott rá, hogy a porfirin-komplex kialakulásának tényleges lépése nagyon lassú a kloridionos közegben tapasztalhoz képest (17 vs. $320 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$), és az oligomerek kialakulásának sebességében is sok nagyságrendi eltérés adódott (2. táblázat), ami arra enged következtetni, hogy ha a fémion-oligomereket acetáto-hidak kötik össze, akkor azok termodinamikai stabilitása szinte azonos a kloridos közegben hidroxo- és kloro-hidakon keresztül megvalósuló oligomerekéhez – valamint közeli a porfirin-komplexéhez is –, viszont a disszociációs sebességi állandójuk alapján a kinetikai labilitásuk sokkal kisebb, ami az acetátió kétfogú koordinációjának köszönhető; és ez jelentősen lassítja a neodímium(III) porfirinbe épülését is.

2. táblázat A korábbi mérési sorokat egyszerre kezelve legfeljebb trimer neodímiumion-formára számítva a ZITA által számolt sebességi és stabilitási állandók

Megjelenő részecskék ki- és visszaalakulásának sebességi állandói			K (M^{-1})
NdP^{3+}	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	17	$1,8 \times 10^7$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$2,0 \times 10^{-4}$	
$(\text{Nd}^{3+})_2$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$8,7 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$3,8 \times 10^{-8}$	
$(\text{Nd}^{3+})_3$	$k_+ (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$4,0 \times 10^{-2}$	$4,4 \times 10^6$
	$k_- (\text{s}^{-1})$	$1,8 \times 10^{-7}$	

Fotofizika

A porfirin-vegyületek abból adódóan, hogy hatékonyan nyelik el a fényt, s viszonylag merev síkszerkezetet alkotó, zárt konjugált π -rendszerrel rendelkeznek, kisugárzást is mutatnak. Leghatékonyabb a szingulett-1 fluoreszcencia, mely során a gerjesztett elektronok a LUMO pályáról visszakerülnek alapállapotukba, és a gerjesztési energia fény formájában távozik a rendszerből.

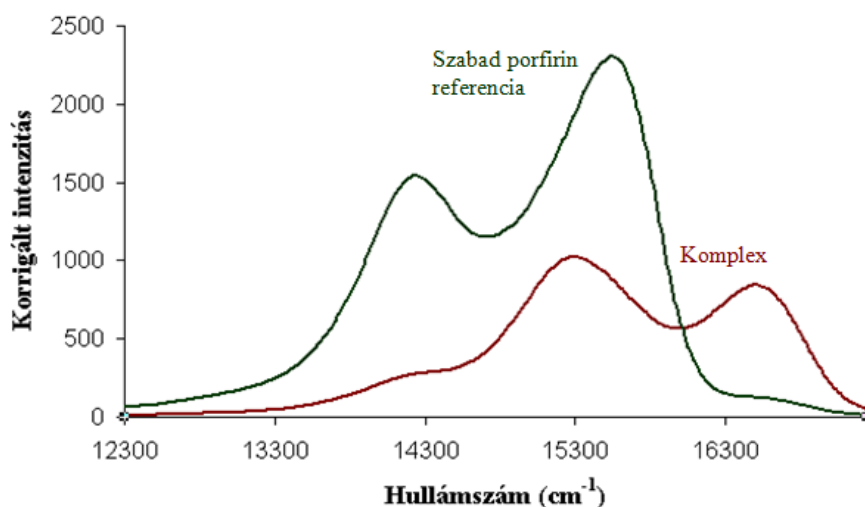
Kísérleteim során eddig csak a komplex szingulett-1 fluoreszcenciáját vizsgáltam, amely Q-sávon való gerjesztésből adódó

első elektrongerjesztett állapot zérus vibrációs szintjéről következik be, így amikor nagyobb energiájú fotont nyel el a komplex, a magasabb gerjesztési szintről az energia egy része belső konverziók révén adódik le.

A fluoreszcencia-méréseket a titrálási sor legjobb tagján végeztem el az izobesztikus pontokon: 417 nm, 541 nm és 570 nm gerjesztő hullámhosszaknál (10. ábra). A mért eredményekből kiszámoltam a második és az első szingulett gerjesztett állapot közötti belső konverzió kvantumhatásfokát is.

Referenciaként a szabad porfirinre a témavezető által mért adatok álltak

rendelkezésre.



10. ábra A referencia porfirin (zöld görbe) és a komplex (bordó görbe) kisugárzási színeke 417 nm-es gerjesztő fény hatására.

A területek arányából és a standard fluoreszcencia kvantumhatásfokból számolva a komplex fluoreszcencia kvantumhasznosítási tényezője a Soret-sávon gerjesztve $\Phi=0,028$ -nak, a Q-sávon történt gerjesztéssel kapott kvantumhatásfok $\Phi=0,038$ -nak adódott, melyek arányából a belső konverzió hatásfoka számolható: 74%. A referenciaként használt szabad porfirinre ezek az értékek $\Phi=0,0562$ (Soret-sávon gerjesztve) és $\Phi=0,0753$ (Q-sávon gerjesztve).

A komplex kisugárzási színekének változása a szabad porfirinéhoz képest azzal magyarázható, hogy az elnyelést követően betöltötté vált S_1 -állapot energetikai helyzetét már a $Q_x(0,0)$ abszorpciós csúcs abszolút energiája határozza meg, ezért fogunk a SAT-komplexek esetén is a Q-sávjaik vöröseltolódása ellenére kékeltoledást találni a S_1 -fluoreszcenciájukban, azaz nagyobb energiájú fényt bocsátanak ki, mint a szabad ligandum. A kisugárzás kvantumhasznosítási tényezője pedig csökken a fémion koordinációjának következtében, mivel a gerjesztési energia egy része a fémion spinváltó folyamatokat preferáló elektronikus, nehézatom-hatása miatt nem a (spintartó) fluoreszcenciára

fordítódik, hanem triplétt állapot betöltésére vagy akár a már említett LMCT-re. Emellett a síkon kívül elhelyezkedő fémion sztérikus, azaz ligandumot torzító hatása is a sugárzásmentes folyamatok hatékonyságát növeli a sugárzásosakkal szemben.

Fotokémia

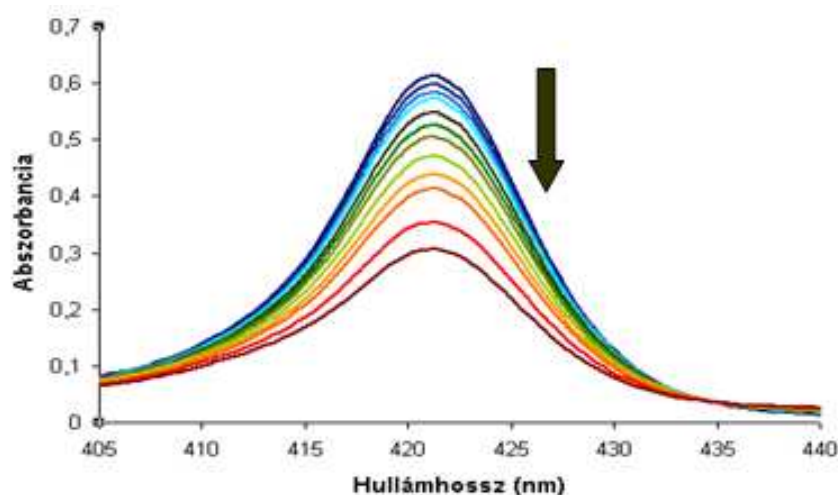
Besugárzás hatására a komplexben a porfirin delokalizált elektronrendszere oxidálódik, és a gyűrű felszakad az egyik metilidin-hídon. Ez a színekeken a Soret- és Q-sávok folyamatos csökkenésével, majd – ha elég hosszú ideig folytatjuk a fotolízist – eltűnésével jár, hiszen a folyamatban felbomló delokalizált elektronrendszer biztosítja a vegyületek fényelnyelését a látható fény tartományában. Ugyanakkor kimutatták, hogy töltésátvitel valósul meg a ligandumról a fémionra (LMCT), mert ha a fémion (pl. Nd^{3+}) egyedi színekéjét vizsgáljuk sójában, akkor ahhoz képest új sáv jelenik meg a bomló komplex esetén, ami csak a gerjesztett fémiontól származhat. A visszafelé opcionálisan lejátszódó MLCT, azaz a fémionról a ligandumra történő töltésátvitel azért nem kedvezményezett a SAT porfirinek esetében, mert a redukált fémionnak az elektron felvételével még jobban megnő a

sugara, és annyira eltávolodik a gyűrűtől, hogy a fémion-ligandum koordinatív kötés fel is szakadhat, és a redukált fém(ion) az oldatba kerülhet.

Az elsődleges fotokémiai vizsgálatokat monoporfirin-komplexekkel végeztem még csak el, mert a többporfirines rendszerek pontos szerkezetéről még nem bizonyosodtam meg, így azok további

elemzést igényelnek. Tehát a kísérletek során acetáttionnal pufferált mintát a Soret-sáv maximumán, 421nm-en sugároztam be, amíg a komplex abszorbanciája a felére csökkent.

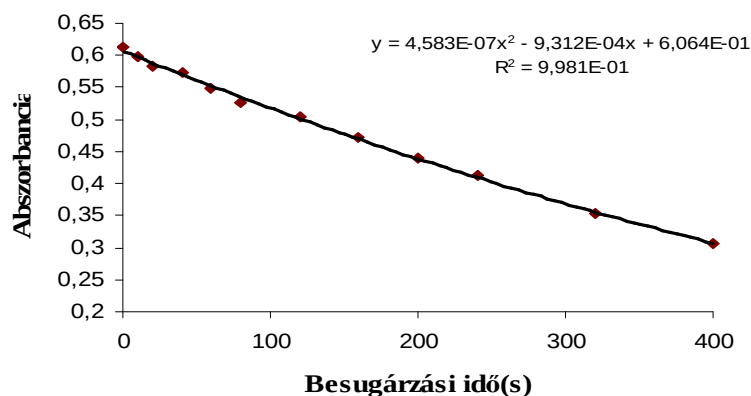
A folyamatos bomlás jól látszik a színekén, és ez a kiindulópont a kiértékelésben is.



11. ábra Színképi változás a fotolízis hatására a Nd^{3+} -porfirin-komplexen, a használt lámpa fényintenzitása: $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ foton másodpercenként

A kezdeti meredekség módszerével (12. ábra) kapott bruttó fotokémiai

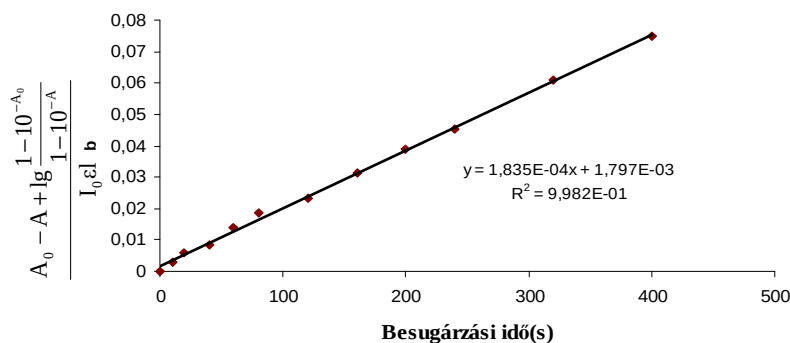
kvantumhasznosítási tényező $\Phi = 2,1 \times 10^{-4}$ -nek adódott.



12. ábra A kezdeti meredekség módszerével kapott grafikon

Az illesztett módszer (13. ábra) esetén az ábrán felfedezhető, hogy az első néhány pont után a meredekség kissé csökken. A kezdeti szakaszban a meredekség, azaz a

kvantumhasznosítási tényező $\Phi = 2,3 \times 10^{-4}$, míg a teljes mérési sorra $\Phi = 1,8 \times 10^{-4}$ adódott.



13. ábra Az illesztett módszerrel kapott grafikon

Ezért összetett kiértékeléshez folyamodtam, melyben a moláris színek ismertetében a koncentráció-eloszlást a korábban ismertetett módon meg tudtam határozni. Így megbízható eredményt kaptam a bruttó kvantumhasznosítási tényezőre, mert számoltam a felszabaduló szabad porfirin fényelnyelésével is, melyet levonva a komplexéből kizárólag a vizsgált formára érvényes eredményt kaptam ($\Phi = 2,2 \times 10^{-4}$). Ezt összevetve a kezdeti meredekségből kapott eredménnyel látszik, hogy azzal nem lehet nagy pontossággal az egész besugárzási időtartamra hiteles eredményt számolni. Bár az illesztett módszerrel a kezdeti szakaszra kapott hatásfok megbízhatóbb, abból sem derül fény a fotodisszociáció lehetőségére, mely az egyenes későbbi elhajlását okozhatja.

A porfirin-felszabadulás részarányát is kiszámoltam az előbbi eredmények alapján a bruttó kvantumhasznosítási tényezőből, amely csupán 2,2%-nak adódott, a többi a fotoindukált gyűrűoxidációhoz tartozik.

A kapott kvantumhasznosítási tényezőt összevetve a szabad porfirinével ($\Phi(\text{H}_2\text{P}^{4-}) = 6,0 \times 10^{-6}$) és a síkon belüli (normál) komplexekkel nagyságrendi növekedést tapasztalhatunk, azaz a fémion hatására a bomlás jobb hatásfokkal játszódik le, amely nagyrészt a fotoindukált LMCT és elenyésző részt a fémion disszociációjának eredménye (Horváth, 2006; Valicsek, 2007).

Az előző eredményekkel összevetve az acetátos közegben mért mintákon végzett

összetett kiértékeléssel számított bruttó fotokémiai kvantumhasznosítási tényező a kloridos közegben mérttel megegyezően $\Phi = 2,2 \times 10^{-4}$ -nek adódott, de az illesztett módszerrel kapott eredményben az acetátos közegben csekély növekedést tapasztaltam, illetőleg a fémion fotoindukált disszociációjára 8%-nyi rész adódott, ami növekedés a korábban vizsgált közeghez képest. Ez azzal magyarázható, hogy a Nd^{3+} -iont enyhén kihúzza a porfirin koordinációs üregéből a kétfogú ligandumként is funkcionáló axiálisan koordinálódó acetátió, így enyhén növeli a LMCT és a disszociáció lehetőségét is.

Viszont a 2009-es ITDK dolgozatomban (Szentgyörgyi, 2009) cérium(III)-porfirines eredmények közül pont a fotokémiai aktivitás tér el a legjobban a neodímium(III)-komplexétől, míg a spektrofotometriai és egyensúlyi paramétereik nagyon is egyezőnek mutatkoztak. Talán ennél a tulajdonságnál a legmeghatározóbb a lantanoida-kontrakcióból adódó méretbeli eltérés (a Ce^{3+} ionsugara 101 pm, a Nd^{3+} -é 98 pm (Shannon, 1976)), azaz a fémion helyzete a ligandum koordinációs üregéhez képest. A bruttó fotokémiai kvantumhasznosítási tényező majdnem egy nagyságrenddel nagyobb ($\Phi(\text{Ce}^{\text{III}}\text{P}) = 1,1 \times 10^{-3}$), melynek közel 18%-a adódik a fémion fotoindukált disszociációjából. Tehát ez a fémion síkon kívüli távolságának kismértékű növekedése mind a fotoredoxi gyűrűbomlást, mind a fémion egyszerű fotodisszociációját hatékonyabbá teszi.

Összefoglalás

A vizsgált fémion a színképi eltolódásokból ítélve SAT komplexet alkot. A komplex kialakulását a hőmérséklet növelése jelentősen gyorsítja. A kialakulást nemcsak a hőmérséklet, hanem a fémion oligomerizációs hajlama is erősen befolyásolja. A jelenlévő pufferáló-ionerősség-szabályzó ionok is jelentősen hatnak az oligomerizálódáson és saját komplexek kialakulásán keresztül a komplexálódási kinetikára. A komplex fotokémiai vizsgálata bizonyította az LMCT hatékony megvalósulását kis hányadú fotoindukált disszociáció mellett. A fotofizikai vizsgálatok során kimutattam a komplex szingulett-1 kisugárzását, mely szintén a síkon kívüli komplex kialakulására bizonyíték. Ennek kvantumhatásfokát is megállapítottam, mely a paramágneses fémion elektronikus és sztérikus befolyása miatt csökken a szabad porfirinhez képest.

Irodalomjegyzék

- Biesaga M., Pyrzynska K., Trojanowicz M. (2000): Porphyrins in analytical chemistry. A review. *Talanta* 51: 209.
- Darwent J. R., Douglas P., Harriman A., Porter G., Richoux M.-C. (1982): Metal phthalocyanines and porphyrins as photosensitizers for reduction of water to hydrogen. *Coord. Chem. Rev.* 44: 83.
- Evans B., Smith M. K., Cavaleiro J. A. S. (1978): Bile pigment studies. Part 4. Some novel reactoins of metallo-porphyrins with thallium(III) and cerium(IV) salts. Ring cleavage of meso-tetraphenylporphyrin. *J.C.S. Perkin I.* 768.
- Garrett R. H., Grisham C. M. (1999): *Biochemistry*. Saunders College Publishing, Fort Worth.
- Gouterman M (1978): *The Porphyrins* (vol III. D. Dolphin, ed.). Academic Press, New York.
- Hambright P. (1971): The coordination chemistry of metalloporphyrins. *Coord. Chem. Rev.* 6: 247.
- Harriman A. (1979): Photochemistry of manganese complexes. *Coord. Chem. Rev.* 28: 147.
- He H., Wong W.-K., Guo J., Li K.-F., Wong W.-Y., Lo W.-K., Cheah K.-W. (2004): Monoporphyrinate neodymium (III) complexes stabilized by tripodal ligand: synthesis, characterization and luminescence. *Inorg. Chim. Acta* 357: 4379.
- Horváth O., Huszánk R., Valicsek Zs., Lendvay G. (2006): Photophysics and photochemistry of kinetically labile, water-soluble porphyrin complexes. *Coord. Chem. Rev.* 250: 1792-1803.
- Peintler G. (1997): Reference Manual ZITA Version 4.1, A Comprehensive Program Package for Fitting Parameters of Chemical Reaction Mechanisms; Attila József University, Szeged.
- Peintler G., Nagypál I., Jancsó A., Epstein I. R., Kustin K. (1997): Extracting Experimental Information from Large Matrices. Part I: A New Algorithm for the Application of Matrix Rank Analysis. *J. Phys. Chem.* 101: 8013.
- Shannon R. D. (1976): Revised Effective Ionic Radii and Systematic Studies of Interatomic Distances in Halides and Chalcogenides. *Acta Cryst.* A32: 751.
- Szentgyörgyi Cs. (2009): Neodímium- és cérium-ionok síkon kívüli porfirin-komplexeinek képződési egyensúlya, fotofizikai és fotokémiai vizsgálata vizes közegben. ITDK dolgozat; Pannon Egyetem, Veszprém.
- Tabata M., Ozutsumi K. (1992): Equilibrium and EXAFS studies of mercury(II) porphyrin in aqueous solution. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 65: 1438.
- Valicsek Zs. (2007): Másodfajú fémionok vízzoldható SAT porfirin-komplexeinek egyensúlyi, fotofizikai, fotokémiai és kvantumkémiai vizsgálata PhD disszertáció, Pannon Egyetem, Veszprém.

Foszfán-foszforamidit ligandumok szintézise és alkalmazása aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúciós reakciókban

Tóth Attila

Témavezetők: Dr. Bakos József, Balogh Szabolcs

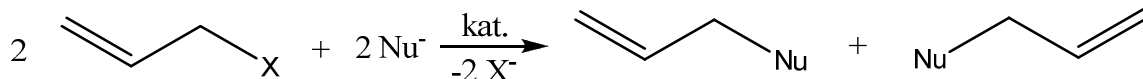
Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Kémia Intézet, Szerves Kémia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az optikailag aktív vegyületek gyakran biológiailag is aktívak. A szintetikus úton előállított királis molekulák elsősorban a gyógyszeripar számára jelentősek. Az enantiomerek szétválasztásának magas költsége miatt előtérbe kerültek a különböző átmenetifém-katalizált aszimmetrikus szintézisek. Az aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúció általános eljárás szén-szén, illetve szén-heteroatom kötések kialakítására. Átmenetifém-katalitikus aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúció során a fématomhoz koordinálódó királis módosító ligandum optikai tulajdonságokat örökít át a szubsztrátumnak, így racém elegyből kiindulva az egyik enantiomer képződése túlsúlyba kerül. A nemrég felfedezett foszfán-foszforamidit típusú ligandumok eredményesen alkalmazhatók homogénkatalitikus aszimmetrikus reakciókban. Kutatásunk során új, kétfogú, C_1 szimmetriájú foszfán-foszforamidit ligandumokat szintetizáltunk. A ligandumok és komplexeik különös előnye az, hogy levegőn igen stabilisak, kiemelkedő katalitikus eredményeket nyújtanak enantioszelektív szintézisekben. Munkám során az új ligandumokkal módosított Pd-komplexek katalitikus tulajdonságait vizsgáltam allil-típusú szubsztitúciós reakciókban. A kísérletek alapján megállapítottam, hogy az új katalitikus

rendszer az eddig ismert katalizátorokkal megközelítőleg azonos szelektivitású, de aktivitása kiemelkedő.

Bevezetés

Az aszimmetrikus katalitikus allilezést Trost és Strege írta le először 1977-ben (Trost, 2002). Az enantioszelektív reakciókhoz foszfor-tartalmú királis ligandummal módosított átmenetifém-komplexekeket használtak. Ez a királis szintézis alkalmas szén-szén, illetve szén-heteroatom kötések kialakítására (1. ábra). Főbb alkalmazási területe – a gyakran biológiai aktivitást is mutató tulajdonságaikból eredően – gyógyszerek, növényvédőszer, stb. hatóanyagainak előállítása. Fontos megemlíteni, hogy racém szubsztrátumból kiindulva is optikailag tiszta vegyülethez juthatunk, szemben más enantioszelektív szintézisekkel, melyekben a kiindulási anyag prokirális, vagy akirális. Az átmenetifém-katalizált allil-típusú szubsztitúciós reakciók általában enyhébb körülmények között játszódhatnak le, mint a hagyományos S_N2 típusú reakciók, különböző kemo-, regio-, ill. enantioszelektivitás mellett. A szintézis katalizátorai királis módosító ligandummal képzett átmenetifém-komplexekeket, a leggyakrabban használt központi fématom a palládium, de ismert más fémek alkalmazása is, úgy, mint nikkel, ruténium, ródium, irídium.



1. ábra Általános allil-helyzetű szubsztitúciós reakció

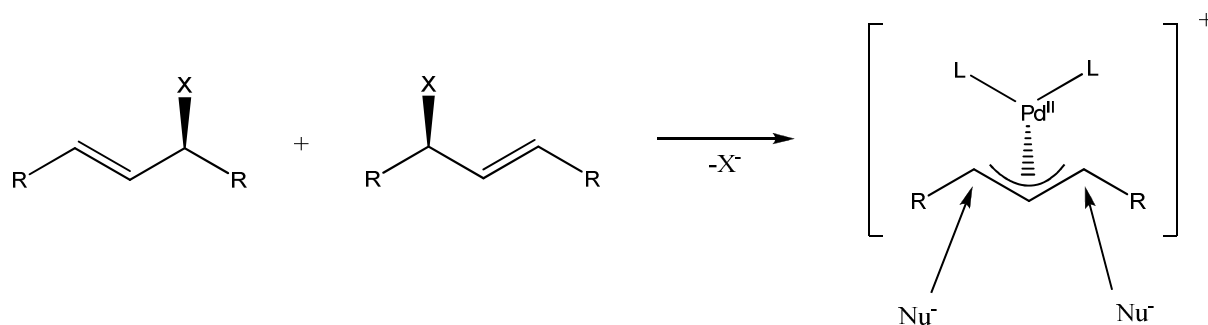
A palládium széleskörű használata azzal magyarázható, hogy az említett fémek közül a mechanizmus során kialakuló átmeneti Pd-komplexek szerkezete, tulajdonságai a leginkább feltártak, mivel az egyes intermedierek stabilitása folytán spektroszkópikus módszerekkel tanulmányozhatók (Jacobsen és mtsai., 1999). Ez ritkaságnak számít az átmenetifém katalízisben.

Az allil-helyzetű szubsztitúciók során alkalmazott szubsztrátumokat öt csoportba lehet sorolni aszerint, hogy a C1, C3 terminális szénatomokhoz milyen atomok, illetve atomcsoportok kapcsolódnak. A munkám során alkalmazott szubsztrátum – *rac*-(*E*)-1,3-difenilallil acetát – C1 és C3 terminális helyzetű szénatomjai azonos szubsztituenseket tartalmaznak (RCH=CH-CHXR). E szubsztrátum esetében mindkét enantiomerből ugyanaz az olefin-Pd komplex képződik (2. ábra), a katalitikus ciklus e lépése az enantioszelektivitás szempontjából irreleváns, a nukleofil csoport támadási helyének valószínűsége a királis ligandum természetének függvénye. Akirális ligandum esetén a π -komplexben a két terminális szénatom enantiotóp viszonyban van egymással, a termék racém kiindulási anyag esetén racém lesz. Ha azonban a ligandum optikailag aktív, a terminális szénatomok diasztereotópok lesznek, így a támadó nukleofil csoport eltérő valószínűséggel reagál, a reakció enantioszelektív lehet. Az alkalmazott

szubsztrátumok távozó csoportjai általában acetátok, vagy karbonátok, a belőlük képződő ionok képesek deprotonálni a nukleofil reaktánst. Ennek következtében nem szükséges sztoichiometrikus mennyiségben alkalmazni a bázist (BSA) (Chelucci és mtsai., 1998).

Allil-típusú szubsztitúciók reakciópartnereként C-nukleofil vegyületeket, Grignard-vegyületeket, valamint karbonil-, amino-, foszfano-, nitrocsoporthoz tartozó molekulákat egyaránt alkalmaznak (Tominaga és mtsai., 2004). Az új katalizátorok tulajdonságainak vizsgálata során dimetil-malonáttól képzett nukleofilt használtam (C-nukleofil).

A katalitikus ciklus első lépésében az allil-szubsztrátum koordinálódik az aszimmetrikus ligandumokkal módosított Pd^0 központi fématomhoz, így kialakul egy $\eta^2 \pi$ -allil- Pd^0 komplex. Ezt követően oxidatív addíciós lépésben a Pd egy molekulán belüli $\text{S}_{\text{N}}2$ szubsztitúció során lezorítja a szubsztrátum allil helyzetű távozó csoportját, ezáltal kialakul egy $\eta^3 \pi$ -allil- Pd^{II} komplex. A következő, szintén $\text{S}_{\text{N}}2$ mechanizmus szerint lejátszódó lépésben a nukleofil támadó csoport koordinálódik a C1, vagy a C3 terminális helyzetű szénatomok valamelyikéhez, majd redukatív elimináció során ismét egy kevésbé stabil $\eta^2 \pi$ -allil- Pd^0 komplex képződik, mely a termék kialakulásához vezet (Jacobsen és mtsai., 1999).

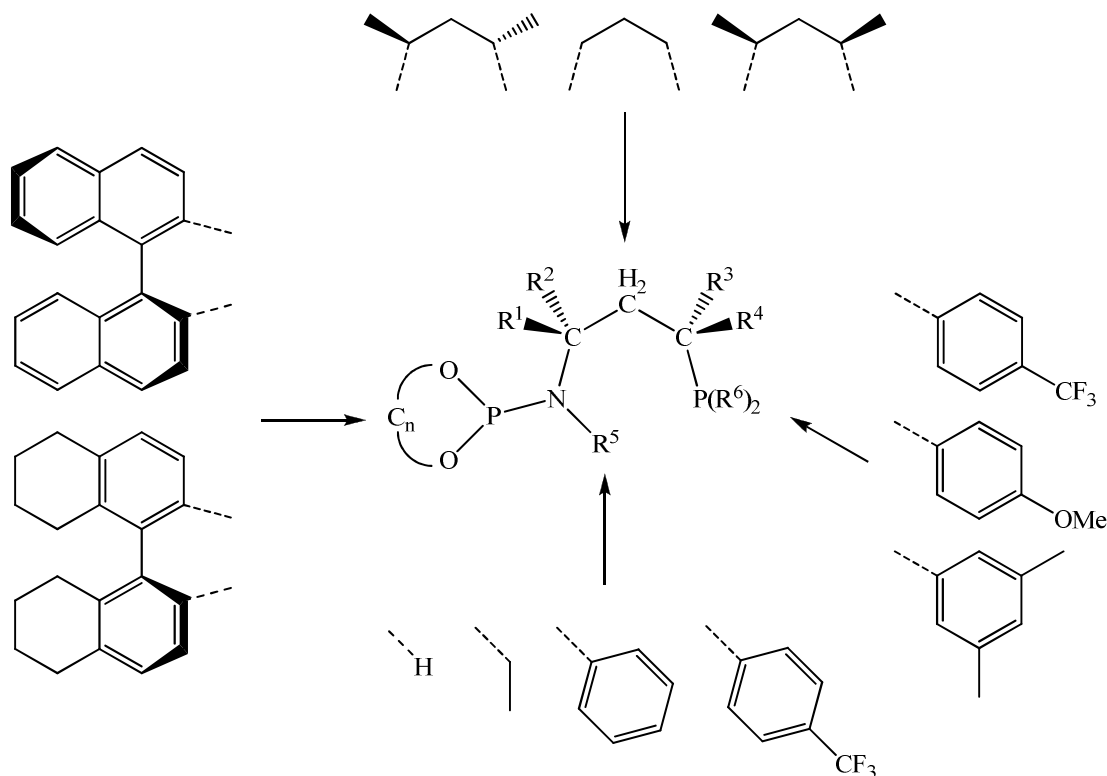


2. ábra $\eta^3 \pi$ -allil- Pd^{II} komplex képződése

Foszfán-foszforamidit ligandumok és szintézisük

Új királis foszfán-foszforamidit ligandumok

A Szerves Kémia Intézeti Tanszéken új kelátképző királis foszfán-foszforamidit ligandumokat szintetizáltunk (3. ábra).



3. ábra Királis foszfán-foszforamidit ligandum

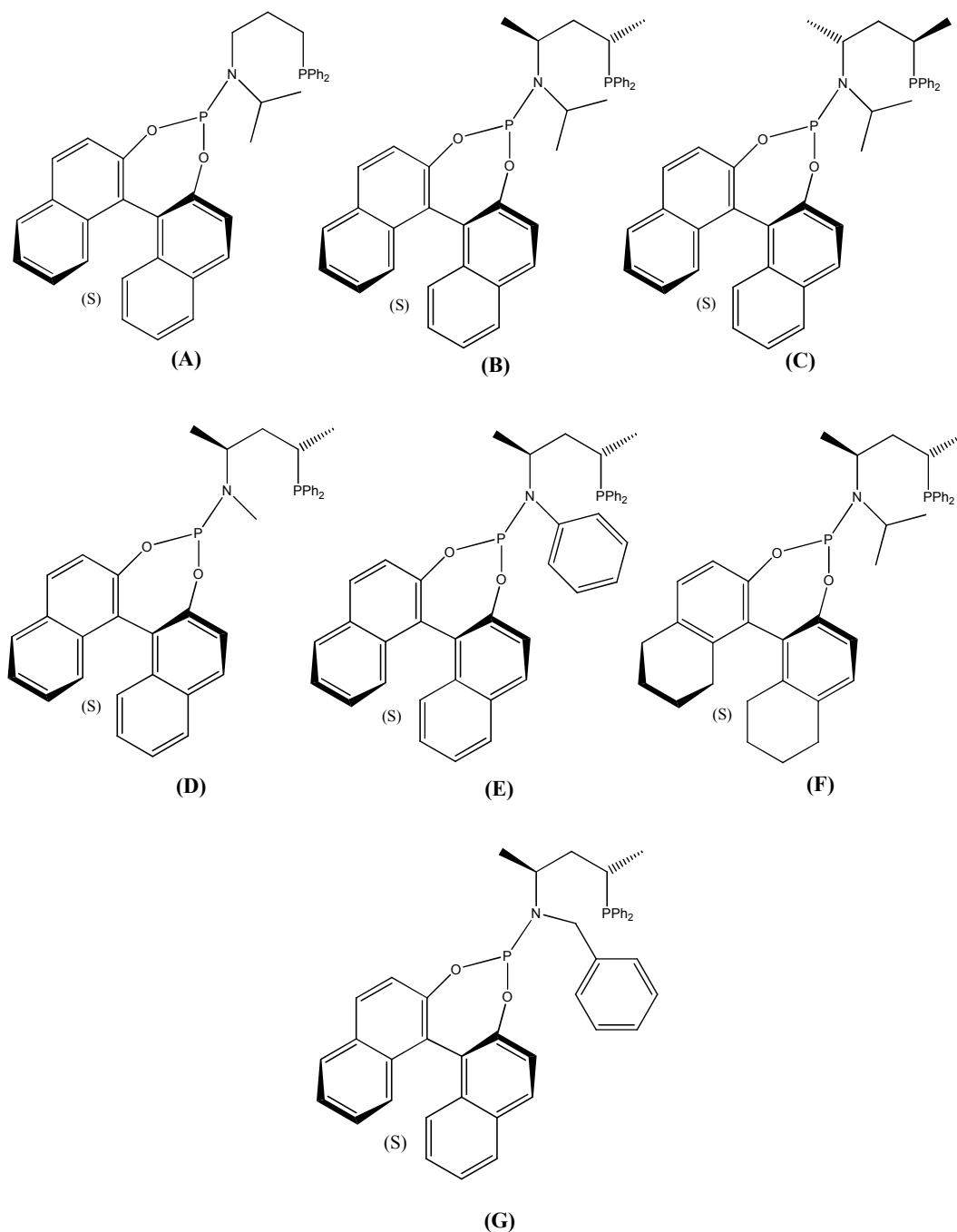
A 3. ábrán látható általános képlet felírt ligandumszerkezet sok helyen módosítható. Változtatható a nitrogén-foszfor közötti szénhíd szerkezete, az amin szubsztituensei, a BINOL szerkezete, valamint a difenil-foszfán csoport aromás szubsztituensei is, ami lehetővé teszi a reakcióra és a szubsztrátumra történő optimalizálást.

Az enantioszelektivitást befolyásolják a ligandumok sztérikus és elektronikus tulajdonságai, melyeket módosíthatunk, illetve az egyes szubsztrátumokhoz, reakciópartnerekhez, oldószerhez hangolhatunk. A síknégyzetes komplexekben a *transz*-hatás érvényesül, a különböző koordinációs csoportokat tartalmazó kétfogú ligandum mindkét oldala más-más sztérikus- és elektronikus hatást fejt ki a koordinálódó ligandumra.

A kelátgyűrű hét tagszámú, ami valószínűleg a gyűrű csavarodását, akár többféle konformer kialakulását teszi lehetővé. Az egyes konformerek kialakulását a gyűrűn szubsztituált csoportok jellege befolyásolhatja. Ezen megfontolásból a nitrogénen alifás és aromás csoportokat tartamazó ligandumot is szintetizáltunk (R^5), a szénhídban pedig az R^{1-4} jelű csoportok változtatásának hatását is vizsgáltuk. Ha metilcsoportok kapcsolódnak a propánvázhoz a hídban, akkor két aszimmetriacentrum keletkezik a 2-es, illetve a 4-es szénatomon. Elkészítettük a szénvázon (*R,R*) és (*S,S*) aszimmetriacentrumokat tartalmazó ligandumokat is, miközben BINOL axiális (*S*) kiralitását megtartottuk. Így epimer vegyületekhez jutunk, melyek közül az egyik együttműködő, míg a másik gátló hatású lehet a szelektivitásra.

A BINOL nagy térigényű, jó királis információhordozó csoport, mely szerkezete módosítható. A diéderes szög növelése céljából BINOL-ból állítottunk

elő részlegesen hidrogénezett H₈ BINOL-t. Mindezen megfontolásokról 7 különböző ligandumot szintetizáltunk (4. ábra).

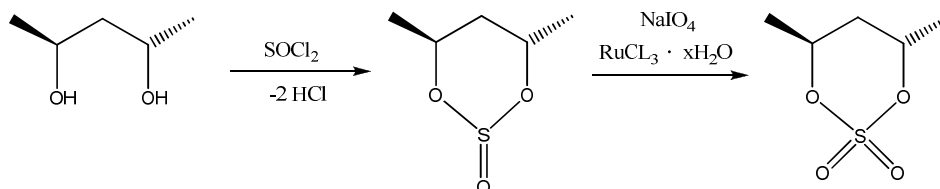


4. ábra Királis foszfán-foszforamidit ligandumok

A ligandumok szintézise

Az általunk előállított ligandumokat kétértékű alkoholokból, 1,3-propándiolból (A ligandum), illetve a többi ligandum esetében (R,R)-, illetve (S,S)-2,4-

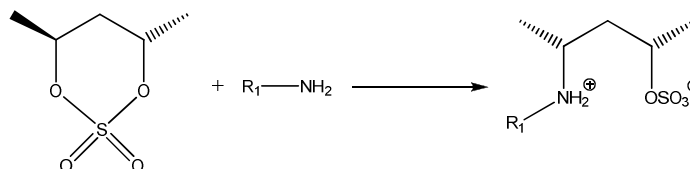
pentándiolból kiindulva szintetizáltuk (Richardson és mtsai., 1995). Első lépésben gyűrűs szulfitot, majd ennek oxidációjával gyűrűs szulfátot állítottunk elő (5. ábra).



5. ábra Gyűrűs szulfát előállítása

A szulfát gyűrűnyitását (6. ábra) primer aminokkal végeztük (**A**, **B**, **C**, **F**: R_1 = izopropil-amin, **D**: R_1 = metil-amin, **E**: R_1 = anilin, **G**: benzilamin). A bimolekuláris nukleofil szubsztitúció következtében, ha $R \neq H$, akkor az amin által támadott szénatom aszimmetriacentrum, és konfigurációja megváltozik: **(R,R)** $\rightarrow$ **(S,R)**. Az ellentétes konfigurációjú 2,4-pentándiolból

kiindulva analóg módon történik a konfiguráció megváltozása. Monomolekuláris nukleofil szubsztitúció során diasztereomerikus viszonyban lévő vegyületek keletkeznének, melyeknek ^{13}C -NMR és ^1H -NMR vizsgálatok során jelenlétét nem tapasztaltuk, tehát a mechanizmus minden esetben bimolekuláris nukleofil szubsztitúció. A hozam 90% körüli.

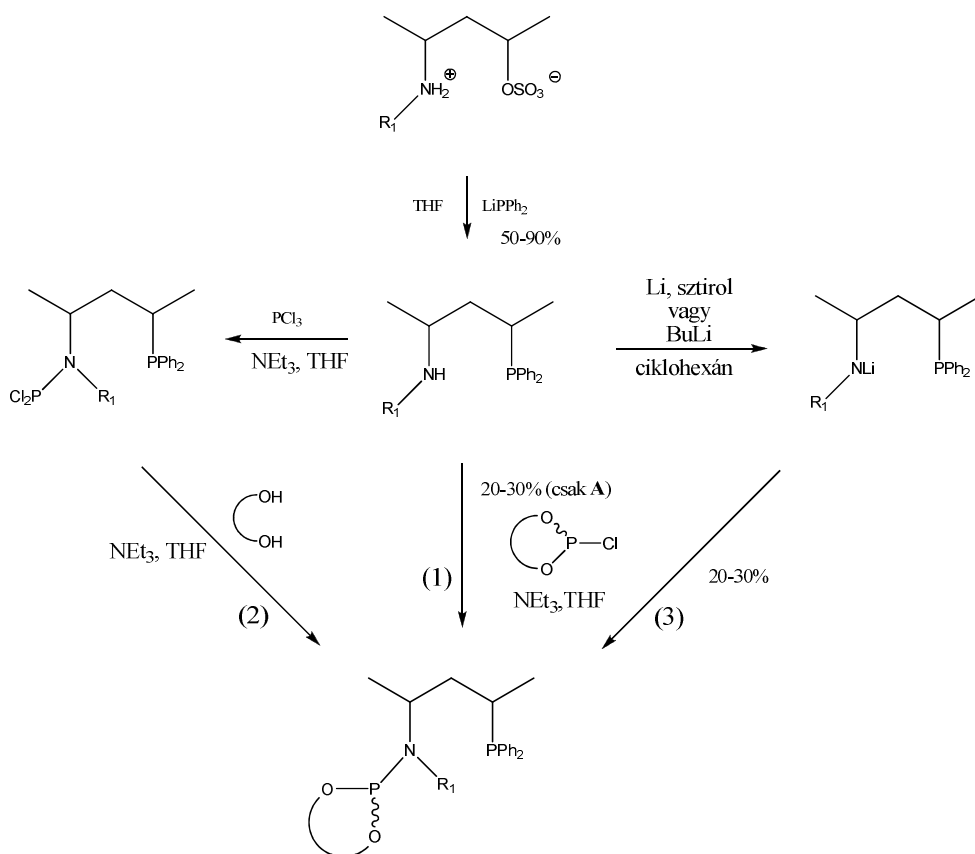


6. ábra Gyűrűnyitási reakció primer aminnal

Következő lépésben lítium-difenilfoszfid csoporttal szubsztituáltuk a kénsav-félészteret. (13. ábra). A nukleofil szubsztitúció során ($\text{S}_{\text{N}}2$) a konfiguráció ismét módosul, **(S,R)** $\rightarrow$ **(S,S)**, illetve **(R,S)** $\rightarrow$ **(R,R)**. Tapasztalataink szerint a kénsav-félészterre számolva lítium-difenilfoszfidból (lítium-difenilfoszfid*1,4-dioxán) 3 ekvivalens szükséges. 1 ekvivalens reagál a szulfát-

csoporttal, 1 ekvivalensből lítium-amid keletkezik, a harmadik ekvivalens pedig a kívánt szubsztitúció lejátszódását biztosítja, melyet színváltozás jelez, pirosból zöldes árnyalatúvá válik az elegy.

A szintézis utolsó lépésére három módszert is kipróbáltunk, hogy a legjobb hozamot biztosító szintézisutat megtaláljuk (7. ábra).

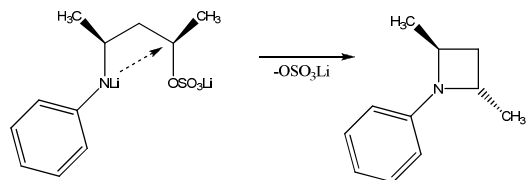


7. ábra Lehetséges szintézisutak az új foszfán-foszforamidit ligandumok előállítására

Az 1-es szintézisutat követve azt tapasztaltuk, hogy a metilcsoportokat tartalmazó szénváz szterikus tulajdonságai gátolják az izopropil-csoporttal szubsztituált nitrogén és a klór-foszfepin közti kölcsönhatást. A reakció szerény – 20-30%-os – hozammal és csak abban az esetben játszódik le, ha a szénváz nem tartalmaz metilcsoportokat (**A** ligandum), tehát ez az eljárás nem célravezető.

Az elektronikus tulajdonságok javítása céljából két módszert próbáltunk ki lítium-amid előállítására (**3**-as reakcióút). Egyik esetben fémlítiumot sztirol jelenlétében, a másik esetben pedig butil-lítiumot használtunk. A keletkező lítium-amid nukleofil ereje jobb, mint a szekunder-aminé, így erősebb bázisként kellően nukleofillá válik a klór-foszfepin számára. A reakció lejátszódik a metilcsoportokat tartalmazó szénváz esetén is, de a hozam mindegyik esetben szintén csak 20-30%-os, mert a reakcióelegy szennyezett, valamint egyéb mellékreakciók is lejátszódnak.

A fenilszubsztituált nitrogént tartalmazó molekula lítálása során a nitrogén rendkívül jó nukleofillé válik, és egy molekulán belüli bimolekuláris szubsztitúcióval azetidin vegyület keletkezik (8. ábra). A mellékterméket közel 50%-os hozammal sikerült izolálni. Ezen vegyületek előállítása elég nehézkes, általában több királis átmenetifém katalizátor egymás utáni alkalmazásával heves reakciókörülmények között állíthatók elő (Angela és mtsai., 2000). Ezért e reakció alaposabb vizsgálatát is tervezzük a jövőben.



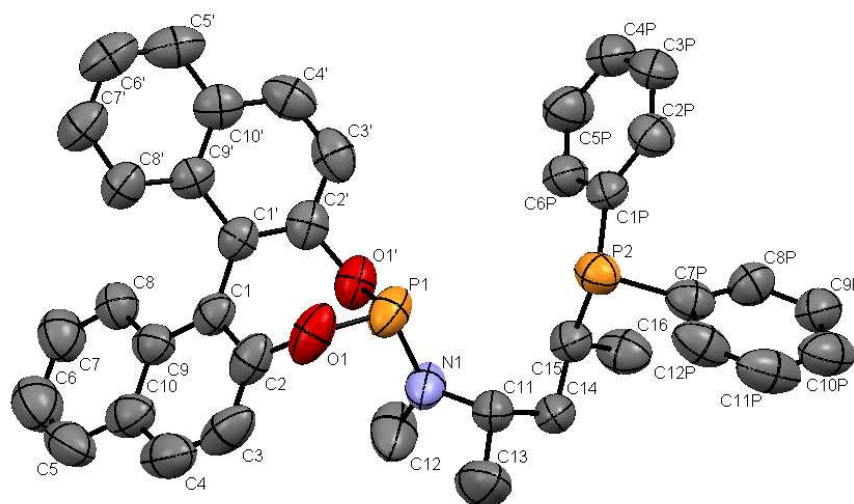
8. ábra Azetidin kialakulása

A 2-es reakcióút a legkedvezőbb. A nitrogén izopropil-csoportja és királis szénváz által generált szterikus gátlást megkerülve juthatunk a termékhez. Előbb

foszfor-trikloriddal reagáltattuk a szekunder amint, majd következő lépésben a BINOL-t kapcsoltuk a foszforhoz. Mindkét lépés gyenge bázis (TEA) jelenlétében gyorsan és szelektíven megy végbe. A hozam 50-80%-os.

Valamennyi reakciótermék szerkezetét ^1H , ^{31}P , ^{13}C -NMR spektroszkópiai módszerrel és elemanalízissel azonosítottuk, valamint mértük olvadáspontjaikat, forgatóképességüket. A

reakciók előrehaladtát vékonyréteg-kromatográfiás módszerrel vizsgáltuk. Az egyik ligandumról (**D**) röntgendiffrakciós felvétel is készült (9. ábra). Ezen ligandum ^{31}P NMR spektrumában a két foszforjel felhasad 14Hz-es csatolási állandóval, ami téren át ható csatolást feltételez. Ezt valószínűsíti a röntgenfelvétel is, melyből megállapítható, hogy a két foszforatom igen közel kerül egymáshoz.

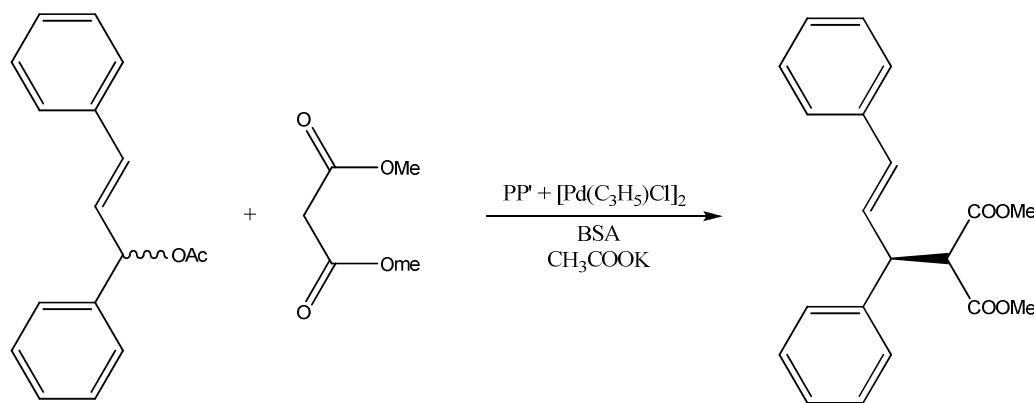


9. ábra Röntgendiffrakciós kép a (D) ligandumról

Tanszéken végzett kutatómunkám második részében az új ligandumokkal módosított Pd^0 -komplexek katalitikus tulajdonságait és a paraméterek változtatásának hatásait vizsgáltam aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúciós reakciókban.

Katalitikus vizsgálatok, és az eredmények kiértékelése

A vizsgált reakciókban szubsztrátumként *rac*-(*E*)-1,3-difenilallil acetátot, nukleofil szubsztituensként dimetil-malonátot, bázisként BSA-ot, valamint kálium-acetátot alkalmaztam (10. ábra). Az ettől eltérő paraméterekre a változtatások helyén hívom fel a figyelmet.



10. ábra Allil-helyzetű szubsztitúció

Általános eljárás:

A nukleofil ágenszt és a BSA-ot a szubsztrátumra nézve 3 ekvivalens mennyiségben alkalmaztam. A szubsztrátum mennyisége $n = 1,25$ mmol, szubsztrátum/palládium arány: $S/Pd = 100$, reakcióhőmérséklet: ~ 20 °C (RT), az oldószer mennyisége 10 mL. A reakció előrehaladtát VRK-s vizsgálattal követtem. Az aktiválási idő azt az időtartamot jelenti, ameddig a katalizátor a szubsztrátummal keveredett a reakciópartner hozzáadása nélkül.

Az oldószer hatásának vizsgálata

Megvizsgáltam a különböző oldószerek enantioszelektivitásra gyakorolt hatását. A vizsgálatot ugyanazzal a ligandummal (**F** – ligandum) *in situ* képzett katalizátorrendszerrel végeztem. Az eredményeket az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat Az oldószerek hatása ((F) ligandum).

Reakciókörülmények: szubsztrátum 1,25 mmol, RT, 2 h aktiválási idő, nukleofil/szubsztrátum molarány = 3. ^a P/Pd = 6. ^b

nukleofil/szubsztrátum molarány = 1

Oldószer	Konverzió [%]	e.e. [%]
DKM ^a	>99	57,9
DKM	>99	58,1
DKM ^b	>99	59,8
Dietil-éter	>99	55,1
DMF	>99	37,5
THF	>99	31,8
PEG-400	<10 (24 h)	28,5
MeOH	0	-

Az adatokból megállapítható, hogy a reakció metilén-kloridban (DKM), tetrahydrofuránban (THF) és dietil-éterben egyaránt lejátszódott. A nagy aktivitás mellett más kelátképző foszfor donoratomokat tartalmazó ligandumokkal elért eredményekhez hasonló enantioszelektivitást mutat a katalitikus rendszerünk dietil-éter és THF oldószerekben ($\sim 55\%$, $\sim 32\%$). Metanolban nem tapasztaltuk a kiindulási anyag fogyását, illetve melléktermék keletkezését, hasonlóan polietilén-glikol 400-ban sem játszódott le a reakció.

További oldószerek hatását is vizsgáltuk azonos ligandummal (**B**) képzett komplexek által katalizált folyamatokban. Az eredményeket a 2. táblázatban foglaltam össze. A konverziót VRK-val ellenőriztem, tehát az értékek becült értékek.

2. táblázat Az oldószerek hatása ((B) ligandum).

Reakciókörülmények: szubsztrátum 1,25 mmol, RT, 1 h aktiválási idő, nukleofil/szubsztrátum molarány = 3. ^a aktiválási idő: 2 h

Oldószer	Konverzió [%]	e.e. [%]
toluol	80-90	52,8
dioxán	80-90	51,4
THF	~ 50	42,6
(S)-etil-laktát ^a	-	-

A toluolban, illetve dioxánban végzett reakciók adták a legjobb eredményt, ami 50% feletti enantioszelektivitást jelent. A THF-ban lejátszódó szubsztitúció

szelektivitása ehhez képest szerényebb, 43% körüli. A reakció (S)-etil-laktátban nem játszódott le. Az oldószer könnyen elbomlik tejsavra illetve etilalkoholra, tapasztalataink alapján a szubsztitúció alkoholokban nem megy végbe. Az alkoholok a DKM-hoz képest sokkal jobb koordinációs tulajdonsággal rendelkeznek, donor jellegük erős, így a koordinációs hely(ek) elfoglalásával valószínűleg gátolják a katalitikus ciklus lejátszódását. Az oldószerek donorszámának növekedésével párhuzamosan csökken az enantioszelektivitás mértéke.

Megállapításom szerint érdemes a további vizsgálatokat DKM-ban végezni, melyben a különböző paraméterek mellett is stabilan 60%-ot megközelítő szelektivitást tapasztaltam.

A konverziót csak egy óra után ellenőriztem, pedig a későbbi tapasztalatok szerint a reakciók zöme 15 perc alatt lejátszódik, ami az irodalmi eredmények alapján kiemelkedő aktivitást jelent!

Különböző ligandumok alkalmazása

Különböző oldószerek vizsgálata során – azonos ligandum alkalmazása mellett – azt tapasztaltam, hogy a katalitikus rendszer DKM-ban mutatta a legnagyobb enantioszelektivitást, ezért ebben az oldószerben végeztem a ligandumokra vonatkozó összehasonlító vizsgálataimat. A reakciók az általános eljárásban meghatározott paraméterek szerint játszódtak le. Az eredményeket a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat Különböző ligandumok alkalmazása.

Reakciókörülmények: oldószer: DKM, szubsztrátum 1,25 mmol, RT, 1 h aktiválási idő, nukleofil/szubsztrátum molarány = 3.^a aktiválási idő: 2 h.

Ligandum	Konverzió [%]	e.e. [%]
(A)	>99	21,2
(B) ^a	>99	62,8
(C)	>99	34,7
(D)	>99	10,1
(E) ^a	>99	40,6
(F) ^a	>99	58,1
(G)	>99	28,0

A BINOL-csoport nagy térigényéből adódóan magában is igen jó királis információhordozó. Éppen ezért érdekes eredmény, hogy a (B) és (C) ligandummal ellentétes enantiomer keletkezett nagyobb mennyiségben. Ebből arra lehet következtetni, hogy a királis indukció nagyobb mértékben függ a szénvázon kialakított két kiralitáscentrumtól, mint a BINOL konfigurációjától. A két ligandum valószínűleg más-más konformációjú kelátgyűrűt alakít ki, illetve a metilcsoportok befolyásolják a difenilfoszfánil fenilcsoportjainak térbeli elhelyezkedését is.

A táblázat adataiból megállapítható, hogy az (E) ligandummal módosított Pd-komplex 40% körüli szelektivitást ad, mely a hasonló foszfán-foszforamidit típusú ligandumokkal képzett katalizátorrendszerekkel elért eredményeket közelíti meg. Az akirális szénláncú ligandum (A) enantioszelektivitása szerényebb – 20% körüli. A legjobb eredményt az izopropil-csoporttal szubsztituált nitrogénatomot tartalmazó, (S,S) konfigurációjú királis szénhíddal rendelkező ligandummal (B) képzett katalizátor-komplex mutatta. A 60%-ot meghaladó enantioszelektivitás ilyen nagy aktivitás mellett irodalmi összehasonlításban is igen figyelemre méltó eredmény.

A reakcióelegyet ~fél óra elteltével VRK-s módszerrel vizsgáltam és a tapasztalatok alapján a reakciók rövidebb idő alatt is teljesen lejátszódnak, érdemes tehát a konverziót 15 perc elteltével is megvizsgálni.

Az eltérő szelektivitást a ligandumok szerkezetével lehet magyarázni. Az (A) és a (B) ligandum egyaránt izopropil-csoportot tartalmaz, ám a (B) ligandum királis elemeket tartalmazó szénhídja jóval nagyobb szelektivitást mutat, mint az akirális analóg vegyület (A).

Legjobb eredményt tehát a (B) ligandummal módosított palládium-komplex mutatta, ezért a hőmérséklet

hatását is ezzel a ligandummal érdemes vizsgálni.

A hőmérséklet hatásának vizsgálata

Különböző szakirodalmi eredmények alapján az aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúció hűtött körülmények között nagyobb enantioszelektivitással játszódik le. A **(B)** ligandummal képzett Pd-komplex katalitikus tulajdonságait vizsgáltam DKM oldószerben 0°C-on, illetve 50°C-on. Az eredményeket a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat A hőmérséklet hatása.
Reakciókörülmények: oldószer: DKM,
szubsztrátum 1,25 mmol, RT, 1 h aktiválási idő,
nukleofil/szubsztrátum molarány = 3.

Hőmérséklet [°C]	Konverzió [%]	e.e. [%]
0	80-90	39,9
~20	>99	62,8
50	>99	61,2

A katalitikus aszimmetrikus szintézisek hűtés hatására általában jobb enantioszelektivitással játszódnak le. Érdekes eredmény, hogy 0 °C-on végzett reakció csak 40%-os eredményt adott. Meglepő az is, hogy 50 °C-on elért eredmény közel azonos a szobahőmérsékleten elért enantioszelektivitás értékkel. VRK-s vizsgálatok alapján azt tapasztaltam, hogy a reakciók kb. 15 percen belül lejáródtak. A hőmérséklet változtatásának hatására nem tapasztalható egyértelmű tendencia. A hőmérséklet csökkenésével bekövetkező szelektivitás csökkenés valószínűleg a hétagú kelátgyűrű konformációs viszonyainak változásával, illetve az egyéb komplex izomériákkal magyarázható.

A reakciók előrehaladását vékonyréteg kromatográfiás módszerrel vizsgáltam, UV-aktív szilikagél állófázison, hexán : etil-acetát = 6:1 arányú eluenssel.

A reakciók lejátszódása után az elegy 1 mL-éhez NH₄Cl-oldatot (a feleslegben maradt bázis közömbösítése végett), 2 mL dietil-étert adtam, majd a szerves fázist vékony szilikagél rétegen tisztítottam,

vízmentes MgSO₄-on szárítottam. Bepárlás után kb. 1mg/mL koncentrációjú oldatokat készítettem hexán oldószerrel HPLC-s vizsgálatok céljából.

A katalizátorok aktivitásának megállapításához VRK-s vizsgálatokat végeztem 15 perc elteltével. Ha a VRK alapján a konverziót teljesnek ítéltük (a szubsztrátum nem jelenik meg a kromatogramon), az enantioszelektivitást HPLC segítségével határoztuk meg.

Összefoglalás

Hét új, különböző szubsztituensekkel módosított királis, **C1** szimmetriájú foszfán-foszforamidit ligandumokat szintetizáltunk. A ligandumok szerkezete lehetővé teszi az elektronikus és szterikus tulajdonságok módosítását a terminális binaftil- és fenilcsoport, továbbá a nitrogénatom szubsztituenseinek viszonylag egyszerű változtatásával. Ezen tulajdonságok finom hangolása érzékeny hatással lehet a katalitikus ciklus egyes lépéseiben szerepet játszó átmeneti állapotok és köztitermékek stabilitására, aktivitására, és megkönnyítheti a katalitikus rendszer optimalizálását.

A felsorolt szempontok figyelembevételével szintézisutat dolgoztunk ki az új foszfán-foszforamidit ligandumok előállítására és a reakciókörülményeket optimalizáltuk.

A különböző szerkezetű új ligandumokkal képzett Pd-komplexek katalitikus tulajdonságait vizsgáltam aszimmetrikus allil-helyzetű szubsztitúciós reakciókban. Az eddig elért eredmények alapján megállapítottam, hogy az új ligandumok katalitikus tulajdonságai megközelítik, illetve meg is haladják a hasonló foszfor donoratomot tartalmazó, kelátképző ligandumokkal módosított átmenetifém-komplexekkel elért, publikált eredményeket. Legjobb enantioszelektivitást (62,8%) *rac-(E)*-1,3-Difenilallil acetát szubsztrátummal, dimetil-malonát nukleofil reaktánsal, az izopropil-csoporttal szubsztituált

nitrogénatomot tartalmazó, (S,S) konfigurációjú királis szénhíddal rendelkező ligandummal (**B**) módosított komplex mutatta DKM oldószerben, szobahőmérsékleten.

További lehetőségek adóttak a szubsztitúciós reakciók körülményeinek változtatására úgy, mint a nukleofil ágens, az alkalmazott só és bázis módosítása. Terveim között szerepel az új ligandumokkal képzett Pd-komplexek katalitikus vizsgálatainak folytatása az említett paraméterek módosítása mellett.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőimnek, Dr. Bakos Józsefnek és Balogh Szabolcsnak a munkámban nyújtott segítségért, támogatásért. Külön köszönettel tartozom Édes Béla labortechnikusnak és Farkas Gergely PhD hallgatónak, valamint a Szerves Kémia Intézeti Tanszék dolgozóinak.

Köszönettel tartozom a Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatalnak, valamint a Jedlik Ányos alapítványnak a kutatás támogatásáért.

Irodalomjegyzék

- Angela M., Philippe H., J.-Pierre G. (2000): European Journal of Organic Chemistry 9: 1815-1820.
- Barry M. (2002): Trost, Chem. Pharm. Bull. 50(1): 1-14.
- Chelucci G., Caria V., Saba A. (1998): Journal Molecular Catalysis A: Chemical 130: 51-55.
- Jacobsen E. N., Pfaltz A., Yamamoto H. (1999): Comprehensive Asymmetric Catalysis, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Jia X., Li X., Lam W. S., Kok S. H. L., Xu L., Lu G., Yeung C.-H., Chan A. S. C. (2004): Tetrahedron: Asymmetry 15: 2273-2278.
- Richardson P. F., Nelson L. T. J., Sharpless K. B. (1995): Tetrahedron Letters 36: 9241-9244.
- Tominaga S., Oi Y., Kato T., Keun An D., Okamoto S. (2004): Tetrahedron Letters 45: 5585-5588.

Két vízfolyás éves avarhullásának (avar-input) megállapítása, valamint az avarlebontó vízi gombák meghatározása

Vass Máté

Témavezető: Kucserka Tamás

Konzulens: Révay Ágnes (Magyar Természettudományi Múzeum, Növénytár, Budapest)

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, Környezettudományi Intézet, Limnológia Intézeti Tanszék

Kivonat: Az elhalt növényi anyag (főleg avar) fő szénforrást és ezzel energiát biztosít a vízben élő mikroorganizmusok számára. A vízbe kerülő növényi „hulladék” nagy része a partmenti vegetációból származó avar, melynek mértéke leginkább erdei patakoknál jelentős. Vizsgálataim első részében két vízfolyás (Vázsonyi-Séd, Veszprémi-Séd) éves avar-behullását határoztam meg 2009. augusztusától 2010. augusztusáig, két típusú avarszakot kihelyezve, így figyelembe véve nemcsak a vertikális, hanem az oldalsó (laterális) irányból érkező input-forrásokat is. Kutatásom második részében ugyanazon vízfolyások gombaközösségeit vizsgáltam, habmintát gyűjtve a víz felszínéről. Ez egy módszer, hiszen a gyors áramlású vizekben az egyes gombafajokra jellemző konídiumok a víz felületi feszültségét használva kapcsolódnak a felszínhez, egyfajta transzport eszközként használva azt. Így a habmintában koncentráltan fordulnak elő vízi Hyphomycetes fajok. Gyakori fajként jelen volt a *Tetracladium marchalianum*, *Clavariopsis aquatica*, *Flagellospora curvula*, valamint *Anguillospora* fajok is. Összességében sikerült megerősíteni azt a hipotézist, hogy a partmenti vegetáció fajdiverzitása arányos a vízfolyásban lévő gombaközösség fajszerkezetével.

Bevezetés

Az erdei ökoszisztéma általános anyagforgalma leginkább a szénkörforgalom nyomonkövetése segítségével ismerhető meg, mivel a szén mennyiségi változása jól mutatja az összes

szerves anyag mennyiségének változását (Mátyás, 1997). Az élőlényekbe beépülő szén állandó körforgalomban vesz részt, pl. avar formájában hullik a talajra (és felszíni vizekbe) vagy időszakosan beépül (Bidló és Kovács, 1997). Erdőállományon belüli körforgalmában igen nagy szerepet játszik a lombhullás, aminek éves mennyisége (avarprodukt) a Földön átlagosan 100–700 g szárazanyag is lehet négyzetméterenként (Mátyás, 1997). Trópusi erdőkben nagyobb mennyiségre is lehet számítani (Haines és Forster, 1977). A hazai erdőségek Gere (1971) szerint 76–316 g m⁻² friss avar bocsátanak a felszínre évente. Ez a mennyiség nemcsak a talajokra juthat, hanem a felszíni vizek, főként patakok, tavak felszínére is. Így az avar egy adott vízi ökoszisztémában szénforrást és energiát biztosít a vízben élő mikroorganizmusok számára, főleg olyan esetekben, ahol a felszíni víztér fölötti növényborítottság limitálja a vízi ökoszisztéma primer produktóját (Vannote et al., 1980; Webster és Meyer, 1997).

Az erdőségekben a talaj felszínén összegyűlő ép, vagy részben bomlott növényi maradványok (levelek, gallyak, ág- és kéregdarabok) többé-kevésbé összefüggő rétegét nevezzük avartakarónak, vagy erdei alomnak (Szabó, 1986). Ennek mennyisége az azonos növénytársulásokon belül is tekintélyes különbségeket mutathat évről évre (Aber et al. 1985; Eissenstat és Yanai 1997). A felszíni vizekbe kerülő növényi „hulladék” nagy része a partmenti vegetációból származó avar, melynek mértéke leginkább

erdei patakoknál jelentős (Elosegi és Pozo, 2005).

A különböző éghajlati zónák között jelentős eltérés tapasztalható az avarprodukcióban, mértéke az egyenlítőtől a sarkok felé haladva fokozatosan csökken. Ezen kívül fontos megjegyezni azt, hogy az erdőségek avarprodukcióját az állomány fajösszetétele is jelentősen befolyásolja (Fekete, 2009). Következésképpen különböző ökoszisztémák esetén a mennyiségi különbségek mellett az input minősége is lényegesen eltérhet egymástól (Raich és Nadelhoffer, 1989). A klímaváltozás hatása is megnyilvánul, ugyanis sokoldalúan befolyásolja az erdő ökoszisztéma működési, szabályozási folyamatait, jelentős hatással van az erdő fafaj összetételére, struktúrájára, közvetlenül és közvetett módon (pl. az avarprodukció megváltozásán keresztül) befolyásolhatja az egyes élőhelyek (legyen az szárazföldi vagy vízi) szerves anyagainak mennyiségét és minőségi paramétereit, valamint biológiai aktivitását (Tóth et al., 2006).

Vizsgálataim során így nagy jelentőséget fektettem az egyes patakszakaszok avarbehullásának (avar-input) mérésére mind mennyiségi, mind minőségi szempontból.

A szerves anyagok bontását a baktériumok és a mikrovilág másik fontos lebontó szervezetei, a gombák végzik. Ráadásul erdei ökoszisztémákban a lebontó szervezetek egységnyi idő alatt általában jelentősebb anyagmennyiséget dolgoznak fel, mint a fogyasztók (Odum, 1971).

A degradáció egy igen hosszú, többlépcsős, bonyolult folyamat. Az őszi folyamán felszínre (talajra) hulló avar lebomlása télen jelentős mértékben lelassul, mert a lebontásban résztvevő mikroorganizmusok aktivitása jelentős mértékben lecsökken. (Atlas, 1988). Ezzel szemben a vízbe került avar a hideg, téli hónapok alatt degradálódik intenzíven. Barlocher kutatása (1985) alátámasztotta,

hogy a vízi gombák jobban preferálják a hideg időszakokat (az optimumuk $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ingold, 1975)), szemben a talajban megtalálható szaprofita gombákkal, amelyek a nyári meleg hónapokban aktívak.

Miután a levél behullik a patak medrébe, száraz tömegének maximum 25%-át elveszíti vízzeloldható vegyületeinek kioldásakor a vízi környezetben eltöltött első 24 óra alatt (Webster és Benfield, 1986). Ekkor elsősorban polifenolok és szénhidrátok oldódnak be a vízbe (Suberkropp et al., 1976). Ezt a kioldási szakaszt követi a mikrobiális lebontás, melyet elsősorban gombák, majd később növekvő szerep-aránnyal a baktériumok végeznek. A levéllemez struktúrájában a folyamat során történnek meg a főbb változások. A biotikus bontást végző gombák ekkor olyan enzimeket szekretálnak, melyek képesek hidrolizálni a cellulózt, pektint, kitint és további nehezen emészthető vegyületeket (Suberkropp és Klug, 1976). Itt nagy különbségek adódhatnak az egyes fafajok leveleinek lebomlási rátái közt, figyelembe véve a levél kémiai összetételét, szerkezetét. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a magas tápelem-tartalmú levelek gyorsabb degradáción mennek keresztül, mint azok, melyekben ez a szint alacsony (Allan, 1995). Továbbá, más komponensek, mint például a lignin és a tannin fehérjék is hatással vannak a folyamatra, lassítják azt (Suberkropp et al., 1976). A bomlási folyamatok végső szakaszán a makrogerinctelen szervezetek kapnak szerepet, melyek mechanikus fragmentációt idéznek elő a már bomlási fázisban lévő leveleken.

A vízi Hyphomycetes fajok kulcsszerepet töltenek be a vízben zajló lebontási folyamatokban (Barlocher és Kendrick, 1974; Suberkropp és Klug, 1976; Gessner és Chauvet, 1994; Hieber és Gessner, 2002; Pascoal és Cássio, 2004). Az Imperfekt gombák törzsébe tartozó osztály, az Ascomycota-k és a

Basidiomycota-k ivartalan alakjai. Mai tudásunk szerint több mint 600 édesvízi gombák ismerünk, és ebből nagyjából 300 faj sorolható az Ingold-féle gombák csoportjához (Goh és Hyde, 1996).

Vízi habitatokban a Hyphomycetes fajok két nagy csoportja fordul elő: a vízi Hyphomycetes vagy más néven Ingold-féle gombák és az aero-aquatic Hyphomycetes. Az előbbi Cecil Terence Ingold-ról kapta nevét, aki 1942-ben fedezte fel őket (Ingold, 1942). A két csoport biológiailag jelentősen különbözik egymástól. Az Ingold-féle gombák gyors vízfolyású, jól levegőztetett patakokban, esetleg tavakban fordulnak elő (Webster és Descals, 1981), de megtalálhatók a szárazföldön is, egyes fák vízzel telt odújában, az ún. dendrotelmában (Gönczöl és Révay, 2003). Gyorsan fejlődnek elhalt növényi részekben (víz alatt), konídiumokkal szaporodnak ivartalan úton, és könnyen csapdázódnak a patak áramlása miatt kialakuló habban. A konídiumokra morfológiailag az elágazó négyes-sugarú (tetraradiális) vagy multiradiális forma, valamint a szigmoid alak jellemző. Méretüket tekintve relatíve nagyok, 50 µm-es vagy ennél nagyobb konídiumok is előfordulnak. Vékony sejtfalúak és átlátszóak. Az aero-aquatic gombákat általában tavakban, pocsolyákban, lassan folyó patakokban találhatjuk meg (Webster és Descals, 1981). Képesek ők is vegetatív úton fejlődni víz alá merült elhalt növényi anyagokon alacsony oxigén-szint mellett, de spóráképzésükhöz és új szubsztrátum kolonizálásához már magasabb oxigén-szint szükséges, így csak akkor képeznek spórákat, ha a szubsztrátum levegővel érintkezik. Tehát ezek a konídiumok a víz-levegő határfelületen fordulnak elő leggyakrabban, és gyakran a levegőbe kikerülve más környezetben is képesek telepeket alkotni (David, 2005).

Általánosságban elmondható, hogy a vízi Hyphomycetes fajok jelentős részének konídiumai, figyelemreméltó módon kapcsolódnak a légbuborékok felszínéhez,

amelyek bizonyos feltételek mellett tartós habot képezhetnek a víz felszínén, kisebb-nagyobb vízeséseknél, természetes akadályok (faágak, fatörzs) körül, vagy egy kiadós esőzést követően (Ingold, 1975). A légbuborékok tehát effektív csapdát jelentenek az Ingold-féle gombák ivartalan spóráinak (Webster és Descals, 1981). A tapasztalatok azt mutatják, hogy a tetraradiális típusú spórákat ragadják el leginkább a buborékok, morfológiai adottságuk miatt. Azonban számolnunk kell azzal is, hogy esőzések után bizonyos szárazföldi gombafajok (*Cladosporium*, *Alternaria* és *Drechslera* spp.) is könnyen bemosódhatnak a szárazföldi növények felületéről vagy csak egyszerűen a levegőből a vízfolyásba, és így megtalálhatóak lesznek a habmintában is. Határozás céljából mindenesetre a habminta-vétel ideális módszer (Ingold, 1975).

Anyag és módszer

Mintavételi helyek

A mérések során az egyes mintavételi helyek fizikai és hidrológiai karakterisztikáját foglalja össze az 1. táblázat.

1. táblázat Vázsonyi-Séd és a Veszprémi-Séd fizikai és hidrológiai jellemzői

	Vázsonyi-Séd	Veszprémi-Séd
Tengerszint feletti magasság (m)	213	244
Patak tipológia	2. típus	2. típus
Hőmérséklet (°C)	7,4-12,8	6,8-11,5
pH	7,8-8,1	7,6-7,9
Vezetőképeség (µS/cm)	706-768	646-685

A Veszprémi-Séd (46°59'42.29" É, 17°39'10.66" K) a Csatár-hegy lábánál fekvő kisvízfolyás, melyet egy viszonylag zárt, kb. 10 méteres fás vegetáció határol el a mellette található szántóföldtől.

A Vázsonyi-Séd mintavételi helyét (47°6'20.47" É, 17°51'39.37" K) Pula község határában jelöltük ki. A patakot egyik irányból lankás zárt erdő, míg a másik oldalát mezőgazdasági művelésű földterület határolja, egy pár méteres, bokros-cserjés sávot követően.

Avar-input mérése

Az avarbehullás mérését két kisvízfolyás egy-egy szakaszán végeztem 2009 augusztusától 2010 augusztusáig Webster és Meyer módszerét követve. Az egyes helyszíneken kb. 80 m-es szakaszokat jelöltünk ki a mérés lebonyolítására, majd random kihelyeztünk avarcsapdákat, nagyjából egyenlő távolságra. Az egyik típusú zsák (1. ábra/a) a vertikális irányból (fall-in) érkező, tehát a lombkorona által hullajtott leveleket gyűjtötte össze, míg a másik típus (1. ábra/b) az oldalsó irányból érkező (blow-in), főleg szél által a mederbe

kerülő avart fogta fel. A laterális avarzsákot egy 20 x 50 cm -es fakeretre rögzítettük, és a part mentén 10 darabot helyeztünk ki belőlük. A vertikális zsákokat (szintén 10 db) a víz fölé feszítettük ki a partmenti vegetációt alkotó cserjék, fák ágaihoz, törzseihez. Itt ügyelnünk kellett arra, hogy az esetleges vízszint-emelkedés ne érje el a zsákok szövetét, hiszen akkor az állandó nedvesség hatására rohamosan megindulna az avar bomlása, ezzel meghamisítva a mérést.



1. ábra Vertikális (fall-in) (a) és a laterális (blow-in) (b) avarcsapdák

A lombhullást követően (2010. október) havonta begyűjtötték a zsákok tartalmát, majd laboratóriumba szállítottuk, ahol fajok szerint szétválogattam, majd tömegállandóságig szárítottam őket 72 °C-on.

A tömegmérések után az avar-input értékeket kiszámoltam $\text{g m}^{-2} \text{ év}^{-1}$ -es mennyiségre.

Gombahatározás

Egy vízfolyás avarlebontásában résztvevő gombák határozásához a legegyszerűbb, leggyorsabb módszer, ha habmintát gyűjtünk a víz felszínéről, és a benne lévő konídiumok morfológiája alapján határozzuk meg az egyes fajokat.

Mivel nyári hónapokban nincs intenzív avarhullás, valamint az abiotikus faktorok (pl. hőmérséklet) sem kedvezőek e csoportba tartozó gombák számára, így a

gombaközösség aktivitása, a populációk növekedése - a szervesanyag-források megjelenéséhez hasonlóan -, periodikusan ismétlődő ciklikusságot mutat. Emiatt a mintavételezés idejét az őszi hónapokra (szeptember, október) időzítettem. A természetes „gátak” jelenléte megkönnyítette munkámat, hiszen ilyen helyeken nagyméretű habcsomókat találtam rendszeresen a mintavételezések során. A habot egy kisméretű üvegbe kanalaztam bele, ügyelve arra, hogy minél kevesebb („konídium-mentes”) víz jusson az edénybe. Ezt követően annak érdekében, hogy a baktériumok és a konídiumok csírázását meggátoljam, F.A.A. (formal-acet-alcohol) -oldatot (30 ml formalin + 250ml 95 %-os etanol + 20 ml jégcet + 200 ml desztillált víz) adagoltam - a mintával egyenlő arányban (Ingold, 1975) - a mintavevő edénybe. Laboratóriumban az üveg aljára leülepedő

részből pipettáztam egy cseppet a tárgylemezre, majd Nikon Eclipse E400 Epi-Fluorescence mikroszkóppal, 400 ill. 1000-szeres nagyítással vizsgálva határoztam meg a gombafajokat.

Eredmények

Avar-input értékek

A 2. táblázat az egyes vizsgált helyszínek avar-input értékeit tartalmazza fajokra lebontva, ill. összesítve. A Vázsonyi-Sédnél a legnagyobb mértékű

avarbehullást a fekete nyár (25%) és a bükk (17%) okozta, míg a Veszprémi-Sédnél a mezei juhar (40%) és a fűz (33%). A Vázsonyi-Sédnél a laterális ($372,54 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$) és a vertikális ($313,56 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$) irányból származó források közt nem volt jelentős eltérés, összességében közel azonos tömegben érkezett mindkét irányból az avar. Ezzel ellentétben a Veszprémi-Sédnél a laterális input ($199,19 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$) kisebb értéket mutatott, mint a vertikális ($331,26 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$).

2. táblázat A két vízfolyás avar-input értékei 2009 augusztusától 2010 augusztusáig

	Vázsonyi-Séd		Veszprémi-Séd	
	Laterális input ($\text{g m}^{-2}\text{év}^{-1}$)	Vertikális input ($\text{g m}^{-2}\text{év}^{-1}$)	Laterális input ($\text{g m}^{-2}\text{év}^{-1}$)	Vertikális input ($\text{g m}^{-2}\text{év}^{-1}$)
Bükk (<i>Fagus</i> sp.)	87,37	29,86		
Csertölgy (<i>Quercus cerris</i>)	0,92	0,87		
Fekete bodza (<i>Sambucus nigra</i>)	0,98	1,39	1,88	1,28
Fekete nyár (<i>Populus nigra</i>)	87,68	84,85		
Fűz (<i>Salix</i> sp.)	27,66	58,44	46,40	124,32
Galagonya (<i>Crataegus</i> sp.)		0,85	0,41	0,11
Gyertyán (<i>Carpinus</i> sp.)	31,86	26,54	32,88	43,17
Hegyi juhar (<i>Acer pseudoplatanus</i>)	21,10	15,14	1,29	0,90
Húsos som (<i>Cornus mas</i>)	2,60	3,80	3,87	3,40
Kocsánytalan tölgy (<i>Quercus petraea</i>)	58,82	10,46		
Kőris (<i>Fraxinus excelsior</i>)	0,88			0,39
Közönséges mogyoró (<i>Corylus avellana</i>)	0,63	3,67	15,74	2,44
Mezei juhar (<i>Acer campestre</i>)	32,00	48,10	83,00	123,55
Zöld juhar (<i>Acer negundo</i>)	0,92		1,07	2,87
Lágyszárúak		0,46	1,40	0,89
Termések	1,00	9,59		
Tűlevél		1,15		
Ágak	19,13	27,97	10,26	18,35
Összes:	372,54	313,56	199,19	331,26

3. táblázat A két vízfolyásban feljegyzett gombafajok listája

Fajok:	Vázsonyi-Séd			Veszprémi-Séd		
	okt.09	okt.20	nov.20	okt.09	okt.20	nov.20
<i>Actinospora megalospora</i> Ingold	+	+	+	-	-	-
<i>Alatospora acuminata</i> Ingold	+	+	+	-	-	+
<i>Anguillospora longissima</i> (De Wildeman) Ingold	-	-	+	-	-	+
<i>Anguillospora mediocris</i> Gönczöl & Marvanová	-	+	+	-	-	+
<i>Anguillospora</i> sp.	+	+	+	+	+	+
<i>Clavariopsis aquatica</i> De Wildeman	+	+	+	-	+	+
<i>Flagellospora curvula</i> Ingold	-	+	+	+	+	+
<i>Heliscella stellata</i> (Ingold & Cox) Marvanová & Nilsson	+	+	-	-	-	-
<i>Heliscus lugdunensis</i> Sacc. & Therry	-	+	+	-	-	+
<i>Lemonniera aquatica</i> De Wildeman	-	+	+	-	+	+
<i>Tetracladium marchalianum</i> De Wildeman	+	+	+	-	+	+
<i>Tetracladium setigerum</i> (Grove) Ingold	-	-	+	-	-	-
<i>Tricladium angulatum</i> Ingold	+	+	+	-	-	+
<i>Tricladium</i> sp.	-	+	+	-	-	-
<i>Trinacrium subtile</i> Riess	+	-	-	-	-	-
<i>Tripaspermum myrti</i> (Lind) Hughes	-	-	-	-	+	-
<i>Triscelophorus monosporus</i> Ingold	+	+	-	-	-	-
<i>Vargamyces aquaticus</i> (Dudka) Tóth	-	-	+	-	-	-

Vízi Hyphomycetes

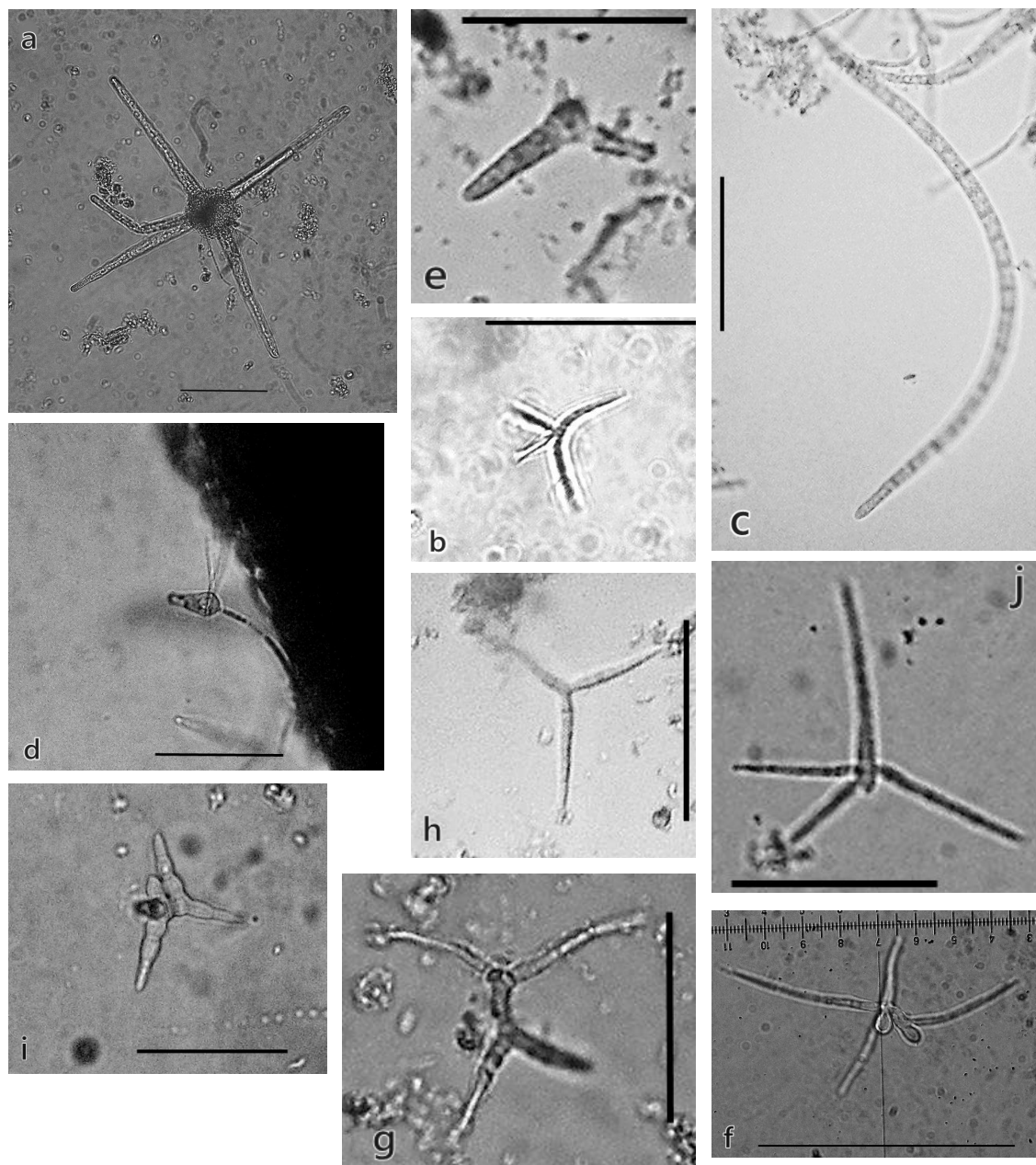
A 3. táblázat a vizsgált patakszakaszokon gyűjtött mintákban megtalálható Hyphomycetes fajok listáját mutatja.

A Vázsonyi-Sédnél már az október 9-i mintagyűjtés során is megtalálható volt néhány vízi Hyphomycetes faj, míg a veszprémi pataknál ekkor még jelentéktelen, kis koncentrációban voltak jelen a vízben. A második, október 20-i mintavételt követően számuk nőtt,

növekvő tendenciát mutattak az egyes fajok konídiumai.

Összesen 18 fajt sikerült meghatároznom a habmintákból az őszi hónapok során. Mindkét vizsgált patak a legmagasabb konídiumszámot és fajszámot november végén érte el.

4 faj, az *Anguillospora* sp., *Clavariopsis aquatica*, *Flagellospora curvula*, valamint a *Tetracladium marchalianum* volt a leggyakoribb mindkét vízfolyásnál.



2. ábra: A két vízfolyásban található (2010. október) Ingold-féle gombák mikroszkópos képei: a) *Actinospora megalospora*, b) *Alatospora acuminata*, c) *Anguillospora* sp., d) *Clavariopsis aquatica*, e) *Heliscella stellata*, f) *Tetraccladium marchalianum*, g) *Tricladium angulatum*, h) *Trinacrium subtile*, i) *Triperspermum myrti*, j) *Triscelophorus monosporus*. Mérték: 50 μm

Eredmények értékelése

Az avar-input értékek azt mutatják, hogy leginkább fás szárú növények levelei dominálnak az egyes értékek közt mindkét helyszínen. Ez nem meglepő tény, olvasva Jensen (1974) állítását, miszerint a mérsékelt övi erdőségek nagy részében a cserje szint avarprodukcója csekély mértékű a lombkorona szinthez képest. Továbbá, megállapítható az adatsorból, hogy mely fajok dominálnak, mely fajok

levelei kerülnek be a vízfolyásba döntő többséggel.

A Vázsonyi-Séd viszonylag lankás szakaszán, ahol a méréseket végeztem, a partmenti vegetáció 90-95%-os növényborítottságot mutat. Ebből következően (Üveges, 2010) a vízi ökoszisztéma primer produkciója ezen a helyen jelentéktelen táplálékforrást és így minimális szénforrást biztosít az ott élő biológiai szervezeteknek.

A partvonal meredeksége nem nagy, a vízfelszín és a partszakasz között megközelítően 0,5-2 méter szintkülönbség van. Ennek köszönhetően a laterális ($372,54 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$) és a vertikális ($313,56 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$) irányból származó input-értékek egymáshoz képest hasonlóan nagyok.

A partmenti vegetációt 14 faj, plusz különböző lágyszárúak és fenyőfélék alkotják. Ezek közül a bükk (*Fagus* sp.) (a legdominánsabb), a fekete nyár (*Populus nigra*) és a fűz (*Salix* spp.) tartozik a fő erdőalkotó fajok közé ezen a területen.

Az éves avar-input a vizsgált szakaszon (kb. 85 m) $686,10 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$.

A Veszprémi-Séd földrajzi adottságai jelentősen eltérnek az előzőekben bemutatott területtől, ugyanis itt magas partfal (3-4 m) veszi körül magát a vízfolyást. Ez nemcsak a vízhez való lejutást nehezítette meg méréseim során, hanem az input-adatok értékeit is jelentősen befolyásolta. Jól látszik az 2. táblázatból, hogy a laterális irányból érkező mennyiség jócskán kevesebb ($199,19 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$), mint a fentről érkező avarmennyiség ($331,26 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$). Ez annak köszönhető, hogy a szél által a patak medrébe hordott növényi hulladék nemcsak az oldalsó, partmenti avarcsapdába jutott, hanem a kifeszített, elsősorban fentről érkező anyagok begyűjtését szolgáló zsákokba is. A patak feletti növényborítottságot 80-85%-ra becsültem.

Itt, a partmenti vegetációt alkotó fajok között is akad eltérés az előző helyszínhez képest. Összesen 10 faj, továbbá különböző lágyszárúak fordulnak elő. A fő erdőalkotó fajok közé elsősorban a mezei juhar (*Acer campestre*) tartozik ($206,55 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$). A többi dominánsabb fa közé sorolható még a fűz (*Salix* sp.), és kisebb hányaddal a gyertyán (*Carpinus* sp.) is.

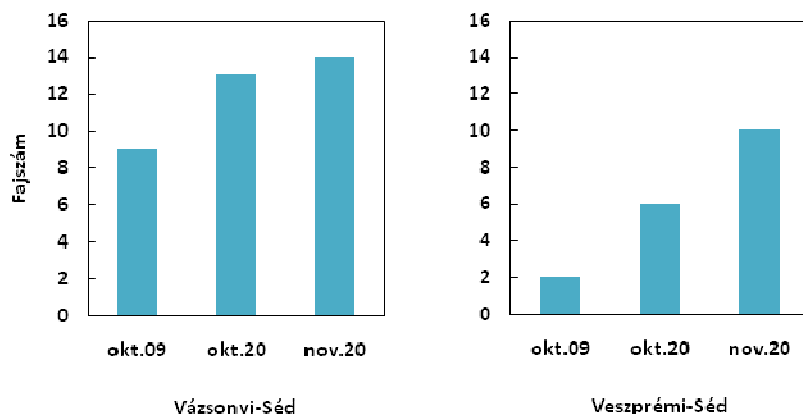
Az éves avar-input ezen a szakaszon (kb. 75 m) kisebb, $530,45 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$.

A bevezetésben említettem Gere (1971) vizsgálatának adatait, mely szerint éves szinten

$76-316 \text{ g m}^{-2}$ vertikális avar-inputtal kell számolni hazánk erdőségeiben. Az általam végzett mérések eredményeit tekintve elmondható, hogy a Gere által becsült értékek maximuma körül ingadozik a vizsgált két helyszínen avarbehullása (Vázsonyi-Séd: $313,56 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$; Veszprémi-Séd: $331,26 \text{ g m}^{-2}\text{év}^{-1}$).

Fontos megjegyezni azt is, hogy a Veszprémi-Sédnél előforduló fajok sokkal később kezdik el a leveleik hullajtását, így a két helyszínen zajló avarhullás időbeli lefutása is eltér. Ennek az lesz a következménye, hogy a Veszprémi-Sédben sokkal később jelennek meg nagyszámmal az egyes Ingold-féle gombák. Ezért is látható a 3. táblázatban, hogy ennél a pataknál jóval kevesebb (összesen 6) gombafajt sikerült csak találnom október vége felé, míg a másik pataknál ekkor már legalább 13 faj végezte az intenzív avarlebontást. A következő hónapban (november) viszont jelentősen megugrott a fajszám mindkét pataknál. Ez a fajszámbeli különbség tükrözheti Lauting és Chauvet (2005) eredményeit, mely szerint a partmenti vegetáció fajdiverzitása pozitívan korrelál az avarlebontó gombaközösség fajszámával. Ebben az esetben nem meglepő, hogy a veszprémi pataokban kevesebb gombafajt volt megtalálható, hisz ott a vegetációt alkotó fajok száma is kevesebb (10), mint a vázsonyi pataknál (14).

A következő ábrán (3. ábra) látható, hogy az idő haladtával (és a vízhőmérséklet, ill. az avar-input intenzitásának növekedtével) hogyan változott az egyes pataokban az összes gomba-fajszám:



3. ábra A két patakban megtalálható vízi Hyphomycetes száma az egyes mintavételi időpontokban

Mindkét patakban nagy számmal voltak jelen *Anguillospora* fajok. Gönczöl és Révay (1992) több alkalommal is találtak *Anguillospora* sp. konídiumokat hazánk keményvízű patakjaiban, így nagy valószínűséggel állítható, hogy ez a faj indikációs jelenséggel is bír, azaz csak magas keménységi fokkal rendelkező patakokban található meg. Nagyon könnyen összetéveszthető az *Anguillospora longissima* fajjal, valamint *Anguillospora crassa* faj konídiumaival is, de az utóbbi csak lágyvízű vízfolyásokban gyakori. Felmerülhet a kérdés, hogy az *Anguillospora* sp., amit korábbi hazai kutatók is feljegyeztek számos patakban (Gönczöl és Révay, 1992), vajon az *Anguillospora longissima* morfortípusa vagy egy külön faj (Gönczöl és Révay, 2007). Erre viszont csak molekuláris vizsgálatok tudnának biztos választ adni.

Az *Anguillospora* sp-n kívül a *Clavariopsis aquatica*, a *Flagellospora curvula* és a *Tetracladium marchalianum* szerepeltek a domináns fajok között.

Októberben a Vázsonyi-Sédben a *Tetracladium marchalianum* a leggyakoribb faj, majd novemberben, e mellett az *Alatospora acuminata* és a *Clavariopsis aquatica* jelent meg nagy számmal.

A Veszprémi-Sédben, októberben - szinte egyedüli fajként - az *Anguillospora* sp. dominált, majd novemberben a dominancia-rangsorban előre kerülve

megjelent a *Clavariopsis aquatica* és a *Tetracladium marchalianum*.

Összességében kijelenthető, hogy a Bakony térségében lévő patakoknál úgy tűnik - valószínűleg a nagy keménységű víz miatt -, hogy a *Anguillospora* sp., a *Clavariopsis aquatica*, a *Flagellospora curvula* és a *Tetracladium marchalianum* töltenek be nagy szerepet a szaprotróf mikroorganizmusok között, vízi habitatokban.

Összefoglalás

Kutatásom során megbecsültem, hogy mekkora tömegű avar jut egy vizsgált patakszakasz egységnyi felületére, továbbá ennek ismeretében meghatároztam, hogy a nagy mennyiségű szerves anyagot milyen életközösségek képesek mineralizálni.

Az eredmények alapján elmondható, hogy mindkét patakban megtalálható az a 4 vízi Hyphomycetes a domináns gombafajok között, melyek az avarlebontást a legintenzívebben végzik.

A Vázsonyi-Sédnél nagyobb a partmenti vegetáció diverzitása, mint a Veszprémi-Sédnél, továbbá az avar-input érték is magasabb $686,10 \text{ g m}^{-2} \text{ év}^{-1}$, míg a másik helyszínen $530,45 \text{ g m}^{-2} \text{ év}^{-1}$. Ez nagy hatást fejt ki a vízfolyásban lévő gombaközösségek számára, hiszen az intenzív avarhullás idejének eltolódása miatt a Veszprémi-Sédben később ugrik meg a konídiumok koncentrációjának változása, valamint az egyes vegetációk

fajdiverzitása is jelentős hatást gyakorol a gombaközösségek fajgazdagságára, így nem meglepő, hogy a veszprémi patakban - ellentétben a másik vízfolyással - kisebb volt az azonos időben megtalálható vízi Hyphomycetes száma.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom elsősorban témavezetőmnek, Kucserka Tamásnak, aki az egy éves kutatásom során mindvégig segített, irányította munkámat, valamint köszönöm Dr. Révay Ágnesnek önzetlen szakmai segítségét.

Fontos köszönetet mondanom Dr. Prof. Padisák Judit Intézetigazgató Asszonynak, aki szabad utat adott, hogy belevágjak kutatásom témájába, és mindehhez eszközt biztosított számomra.

Továbbá köszönettel tartozom a Limnológia Intézeti Tanszék összes dolgozójának. A kutatást az Oktatásért Közalapítvány és a Limnológia Tehetséggondozó Műhely támogatta.

Irodalomjegyzék

- Aber J. D., Melillo J. M., Nadelhoffer K. J., McClaugherty C., Pastor J. (1985). Fine root turnover in forest ecosystem in relation to quantity and form of nitrogen availability. A comparison of two methods. *Oecologia* 66: 317-321.
- Atlas R. M. (1988): *Microbiology: fundamentals and applications*. 2nd ed. Collier Macmillan publishers, London.
- Barlocher F. (1985): The role of fungi in the nutrition of stream invertebrates. *Botanical Journal of the Linnean Society* 91: 83-94.
- Barlocher F., Kendrick B. (1974): Dynamics of the fungal population on leaves in a stream. *J. Ecol.* 62: 761-789.
- Bidló A., Kovács G. (1997): Erdőállományok tápanyagkörforgalma, In: Mátyás Cs. (szerk.): *Erdészeti Ökológia*
- Chan, S. Y., Goh, T. K., Hyde K. D. (2000): Ingoldian fungi in Hong Kong. In: *Aquatic Mycology across the Millennium* (eds K.D. Hyde, W. H. Ho and S. B. Pointing). *Fungal Diversity* 5: 89-107.
- Eissenstat D. M., Yanai R. D. (1997): The Ecology of Root Lifespan. *Advances in Ecological Research* 27: 1-60.
- Elosegi A., Pozo J. (2005): Litter input. In Graca M., Bärlocher F., Gessner M. O. (Eds.). *Methods to study litter decomposition: a practical guide*. Netherlands: Springer. p. 3-11.
- Farkas J. (1998): *A mikrobiális ökológia alapjai. Második, változatlan utánnyomás*. Kiadó: Ökológiai Intézet a Fenntartható Fejlődésért Alapítvány.
- Fekete I. Cs. (2009): *Avarkezelések hatása a síkfőkúti DIRT parcellák talajainak mikrobiális aktivitására és szerves anyag tartalmára – doktori (PhD) értekezés*, Debrecen.
- Gere G. (1971): *Erdészeti Kutatások*. Vol. 67, II. kötet. ERTI, Budapest.
- Gessner M. O., Chauvet E. (1994): Importance of stream microfungi in controlling breakdown rates of leaf litter. *Ecology* 75: 1807-1817.
- Goh T. K., Hyde K. D. (1996): Biodiversity of freshwater fungi. *Journal of Industrial Microbiology és Biotechnology*. Volume 17, Numbers 5-6: 328-345.
- Gönczöl J., Révay Á. (1992): Aquatic Hyphomycetes in softwater and hardwater streams of the Aggtelek National Park, NE Hungary. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici* 84: 17-31.
- Gönczöl J., Révay Á. (2003): Treehole fungal communities: aquatic, aero-aquatic and dematiaceous hyphomycetes. *Fungal Diversity* 12: 19-34.
- Gönczöl J., Révay Á. (2007): Studies on *Anguillospora longissima*: morphotypes or different species? *Mycologia Balcanica* 4: 125-130.
- Haines B. I., Forster R. B. (1977): *J. Ecol.* 65, 147, In: Szabó I. M. (1986): *Az általános talajtan biológiai alapjai*. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest. Pp. 215.
- Hieber M., Gessner M. O. (2002): Contribution of stream detritivores, fungi, and bacteria to leaf breakdown based on biomass estimates. *Ecology* 83: 1026-1038.
- Hobbie S. E., Vitousek P. M. (2000): Nutrient limitation of decomposition in Hawaiian forest. *Ecology* 81: 1867-1877.
- Ingold C. T. (1942): Aquatic Hyphomycetes of Decaying Alder Leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 35: 339-417.
- Ingold C. T. (1975): *An illustrated guide to aquatic and water-borne hyphomycetes (fungi)*

- imperfecti) with notes on their biology. London: Freshwater Biology Association, Publication No. 30. 96 p.
- Jensen V. (1974): Decomposition of Angiosperm tree leaf litter. Biology of plant litter decomposition. Academic Press, London and New York. Vol. 1: 69-104
- Mátyás Cs. (1997): Erdészeti ökológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Odum E. P. (1971): Fundamentals of Ecology. 3rd edition. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Pascoal C., Cássio F. (2004): Contribution of fungi and bacteria to leaf litter decomposition in a polluted river. Appl. Environ. Microbiol. 70: 5266–5273.
- Raich J. W., Nadelhoffer K. J. (1989): Belowground carbon allocation in forest ecosystems: Global trends. Ecology 70: 1346-1354.
- Sigee D. C. (2005): Freshwater Microbiology: Biodiversity and Dynamic Interactions of Microorganisms in the Aquatic Environment. John Wiley és Sons Ltd. England.
- Suberkropp K., Godshalk G. L., Klug M. J. (1976): Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. Ecology 57: 720-727.
- Suberkropp K., Klug M. (1976): Fungi and bacteria associated with leaves during processing in a woodland stream. Ecology 57: 707-719.
- Szabó I. M. (1986): Az általános talajtan biológiai alapjai. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Tóth J. A., Papp M., Krakomperger Zs., Kotroczó Zs. (2006): A klímaváltozás hatása egy cserestölgyes erdő stukturájára (Síkfőkút Project). A globális klímaváltozás: hazai hatások és válaszok. KvVM – MTA „VAHAVA” project. Budapest, 2006. március 9. (CD kiadvány).
- Üveges V. (2010): Bentikus és planktonikus algaközösségek fotoszintézisének karakterisztikái. Doktori (PhD) értekezés. Pannon Egyetem, Kémiai és Környezettudományi Doktori Iskola. Veszprém.
- Webster J, Descals E. (1981): Morphology, distribution, and ecology of conidial fungi in freshwater habitats. Cole GT, Kendrick B, eds. Biology of conidial fungi. Vol. 1. New York: Academic Press. p 295–355.
- Webster J., Benfield E. (1986): Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. Annual Review of Ecological Systems 17: 567-594.