

PESZTICIDEK FOTODEGRADÁCIÓS MECHANIZMUSÁNAK ELEMZÉSE ÉS LEHETSÉGES BIOLÓGIAI HATÁSÁNAK MODELLEZÉSE

Szerző: Virág Diána, biológia–környezetvédelem szak

**Konzulensek: Dr. Kiss Attila, főiskolai tanár,
Dr. Naár Zoltán, főiskolai tanár**

(Kémiai és Vegyipari Szekcióban III. helyezés)

I. Bevezetés

Földünk humánegészségügyi és környezetvédelmi szempontból egyik leg-
lényegesebb gazdasági ága a növénytermesztés. Mivel a mezőgazdasági
növények akár 20–40%-a is károsodhat a termelési területen és az ezt követő
tárolási folyamat során, ennek elkerülése érdekében egyre több kémiai nö-
vényvédő szert, peszticidet használnak világszerte. A túlnépesedés kiváltotta
táplálékhiány kezelésében lényeges szerep jut a növényvédő szereknek, me-
lyekkel növelhető a terméshozam, egyúttal azonban részben felelőssé tehető-
ek a globális környezetszennyezésért is. Egyre több fejlett országban tért
hódít a biogazdálkodás, valamint a korszerű és csökkentett mennyiségű
vegyszereket alkalmazó integrált növényvédelem (3.).

A peszticidek alkalmazásának következményei

Az általánosan alkalmazott peszticideknek két fő környezeti ártalom tu-
lajdonítható: egyrészt vezető szerepet játszanak a talajdegradáció folyama-
tában, másrészt biológiai hatásuk, illetve bomlástermékeik élettani hatásai
kedvezőtlenül befolyásolják a biotikus környezetet.

A talajdegradálódás általában összetett folyamat, amelyben néhány vonás
felismerhető, ami elősegíti a kedvezőtlen változások lejátszódását a talajfo-
lyamatokban, és hozzájárul a talaj tulajdonságainak változásaihoz. Ilyen
például a talaj termékenységének és termelési teljesítményének csökkenése,
normál talajfunkciókban történő korlátozások, és a környezeti állapot ko-
moly rosszabbodása. A talajdegradálódás a természetes faktorok és az
antropogén hatások együttes eredményének tekinthető (5.).

A talajdegradáció megértése és elemzése nélkül nem valósítható meg a
termőföldek minőségi változásainak előrejelzése, felbecsülése és ellenőrzé-

se, illetve a modern környezetvédelmi normáknak való megfelelés sem. Ezért tartjuk kiemelkedő fontosságúnak a talajdegradáció különböző részfolyamatainak elemzését, azok megértését, illetve a talajdegradációt kiváltó komponensek beható tanulmányozását. A talajdegradáció kialakuláshoz hozzájárul, hogy a peszticidek és azok bomlástermékei telítik a talajban levő adszorpciós kötőhelyeket, a szerves komponensek nagy részével kölcsönhatásba lépnek, így csökkentik a pufferkapacitást, gátolják a talajban lejátszódó természetes polimerizációs folyamatokat, illetve a talajéletben kulcsfontosságú élőlények életfolyamatait is.

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

A peszticidek élettani hatásait elsősorban az határozza meg, hogy az élőlények életfolyamataiban részt vevő biogén molekulákkal milyen kémiai reakcióba lépnek. A peszticidek az ökoszféra szennyezése során az ökoszisztéma egyensúlyának felbomlását okozhatják. Ez a biocönózis valamennyi alkotóját érintheti, és így sérülhet a tápláléklánc, amely már komolyabb következményekkel is jár.

Az ökotoxikológiai kártétel a másodlagos kártételek közé sorolható, hatása megnyilvánulhat akár valamilyen foglalkozási betegségben, akár élő rendszerek pusztulásában is. Az ökotoxikológiai károsodás gyors mérgezési tünetekkel járhat együtt, a bioakkumuláció következtében felléphet karcinogenitás, a teratogenitás, immunszuppresszió, az allergia, a hormonális szabályozás zavara, továbbá a krónikus idegrendszeri betegségek is (6.).

A nagyfokú környezeti változatosság miatt a hatóanyagok sorsáról igen csak keveset tudunk. Egy vegyület másképpen viselkedik eltérő pH-jú és típusú talajokban, oxigénben gazdag és oxigénben szegény viszonyok között. A talaj igen komplex szerkezetű és összetételű objektum, nagy számú szervezet élőhelye. A talajban élő mikroszkopikus gombák átlagos tömege több mint 100 kg/ha, a baktériumoké 30–40 kg/ha. A szervesanyag-felhasználásnak kb. 70%-a a gombákra, 20%-a a baktériumokra és 10%-a talajfaunára esik. A talaj-mikroorganizmusok között 2000–2500 faj található, melyek a peszticidekkel szemben eltérő érzékenységet mutatnak. A fungicidek nagyobb terhelést jelentenek a talajra nézve, mint más peszticidek, mivel a fungicidek célszervezeteihez biokémiai szempontból közel állnak a gombák, és bizonyos mértékig a talajbaktériumok is (8.). A baktériumok közül a nitrifikáló, denitrifikáló, a cellulózbontó és az anaerob spóráképző fajok

általában az érzékenyebbek. Egyes érzékeny fajok a peszticidek hatására visszaszorulnak, és a helyüket ellenállóbb fajok foglalhatják el. Bizonyos határon túl az ilyen fajszámcsökkenés hátrányos lehet a talajélet számára, mert ezáltal az életközösség alkalmazkodóképessége romlik bármely külső eredetű változással szemben. A környezet tényleges károsodása azon múlik, hogy az esetleges változások rövid időn belül visszafordulnak, vagy éppen felhalmozódnak az egymást követő kezelések eredményeképpen. Ehhez figyelembe kell venni a peszticid és a környezet kölcsönhatásának másik oldalát is, a környezet hatását a peszticid elbomlására (9.).

Vizsgálataink célkitűzései

A peszticidek degradációs képessége az egyik fő szempont a hatósági engedélyezés során. A lebomlás elsősorban biokémiai folyamat, de nem hanyagolható el a kémiai és fotokémiai folyamatok jelentősége sem. Azok a szerves növényvédő szerek, melyek jól oldódnak vízben, gyorsan hidrolizálnak és általában könnyebben, gyorsabban lebomlanak. A növényvédő szerek degradációja eredményeképpen többnyire toxikus metabolitok keletkeznek, melyek környezetterhelő hatása jelentős.

A peszticidek hatékonyságát és környezetvédelmi, illetve biológiai hatásait nagymértékben befolyásolja a fotodegradáció, melynek lényege a molekulák fényelnyelésre bekövetkező kémiai bomlása. Jelentősége elsősorban a légkörbe, és a talajba jutott szennyező anyagokkal kapcsolatos, ugyanis fotodegradáció révén károsabb végtermékek keletkezhetnek (18.).

Az általunk választott négy peszticid, a simazin, a karbendazim, az acetoklór és a klórpifosz célcsoport szerint különbözőek (herbicidek, fungicidek), kémiai szerkezetüket tekintve négy külön csoportba sorolhatóak (triazinok, benzimidazolok, klóracetanilidek, szerves foszforsavészterek), így kémiai sajátágaik tekintetében szintén teljesen eltérőek egymástól. Ezen szerek fotodegradációs vizsgálatait, és metabolitjaiknak talajmikrobákra gyakorolt hatásainak tanulmányozása változatos eredményekkel járhat.

A vizsgálatainkhoz választott peszticidek széles körben alkalmazottak, toxicitásuk ismert, de a természetben lejátszódó bomlási folyamataikról nagyon kevés adat áll rendelkezésre. Ezen túlmenően a fotokatalizált degradációjuk mechanizmusa, a metabolitok kémiai azonosítása, illetve azok biológiai hatásának elemzése rendkívül fontos részletekkel járul hozzá a peszticidek általános alkalmazásához és engedélyezéséhez. A biológiai hatás modellezése céljából mikrobiológiai modellkísérleteket hajtottunk végre reprezentatív talajmikrobák tesztfajként történő alkalmazásával. Fotodegradációs vizsgálataink indokoltságát az is alátámasztja, hogy a fény által katalizált

lizált bomlási folyamatok a peszticidek döntő hányadánál végbemennek, hiszen fényérzékeny anyagokról van szó.

II. Irodalmi áttekintés

1. Általános fotokémiai kísérletek:

A jelenleg kivitelezett kutatásainkat érintő témában, az UV-fény által kiváltott degradációs folyamatok aspektusából számos tudományos tanulmány látott napvilágot az utóbbi évtizedben, különös tekintettel a különböző szennyvizek fotokatalitikus úton történő tisztítási módszerei terén nyert eredményekre. Talán ezen utóbbi témakör legkézenfekvőbb gyakorlati vonatkozásai következtében a fenti kutatásokra fókuszáló munkák döntő hányada a szennyvizekkel foglalkozik.

Fotoelektrokémiai reaktorokkal tanulmányozták TiO_2 , illetve Ti munka-elektród, és Pt, illetve SnO_2 ellenelektród hatékonyságát a 4-klór-fenol degradációjára vonatkozóan (20.). Egy olívaolajat előállító gyár szennyvizében levő peszticidek degradációját vizsgálva megállapították, hogy $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ reagenst alkalmazva katalizátorként a degradáció három óra elteltével 80%-os volt (21, 24.). Az üvegházak elterjedésével fokozódott a különböző peszticidek alkalmazása. Idővel a környezet iránti érdeklődésnek köszönhetően megindult az üres növényvédőszeres flakonok újrahasznosítása (22.). A szennyvizet befogadó felszíni vizek, talaj és talajvíz szennyezettségének megelőzése érdekében megfelelő eljárást kell alkalmazni (23.). A kutatások arra irányultak, hogy felmérjék a napenergiával segített oxidatív eljárás lehetőségét az ilyen jellegű mezőgazdasági hulladékok lebontásában. Az ipari szennyvizekből való klórozott szerves vízszennyezők kivonására alkalmas módszerek kifejlesztésén is dolgoznak. Egy, a napenergiát felhasználó, TiO_2 UV-besugárzás hatására kiváltott fotokatalitikus hatáson alapuló technológia, a biológiai úton nem bomló klórozott szénhidrogéneket (NBCS) vizsgálja. A klórozott szénhidrogének degradációjára vonatkozó kutatások első szakaszában egy analitikai módszert és egy kinetikus modellt fejlesztettek ki, melyek tesztelése során értékelték az újonnan kifejlesztett TiO_2 katalizátor hatását is (25., 26.). Néhány fotokémiai szintézis által előállított finomvegy-szer gyártása során elektromos lámpát alkalmaznak fényforrásként (27.). Japán kutatók egy szteroid (loteprednol etabonate) gyógyszer fotodegradációs termékeit izolálták és értelmezték azok szerkezetét. A fő degradációs termékeket HPLC-vel mutatták ki, szerkezetüket spektroszkópi-ai adatok alapján azonosították (28).

2. Speciális, releváns fotokémiai kísérletek:

A többi nitrogéntartalmú herbicidhez hasonlóan az s-triazin-származékok is abszorbeálják a napfény UV-tartományba eső spektrumhányadát, és fotodegradációt szenvedhetnek a környezetben. Ez a fotolitikus átalakulás különböző körülmények között történhet, tipikus a vízdoldható vegyületek vizes oldatban való bomlása, és a nem vízdoldható származékok adszorpció által elősegített degradációja (29.). A fotodegradáció termékeinek azonosításáig azonban nem jutottak el a kutatók.

A triazinok világszerte a legszéleskörűbben alkalmazott herbicidek közé sorolhatók. Mivel számos környezeti szubrégióban megtalálhatóak, az ökoszisztémákban való sorsuk és a degradáció útja lényegesnek mutatkozik a kutatások szempontjából. Ezek a vegyszerek alkalmazást követően különböző úton-módon távolíthatók el a környezetből (30.).

Már a hetvenes években azt találták, hogy bizonyos triazin típusú herbicidek vizes oldatban fotolitikus bomlást mutatnak, miközben fő termékként a megfelelő dezaminált vegyületek keletkeznek (31.). Az egyik lehetséges bomlási mechanizmusként s-triazin-származékok vizes oldataiban esetében a hidroxid-gyökkel történő fotooxidációt javasolták. Az oxidatív N-dezalkilezést szintén az egyik lényeges primer degradációs útként értelmezték (32.).

Bizonyos karbamid típusú herbicidek esetében szintén végeztek vizsgálatokat ezen anyagok környezetben történő átalakulásait illetően, mind laboratóriumi kísérletekkel, mind terepi vizsgálatokkal (33.). Ezen abiotikus átalakulások kutatása jelentősen hozzájárult a vizsgált herbicidek hatásának megismeréséhez. Ezen vizsgálatok során a legjelentősebb szubsztituensek fotolitikus átalakulását próbálták megérteni.

Nitrogéntartalmú peszticidek fotodegradációs folyamataival napjainkban is foglalkoznak. Tizenkét nitrogéntartalmú, de szerkezetét tekintve három különböző csoportba sorolható peszticid (triazinok, karbamidszármazékok, tiolkarbamátszármazékok) esetében vizsgálták a fotodegradáció folyamatának sebességi viszonyait. A bomlást higanygőzlámpa segítségével érték el, a degradációs termékeket gázkromatográfiás módszerrel választották szét. Megállapítást nyert, hogy az esetek zömében egynél több degradációs termékre bomlanak a vizsgált peszticidek, és a bomlási sebességük is igen eltérő lehet. Az átlagos bomlási sebesség az s-triazin-származékoknál volt a legnagyobb (87.).

Jelentős számú kutatási projekt foglalkozik polimerek UV-degradációjával annak érdekében, hogy reális képet nyerjenek a napjainkban használatos műanyagok mechanikai, illetve kémiai sajátságairól, valamint a környezeti hatásokra bekövetkező esetleges átalakulásairól (34., 35., 36., 37.,

38.). Azt találták ezen vizsgálatok során, hogy az UV-fény mellett az oxigénnek is szerepe van a polimerláncok felbontásában, illetve keresztkötések kialakításában. A morfológiában bekövetkező változások az ily módon kezelt műanyagok mechanikai sajátságait negatívan befolyásolják. Értelemszerűen a degradáció a műanyagok felszíni rétegét érinti. Ebből következően a gyakorlatban használt műanyagok UV-degradációval szemben stabilizáltak a kémiai reakciók megakadályozása céljából (39., 40., 41., 42.).

Portugál kutatók felületi fotokémiai technikákat alkalmaztak környezeti összetevők tanulmányozására: peszticidek, poliklórozott bifénilek, policiklikus aromás hidrokarbonok, valamint nitro- és hidroxiszármazékok, dioxinok és furánok cellulóz és zeolit felszíneken való fotodegradációjára. Peszticidek fotodegradációjára vonatkozó vizsgálatok megállapították, hogy a degradáció kinetikája és a termékek megoszlása szorosan függ az oldószer-től és az alkalmazott fény hullámhosszától. Tapasztalatuk szerint a degradáció mértéke 254 nm-en nagyobb, mint 313 nm-en, a fotobomlás víz oldószer estében gyorsabb, mint metanolban oldva (43., 44., 45., 46.).

A klórozott herbicidek (2,4-D fenoxisav) fotokémiai degradációja során az éterhíd felszakad, vagy az aromás gyűrű klóratomjait OH-csoportok helyettesítik. A lebomlás végső terméke huminsavszerű anyag, amely a fenti úton keletkező trihidroxibenzol polikondenzációjával keletkezik. A fotodegradáció azonban víz távollétében igen lassú (75.).

3. Biológiai hatással kapcsolatos vizsgálatok

A peszticidek metabolizmusa rendkívül bonyolult, a biológiai és a fizikai-kémiai tényezőket lehetetlen elválasztani, mivel együttes hatásukban mindig változó arányokkal, jellemezhető dinamikával hatnak. A peszticidek transzformációja részben fizikai-kémiai tényezők hatására, de legtöbbször biológiai aktivitásra vezethető vissza. Ezek az átalakulások közvetlenül, vagy közvetve beépülve a bomló növényi maradványokkal kerülnek a talajba. Itt a peszticidek fizikai- és kémiai hatásoknak vannak kitéve. Számtalan adat igazolja, hogy a talajban olyan átalakulások is végbemennek, amelyeket nem a mikrobák, és nem az enzimek katalizálnak (47.).

Mivel kísérleteinkben a növényvédő szerek talajmikrobákra gyakorolt hatásainak vizsgálatát is célul tűztük ki, ezért ezen vizsgálatokhoz is szükséges kellő alaposágú szakirodalmi áttekintés. A témához legszorosabban kapcsolódó kutatást Kátai J. (48.) és munkatársai végezték, melynek célja a herbicidek talajmikrobákra gyakorolt hatásainak feltárása volt. Egy kijelölt meszes csernozjom talaján napraforgót termesztettek tesztnövényként, ahol herbicideket használtak, a baktérium és gomba tenyésztését nutrient és pepton-agar táptalajon végezték, a mikrobaszámot lemezöntéses módszerrel,

a cellulóz aktivitást az Unger- módszerrel határozták meg. A kapott adatokat variancia- analízissel kiértékelve megállapították, hogy az alkalmazott herbicidek növelték a Viable baktériumok számát a kezelés alatt. A nitrifikáló baktériumok számát gátolják a különböző herbicidek, mely gátló hatás nagyobb dózisoknál növekedett. A cellulóz- dekomponáló baktériumoknál minden dózis erőteljes gátlással bír. A baktériumszám és az alkalmazott mennyiség fordított arányban van.

Herbicidekkel kapcsolatos további vizsgálatokat végzett Fischl Géza a keszthelyi Agrártudományi Egyetemen. A kutatás során a kukoricában alkalmazott fungicid hatását vizsgálta a *Fusarium graminearum Schwabe* makrokoídiumainak csírázásán, függőcsepp kultúrákban. A gyomirtószeresek közül a gyakorlatban ajánlott töménységben 100%- ban gátolták a makrokonídiumok csírázását. (49.).

Vargha Márta atrazinbontó üledék- és talajbaktériumok genetikai és ökofiziológiai tulajdonságait vizsgálta. Megállapítást nyert, hogy a talajba jutott atrazin biodegradációja során környezetvédelmi szempontból csak a teljes mineralizációra képes szervezetek jelentenek valódi megoldást. Az atrazin gyors és hatékony lebontásáért a *Pseudomonas* törzs, valamint az *Agrobacterium radiobacter* a felelős. Az atrazinnal való folyamatos terhelés nem volt értékelhető hatással a tenyésztendő baktériumok mennyiségére. A talajminták vizsgálata során az atrazinbontó baktériumok jelenléte mellett atrazin volt kimutatható, melyet a talaj korlátozott biodegradációs kapacitásának következményének tulajdonítottak. A talajmintákból 25 atrazinon, mint egyedüli szén-, ill. nitrogénforráson fenntartható törzset izoláltak, melyeket telepmorfológiai és biokémiai vizsgálatoknak is alávetettek (50.).

4. A vizsgált peszticidekre vonatkozó szakirodalom

4.1. Karbendazim

A karbamát csoporton belül a benzimidazolszármazékok csoportja széles körben elterjedt fungicideket foglal magába, továbbá a szisztematikus fungicidek egyik legrégebbi csoportját képviseli (51.). Ezeket többnyire a 60-as években vezették be, és a szisztematikus fungicidek egyik legrégebbi vegyülettípusát képviselik (52.). Az egész világon elterjedt ezen fungicidek alkalmazása többnyire széles hatásspektrumuknak köszönhetően. A legjelentősebb állománybetegségek, pl. lisztharmat, rozsdabetegségek, levél és kálász fuzárium elleni magas hatékonyság jellemzi. A *Fusarium* fajok nagy része toxinokat termel, melyek emberre és a haszonállatokra nézve egyaránt veszélyesek, súlyos emésztőrendszeri és ivarszervi elváltozásokat okoznak (53.).

A benzimidazolszármazékok hatásmechanizmusának alapja, hogy a gombafonalak kialakulását akadályozzák meg (54.).

A hatás szelektivitásában fontos szerepet játszik a fungicidek metabolizmusa. A gomba vagy a növény sejtjeibe bejutott szerves fungicidmolekulák szerkezetét természetes metabolikus folyamatok változtatják meg. Ezek a folyamatok lehetnek tisztán kémiai változások, és enzimatisz természetűek is, melyet nehéz megkülönböztetni egymástól. A metabolikus átalakulások oxidáció, redukció, hidrolízis vagy konjugátumképzés révén valósulnak meg (55.). A fungicid elbomlásához számos reakció szükséges, melyek közül az elsők a legfontosabbak. Ilyenkor többnyire a fungitoxicitást elveszti, vagy csökken, vagyis a célszervezet szempontjából a vegyület inaktívulódik. Előfordulhat az is, hogy a biológiai rendszer hatására az alkalmazott vegyület aktiválódik, a kémiai szerkezetben bekövetkezett változás nagyobb fungitoxicitással rendelkező termék létrejöttéhez vezet (59., 60.). Irodalmi adatok szerint a fungicidek metabolizmusakor az aromás és a heterociklikus vegyületek gyűrűszerkezete hosszú időn át változatlan marad (61.). Így a benzimidazolszármazékokra mint gyűrűs vegyületekre szintén érvényes általában, hogy gyűrűszerkezetük viszonylag stabil, viszont az oldalláncok könnyebben változnak a metabolizmus során. A karbendazimmal kezelt növényekben 2-amino-benzimidazol képződése hosszú idő után megfigyelhető volt (62.).

A karbendazim szermaradékként való előfordulása élelmiszerekben gyakori (138.), a karbendazim mutagén és a hormonrendszerre is hatással van. (139.) Patkányokkal és kutyákkal végzett kísérletek eredményei szerint májnagyobbodást, máj-, és gyomorrákot illetve vörösvértest-szám csökkenést okozott (140., 141., 142.). Terhességi idő alatti jelentős kitétség növelte a torzszületések számát, agykamratágulat, abnormális „kisszeműség”, vázrendszer kialakulási zavar jelentkezett számos esetben (143.). Teratogenitása állatokon bizonyítottnak látszik (80.).

A karbendazim közvetlen fototranszformációját 254 nm-es monokromatikus fényvel való megvilágítás során tanulmányozták a francia Poitiers Egyetem kutatói. 254 nm-es megvilágításnál megállapítható volt a karbendazim fototranszformációjának hatékonysága. Folyékonykromatográfiás tömegspektrométerrel azonosították a degradációs termékeket. Az egyik fő degradációs termék az aminobenzimidazol volt (63). Karbendazim biodegradációját különböző pH tartományokban tanulmányozták mikrobiológusok segítségével japán kutatók. A mikrobák hatására peszticid 1,5-5,5 nap alatt teljesen degradálódott. A vizsgált tenyészet ígéretes anyag a peszticidekkel szennyezett rizsföldek vizeinek helyreállításában (64).

Karbendazimra irányuló további vizsgálatok döntően a kimutatásukra illetve analízisükkel kapcsolatos módszerfejlesztésekre irányultak. Új analiti-

kai eljárásokat dolgoztak ki karbendazim kimutatására és mennyiségi meghatározására különféle élelmiszerekben, melyeket az alábbiakban ismertettek.

Gyümölcsökben és zöldségekben levő karbendazim és egyéb peszticidmaradékok egyidejű meghatározására a következő analitikai módszereket alkalmazták: micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC) (65.), GC/MS, HPLC, mikro-extrakciós eljárások, folyadékkromatográfiás- tömegspektrométeres vizsgálatok (65., 66., 67., 68., 69.). Spanyolországi vizsgálatok során folyadék-folyadék extrakciót követően HPLC-UV- val analizálták a karbendazim-maradványt (70.). Talaj és tóvízben levő kis mennyiségű karbendazim kimutatását, és meghatározását nagy érzékenységű módszerekkel, immunoaffinitásos extrakciós és kapcsolt oszlopú, folyékonykromatográf-tandem tömegspektrométerrel vizsgálták. Folyadékkromatográfiás módszert alkalmaztak a peszticid kimutatására olyan talajalkotók jelenlétében, mint a kaolinit, a montmorillonit és a tőzeg (71., 72.). A karbendazim a talaj felső rétegeiben marad. Alkalmazása után még három évig lehet valamelyik származékát (2-amino-benzimidazol, 1,2-diamino-benzol) a talajból kimutatni.

4.2. Acetoklór

A klóracetanilid csoportba tartozó gyomirtók a legelterjedtebben alkalmazott herbicidek (73.). Bevezetésük óta (1954) használatuk egyre nő, viszont a jelek arra utalnak, hogy többszöri használat esetén talajdegradációt idézhet elő, valamint köztudott a bomlástermékek karcinogén hatása. Ezen gyomirtószerek primer hatásmechanizmusa nem ismert, számos növényi biokémiai folyamatot gátolnak (74.).

Amerikai kutatások klóracetamid herbicidek májmikroszómákon való biodegradációjának feltételezett metabolitjait vizsgálták. Acetoklór vizsgálata során proteint adtak a preparátumhoz, majd a feltételezett bomlástermékeket UV detektálással HPLC segítségével mutatták ki. Vizsgálataik szerint a klóracetamid herbicidek karcinogenitása feltételezhetően egy komplex metabolikus aktivációs útnak tulajdonítható, mely egy DNS-reaktív dialkilbenzokinon-imin kialakulásához vezet. A reakcióút fontos intermedierje a 2-klór-*N*-(2-etil-6-metilfenil) acetamid, mely acetoklórból keletkezik. További bomlása során 2,6-dietilanilin és 2-metil-6-etilanilin jön létre, mely bioaktív válik, így létrehozva a karcinogén terméket, a dialkilbenzokinon-imint. A munka hiányossága, hogy a bomlástermékeket modellszámítások és feltételezések alapján azonosították, szintetizálták, majd ezekre kalibrálták a rendszert, nem pedig precíz analitikai eljárásokkal mutatták ki a bomlástermékeket (77.).

Acetoklór hidroxilgyökökkel való reakciója során tanulmányozták annak indirekt fotolízisét. Egy magas nitráttartalmú folyó vizét vizsgálták, melyben az acetoklór felezési ideje 1–20 nap volt (76.). Az acetoklór talaj- és felszíni vizekben való kémiai bomlása során talajkolloidokon adszorbeálódik, kevésbé mosódik ki. Perzisztenciája talajban a talajtípustól és a klimatikus viszonyoktól függ, de átlagosan 10-15 hét. Degradációjában a mikrobiológiai lebontás jelentős (78.) Növényzetben való kémiai bomlásakor főleg csírázó növényi részekben, és gyökereken adszorbeálódik (79.).

Talajban, talajvízben és vízben levő acetoklór metabolitjainak kivonására és mennyiségi meghatározására alkalmazott érzékeny analitikai módszer a fordított fázisú kromatográf, az ionizációs elektropray-, illetve a nagy teljesítményű, folyékony kromatográfias-time-of-flight tömegspektrométer, a tömegszelektív detektorral (MSD) ellátott folyékony gázkromatográf (LGC) (81., 82., 83.).

Az acetoklór élettani hatásainak vizsgálatára is számos kutatás irányult. Végeztek immunológiai vizsgálatokat, patkányokon pedig a szer termékenységét befolyásoló hatását bizonyították (84., 85.). További vizsgálatok azt a hipotézist támasztották alá, miszerint a klóracetanilid herbicidek onkogenezisük olyan genotoxikus intermediereknek köszönhető, mint a dietilbenzokinonimin. Ez a vizsgálat szolgáltatta az első közvetlen bizonyosságot, hogy ezen metabolitok genotoxikusak az emberi limfocitákra (86.).

4.3. Simazin

A simazin a triazinok csoportjába tartozó általánosan alkalmazott szelektív gyomirtószer. A széles körű felhasználás miatt valószínűsíthető, nagymértékű előfordulása a hazai vizekben is, így a Duna jellegzetes növényvédőszer-összetevője is. (88.). Hatásukat a fotoszintézis gátlásával fejtik ki (89.). Nagy része biodegradáció, kis mennyiségben azonban fotodegradáció hatására veszt el. Kubek és munkatársai vizsgálata szerint növényi biodegradáció és dealkilizáció útján is bomlást szenvedhet.

A simazin vizes oldatának 290 nm hullámhosszúságon történő besugárzás eredményei szerint a fotolízis fontos mechanizmus a szer lebomlása során. A simazin fotolízise a légkörben is fontos lebomlási mechanizmus lehet (90., 91., 92.). A simazin talajban való perzisztenciájának tanulmányozásakor a simazin és bomlástermékei a 100 cm mély talajmintákban is megtalálható volt. A talaj típusa és a szerves anyagok jelenléte és azok mennyisége fontos tényezők a simazin bomlása során (93., 94., 95.). A simazin használatának kevésbé látható következményei vannak magas szervesanyag-tartalmú talajon, ami tükrözi a szerves anyag jelenlétének fontosságát a bomlás folyamatában (96.). A simazin talaj- és felszíni vizekben való bomlását tekintve,

átlagosan 60 napos felezési idővel, mérsékelten perzisztensnek mondható. Reziduális hatása egy évvel a kezelés (2-4 kg/ha) után is érezhető a magas pH-jú talajokban, míg a simazin jelentős része a talaj mikrobiális aktivitása következtében bomlik le. Mérsékelten és gyengén képes a talajhoz kötődni, agyagon és trágyán képes adszorbeálódni (97.). Vízoldékonysága alacsony, ez kilúgozási potenciálját csökkenti. Alacsonyabb pH-jú talajokban hidrolízis következik be. (98., 99.).

A növények főleg gyökéren adszorbeálják a simazint, a levelek penetrációja alacsony vagy nincs. A gyökerekből transzlokálódik a növény többi részeibe. A rezisztens növények képesek lebontani a simazint. Vad- és házsonállatok mérgeződése simazinnal kezelt területen való legeltetés során lehetséges (100.). A simazinnak nincs teratogén hatása, mutagenitása sem jelentős (101.). Állatoknak adagolt különböző mennyiségű vegyület, kimutatható volt akár 12 nappal az egyszeri orális dózist követően is (102.). Madarak és vízi organizmusok számára nem toxikus, viszont a juhok, birkák és a szarvasmarhák különösen érzékenyek erre a szerre (103., 104.).

4.4. Klórpírifosz

Az organofoszfát csoportba tartozó klórpírifosz széles körben alkalmazott inszekticidek hatóanyaga. A klórpírifoszt 1962-ben fedezték fel, 1965-ben regisztrálták. Hatékonyságát kontakt-, gyomor-, és gázhatás által fejti ki. Hatásmechanizmusa más organofoszfáthoz hasonlóan azon alapul, hogy az acetilkolinasztearáz nevű enzimet gátolja, mely enzim alapvetően szükséges az ember és a rovarok idegrendszerének megfelelő működéséhez (105., 106., 107.,).

A klórpírifosz degradálódó vegyület, és számos környezeti faktor aktiválhatja a bomlási folyamatot. Minden rendszerben (talaj, víz, növények és állatok) a fő bomlási út a foszfor észter kötés felbomlásával és 3,5,6-trikloropiridin-2-ol (TCP) keletkezésével kezdődik. Talajban és vízben a TCP mikrobiológiai aktivitás, és fotolízis révén továbbdegradálódik 3,5,6-trikloro-2-metoxi-piridinné (TMP), és egyéb szerves anyagokká, valamint széndioxidá. Állatokban a TCP közvetlenül vagy további konjugáció által kiválasztódhat; növényekben a TCP konjugátumok elraktározódnak (108.). A klórpírifosz főként aerob és anaerob degradáció útján bomlik le. A klórpírifosz semleges és savas vízben hidrolizál, körülbelül 72-73 napos felezési idővel. 9-es pH-n a felezési ideje 16 nap. A fő degradációs termék a TCP és az O-etil-O-(3,5,6-trikloro-2-piridil) -tiofoszfát, mely ellenáll a hidrolízisnek (109.). Vízben való fotodegradációjakor, 7-es pH-n a felezési ideje 30 nap volt, míg a sötétben tartott kontrolloké 74 nap volt. Egy tanulmány szerint a talajt érő napsugárzásnak kitett TCP 8 órás expozíciót követően 50%-os

bomlást mutatott. A fotodegradációt elsősorban a talajszemcsékhez kötött szermaradékok és szén okozták (110.). A helyszíni megfigyelések összegzik a szer koncentráció csökkenését eredményezhető összes folyamatot (111.). A klórpírifosz laboratóriumi körülmények közötti degradációja során a hidrolízis és a fotolízis kisebb mértékű a tiszta vízben végzett vizsgálatok során. Hidrolitikus és fotolitikus felezési idő 25°C-on, semleges pH-n egy hónap volt, 9-es pH-n a hidrolízis sokkal gyorsabb, mindössze két hét volt. Vízoszlopban a felezési idő kevesebb, mint egy nap volt, a különböző degradációs folyamatok kombinációja következtében (112.). Tanulmányozták a klórpírifosz, a klórpírifosz-oxon és a 3, 5, 6-trikloro-piridin-2-ol fotodegradációját Cu(II)-t tartalmazó vizes oldatban is (113., 114.). Klórpírifosz fotolízise mértékének meghatározására új módszert fejlesztettek ki, mely során a gázfázisú fotolízis mértékét különböző levegőhőmérsékleteken állapították meg. A komponensek hidroxil gyökökkel való reakciója fontos az atmoszférából való eltávolításuk során. (115.).

A klórpírifosz biológiai rendszerekben alacsony szinten, kis mértékben koncentrálódhat, míg a talajban levő metabolitjai bizonyos terményekben akkumulálódhatnak, amik toxikusak lehetnek (116). A talajszemcsékhez kötődött klórpírifosz talajerózió útján bekerülhet az édesvizetekbe és a tengerekbe is.

A klórpírifosz biodegradációjában vezető szerepet játszanak a talajban élő gombák. (117.). A klórpírifosz leginkább madarakra a vízi szervezetekre toxikus, A klórpírifosz toxikus mennyiségben akkumulálódhat az állatok szervezetében. (118.)

III. Anyag és módszer

A modellkísérletekhez szükséges és optimális feltételek, illetve kísérleti körülmények beállítása igen komplex feladatot jelentett, amit fokozott a vizsgált peszticidek kémiai karakterének nagyfokú variabilitása, illetve speciális fotoreaktor alkalmazása.

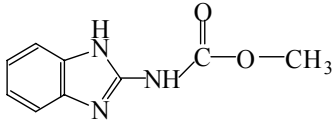
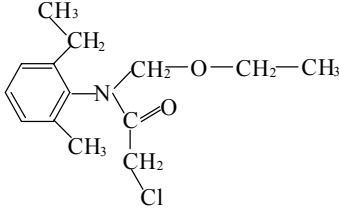
1. A vizsgált peszticidek tulajdonságainak összesítése

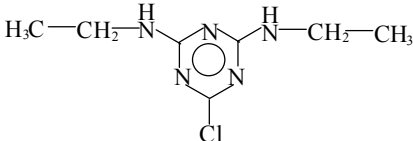
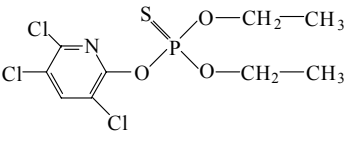
Hatóanyag	Karbendazim	Acetoklór	Simazin	Klórpírifosz
Peszticid típusa	fungicid	herbicidek	herbicidek	inszekticidek
A forgalomban levő növényvédőszer készítmény neve	Alert, Harvesan,	Tropazin, Thropy, [81-83]	Cat, Gesatop,	Brodan, Detmol [84].
Hatásmechanizmus	gombafonalak kialakulását gátló	fehérjészintézis gátló	fotoszintézis-gátlás	kolínészteráz gátló

Alkalmazott növénykultúra	Alma, szőlő, csonthéjasok.	Kukorica, búza, lucerna, bab.	Paprika, málna, kukorica.	Gabona, lucerna, kukorica, szőlő.
Károsító kultúra	Lisztharmat, monília, fuzárium.	Egynyári fűvek, széleslevelű gyomok.	Kétszikű gyomok.	Levéltetű, gyümölcs-molyok, körtelevél-bolha
Élő szervezetre gyakorolt hatásai	Emberi reprodukcióra káros.	Bőrirritáló, karcinogén, fejlődési rendellenességet okoz.	Patkányokon májsejtdegeneráció, vesekárosodás [85].	Idegrendszer, légzést gátolja, görcsöket okoz. [86]
Veszélyeztetett állatok	Vízi élőlények [87]	Vízi élőlények.	Méhek, halak.	Vízi élőlények, halak, algák [88]
Kémiai vegyület-típus	karbamát (benzimidazol)	acetanilid (klóracetanilid)	triazin	szerves foszfor-savészter
Összegképlet:	$C_9H_9N_3O_2$	$C_{14}H_{20}ClNO_2$	$C_7H_{12}ClN_5$ (96.)	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$
Molekulatömeg:	191.2 g/mol	269,5 g/mol	201,7 g/mol	350.6 g/mol
Fizikai megjelenése	Szintelen kristályok vagy szürkefehér por	Olajosan folyékony (színe ibolyás)	Fehér vagy szintelen kristályos	Fehér színű, szilárd, kristályos, kénzagú vegyület [89]
Oldódik	vízben, alkoholban, éterben [90]	alkoholban, benzinben, acetonban	metanolban, dietiléterben, [91]	benzinben, dietiléterben [92, 93].
Használt oldószer	Savanyított deszt. víz	Butanol	<i>Butanol</i>	Lúgos deszt. víz
A besug. időtart.:	20 óra	20 óra	20 óra	30 óra
Méregkategória:	Mérgező	Mérgező	Mérgező	Mérgező
Közegészségügyi szempont alapján:	Veszélyes	Veszélyes	Veszélyes	Veszélyes

A kísérletek során alkalmazott eljárások, eszközök a vizsgálati módszerek igen széles spektrumát lefedték, melyek a kezdetleges eredmények becslésétől (vékonyréteg-kromatográfia) egészen a bomlástermékek pontos meghatározásáig (GC/MS) igen fontos szerepet játszottak.

2. Vizsgált peszticidek szerkezeti képletei

Karbendazim	Acetoklór
	

Simazin	Klórpirifosz
	

3. A vizsgálat során alkalmazott módszerek és eljárások

a) A vékonyréteg-kromatográfia jellemzése

A vizsgálatok kezdeti szakaszában, a degradáció tényének igazolására, tehát a bomlástermékek detektálására vékonyréteg-kromatográfias módszert alkalmaztunk. A vékonyréteg-kromatográfia anyagkeverékek kvalitatív vagy félkvantitatív analizésére széles körben alkalmazott technika. A kromatogram elkészítése minimális eszközparkot igényel, az analizis elvégzéséhez viszonylag csekély idő szükséges.

A vizsgálatainkban alkalmazott vékonyréteg-kromatográfiában az álló fázisra néhány μl -nyi minta felvitelét követően, a lapot egy eluens folyadékot tartalmazó üvegcsőbe helyeztük, majd kifejlesztettük a kromatogramot. A komponensek helyzetét a startponttól mért relatív távolságukkal jellemeztük, ezt követően minőségi összehasonlításra került sor (132.).

b) Az oldatba merülő UV-forrás bemutatása

Az alkalmazott, bomlási termékeket detektáló berendezések ismertetése után a vizsgálatok gerincét képező, általunk kialakított speciális UV-forrás, és annak működési elvének ismertetése következik. A részletes ismertetés

azért is indokolt, mivel minden bizonnyal ilyen jellegű egyedi műszert még nem írtak le korábban.

A fényforrás eredetileg egy Millipor típusú víztisztító berendezés része volt, ami 254 nm hullámhosszúságú fénysugarakat bocsát ki állandó intenzitással, mely kellő energiával rendelkezik ahhoz, hogy az anyagok szerkezetében változást idézzon elő a patogén csírákhoz hasonlóan. Emellett szem előtt kellett tartanunk azt is, hogy olyan hullámhosszúságú fénysugárral dolgozzunk, amely a természetben megtalálható sugárkomponens, hiszen ebben a tartományban már nem érvényesülnek teljes mértékben az atmoszférikus komponensek által bekövetkező természetes abszorpciós folyamatok. A 254 nm-en sugárzó fényforrás alkalmazását az is indokolja, hogy a fotodegradációs kísérletek kivitelezését és laboratóriumi vizsgálhatóságát a természetes fény valamennyi komponensét egyidejűleg kibocsátó sugárforrással nem lehetett volna megvalósítani. Peszticidek fotodegradációjára vonatkozó korábbi kutatások eredményei megerősítik e hullámhossz alkalmazását ilyen irányú vizsgálatok során (43.).

c) Az UV-spektrofotométer bemutatása

A spektrofotometria ma az egyik leggyakrabban használt műszeres analitikai módszer, melynek mérési tartománya a látható fénysugarak határán kívül eső hullámhossz tartományokra is kiterjed. Az UV-spektrumokat Jasco V-530 típusú spektrométerrel 200-300 nm közötti hullámhossz tartományban vettük fel, mivel későbbi besugárzásaink 254 nm-es hullámhosszúságon történtek. A mérések számítógéppel történő feldolgozása következtében direkt módon megkaptuk az anyagok fényelnyelési diagramját, melyből a további vizsgálatokat megelőzően következtethettünk a vizsgált anyag adott hullámhossz-tartományban való fényelnyelésének tényére, és a fotobomlás mértékére.

d) A GC/MS vizsgálatok

Vizsgálatainkhoz egy Perkin Elmer Autosystem XL GC típusú gázkromatográfot Perkin Elmer Turbo Mass Spectrometer típusú tömegspektrométerhez kapcsoltuk. Az MS igen érzékeny analitikai módszer, amely tovább javítható egyéb berendezések hozzákapcsolásával. Így jönnek létre az úgynevezett kapcsolt technikák (134.). Ezzel a módszerrel éltünk vizsgálataink során. Egy gázkromatográfiás berendezés megfelelő tömegspektrométerrel (és releváns adatbázissal) történő összekapcsolása lehetővé teszi összetett rendszerek, keverékek egyes komponenseinek rutinszerű szétválasztását, illetve a komponensek azonosítását, valamint azok koncentráció-

inak becslését. A tömegspektrometriás mérések esetében ionizációs folyamatok széles variációjának felhasználásával kaptuk meg a vizsgált komponens spektrumát, melyet molekuláris struktúrájának azonosításra, illetve megerősítésére alkalmaztunk.

e) Mikrobiológiai vizsgálatok

A peszticidek és azok bomlástermékeinek biológiai környezetre gyakorolt hatásait mikroorganizmusokon vizsgáltuk, mivel a talaj tulajdonságait a fizikai-kémiai tényezőkön kívül a szervesanyag-tartalom és a bennük élő élőlények, köztük a mikrobák tulajdonságai határozzák meg (135.). A vizsgálatokhoz egy Gram-pozitív (*Bacillus subtilis*), egy Gram-negatív (*Pseudomonas fluorescens*) baktériumfajt és egy *Trichoderma harzianum* fonalas gombafajt használtunk teszt-mikroorganizmusként, mivel ezen fajok kulcsfontosságú szerepet játszanak a talajéletben. A fotodegradációnak alávetett peszticidek baktériumokra gyakorolt toxicitást Nutrient táptalajon, a gomba érzékenységét pedig Maláta táptalajon mértük fel korongteszt módszerrel (136.). A baktériumok peszticidekkel szembeni érzékenységét szűrőpapír korongok segítségével állapíthatjuk meg, melyek meghatározott mennyiségben tartalmazzák a hatóanyagot. A hatóanyag-tartalmú szűrőpapírkorongot szilárd táptalajon szélesztett baktérium, illetve gomba szuszpenzióra helyezve, a hatóanyag a táptalajba diffundál, és a korong körül befolyásolja a baktérium, illetve a gomba szaporodását. Az egyes baktériumok és gombák érzékenységére a papírkorong körüli ún. kioltási zóna nagyságából következtethetünk. A kioltási zóna a papírkorong körüli, kör alakú terület, amelyen belül mikrobák szaporodása nem észlelhető. (137.).

IV. Eredmények és azok értékelése

Vékonyréteg-kromatográfias vizsgálatok

Karbendazim

A fotodegradáció kezdete a besugárzást követően 30 perccel mutatkozott, bár ennek mértéke ekkor még csekély volt. Ezen elváltozás mértéke a 2,5- 3 óras mintánál volt a legerősebb, ezután csökkenő tendenciát mutatott, egészen a 11,5 óras mintáig látható volt. A teljes lebomlás eléréséhez 13 órányi besugárzás szükségeltetett.

b) Acetoklór

A fotodegradáció kezdetét 1- 1,5 óra elteltével tudtuk kimutatni. A besugárzási idő növekedésével a kiindulási anyag degradációjának mértéke is emelkedett. A vékonyréteg-kromatogram az egyórás besugárzás után mutatott bomlásterméket a kiindulási ponton, így az acetoklór fotodegradációjának kezdete erre az időpontra tehető. Másfél órás besugárzást követően a vékonyréteg-kromatogramon változás következett be, mely újabb másfél óra elteltével volt a legintenzívebb, majd csökkenni kezdett, a hatórás mintán, pedig már csak csekély mértékben volt észlelhető. Újabb bomlástermék a nyolcórás mintánál jelentkezett, mely ezután eltűnt. Az *acetoklór* teljes lebomlásához 16 órára volt szükség.

c) Simazin

A fotodegradáció kezdetét már 10 perc elteltével ki tudtuk mutatni, bár ekkor még csekély mértékű volt. A degradáció a besugárzási intervallum tizenegyedik órájáig volt kimutatható. A teljes bomlás eléréséhez 12 órányi besugárzásnak vetettük alá a simazint.

d) Klórpifosz

A fotodegradáció kiváltásához 2 órás besugárzásra volt szükség. A bomlás csökkenő intenzitással a tíz és fél óras mintáig volt észlelhető. A klórpifoszt 20 órányi besugárzásnak vetettük alá.

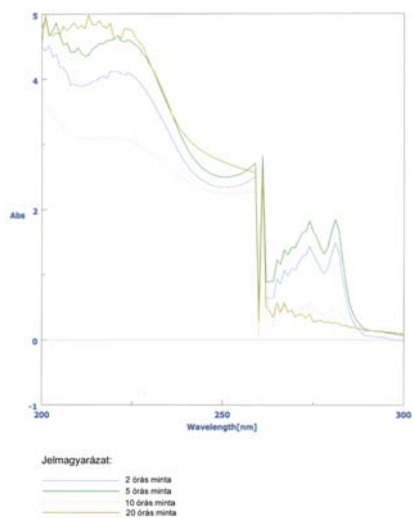
2. UV-spektrofotometriás vizsgálatok

A spektrofotometriás vizsgálatok eredményei is alátámasztották a vékonyréteg-kromatográfiásan igazolt bomlások tényét. A vizsgálatokat megelőzően mind a négy peszticidnek felvettük az UV-látható spektrumát és bizonyítottuk azt, hogy fényérzékeny molekulákról van szó, amelyek jelentős fényelnyelésre képesek.

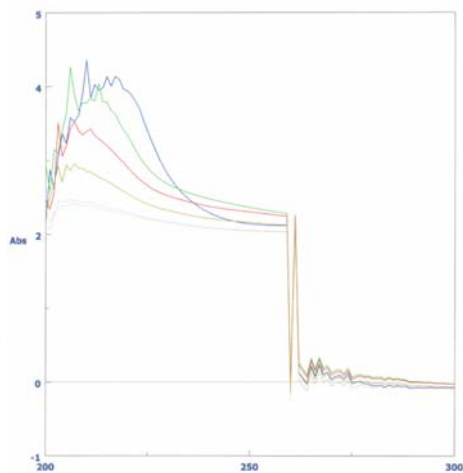
Ezt követően a különböző ideig tartó besugárzásnak kitett mintákat külön-külön vizsgáltuk, és megállapítottuk azt, hogy az idő előrehaladtával, tehát nagyobb fotoimpulzus közlésnek megfelelően lényegi eltérések mutatkoztak az UV-spektrumokban. Ily módon tehát lehetett következtetni a fotodegradáció megvalósulására, azonban a bomlási mechanizmusokra egyáltalán nem, mivel a jelentős számú, fényelnyelésre képes csoport együttes jelenléte nem szolgáltatott jól elkülöníthető csúcsokat (lásd az alábbi ábrá-

kat.). Az UV-spektrumok felvétele segítségével nem csak a fotobomlás lejátszódását, hanem a befejezésének az időpontját is meg tudtuk határozni.

A spektrumok felvételekor az anyagok abszorbanciáját 200- 300 nm-es tartományban vizsgáltuk, mivel itt adódott a fényelnyelési maximum.



1. ábra: A karbendazim különböző besugárzási időpontokban felvett UV-spektrumai



2. ábra: Az acetoklór különböző besugárzási időpontokban felvett UV-spektrumai

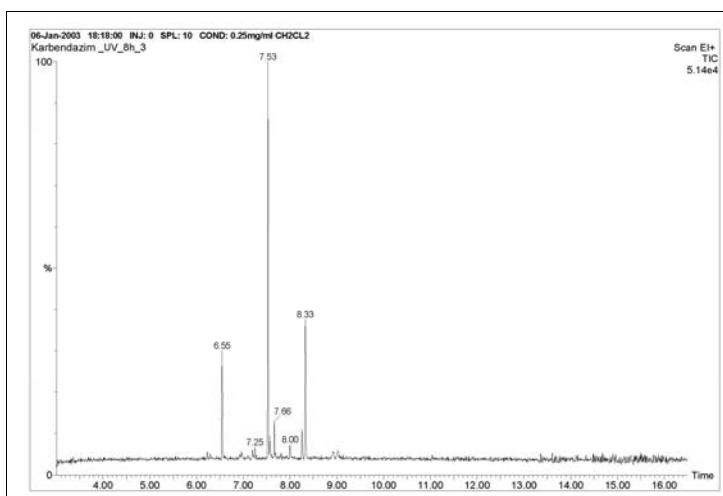
3. Gázkromatográfjal csatolt tömegspektrometriás vizsgálatok

Az előzetes vizsgálatok során kapott fotodegradációra utaló adatok megerősítést nyertek a tömegspektrometriás vizsgálatok során. Ilyen irányú vizsgálataink fő célja az volt, hogy az egyes bomlási intermediereket azonosítsuk, illetve a degradációs mechanizmust megállapítsuk. Az alábbiakban az egyes peszticidekre vonatkozó vizsgálatok eredményeit külön-külön közöljük

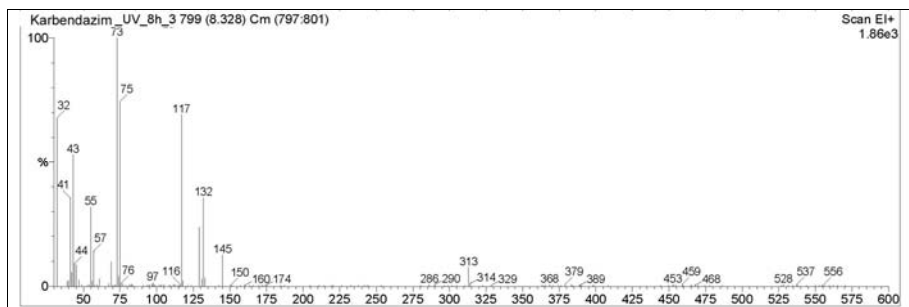
a) Karbendazim

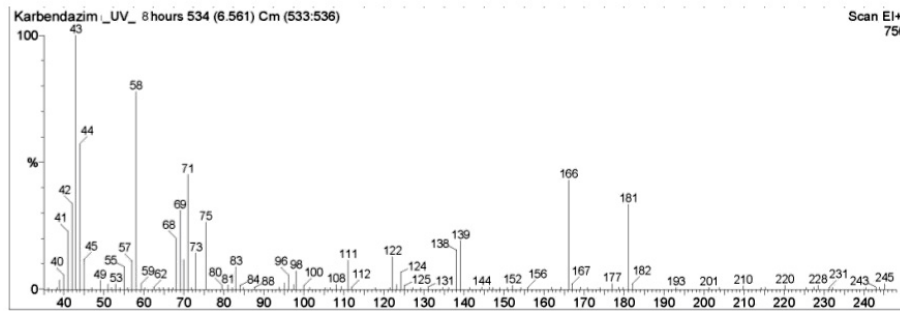
A karbendazim bomlásának reakciómechanizmusa során UV-fotonok hatására aránylag hamar végbemegy az első degradációs folyamat: az O-metil csoport felszakadása és **2- benzimidazol-karbaminsav** keletkezése. Ez a köztitermék 30 perc besugárzást követően degradációt szenvedett és továbbalakult **2-amino-benzimidazollá**. Ez a köztitermék az irodalmi adatok szerint megtalálható a hosszú ideig karbendazimmal kezelt növényekben is

(62.), tehát biológiai bomlás következtében is kialakulhat. Szintén ezt a degradációs terméket kapták fotohidrolízis következtében a karbendazimot tanulmányozó kutatók is (63). A két órányi UV-foton közlést követő GC/MS vizsgálatok már nem igazolták a 2- benzimidazol-karbaminsav jelenlétét, azonban ez a vegyület az egy órás mintavételnél még kimutatható volt a kapott spektrumokon. A 2-amino-benzimidazol, mint bomlási köztermék már stabilabbnak tekinthető, mivel csupán több órányi fotoimpulzus hatására **benzimidazollá**. A keletkezett köztermékek közül ez a leginkább perzisztens a fényel szemben, ugyanis 6 óra besugárzás volt szükséges ahhoz, hogy az imidazolgyűrű felnyíljon, és **N-metil-1,2-diamino-benzol** keletkezzen. A fotodegradáció végterméke ezt követően alakul ki az előbbi vegyület N-metil kötésének felszakadása által, és így **1,2-diamino-benzol** keletkezik, melynek toxikus hatását a mikrobiológiai vizsgálatink is igazolták.

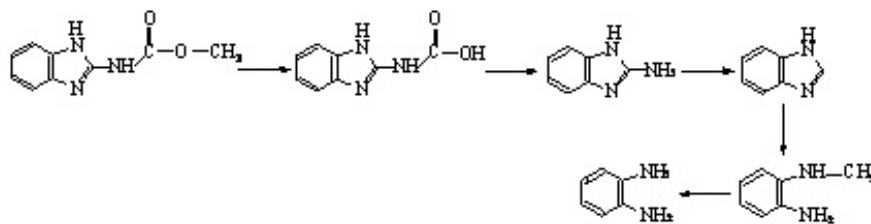


3. ábra: A karbendazim 8 órás UV-besugárzását követően felvett GC-spektruma





4. ábra: A karbendazim 8 órás UV-besugárzása által keletkezett két fő degradációs termék tömegspektruma



5. ábra: A karbendazim fotodegradációjának reakciómechanizmusa

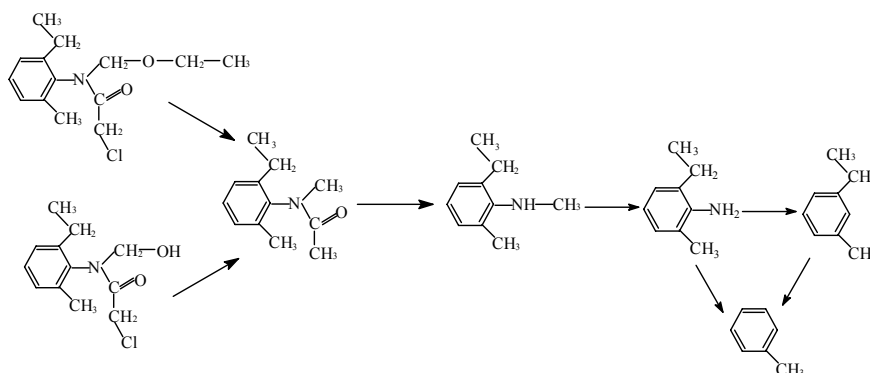
b) Acetoklór

A degradáció nem egy kizárólagos úton játszódik le. A fotodegradáció kezdetén, egy óra UV-besugárzást követően az N-etoximetil csoport éterkötésének és a $-\text{CH}_2\text{-Cl}$ kötésnek a felhasadása megy végbe, melynek eredményeképpen vagy direkt módon **N-metil-N-(2-etil-6-metil-fenil)-acetamid** keletkezik, vagy megjelenik egy még klórtartalmú, **N-hidroxi-metil köztitermék** is. Ennek a köztiterméknek a jelenlétét igazolták a tömegspektrumok is az első órában, azonban további besugárzást követően átalakul az előbbi vegyületté.

A Coleman és munkatársai által feltételezett biodegradációs mechanizmus alapján a biológiai bomlás az N-etoximetil- csoport leszakadásával kezdődik, és így a degradáció első lényeges köztiterméke a CMEPA (2-klór-N-(2-metil-6-etilfenil-acetamid). Ettől eltérően mi a deklórozást és az éterkötés szakadását igazoltuk a fotokémiai reakció során (77.).

A bomlás következő lépcsőjében az N-metil-N-(2-etil-6-metil-fenil)-acetamid acetyl csoportja szenved disszociációt, és így már nem acetamid, hanem anilinszármazék keletkezik: **N-metil-N-(2-etil-6-metil)-anilin**. További UV-besugárzás hatására a leginkább labilis N-metil kapcsolat fog

megszűnni, ami **2-etil-6-metil-anilin** keletkezését eredményezi. Ez a degradációs termék az acetoklór májmikroszómákon való biodegradációjakor is létrejöhét Coleman feltételezése szerint (77.) is. Más vizsgálatok szerint az acetoklór biodegradációjakor dialkilbenzokinon-imin is keletkezhet, mely genotoxikus az emberi limfocitákra (86.). Talajból és talajvízből kimutatott acetoklór metabolitokat (oxánsav, szulfonsav, etánszulfonsav, ESA (80.)) vizsgálataink során nem kaptunk. A fotobomlás következő szakaszában a GC/MS spektrumok bizonyossága alapján megjelenik a bomlás végterméke, a **toluol**, azonban lehetséges egy indirekt degradációs útvonal is, mely szerint először 1-etil-3-metil benzol keletkezik, és a fotodegradáció végterméke ebből a vegyületből is származtatható. A toluol, mint egyedüli terminális bomlási vegyület a mikrobiológiai vizsgálatok eredményei szerint is okoz biológiai gátló hatást.

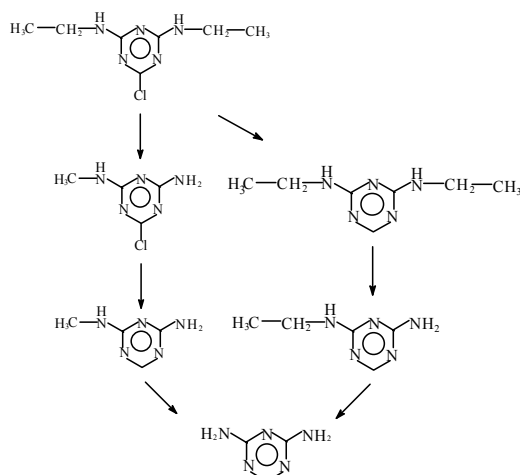


6. ábra: az acetoklór fotodegradációjának reakciómechanizmusa

c) Simazin

A simazin bomlása UV-fotonok hatására két párhuzamos reakcióúton mehet végbe. A két alternatív átalakulási módzat létjogosultságát a különböző időpontokban felvett tömegspektrumok igazolták, ugyanis a mechanizmusban feltüntetett párhuzamos reakcióúton szereplő termékek a degradáció megfelelő stádiumában egymás mellett is megfigyelhetők. A fotodegradáció folyamata vagy egy kloro-csoport leszakadásával és szimmetrikus bisz(N-dietil)-triazin-származék keletkezésével indul, vagy egy olyan termék is kialakulásával, melyben a kloro-szubsztituens változatlanul megtalálható, azonban az N-etil csoportok változnak. Érdekes módon ebben a köztitemékben egyrészt az egyik N-C kötés felhasítása által egy amino csoport található, illetve a kiindulási vegyület másik N-etil-csoportjának a demetilezésével N-metil-származék keletkezett. Ily módon a szimmetrikus

simazinból egy aszimmetrikus 2-metilamino-4-amino-6-kloro-1,3,5-triazin intermedier jön létre. Ezen vegyület először klórvesztésen megy keresztül, majd az aszimmetrikus molekulában további UV-besugárzás hatására az N-metil-kötés bomlik fel, és így egy **szimmetrikus 2,4-diamino-1,3,5-triazin** keletkezik végtermékként. A másik párhuzamos reakcióút első fázisában kialakult deklórozott köztitermék lépcsőzetes etilvesztést szenved, ezáltal két lépcsőben, egy-egy N-etil kötés felszakadásával végtermékként ugyanaz a szimmetrikus 2,4-diamino-1,3,5-triazin jelenik meg, amelyet a párhuzamos átalakulási módozat eredményeként kaptunk.

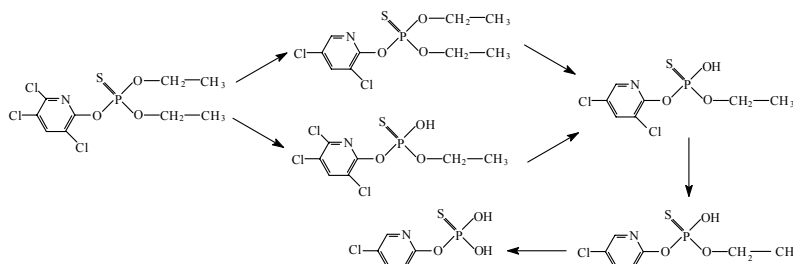


7. ábra: a simazin fotodegradációjának reakciómechanizmusa

d) Klórpirifosz

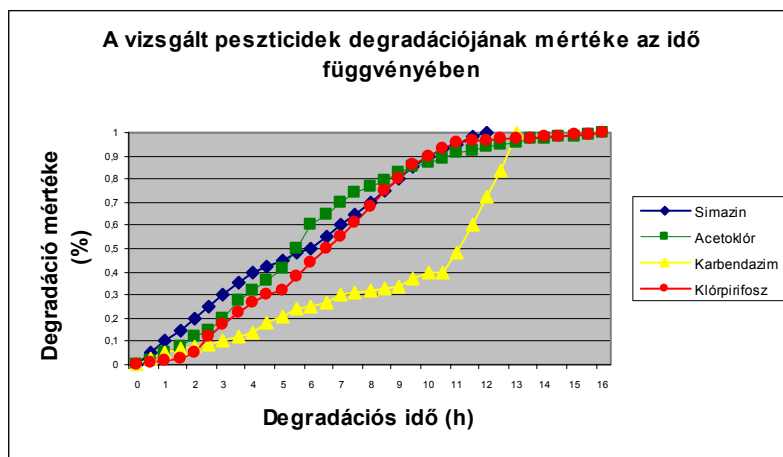
A klórpirifosz fotobomlása két reakcióúton valósulhat meg. Kezdődhet egy kloro-csoport leszakadásával vagy egy etil csoport leszakadásával is, ennek megfelelően a kezdetben kapott két bomlástermék a **O,O-dietil-O-(3,5-diklór-2-piridil)-tiofoszfát**, és a **O-etil-O-(3,5,6-triklór-2-piridil)-tiofoszfát**.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

A klórpírifosz biológiai degradációja a mi vizsgálatainktól eltérő metabolitokat eredményezett: **3,5,6-trikloro-piridin-2-ol (TCP)**, **3,5,6-trikloro-2-metoxi-piridin (TMP)** keletkezését mutatták ki megfelelő mikroorganizmusok hatására (108.). A döntő különbség a fotokatalitikus reakciók eredményeként kapott degradációs termékekhez viszonyítva az, hogy a **biológiai enzimek képesek a P-O kötés hasítására**, míg az UV-fotonok ezt nem voltak képesek megbontani. Ez egy igen lényeges különbség a két lebomlási utat figyelembe véve. A fotolitikus degradáció veszélyét fokozza, hogy a peszticidmaradványként megjelenő P-OH kötések a mi vizsgálataink által igazoltan **toxikus jelleget kölcsönöznek a terméknek**, míg ugyanez a TCP esetében nem áll fenn, itt toxikus hatást nem bizonyítottak.



8. ábra: a karbendazim fotodegradációjának reakciómechanizmusa

4. Kinetikai vizsgálatok eredményei



A négy, egymástól szerkezetileg jelentősen különböző peszticid fotodegradációjának kinetikája is nagyban eltér egymástól. A bomlások eltérő kine-

tikai viszonyait a fenti ábra szemlélteti, melyből kitűnik az, hogy kémiai szerkezetből adódó differenciák megmutatkoznak az egyes kötések stabilitásában, és így a fotoszenzibilitásában is.

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

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

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

A klórpírifosz bomlása indul be a leglassabban, viszont a két órás besugárzást követően felgyorsul az átalakulás. A tizenegyedik órás besugárzásig az idő függvényében lineárisan változik a degradációs termékek mennyisége, tehát a bomlási sebesség egyenletes. Az anyag 90%-os bomlásához 10 órás besugárzásra volt szükség, mely a teljes mértékű degradációhoz szükséges bomlási idő 2/3-át teszi ki. A kiindulási anyag maradék 10%-a további 6 órás besugárzás hatására bomlik le. A klórpírifosz teljes degradációjához tehát 16 órás besugárzásra volt szükség, mely az általunk vizsgált négy peszticid közül az egyik leghosszabb besugárzási időt jelenti.

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

5. A mikrobiológiai vizsgálatok eredményei és azok értékelése

Az irodalmi áttekintésben szereplő példák is igazolják, hogy nem szabad figyelmen kívül hagyni a herbicidek azon tulajdonságát, hogy közvetlenül vagy közvetve hatással bírnak a különböző biológiai rendszerekre. A fotodegradációs folyamatok mechanizmusának vizsgálata és kiértékelése után mindenképpen fontosnak tartottuk, hogy az alapvegyület és bomlástermékek biológiai hatásának modellezésére mikrobiológiai vizsgálatok alá vessük a peszticideket, és azok bomlástermékeit.

Korábbi mikrobiológiai vizsgálatok szerint a mikrobák a karbendazim bontásában ígéretesnek bizonyultak (64.). Ezt saját vizsgálataink is alátámasztják, mivel az általunk vizsgált két baktériumfaj (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*) tolerálta a szer toxicitását, csupán a hosszabb idejű besugárzás hatására kialakult baktericid vagy bakteriosztatikus terméket nem. A vizsgálatok eredményeként elmondhatjuk, hogy a *karbendazim Trichoderma harzianumra* gyakorolt gátló hatása az alapvegyületnél volt a legerősebb, majd besugárzás időtartamával arányosan csökken, mely valószínűleg a hatóanyag bomlása miatt következik be. A karbendazim fungicid hatásának csökkenése a *Trichoderma harzianumnál* a hatóanyag bomlása következtében megfigyelhető volt. A simazin és a klórpírifosz degradációjának végtermékei váltottak ki gátlást a két mikrobánál. Az *acetoklór* alapvegyülete a két mikroba közül csak a *Pseudomonas fluorescens*-re volt hatással. A többi mintánál a besugárzási idő növekedésével egyre fokozódó gátló hatás volt megfigyelhető. Ez a tendencia a *Bacillus subtilis*-nél szintén megfigyelhető volt. A degradáció végterméke azonban a két baktériumon kívül a *Trichoderma harzianumot* is gátolta. Irodalmi adatok szerint az *acetoklór* degradációjában a mikrobiológiai lebontás jelentős (78), melyet saját vizsgálataink cáfolnak: a két vizsgált talajmikrobára a besugárzási idő növekedésével egyre fokozódó gátló hatást gyakorolt az *acetoklór*. A *simazin* és a kezdeti bomlástermékek nem voltak hatással a tesztelt mikroorganizmusokra. A 10-12 órás besugárzás hatására kialakult bomlástermék gátolta a vizsgált baktériumfajok növekedését. A *simazinnál* a besugárzási idő előrehaladtával a *Trichoderma harzianum* csökkenő spóramennyiséget mutatott. Az *acetoklór* bomlástermékeinek vizsgálatakor a 16 óráig besugárzott mintánál spóráképződést gátló hatás jelentkezett. A *klórpírifosznál* a 2 órás besugárzást követően kapott bomlástermék gátolta a mikrobák növekedését. Ez a 16 órás mintáig csökkenő intenzitással megfigyelhető volt. A *Trichoderma harzianum* növekedésére nem volt hatással. A klórpírifosz biodegradációs metabolitjának mikrobiológiai lebontása jelentős a korábbi vizsgálatok szerint. Mi azonban a fotobomlás következtében kapott metabolitok hatását vizsgáltuk, és elmondhatjuk, hogy az így kapott köztitermékek toxikusak a

vizsgált mikrobákra, nem úgy, mint a degradáció végterméke. Saját vizsgálataink is alátámasztják annak a tanulmánynak (117.) az eredményeit, mely szerint a klórpírifosz gombák általi biodegradációja ígéretes az alapvegyület lebontásában, ugyanis az általunk vizsgált fonalas gombafaj tolerálta az anyag és bomlástermékeinek toxicitását.

Az alábbi táblázat foglalja össze a kapott gátlási zónák mértékét 24 órás inkubálási idő után:

Vizsgált peszticid	Besugárzás időtartama	A peszticidek gátlási zónája (mm)		
		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
Karbendazim	Alap	-	-	24
	10 ó.	-	-	20
	20 ó.	1	1	14
	Referencia	-	-	-
Acetoklór	Alap	2,3	-	-
	0,5 ó.	1,6	-	-
	1 ó.	2,6	1	-
	2 ó.	1,6	1	-
	5 ó.	3,6	1	-
	10 ó.	4,3	2	-
	16 ó.	7,3	3	3
	Referencia	-	-	-
Simazin	Alap	-	-	-
	0,5 ó.	-	+	-
	1 ó.	-	+	-
	2 ó.	-	-	-
	5 ó.	-	-	-
	10 ó.	4,6	+	-
	12 ó.	6	1	-
	Referencia	-	-	-
Klórpirifosz	Alap	-	-	-
	0,5 ó.	-	-	-
	1 ó.	-	-	-
	2 ó.	1	1	-
	5 ó.	1	1	-
	11 ó.	+	+	-
	16 ó.	-	-	-
	30 ó.	-	-	-
	Referencia	-	-	-

Mikrobiológiai megfigyeléseink a szakirodalomban általánosan elfogadottakat (miszerint a Gram-negatív baktériumok kevésbé érzékenyek a peszticidekre, mint a Gram-pozitív baktériumok) nem támasztják alá, mivel hasonlóan reagált mindkét típusú mikroba. A mikrobák jelentős érzékenysé-

get mutattak a peszticidekre és bomlástermékeikre. A vizsgált peszticidek közül az acetoklór váltotta ki a legnagyobb hatást. A mikrobák közül a *Pseudomonas fluorescens* reagált a legérzékenyebben. A vizsgált talajmikroorganizmusok érzékenysége miatt a vizsgált peszticidek és azoknak a talaj felső rétegében végbemenő fotodegradációja nagymértékben módosítja a talaj mikrobiota összetételét a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok, valamint egyes gombafajok háttérbe szorításával.

V. Összefoglalás

Az általánosan alkalmazott peszticideknek két fő környezeti ártalom tulajdonítható: egyrészt vezető szerepet játszhatnak a talajdegradáció folyamataiban, másrészt biológiai hatásuk, illetve bomlástermékeik élettani hatásai kedvezőtlenül befolyásolják a biotikus környezetet. Azonban a szerves mikroszennyezők csoportjába tartozó peszticidek esetében lejátszódó fotokémiai bomlási folyamatokról, a bomlástermékek szerkezetéről, és azok biológiai hatásáról még igen kevés információ áll rendelkezésre a szakirodalomban, így kutatásaink ezt az űrt hivatottak betölteni. Munkánk fő célkitűzése a mindennapi gyakorlatban is széles körűen felhasznált 4 különböző típusú növényvédő szer fotolitikus bomlási mechanizmusának megismerése, a köztitermékek azonosítása és toxicitásának a vizsgálata.

A speciálisan kialakított vizsgálati berendezés részét képező UV- fényforrás által kiváltott degradációt 4 különböző fényérzékeny peszticid esetben vizsgáltuk, melyek kiválasztásának a teljes szerkezeti különbözőség volt az alapja: a simazin egy s-triazin-származék, az acetoklór acetamid típusú vegyület, a karbendazim benzimidazolszármazék míg a klórpírifosz szervesfoszforsavészter. Az egyes mintákban lezajló degradációs folyamatokat vékonyréteg-kromatográfián és UV-spektrofotometrián a teljes mértékű fototranszformáció lejátszódásáig követtük. A fotodegradáció mechanizmusának megállapítására és a bomlástermékek azonosítására gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrometriás technikát alkalmaztunk.

A *karbendazim* fotodegradációja során hamar keletkezik metilvesztésen keresztül 2-benzimidazol-karbaminsav, majd 2-amino-benzimidazol képződik a karbamid C-N kötés szakadása által. A fotodegradáció végterméke 1,2-diamino-benzol.

Az *acetoklór* bomlása esetében két degradációs alternatíva jelent meg: etilcsoport, illetve klór-szubsztituens leszakadásával indulhat a folyamat, majd az acetyl-csoport lehasítása, N-demetileződés és etilvesztés által kialakul a bomlás végterméke, a toluol.

A *simazin* bomlása UV-fotonok hatására két párhuzamos reakcióúton mehet végbe: kloro-csoport leszakadásával vagy N-demetileződéssel, amit klórvesztés, illetve lépcsőzetes etilvesztés követ.

A klórpírifosz fotobomlása egy kloro-csoport leszakadásával vagy egy etil csoport leszakadásával iniciálódhat. További fotoimpulzusok hatására újabb klór-szubsztituensek és etil-csoportok lehasadása ment végbe.

Az igen eltérő szerkezetű anyagok esetében nagy mértékű eltérés mutatkozik a fotodegradáció kinetikai lefolyásában, így az egyes molekulák egyedi szerkezeti sajátosságainak nagy szerep jut fotolitikus stabilitás biztosításában.

Mikrobiológiai vizsgálataink célja az volt, hogy mind az alapvegyületek, mind a peszticid bomlástermékek biológiai, élettani hatására vonatkozóan információt nyerjünk. Ezért modellrendszereinkben 2 gyakori talajmikroba, illetve egy fonalas gombafaj szerepelt tesztorganizmusként, melyek közül a mikrobák mutattak jelentős érzékenységet a peszticidekre és bomlástermékeikre. A négy peszticid közül az *acetoklór* váltotta ki a legnagyobb hatást. Mindenképpen megállapítható, hogy a peszticid bomlástermékek jelentősen módosíthatják a talaj mikrobiota összetételét.

VII. Irodalomjegyzék

A dolgozat terjedelmi korlátai miatt a dolgozatom elkészítéséhez felhasznált irodalmak közül csak a fontosabbak kerülnek közlésre:

8. Gray, T. R. G., J. G. Jones, S. J. L. Wright: Microbiological aspects of soil, plant, aquatic, air and animal environments. In: Hill, I. R. and Wright, S. J. L. eds 1978, Pesticide Microbiology. Academic Press, London. 1978.
9. Huber, S. J., G. Poschenrieder, P. R. Wallnöfer: Einfluss von Planzebehandlungsmitteln and deren Metaboliten auf Wachstum und Atmung einiger Bodenmikroorganismen. Z. f. Pflanzenkrankh. U. Pflanzenschutz, 1980. 87.
30. Pape, B. E.; Zabik, M. J. J.: Agric. Food. Chem. 1972. 20–72.
31. Mansour, M. Ed.: Fate and Prediction of Environmental Chemicals in Soils, Plants and Aquatic Systems. Lewis, Boca Raton, Ann Arbor, USA 1993.
32. Streck, H. J.: Pesticides Science 53, 1998. 29–51.
33. Streck, H. J.: Pesticides Science 53, 1998. 52–71.
34. Schoonenberg G. R.: A study of the Ultra-Violet degradation embrittlement of polypropylene polymer. Thesis TUD, 1988.
35. Brujin de J. C. M.: The failure behaviour of high density polyethylene with an embrittled surface layer due to weathering. Thesis TUD, 1992.
36. Hoekstra H. D.: Degradation profiles of thick high density polyethylene samples after natural and artificial weathering. Polymer Preprints 34,2/213–214. 1993.
37. Hoekstra H. D.: Falen van UV-gegradeerd polyethyleen. rapport Nr. K-283, TUD, 1993.

38. Brujin J. C. M. and Meijer H. D. F.: The design and application of microfil tensile test apparatus for monitoring the degree of ultraviolet degradation of polymers. *Rev. Sci. Instrum.*, 62–6/1620–1624, 1991.
40. Hoekstra H. D., Spoormaker J. L., Breen J., Audouin L., Verdu J.: Uv-exposure on stabilized and non-stabilized HDPE films. Parts 1: Physico-chemical Characterization, *Polymer Degradation and Stability*, 49/251–262., 1995.
42. Hoekstra H. D.: The mechanical behaviour of UV-degraded HDPE: Consequences for Designers, Thesis, Delft University Press, Delft, The Netherlands, 1997.
43. J. P. Da Silva, Abílio M. Da Silva, I. V. Khmelinskii, L. F. Vieira Ferreira - J.: Photophysics and Photochemistry of Azole Fungicides Triadimefon and triadimenol. *Photochem. Photobiol., A:Chem.*, 142 (2001) 31.
44. J. P. Da Silva, L. F. Vieira Ferreira, Abílio M. Da Silva, J.: Aqueous photochemistry of pesticides triadimefon and triadimenol. *Photochem. Photobiol., A: Chem.*, 154 (2003) 293.
45. J. P. Da Silva, L. F. Vieira Ferreira: Surface photochemistry of pesticides: an approach using diffuse reflectance and chromatographic techniques. *Environ. Sci. Technol.*, 38 (2004), 2849–2856.
46. A. S. Oliveira, L. F. Vieira Ferreira, J. P. Da Silva, J. C. Moreira: Surface photochemistry: Photodegradation study of pyrene adsorbed onto microcrystalline cellulose and silica. *Intern. J. Photoenergy*, 6 (2004) 000.
47. Stryer, L.: *Biochemistry*. W. H. Freeman and Co., New York. 1998.
48. J. Kátai: The effect of herbicides on the amount and activity of microbes in the soil. *Soil pollution 1998*. 150–159.
49. Fischl G: Kukorica gyomirtószeres fungicid mellékhatásainak vizsgálata. *Növényvédelem X*. 1972. 542–545.
50. Vargha M.: Atrazinbontó üledék- és talajbaktériumok genetikai és ökofiziológiai elemzése. Gödöllő. 2002.
55. Hassal, K. A.: *The chemistry of pesticides (their metabolism, mode of action and uses in crop protection)*. The Macmillan Press Ltd., London, Basingstoke, 1982. 372 pp.
63. Patrick Mazellier; Émilie Leroy and Bernard Legube: Photochemical behavior of the fungicide carbendazim in dilute aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*; Volume 153, Issues 1–3, 1 November 2002, p. 221–227.
64. Anchana Pattanasupong, Hiroyasu Nagase, Eiko Sugimoto, Yasuhisa Hori, Kazumasa Hirata, Katsuji Tani, Masao Nasu and Kazuhisa Miyamoto: Degradation of carbendazim and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by immobilized consortium on loofa sponge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*; Volume 98, Issue 1, 2004, Pages 28–33.
77. Scott Coleman, Russell Linderman, Ernest Hodgson, and Randy L. Rose: Comparative Metabolism of Chloroacetamide Herbicides and Selected Metabolites in Human and Rat Liver Microsomes. *Environ Health Perspect* 108. 2000. 1151–1157.

81. E. M. Thurman, Imma Ferrer and Rick Parry: Accurate mass analysis of ethanesulfonic acid degradates of acetochlor and alachlor using high-performance liquid chromatography and time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*: Volume 957, Issue 1, 24 May 2002 , Pages 3–9.
82. Acetochlor Registration Partnership (ARP): Analyte-specific Method of Acetochlor Detection
83. U. S. Environmental Protection Agency: Pesticides: Regulating pesticides: Restricted and canceled uses.
86. Hill, A. B., Jefferies, P. R., Quistad, G. B., and Casida, J. E.: Dialkylquinoneimine metabolites of chloroacetanilide herbicides induce sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *Mutation Research* 395, 1997. 159–171.
87. K. Lányi, Z. Dinya: Gas Chromatographic Method for Studying the Rate of Photodegradation of Some Nitrogen-Containing Pesticides. *Chromatographia*, Vol. 56. 2002, S–149.
90. U. S. Environmental Protection Agency. EPA Method 525: Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry
91. U. S. Environmental Protection Agency. EPA Method 505: Analysis of organohalide pesticides and commercial polychlorinated biphenyl (PCB) products in water by mikroextraction and gas chromatography
92. U. S. Environmental Protection Agency. EPA Method 619: Determination of triazine pesticides in industrial and municipal wastewater
96. Keys, M. J.: Pasture plant-back periods following application of simazine to control *Vulpia* ssp. NSW Agriculture, Queanbeyan, NSW, 2111. 1998. (Proceedings of the 9th Australian Agronomy Conference, Wagga wagga, 1998.)
97. Wauchope, R. D., Buttler, T. M., Hornsby A. G., Augustijn-Beckers, P. W. M. and Burt, J. P. SCS/ARS/CES: Pesticide properties database for environmental decisionmaking. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 123: 1–157, 1992. 8–21.
98. Weed Science Society of America. *Herbicide Handbook*, Seventh Edition. Champaign, IL, 1994. 8–16.
99. U. S. Environmental Protection Agency. National Survey of Pesticides in Drinking Water Wells. Phase I Report. Washington, DC, 1990. 8–24.
105. Hayes, W. J. and E. R. Laws (ed.). 1990. *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc.,
108. Dow AgroSciences LLC. Chlorpyrifos: The Science Behind Chlorpyrifos.
109. Dilling W. L., Lickly L. C., Lickly T. D., Murphy P. G., McKellar R. L. (1984) *Organic Photochemistry*. 19. Quantum yields for O, O-diethyl O-(3, 5, 6-trichloro-2-pyridinyl) phosphorotioate (chlorpyrifos) and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in dilute aqueous solutions and their environmental phototransformation rates. *Environ. Sci. Technol.* 18: 540–543.

110. U. S. Environmental Protection Agency. Reregistration Eligibility Science Chapter for Chlorpyrifos, Fate and Environmental Risk Assessment Chapter; Washington D. C. 1998; Page 9.
112. Racke K. D. (1993) Environmental fate of chlorpyrifos. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 131: 1–154.
113. Mugot W. F., Carraway E. R.: Photodegradation Of Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-Oxon and 3, 5, 6-Trichloro-2-Pyridinol with Cu (II) in Aqueous Solutions. Presented at the Southeast Regional Meeting of the American Chemical Society, Charleston, SC, November 13–16, 2002.
115. Herbert V. R., Hoonhout C., Miller G. C.: Use of Stable Tracer Studies To Evaluate Pesticide Photolysis at Elevated Temperatures. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1916–1921.