

Óbudai Egyetem

Doktori (PhD) értekezés



Vízben oldott antibiotikumok (fluorokinolonok) sugárzással indukált lebontása

Tegze Anna

**Témavezető: Dr. Takács Erzsébet, MTA
doktora**

**Óbudai Egyetem, Anyagtudományok és Technológiák Doktori
Iskola**

Energiatudományi Kutatóközpont, Sugárkémiai Laboratórium

Budapest, 2020

Szigorlati bizottság:

Elnök: Wojnárovits László emeritus kutató professzor, DSc, MTA EK, EKBI

Tagok: Telegdi Lászlóné prof. emerita, DSc, ÓE

Tamásné Nyitrai Cecília ny. főiskolai docens, PhD

Nyilvános védés bizottsága:

Opponensek: Homonnay Zoltán egyetemi tanár, DSc, ELTE TTK

Tardy Gábor Márk egyetemi docens, PhD, BME

Tartalék bíráló: Alapi Tünde egyetemi adjunktus, PhD, Szegedi Tudományegyetem

Elnök: Telegdi Lászlóné professor emerita, DSc, ÓE

Tartalék elnök/tag: Borsa Judit prof. emerita, CSc, ÓE

Titkár: Bodáné Kendrovics Rita egyetemi docens, PhD, ÓE

Tartalék titkár: Szentmiklósi László PhD, MTA EK, EKBI

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	5
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. Perzisztens mikroszennyezők okozta kihívások a hagyományos szennyvíztisztításban	7
2.2. Fluorokinolon antibiotikumok	13
2.2.1. Fluorokinolonok általános jellemzői, hatásmechanizmusuk és alkalmazási területeik	13
2.2.2. Fluorokinolonok eltávolítása ionizáló sugárzással és egyéb AOP módszerekkel	15
2.3. Szennyvíztisztítás ionizáló sugárzással	19
3. Irodalmi áttekintés összefoglalása	27
4. Célkitűzés	29
4.1. A sugárkémiai lebontás hatékonysága, valamint a bomlási utak és termékek azonosítása	29
4.2. A fluorokinolonok és a keletkező bomlástermékek biológiai vizsgálata	29
5. Anyagok és módszerek	30
5.1. A munka során felhasznált anyagok	30
5.2. Mintaelőkészítés	30
5.3. Besugárzás ⁶⁰ Co gamma-forrással – gammaradiolízis	31
5.4. Besugárzás lineáris elektrongyorsítóval – impulzusradiolízis vizsgálatok	32
5.5. A víz radiolízise során keletkező gyökök reakcióinak elkülönítése	35
5.6. Fluorokinolonok koncentrációjának meghatározása	35
5.7. Termékanalízis	36
5.7.1. Folyadékkromatográfia-tömegspektrometria	36
5.7.2. Cu(II)/fenantrolin teszt hidrogén-peroxid méréséhez	37
5.8. Vízkémiai összegparaméterek	38
5.8.1. Kémiai oxigénigény	38
5.8.2. Teljes szerves széntartalom	38
5.8.3. Teljes nitrogéntartalom	39
5.9. Biológiai vizsgálatok	39
5.9.1. Biológiai oxigénigény (BOI)	39
5.9.2. Toxicitás	40
5.9.3. Antibakteriális aktivitás	41

5.10. Statisztikai módszerek	42
6. Eredmények és értékelésük	43
6.1. A víz radiolízise során keletkező gyökök reakcióinak elkülönítése	43
6.2. Köztitermék analízis impulzusradiolízis vizsgálatokkal	45
6.3. Fluorokinolonok eltávolításának hatékonysága gamma-sugárzással	51
6.4. Termékanalízis	52
6.4.1. A keletkező bomlástermékek és a reakcióutak meghatározása (LC-MS)	52
6.4.2. A keletkező hidrogén-peroxid mennyisége	55
6.5. Vízkémiai összegparaméterek változásai a besugárzás hatására	57
6.5.1. Kémiai oxigénigény	57
6.5.2. Teljes szerves széntartalom	58
6.5.3. Teljes nitrogéntartalom	58
6.6. A keletkező bomlástermékek biológiai vizsgálata	59
6.6.1. Hidrogén-peroxid hatása a biológiai vizsgálatokra	59
6.6.2. Biodegradálhatóság	60
6.6.3. Toxicitás	61
6.6.4. Antibakteriális aktivitás	62
7. Összefoglalás	65
8. Summary	69
9. Tézisek	73
10. Theses of PhD dissertation	75
11. Közleményeim	77
12. Köszönetnyilvánítás	79
13. Irodalomjegyzék	80

1. Bevezetés

Napjainkban az egyik legfontosabb kérdés a természetes vizek minősége. Ez egyrészt az ivóvízkészletek védelme miatt lényeges, másrészt a vízi ökoszisztémák háborítatlanságának érdekében. A mesterséges vízszennyezők többfélék lehetnek, például gyógyszerek, kozmetikumok, növényvédőszeres és iparban használatos anyagok. A környezetbe kikerült gyógyszerek kiemelten veszélyesek, különösen az antibiotikumok és a hormonhatású vegyületek. Az antibiotikumok jelenléte rezisztens baktériumok kialakulásához vezethet a természetes vizekben.

A fellebb felsorolt problémák miatt fontos megakadályozni az antropogén eredetű anyagok és különösen a gyógyszerhatóanyagok kikerülését a környezetbe és emiatt rendkívül fontosak a hatékony szennyvíztisztítási technológiák. A hagyományos szennyvíztisztítás sok esetben önmagában nem elég hatékony, és ezért kiegészítő technológiákra van szükség. A nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (Advanced Oxidation Processes, AOP-k) utókezelésként alkalmazva rendkívül hatékony kiegészítő szennyvízkezelési módszerek lehetnek. Az AOP módszerek alkalmazása során reaktív gyökök képződnek, például a hidroxilgyök ($\bullet\text{OH}$), ezek hatékonyan távolítják el a szerves szennyezőket. Az $\bullet\text{OH}$ oxidációs reakciókon keresztül vízre, szén-dioxidra és ásványi sókra bontja le a szerves anyagokat, tehát végbemegy a mineralizáció. A szennyvíztisztítás során gazdaságossági szempontokat is figyelembe vesznek, emiatt a cél sok esetben nem a teljes mineralizáció, hanem a szennyezők lebontása könnyen biodegradálható és nem toxikus bomlástermékekre. Ezek a bomlástermékek már rövid idő alatt és emberi beavatkozás nélkül lebomlanak a környezetben. Antibiotikumok esetében az is lényeges, hogy a bomlástermékeiknek már ne legyen antibakteriális aktivitásuk.

Az ionizáló sugárzás egy kevésbé elterjedt AOP módszer. Rendkívül környezetbarát, mivel szobahőmérsékleten és normál légköri nyomáson is alkalmazható, használata során nincs szükség adalékanyagokra, és kis energiafelhasználás mellett is hatékony módszer.

A fluorokinolonok gyakran használt antibiotikumok és emiatt a természetes vizekben is előfordulnak szennyezőként. Munkánk során fluorokinolon antibiotikumokat távolítottunk el vizes oldatokból ionizáló sugárzás segítségével. Az eltávolítás hatékonyságát és a keletkező bomlástermékek biológiai hatásait és biológiai bonthatóságukat is vizsgáltuk. Átfogó vizsgálatokat végeztünk többféle analitikai módszerrel. A mérések zömét az Energiatudományi Kutatóközpont, Energia- és Környezetbiztonsági Intézet, Sugárkémiai Laboratóriumában

végeztük, ahol a témában mintegy húsz éve folynak ilyen jellegű kutatások. Az antibakteriális aktivitás mérésekre a Szent István Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén került sor. Ez utóbbi méréseknél baktériumokkal dolgoztunk, az ilyen munka csak az erre felhatalmazott laboratóriumban végezhető.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Perzisztens mikroszennyezők okozta kihívások a hagyományos szennyvíztisztításban

A gyógyszermolekulák általában nagy, komplex, poláris molekulák. Az esetek többségében mikroszennyezők, mert a ng dm^{-3} -es, $\mu\text{g dm}^{-3}$ -es koncentrációtartományban vannak jelen. Perzisztensek, tehát nehezen lebomló és így a környezetben tartósan jelenlevő szerves szennyezők. Gyakran lipofilok és emiatt vízben rosszul oldódnak, ugyanakkor gyakran ionizálhatóak, és ezáltal oldhatóvá tehető a pH változtatásával. Egyes gyógyszermolekulák lebomlása több évet vesz igénybe, más vegyületek felhalmozódhatnak a talajban vagy az élőlények szöveteiben (Ikehata et al., 2006; Rivera-Utrilla et al., 2013). A gyógyszermolekulák esetében az is nehézséget jelent, hogy mindig keverékként fordulnak elő, mivel ha csak egyféle gyógyszermolekula került is ki a környezetbe, a bomlástermékei miatt akkor is keverékként van jelen (Kümmerer, 2009). Ha viszont többféle gyógyszermolekula van jelen, akkor felléphet a szinergikus hatás, mivel a többfajta gyógyszer összehatása általában károsabb, mint a hatásaik külön-külön (Rivera-Utrilla et al., 2013; Kümmerer, 2009).

A gyógyszerek a kommunális, a kórházi, és a gyógyszergyári szennyvizekben is jelen vannak. A gyógyszermolekulák különböző módokon kerülnek a szennyvizekbe. A leggyakoribb, hogy vizelettel és széklettel kerülnek ki, ugyanis az elfogyasztott gyógyszerek egy jelentős hányada (30-90 %-a) változatlan formában távozik az emberek és az állatok szervezetéből (Rivera-Utrilla et al., 2013; Kümmerer, 2009). Ezen kívül a feleslegessé vált és kidobott gyógyszerek a háztartási hulladékból a természetes vizekbe kerülhetnek. A szemétkerékek elfolyó vize általában tartalmaz gyógyszermaradványokat, ha a csurgalékvíz kikerül a természetbe, akkor a gyógyszermaradványok belekerülnek a talajvizekbe és a természetes vizekbe és innen akár az ivóvízbázisokba is (Kümmerer, 2009). A fejlődő országokban a gyógyszergyárak szennyezése is a szennyvizekbe, egyes esetekben a felszíni vizekbe kerülhet. Fejlett országokban szerencsére nagyon ritkán fordul elő, hogy a gyógyszergyártás során szennyezés kerül ki. Ázsiában azonban a gyártás során kikerülő szennyezések miatt előfordul, hogy mg dm^{-3} -es tartományban van a gyógyszermolekulák koncentrációja a szennyvízben (Kümmerer, 2009). A hulladékból kikerülő és a gyártás során keletkező gyógyszer-szennyezés megelőzhető, de a széklet és vizelet útján való kikerülés nem, tehát a kommunális és a kórházi szennyvizek mindig tartalmaznak gyógyszermaradványokat (Rivera-Utrilla et al., 2013). A kórházi szennyvizekben jóval nagyobb koncentrációban vannak jelen gyógyszerhatóanyagok, mint a háztartási

szennyvizekben, de a csatornarendszerekben általában több mint százszorosára hígítja a háztartási szennyvíz a kórházi szennyvizet (Ikehata et al., 2006; Kümmerer, 2009).

Az állatgyógyászatban használt szerek gyakran nem a szennyvízhálózatba kerülnek, hanem közvetlenül a felszíni vizekbe, mivel az állatok ürüléke és vizelete közvetlenül is bekerülhet a talajvízbe és a felszíni vizekbe, és szervestrágyázáskor is kikerülhetnek a gyógyszermolekulák a környezetbe (Ikehata et al., 2006; Rivera-Utrilla et al., 2013).

Kondor és munkatársai (2020) 52 féle gyógyszerhatóanyagot találtak a Dunában, annak budapesti és Budapest környéki szakaszán, és 32 féle gyógyszerhatóanyagot ugyanezen a szakaszon a parti szűrésű ívóvízvezetékben. Az általuk alkalmazott módszer nem volt alkalmas az antibiotikumok egyedi meghatározására. A folyóvízben a legtöbb gyógyszer ng dm^{-3} koncentrációtartományban fordult elő. A leggyakrabban a nem szteroid gyulladáscsökkentők, a szív és érrendszeri megbetegedésekre felírt gyógyszerek, és a hormonok, például az ösztrogén, fordultak elő. A nem szteroid gyulladáscsökkentők a 10 ng dm^{-3} koncentrációtartományba estek, a hormonok a $0,1 \text{ ng dm}^{-3}$ tartományba. Az ívóvízvezetékben főleg epilepsziagyógyszerek és lidokain fordultak elő, mert ezekre a molekulákra kisebb a homok és kavicsréteg szűrési hatékonysága. Az ívóvízmintákban inkább a $0,1 \text{ ng dm}^{-3}$ koncentrációtartomány a jellemző. Évszakos ingadozást figyeltek meg a gyógyszerek koncentrációjában, mert nyáron sok gyógyszerhatóanyag biológiai úton lebomlik.

A gyógyszerhatóanyagok esetében gondot jelent, hogy kibocsátásuk a természetbe folyamatos és általában egyszerre sokféle gyógyszermolekula jut ki a környezetbe. A környezetbe került gyógyszermolekulák toxikusok lehetnek a mikroorganizmusokra és károsak a fejlettebb élőlényekre. Emberekre is lehet káros hatásuk, ha bekerülnek az ívóvízbázisokba. A LOEC (lowest observed effect concentration) a legalacsonyabb koncentráció, ami krónikus hatást okoz. A legtöbb esetben a gyógyszerhatóanyagok LOEC koncentrációja több nagyságrenddel nagyobb, mint az ívóvízben és a felszíni vizekben mért koncentrációk, viszont lehetnek még nem ismert hatásai a hosszú távú kitettségnek is (Kümmerer, 2001; Ikehata et al., 2006; Kümmerer, 2009).

A gyógyszerek közül az antibiotikumok és a hormonhatású vegyületek, például a fogamzásgátlók különösen veszélyesek és általában ökotoxikusak. Az antibiotikumok esetében a toxicitáson kívül még az antibiotikum rezisztens baktériumok kialakulása is kockázatot jelent. Gyakori jelenség a keresztrezisztencia, tehát hogy ha egyfajta antibiotikumra rezisztens lett egy mikroorganizmus, akkor emiatt teljesen másfajta antibiotikumokra is rezisztens lehet. Így olyan antibiotikumok is

hatástalanná válhatnak bizonyos fertőzések ellen, amelyek csak nagyon kis mennyiségben kerültek ki a környezetbe (Kümmerer, 2001; Kümmerer, 2009; Allen et al., 2010; Wang et al., 2015).

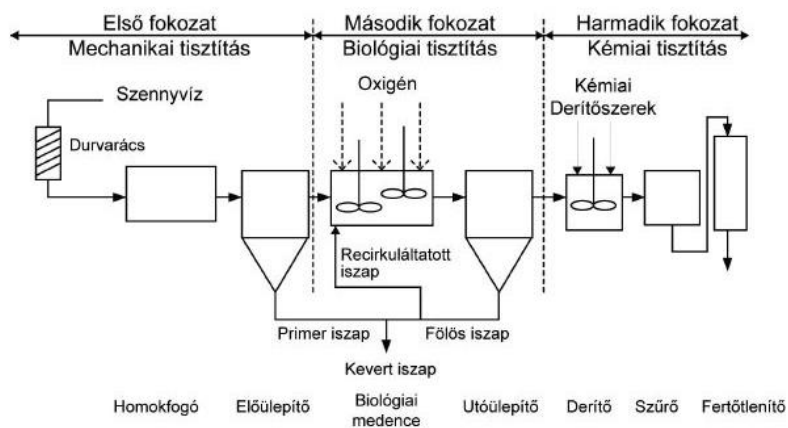
Antibiotikum rezisztencia a szennyvízvezetékben és a szennyvíziszapban is kialakulhat, mivel itt is találkoznak a baktériumok a szennyvízben lévő antibiotikumokkal (Kümmerer, 2001). Ha az antibiotikumok, illetve az antibiotikum hatást mutató bomlástermékeik kikerülnek a környezetbe és a felszíni vizekbe, akkor ezeken a helyeken is rezisztens baktériumok alakulhatnak ki. Ráadásul az állattenyésztés során szubterápiás mennyiségben is alkalmaznak antibiotikumokat a fertőzések megelőzésére és a tenyészállatok növekedésének az elősegítésére (Cho et al., 2014; Kümmerer, 2009). Ezen hatások miatt a szennyvizekben $50 \mu\text{g dm}^{-3}$ is lehet az antibiotikumok koncentrációja (Kümmerer, 2001). Akkor vezetnek baktériumrezisztenciához a felszíni vizekben jelenlévő antibiotikumok, ha a koncentrációjuk eléri az adott baktérium MIC értékét (minimum inhibitory concentration), vagyis azt a legkisebb koncentrációt ahol az adott gyógyszermolekulának már van antibiotikum hatása (Baquero, 2001). Az antibiotikumok MIC értékei növekedtek a 90-es évek óta, ami arra utal, hogy egyre gyakrabban fordulnak elő rezisztens baktériumok (Dalhoff, 2012).

A szennyvíztisztítás célja a felhasználás során vízbe jutott szennyeződés részleges vagy teljes eltávolítása, azért, hogy a tisztított szennyvíz kockázat nélkül befogadóba bocsátható legyen. Ennek megvalósítása általában háromfokozatú (kétfokozatú) szennyvíztisztítással történik, ami mechanikai, biológiai és kémiai lépcsőből áll (1. ábra).

A mechanikai (első) fokozatban fizikai fázisválasztás történik, vagyis a szilárd szennyezőket távolítják el szűréssel és ülepitéssel, ehhez különféle rácsokat, homokfogókat és ülepitőmedencéket használnak. A mechanikai fokozat után a szennyvíz a 0,1 mm-nél nagyobb szilárd szennyezőktől megtisztítva halad tovább.

A biológiai (második) fokozatban kolloidális tartományba eső (1-500 nm) szennyezőket, és oldatban lévő szerves és szervetlen anyagokat távolítanak el mikroorganizmusok segítségével. A mikroorganizmusok aerob vagy anaerob körülmények között bontják a szennyezőket. Az aerob folyamat általában gyorsabb, ezért ezt gyakrabban alkalmazzák. Az eleveniszapos rendszerekben a mikroorganizmusok a vízben szuszpendált formában, a fixágyas rendszerekben hordozókhoz rögzített formában vannak jelen. Az aerob rendszerekben a mikroorganizmusok által fogyasztott oxigént levegőztetéssel biztosítják.

A harmadik fokozat sok esetben nem válik el térben a második fokozattól, ezért nevezik ezt a szennyvíztisztítási módszert kétfokozatú szennyvíztisztításnak is. Ebben a lépésben nagyrészt az oldott szervesanyagok eltávolítása történik oxidáció és koaguláció segítségével. Itt történik a fertőtlenítés, vagyis a patogén mikroorganizmusok elpusztítása is, a kémiai tisztítást ezért koagulálószeres és fertőtlenítő hatású oxidálószeres adagolásával szokták megvalósítani. A koagulálószeres képesek csapadékot képezni a vízben oldott ionokkal, ez a csapadék azután további szennyezőket adszorbeál, majd nagyobb pelyheket képezve kiülepszik az üleptető műtárgyakban. A koagulálás után általában a tisztított szennyvizet fertőtlenítik, klórozással, nátrium-hipoklorittal vagy ritkábban ózonnal, UV sugárzással, majd befogadóba bocsátják (Barótfi, 2000; Barkács et al., 2012; Tchobanoglous et al., 2014).



1. ábra: Hagyományos háromfokozatú szennyvíztisztítás (Barkács et al., 2012)

A hagyományos szennyvíztisztítás nem képes teljes mértékben eltávolítani a legtöbb gyógyszerhatóanyagot, mivel a gyógyszerek általában nehezen biodegradálhatóak és így, ebből a szempontból, kiesik a szennyvíztisztítás biológiai fokozata. Sokszor a gyógyszeremennyiségeknek csak kevesebb mint 10%-át távolítja el a hagyományos szennyvíztisztítás, mivel az eltávolítást nehezíti a gyógyszerek stabilis, komplex szerkezete és kis koncentrációja (Rivera-Utrilla et al., 2013; Ikehata et al., 2006).

A nem biodegradálható, perzisztens mikroszennyezők lebontásához, vagy legalábbis biodegradálhatóvá tételéhez, hagyományos szennyvízkezelést kiegészítő technológiákra van szükség. Ilyen eljárások lehetnek az úgynevezett nagyhatékonyságú oxidációs eljárások (AOP-k), melyek számos hatóanyag lebontásában bizonyultak hatékonyak. Az AOP-k olyan technológiák, amelyek oxidáló hatású reaktív gyököket elsősorban hidroxilgyököt ($\text{OH}\cdot$) használnak a szennyezők eltávolításához. A leggyakoribb reaktív gyököket és a hozzájuk

tartozó AOP módszereket az 1. táblázatban foglaltam össze. A különböző AOP-k lényegében csak a gyökök előállítási módjában különböznek (von Sonntag, 2008). Majdnem minden esetben a lebontás alapvetően hidroxilgyökökkel történik.

1. táblázat: A gyakrabban alkalmazott nagyhatékonyságú oxidációs eljárások

Módszer	Reaktív köztitermékek
Ózonos kezelés O_3 vagy O_3/H_2O_2	$\bullet OH$, $HO_2\bullet$, $HO_3\bullet$, $O_2^{\bullet -}$, $O_3^{\bullet -}$
Fotokatalízis TiO_2/UV	$\bullet OH$, $O_2^{\bullet -}$
Fenton-reakció H_2O_2/Fe^{2+}	$\bullet OH$, $HO_2\bullet$
Foto-Fenton $H_2O_2/Fe^{2+}/UV$	$\bullet OH$
$H_2O_2/UV/O_3$	$\bullet OH$, $HO_2\bullet$, $O_2^{\bullet -}$, $O_3^{\bullet -}$
Szonolízis (ultrahangos bontás)	$\bullet OH$, $H\bullet$
Radiolízis ionizáló sugárzással	$\bullet OH$, e_{aq}^- , $H\bullet$

Az AOP-k jelentősége nem abban rejlik, hogy teljesen lebontják a perzisztens szennyezőket, hanem hogy biodegradálhatóvá teszik őket (De Bel et al., 2009). Környezetbarát technológiák, mivel szobahőmérsékleten és normál légköri nyomáson is alkalmazhatóak (Miklos et al., 2018; Mishra et al., 2017).

Az ózonos kezelés során az O_3 közvetlenül, átalakulás nélkül is képes oxidálni a szennyezőket, és közvetett módon is, az O_3 reakciói során keletkezett $\bullet OH$ -k segítségével. $\bullet OH$ kevésbé szelektíven és gyorsabban reagál a szennyezőkkel, mint az O_3 . Az $\bullet OH$, az O_3 és az OH^- reakciójával keletkezik, tehát lúgos közegben nagyobb az $\bullet OH$ hozama. Az O_3 reakciói során több reaktív gyök is keletkezik, de ezek közül az $\bullet OH$ a legfontosabb. Ha H_2O_2 -t is adagolnak az O_3 mellé, akkor megnő az $\bullet OH$ -k hozama és hatékonyabb lesz a szennyezők eltávolítása (Mishra et al., 2017).

A **fotokatalízisnél** valamilyen félvezető katalizátort használnak, leggyakrabban titán-dioxidot (TiO_2 -t). Az UV sugárzás hatására a félvezető anyagban egy elektron-lyuk pár keletkezik. Az elektron reakcióba léphet az oxigénmolekulával és $O_2^{\bullet -}$ keletkezik, miközben a visszamaradt lyuk a vizes oldat OH^- -jával reagál és $\bullet OH$ jön létre (Miklos et al., 2018).

A **Fenton-reakció** egy katalitikus reakció, ahol a H_2O_2 $\bullet OH$ -vá bomlik Fe^{2+} katalizátor segítségével. A Fe^{2+} közben Fe^{3+} -má oxidálódik, de később visszaalakul Fe^{2+} -vé, miközben $HO_2\bullet$ keletkezik a H_2O_2 -ből. Ennél a módszernél savas közegre ($pH = 2-3$) van szükség azért,

hogy ne váljon ki vasoxid-csapadék. A **Foto-Fenton** reakció esetében UV besugárzás segítségével megnövelik az $\bullet\text{OH}$ hozamát (Mishra et al., 2017).

Az ionizáló sugárzás alkalmazásánál a víz radiolízise során $\bullet\text{OH}$, e_{aq}^- és $\text{H}\bullet$ képződik. Erről bővebben a „2.3. Szennyvíztisztítás ionizáló sugárzással” fejezetben lesz szó. Az ionizáló sugárzás egyik nagy előnye más AOP-kkal szemben, hogy nincs szükség adalékanyagokra pl. katalizátorra, O_3 -ra vagy H_2O_2 -re, és az, hogy bármilyen hőmérsékletben és fázisban alkalmazható. Az ionizáló sugárzást a környezetvédelmi felhasználásán kívül a polimerek módosításánál is alkalmazzák, ezen kívül sterilizálásra és élelmiszerek besugárzására is használatos.

Az ionizáló sugárzást laboratóriumi és ipari alkalmazásánál elektrongyorsító vagy γ -forrás segítségével állítják elő. A γ -sugárzás forrásaként izotópokat használnak, általában ^{60}Co és ^{137}Cs izotópokat. A ^{60}Co izotóp használata elterjedtebb, mint a ^{137}Cs -é, mivel ha kijut az elzárt forrásból, akkor a rosszabb vízoldhatósága miatt biztonságosabb a ^{60}Co izotóp használata, mint a ^{137}Cs izotópé.

A környezetvédelemben elsősorban az ivóvíztisztítás és a szennyvízkezelés során alkalmaznak ionizáló sugárzást. Egyes esetekben fertőtlenítésre is használják, például szennyvíziszapok fertőtlenítése, hogy utána biztonságosan lehessen trágyázásra használni a kezelt iszapot.

A γ -sugárzások fotoeffektussal, Compton szórással, vagy párkeltéssel lépnek kölcsönhatásba az elnyelő közeg atomjaival. A szokásos γ -források estében a Compton-effektus a domináns. A Compton szórás során a gamma-fotonok energiájuk egy részének elvesztése közben szekunder elektronokat hoznak létre. Tehát a γ -források alkalmazása vizes oldatok esetén gyors elektronokat előállító módszer. Elektrongyorsítók esetén közvetlenül gyors elektronokkal sugározzák be a vizes oldatot.

A gyors elektronok átadják energiájuk egy részét a vízmolekuláknak. Az energiaátadás mértékét fejezi ki a lineáris energia átadás (linear energy transfer, LET). A LET definíciója az átadott energia osztva az úthosszal (eV nm^{-1}). A LET érték erősen függ az energiát kibocsátó részecske tulajdonságaitól. A gammasugárzás és a gyorsított elektronok is kisebb LET értékekkel jellemezhetőek. Másik fontos jellemző a sugárkémiai hozam, más néven G-érték. Ez azt adja meg, hogy 1 J sugárzási energia hatására hány mólnyi molekula vagy reaktív gyök keletkezik vagy alakul át. Mértékegysége: (mol J^{-1}) (Wojnárovits, 2007).

2.2. Fluorokinolon antibiotikumok

2.2.1. Fluorokinolonok általános jellemzői, hatásmechanizmusuk és alkalmazási területeik

A fluorokinolonok szintetikus antibiotikumok. Szerkezeti alapjuk egy kinolonváz, melyhez a bakteriális DNS termelődésének gátlásáért felelős karboxil- és ketocsoport kapcsolódik. A hatóanyag spektrumának bővítése, valamint a hatékonyságának növelése érdekében a fejlesztések során fluor oldalcsoportot, valamint piperazinil oldalcsoportot kapcsoltak az alapszerkezethez. Ezáltal a gyógyszer hatása erősebb lett, és hatékonyabbá vált a Gram-negatív baktériumok ellen és bizonyos mértékig a Gram-pozitív baktériumok ellen is (Shah, 1991; Andersson és Mac Gowan, 2003).

A fluorokinolonok rendkívül sokféle baktérium ellen használhatók, azaz széles spektrumú antibiotikumok. Gombák és paraziták ellen azonban nem hatékonyak, mivel kifejezetten a bakteriális DNS átíródását gátolják, tehát a baktériumok szaporodását akadályozzák meg. Mivel ahhoz, hogy zsíroldhatóak legyenek, és így be tudjanak hatolni a sejtekbe, ikerionos állapotban kell lenniük ezeknek a molekuláknak, ezért semleges pH-n, a két pK értékük között a leghatékonyabbak (Shah, 1991; King et al., 2000; Andersson és Mac Gowan, 2003).

A kinolonok a bakteriális DNS átírásáért felelős giráz (topoizomeráz II) enzimmel reagálnak, tehát megakadályozzák a bakteriális DNS átíródását. Az enzim gátlásával megszűnik a DNS replikáció és transzláció, így a baktérium nem lesz képes a szaporodásra és a fehérjeszintézisre. Ez nagyobb antibiotikum koncentráció esetén sejthalálhoz vezet. A fluorokinolonok csak a bakteriális DNS-t gátolják, az eukarióta sejtek DNS-ét nem, mivel az eukarióta sejtek nem tartalmaznak se DNS girázt (topoizomeráz II-t), se topoizomeráz IV-t. Tehát, mivel specifikusan a baktériumsejtekre hatnak ezért biztonságos a használatuk emberi alkalmazásnál és az állatgyógyászatban is (Shah, 1991; Redgrave et al., 2014; Dalhoff, 2012).

A norfloxacin és a ciprofloxacin második generációs kinolonok. (Az első generációba a fluor és piperazinil oldalcsoport nélküli kinolonok tartoznak.) A norfloxacin volt a legelső fluorokinolon, 1979-ben szintetizálták először és 1986 óta használják a gyógyászatban. A ciprofloxacint 1983-ban szintetizálták először és 1987 óta alkalmazzák. A ciprofloxacin az egyik leggyakrabban alkalmazott antibiotikum világszerte (Shah, 1991; King et al., 2000; Andersson és MacGowan, 2003). Mindkét említett fluorokinolont húgyúti fertőzéseknel, nemi betegségeknel és egyes bőrbetegségek esetén használják a leggyakrabban. Hatékonyak továbbá

a csontok és az ízületek fertőzéseinek kezelésére, valamint a hasmenés és tífusz esetén is (Landersdorfer, 2015; King et al., 2000). A súlyos mellékhatásaik miatt az új generációs fluorokinolonok kevésbé terjedtek el, mint az első és második nemzedék. Egyedül csak a moxifloxacinot használják gyakran közülük, a többi gyakrabban használt antibiotikum mind második generációs (Sprandel és Rodvold, 2003; Redgrave et al., 2014; EMEA/CHMP/382927/2008; EMEA/380454/2008).

Mivel a fluorokinolonok széles spektrumú antibiotikumok ezért nagyobb a rezisztens baktériumok kialakulásának veszélye, mint a specifikusabb antibiotikumok használata esetén. A baktériumok három féle úton válhatnak rezisztenssé a fluorokinolonokkal szemben: Egyes esetekben a DNS átírás mechanizmusa változik meg és így az antibiotikum nem tudja gátolni a bakteriális DNS-t. Másik esetben az antibiotikumok kevésbé könnyen hatolnak be a baktérium belsejébe, illetve a baktériumok efflux pumpával kijuttatják a bejutott antibiotikumokat. A rezisztens baktériumok terjedését gyorsíthatja a horizontális géntranszfer (King et al., 2000; Dalhoff, 2012; Redgrave et al., 2014). Mivel a fluorokinolonok viszonylag új antibiotikumoknak számítanak, ezért kevésbé tudott baktériumrezisztencia kialakulni velük szemben, mint a régebb óta használt antibiotikumokra (Liu és Mulholland, 2005). Ez a háttere, hogy a fluorokinolonokat inkább csak súlyosabb fertőzések esetén használják, továbbá azokban az esetekben mikor gyaníthatóan más antibiotikumokra rezisztens baktériumok okozták a fertőzést (Andersson és Mac Gowan, 2003).

Az emberi szervezetből vizelettel és széklettel távozó fluorokinolonok 80-90 %-a változatlan formájú (Shah, 1991). A hagyományos szennyvíztisztítás nem eléggé eredményes módszer, mivel egyes esetekben a gyógyszermolekulák csak kevesebb, mint 10 %-át távolítja el (Ikehata et al., 2006; Rivera-Utrilla et al., 2013). Az ikerionos formában jelenlévő fluorokinolonokat könnyebb eltávolítani a hagyományos szennyvíztisztítás során. Emiatt semleges pH-n ($\text{pH} = 7$) nagyobb az eltávolítás hatékonysága. Ebben valószínűleg az is közrejátszik, hogy az ikerionos formájú fluorokinolonoknak jobbak az adszorpciós tulajdonságai (He et al., 2015).

Mivel a fluorokinolonokat nehéz teljes mértékben eltávolítani a szennyvíztisztítás során, rendszeresen előfordulnak felszíni vizekben. He és munkatársai (2015) az Egyesült Államokban, Marylandben vizsgálták 11 féle fluorokinolon antibiotikum előfordulását a felszíni vizekben. Legnagyobb koncentrációban a ciprofloxacin és az ofloxacin fordult elő, de norfloxacin is sok helyen kimutatták. Mindhárom fluorokinolon $1-10 \text{ ng/dm}^3$ közötti koncentrációban fordult elő. Adachi és munkatársai (2013) 6 féle fluorokinolon antibiotikum

előfordulását vizsgálták Japánban az Oszaka környéki felszíni vizekben. Úgy találták, hogy ciprofloxacín és norfloxacín is előfordult a felszíni vizekben 0,1-570 ng/dm³ koncentrációban. Mindkét tanulmányban megállapították, hogy a felszíni vizekben jelen lévő fluorokinolonok gátolták az *E.coli* baktériumok szaporodását (He et al., 2015; Adachi et al., 2013).

2.2.2. Fluorokinolonok eltávolítása ionizáló sugárzással és egyéb AOP módszerekkel

A fluorokinolonokat többféle AOP módszerrel próbálták lebontani. A leggyakrabban ózonos kezelést, fotokatalízist, Fenton-reakciót vagy UV besugárzást alkalmaztak. Kevésbé elterjedt, de hatékony módszer az ionizáló sugárzás alkalmazása.

Több közlemény szerint az ózonos kezelés hatékony a fluorokinolonok eltávolításában (Rosal et al., 2008; De Witte et al., 2008; De Witte et al., 2009; Vasconcelos et al., 2009; De Witte et al., 2010; Liu et al., 2012). A tisztított szennyvizes minták kezeléséhez nagyobb ózonkoncentrációra és több időre volt szükség, mint a desztillált vízzel készült fluorokinolon oldatok esetében (Vasconcelos et al., 2009; De Witte et al., 2010). Például De Witte és munkatársai (2010) 2500 ppm ózonkoncentrációt alkalmaztak 45,3 μmol dm⁻³ ciprofloxacín eltávolítására, és úgy találták, hogy 42 perc kezelés elegendő desztvizes oldatok esetében, tisztított szennyvizeknél 79 perc szükséges. A ciprofloxacín, a norfloxacín és a lomefloxacín lebontására alkalmazva ózonos kezelést, (Liu és munkatársai, 2012) 5 mg dm⁻³ ózonkoncentrációnál hatékonyan találták a lebomlást, de a ciprofloxacín már 2 mg dm⁻³ ózonkoncentrációnál elbomlott (10 mg dm⁻³ fluorokinolon koncentrációk esetén). Arra jutottak, hogy •OH-re van szükség ahhoz, hogy a kinolonvázon történjen a lebomlás, az O₃ elsősorban a piperazinil oldalcsoportot támadja.

Az ózonos kezelés erősen pH függő, lúgos pH-n hatékonyabb. De Witte és munkatársai (2010) úgy találták, hogy pH 10-nél volt a leghatékonyabb a ciprofloxacín lebontása. Lúgos pH esetén a hozzáadott H₂O₂ csak lassította a lebontást, mert elfogyasztotta a reaktív gyököket (De Witte et al., 2010). Rosal és munkatársai (2009) 33 különböző gyógyszer eltávolítását vizsgálták kétféle módszerrel: ózonos kezelés lúgos közegben és szintén ózonos kezelés H₂O₂ hozzáadásával. Azt tapasztalták, hogy a legtöbb gyógyszer-molekulánál a H₂O₂ elősegítette a mineralizációt és ez a módszer volt a hatékonyabb, kivéve a fluorokinolonoknál, ahol az ózonos kezelés lúgos közegben H₂O₂ nélkül sokkal hatékonyabbnak bizonyult. Ez a különbség valószínűleg a fluorokinolon molekuláknak az egyéb gyógyszer-vegyületektől eltérő

szerkezetéből adódik, ugyanúgy, mint az, hogy a fluorokinolonok általában lassabban és kisebb hatékonysággal bomlottak le, mint az egyéb gyógyszer-molekulák. De Witte és munkatársai (2009) tanulmánya szerint viszont semleges oldatok (pH = 7) esetében, 10%-kal növelte a ciprofloxacin eltávolítási sebességét 10 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ H_2O_2 hozzáadása. Általánosan elmondható, hogy 2-50 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ hozzáadott H_2O_2 növeli az eltávolítás hatékonyságát, ennél nagyobb mennyiség viszont csökkenti, mert elvonja az $\bullet\text{OH}$ -kat.

Semleges és savas pH-n, a fluorokinolonok pK értékei alatt, a piperazinil csoport protonált formában van jelen és így kevésbé hatékony az ózonos bontás. Lúgos közegben, pH 10-nél a piperazinil csoporton jellemző a bomlás O_3 -mal történő reakcióval, pH 7-en viszont jellemzően az $\bullet\text{OH}$ reagál a molekula kinolonvázával. Ez utóbbi hatékonyabban csökkenti a bomlástermékek antibiotikus aktivitását. Semleges pH-n kevesebb $\bullet\text{OH}$ van jelen, mint lúgos pH értékeknél, mivel kevesebb $\bullet\text{OH}$ képződik. A pH érték erősen befolyásolja, hogy milyen bomlástermékek keletkeznek, ehhez képest a hozzáadott H_2O_2 -nak kicsi a hatása a keletkező bomlástermékekre (De Witte et al., 2008).

A TiO_2 -os fotokatalízis több közlemény szerint hatékony módszer a fluorokinolonok eltávolítására (Vasconcelos et al., 2009; An et al., 2010a; An et al., 2010b; Paul et al., 2010).

An és munkatársai (2010a) a ciprofloxacin lebontását vizsgálták TiO_2 -os fotokatalízissel. A kiindulási ciprofloxacin koncentráció 0,1 mmol dm^{-3} , és a TiO_2 koncentrációja 1,5 g dm^{-3} volt. A fotokatalízis során higanygőzlámpával állították elő az UV sugárzást. Úgy találták, hogy a pH nagyban befolyásolta a lebontás sebességét: 1,9-10,9 perc közötti felezési időket mértek a pH értéktől függően. A legrövidebb felezési időt pH 9-nél volt, a leghosszabbat pH 3-nál tapasztalták. pH 9-ig a lebontás hatékonyságának növekedését, e feletti pH-n viszont csökkenését tapasztalták. Tehát a sebességi állandó (k) értéke pH 9-nél volt a legnagyobb. Valószínűleg azért volt hatékony pH 9-nél az eltávolítás, mert ez a ciprofloxacin mindkét pK értéke feletti tartomány (pH 8,66 a nagyobb pK értéke). Úgy találták, hogy ha a TiO_2 felülete csak kismértékben negatívan töltött, ez segíti az adszorpciót, de ha túl nagymértékben, akkor már gátolja. Valószínűleg emiatt csökken pH 11 felett az eltávolítás hatékonysága.

Hasonló módszerrel távolították el a norfloxacin is (An és munkatársai, 2010b). Ebben az esetben 0,1 mmol dm^{-3} volt a kiindulási fluorokinolon koncentráció, és 2 g dm^{-3} a TiO_2 koncentrációja. Az UV forrás itt is higanygőzlámpa volt, viszont itt semleges pH-n (pH 7) végezték az eltávolítást. Úgy találták, hogy az eltávolítás hatékony volt, az eredeti norfloxacin

koncentrációnak, csak 0,2 %-a maradt meg a 30 perces kezelés után, és 180 perc alatt végbement a teljes mineralizáció is.

Paul és munkatársai (2010) a ciprofloxacín eltávolítását vizsgálták UV sugárzással és kétféle TiO₂-os fotokatalízissel. Úgy találták, hogy mindkét TiO₂-os fotokatalitikus módszer hatékonyabb volt, mint az UV-val történő eltávolítás. Az egyik fajta fotokatalitikus módszernél UVA volt a fényforrás a másiknál látható fény (Vis). Ezek közül az UVA fényforrásos módszer bizonyult hatékonyabbnak. A kiindulási ciprofloxacín koncentráció 0,1 mmol dm⁻³ volt és a TiO₂ koncentrációja 0,5 g dm⁻³. A Vis+TiO₂-os fotokatalitikus módszernél 50 perc után 95 % körüli eltávolítási százalékot értek el, az UVA+TiO₂-os módszernél 25 perc után teljes lebontást és részleges mineralizációt tapasztaltak. Valószínűsítették, hogy hosszabb idők esetén végbemegy a teljes mineralizáció is. Tehát mindkét fotokatalitikus módszer hatékony volt, de UVA fényforrás használatával gyorsabb volt a lebontás.

Vasconcelos és munkatársai (2009) szintén a ciprofloxacín eltávolítását vizsgálták TiO₂-os fotokatalízissel, viszont az eddigiekkel eltérően nem desztillált vízben vizsgálták a folyamatot, hanem kórházi szennyvízmintákban. A kórházi szennyvízminták eredetileg is tartalmaztak ciprofloxacint, de adagoltak is hozzá, olyan mennyiségben, hogy 0,6 μmol dm⁻³ legyen a kiindulási koncentráció. Ez egy reális koncentráció érték, mert a fluorokinolonok gyakran fordulnak elő ilyen koncentrációban a valódi szennyvizekben és a felszíni vizekben is. Ez a koncentráció viszont sokkal kisebb, mint az általában az AOP módszeres vizsgálatoknál használtak. A TiO₂ koncentrációja 0,57 g dm⁻³ volt, szintén kisebb, mint az eddigi közleményekben. A szennyvízminták lúgos pH értékűek voltak (pH 9), sok iont tartalmaztak és nagy volt a kémiai oxigén igény (KOI) értékük. Úgy találták, hogy 60 perc fotokatalízisre volt szükség a teljes ciprofloxacín mennyiség lebontásához. Tehát szennyvízmintákból is hatékony volt az eltávolítás a szennyvíz mátrixa ellenére.

A fluorokinolon antibiotikumokat hatékonyan távolították el Fenton, foto-Fenton és elektro-Fenton módszerek segítségével is (Giri és Golder, 2014; Yahya et al., 2014; De Souza Santos et al., 2015). A különböző Fenton módszerek esetében különböző kezelési idők szükségesek a hatékony lebontáshoz, viszont mindhárom módszer esetében a lebontás mellett hatékony mineralizáció is végbement. A Fenton és a foto-Fenton módszerek használatánál a Fe²⁺/H₂O₂ molarányra figyelni kell és a körülbelül 1:8 molarány volt ideális több közlemény szerint (Giri és Golder, 2014; De Souza Santos et al., 2015). Az elektro-Fenton módszer esetén a legfontosabb paraméterek az áramerősség és a Fe²⁺ koncentrációja voltak (Yahya et al., 2014).

A pH mindhárom módszernél lényeges jellemző és mindhárom módszernél a 3 körüli pH volt az optimális, mivel a Fenton módszerek kis pH-n hatékonyabbak.

Fenton módszert használva norfloxacin eltávolítására úgy találták, hogy a kiindulási ($0,05 \text{ mmol dm}^{-3}$) koncentrációnak 60 %-a elbomlott és 55 %-a mineralizálódott 60 perc alatt (De Souza Santos és munkatársai 2015). Az eltávolítási reakció paramétereinek a vizsgálata során megállapították, hogy $0,8 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ Fe}^{2+}$ koncentrációnál és $5,64 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ H}_2\text{O}_2$ koncentrációnál volt a leghatékonyabb az eltávolítás ($0,141 \text{ Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ mólarány). A foto-Fenton módszernél is hasonló mólarány volt az optimális ($0,125 \text{ Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ mólarány) Giri és Golder (2014) közleménye alapján. A szerzők ennél a módszernél 362 nm-es hullámhosszú UV fényt használtak, hogy megnöveljék az $\bullet\text{OH}$ hozamát. A foto-Fenton módszer esetében a kiindulási $0,05 \text{ mmol dm}^{-3}$ ciprofloxacin koncentrációnak 97,4 %-a bomlott el és 84,1 %-a mineralizálódott 45 perc kezelés után. 10 perc után a lebontás hatékonysága 80 % volt és a mineralizációé 60 % (Giri és Golder, 2014). Ez hatékony mineralizációt jelent. Az elektro-Fenton módszernél elektromos áramot használnak az $\bullet\text{OH}$ előállítására H_2O_2 helyett. Yahya és munkatársai (2014) ciprofloxacin eltávolítását vizsgálták elektro-Fenton módszerrel. A ciprofloxacin kiindulási koncentrációja $0,15 \text{ mmol dm}^{-3}$ volt. (A ciprofloxacin vízoldhatóbb sóját használták.) Úgy találták, hogy 10 perc kezelés alatt bomlástermékeire bomlott a ciprofloxacin, viszont csak 6 órás kezelés után mineralizálódott. Az optimális áramerősség 400 mA volt, a Fe^{+2} katalizátor koncentrációja $0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$, és a NaSO_4 elektrolit koncentrációja $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$.

Az ionizáló sugárzás egyszerre állít elő erősen oxidáló és erősen redukáló gyököket. Mindkét típusú gyök hatékonyan bizonyult a fluorokinolonok eltávolítására (Cho et al., 2014; Sayed et al., 2016).

Több kutatás során használtak impulzusradiolízist a fluorokinolonok és a reaktív gyökök közötti reakciók sebességi állandóinak meghatározására, viszont nem vizsgálták az ionizáló sugárzás hatékonyságát a fluorokinolonok eltávolítására (An et al., 2010a; An et al., 2010b; Zhang et al., 2011). Emiatt nem túl részletes az irodalma az ionizáló sugárzás hatásának a fluorokinolonok eltávolítására vizes oldatokból.

Sayed és munkatársai (2016) a ciprofloxacin eltávolítását vizes oldatokból vizsgálták gamma radiolízissel. Többféle kiindulási ciprofloxacin koncentrációt használtak $0,01 \text{ mmol dm}^{-3}$ -tól, $0,05 \text{ mmol dm}^{-3}$ -ig. Az alkalmazott dózis (elnyelt sugárzási energia) 0,1 és 0,9 kGy (kJ kg^{-1}) között változott. Úgy találták, hogy 0,4 kGy elnyelt dózis szükséges a kiindulási

0,01 mmol dm⁻³ ciprofloxacín több mint 80 %-ának eltávolításához. Nagyobb ciprofloxacín koncentráció (0,05 mmol dm⁻³) esetén 60 % volt a ciprofloxacín százalékos eltávolítási aránya 0,4 kGy, és 80 % 0,9 kGy elnyelt dózis esetén. A reaktív gyökök szerepét vizsgálva úgy találták, hogy főleg az •OH bontja le a ciprofloxacint, a H• és a e_{aq}⁻ kevésbé hatékonyak. Emiatt a N₂O gázzal telített oldatokban volt a leggyorsabb a lebomlás, majd a levegővel telítettekben, végül a N₂ gázzal telítettekben. A pH is befolyásolta az eltávolítás hatékonyságát, savas közegben gyorsabb volt a lebomlás, mivel a kisebb pH-n az e_{aq}⁻-k H•-vá alakulnak. Lúgos közegben viszont a H•-k e_{aq}⁻-vá alakulnak, és a több e_{aq}⁻ elvonja a hidroxilgyököket és így csökkenti az eltávolítás hatékonyságát.

A ciprofloxacín módosított, vízoldhatóbb változatát, a ciprofloxacín laktátot ionizáló sugárzással, gyorsított elektronok alkalmazásával távolították el Cho és munkatársai (2014). A kiindulási koncentráció 0,3 mmol dm⁻³ volt. Ez viszonylag nagy ciprofloxacín koncentráció, jóval nagyobb, mint amekkora általában előfordul a tisztítandó szennyvizekben. Háromféle dózissal sugározták be a mintákat: 1; 5 és 10 kGy-el. A nagy kiindulási ciprofloxacín koncentráció miatt az eltávolítás csak a 10 kGy dózis esetében volt hatékony. Az 1 kGy dózis esetében 38 %-os volt az eltávolítás, és csak 2 % teljes szerves széntartalom (TOC) csökkenést tapasztaltak. 10 kGy esetén 97 % volt az eltávolítási százalék és 53 % volt a TOC csökkenése, tehát ennél a dózisonál már a mineralizáció is jelentős.

2.3. Szennyvíztisztítás ionizáló sugárzással

A víz radiolízise és a reaktív köztitermékek

Amikor a híg vizes oldatokat kis LET értékű sugárzással sugározzuk be, például gammasugárzással vagy gyorsított elektronokkal, az energia túlnyomó részét a víz nyeli el és végbemegy a víz radiolízise, ennek során reaktív gyökök keletkeznek (1. reakció). Az energiaátadás az ionizáló részecskék pályája mentén nem homogén eloszlású. Az energialeadás jelentős részben kis csomagokban megy végbe, egymás közelében (az ún. spurban) több reaktív részecske (ion, gyök, stb.) jöhet létre, ezek kölcsönösen befolyásolják egymás továbbalakulási folyamatait.



Háromféle kompetitív folyamat megy végbe a spurban: bimolekuláris reakciók a primer gyökök között, pszeudo elsőrendű reakciósebességi állandóval jellemezhető folyamatok a primer gyökök és a gyökkelvonók között és a kidiffundálás a spurból a közeg belsejébe (az ún. bulkba).

A spurok körülbelül 2 nm átmérőjűek, általában 100 nm-re fordulnak elő egymástól és átlagosan 10^{-7} s élettartamúak, ezután végbemegy a spur expanszió és minden reaktív köztitermék kidiffundál a bulkba. A spur megszűnése után 10^{-7} s-nál a reaktív gyökök eloszlása homogénnek tekinthető híg vizes oldatok és kisebb LET-ek esetében. (A gammaradiolízis és az impulzusradiolízis energiái ebbe a LET-tartományba esnek (Wojnárovits, 2007)). A spurból kidiffundáló részecskék a homogén kinetika szerint vesznek részt kémiai reakciókban.

A víz radiolízise során az energiaelnyelődéssel kapcsolatos folyamatok három szakaszra bonthatók (2. ábra, Le Caër, 2011). A fizikai szakaszban ($0-10^{-15}$ s) a gyors elektronok a vízmolekulákat gerjesztik és ionizálják (2. és 3. reakció). A fizikai-kémiai szakaszban ($10^{-15}-10^{-12}$ s) az ionizált és a gerjesztett vízmolekulákból különböző reaktív köztitermékek keletkeznek: e_{aq}^- , H^\bullet , $\bullet OH$, $\bullet HO_2$, H_3O^+ , OH^- . Ezek közül a három legfontosabb a hidroxilgyök ($\bullet OH$), a hidratált elektron (e_{aq}^-) és a hidrogén atom (H^\bullet). Az $\bullet OH$ és az e_{aq}^- nagyobb sugárkémiai hozamokkal keletkeznek ($G = 0,28$ és $0,27 \mu mol J^{-1}$), a H^\bullet kisebbel ($G = 0,06 \mu mol J^{-1}$).

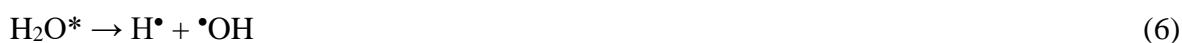
A hidratált elektron az elektron solvatációjával keletkezik. Ez úgy történik, hogy amikor az elektron elveszti energiájának egy részét, termikus sebességre lassul, akkor körbeveszik a vízmolekulák a pozitív részükkel befelé fordulva (4. reakció).



A H_2O^+ ionizálja a körülötte lévő vízmolekulákat és így H_3O^+ keletkezik, és közben $\bullet OH$ jön létre (5. reakció).



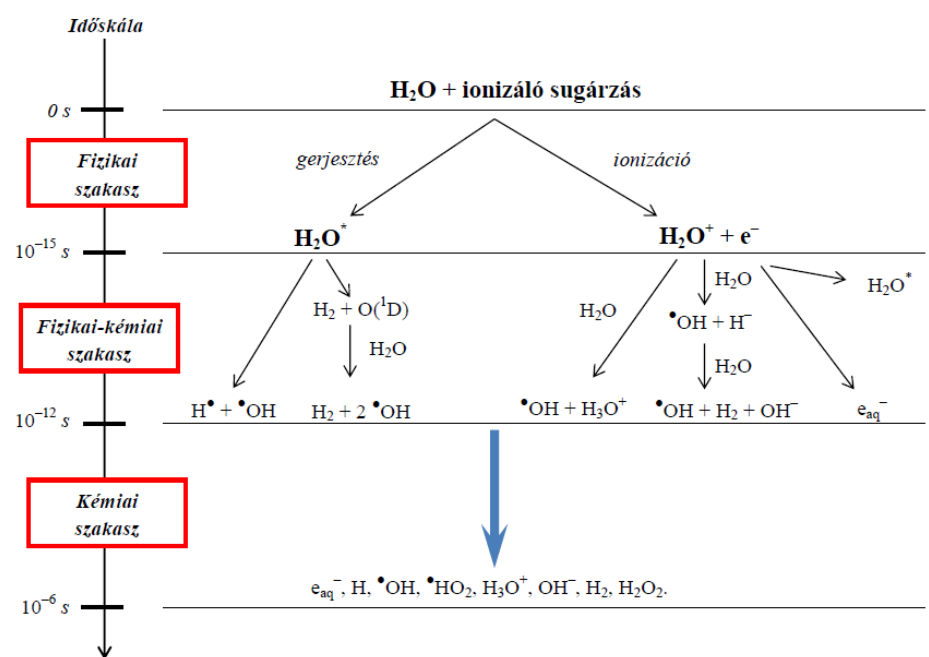
A gerjesztett vízmolekulák H^\bullet -ké és $\bullet OH$ -ké bomlanak (6. reakció).



A H^\bullet ezen kívül egy másik folyamatban is képződhet:



A kémiai szakaszban (10^{-12} - 10^{-6} s) játszódik le a fentebb említett, spurban végbemenő három kompetitív folyamat, egymással és a vízmolekulákkal is reagálhatnak a köztitermékek, illetve kidiffundálhatnak a spurból. A kémiai szakasz után megy végbe a spur expansziója, a spur megszűnik, és az összes reaktív gyök és egyéb termék a bulkba jut.



2. ábra: A víz radiolízise (Le Caër, 2011)

A három legfontosabb reaktív köztitermék közül az e_{aq}^- és a H^\bullet erősen redukáló tulajdonságúak, az $\bullet OH$ erősen oxidáló. Az $\bullet OH$ a legfontosabb köztitermék az AOP-k esetében, mivel erős oxidálószer és könnyen reakcióba lép a különféle szerves és szervetlen vegyületekkel. Az $\bullet OH$ könnyen addicionál a telítetlen kötésekre és az aromás gyűrűre is, és telített vegyületek esetén képes H-atomot elvonni a C-H kötésből.

A víz reaktív köztitermékeinek reakcióit jelentősen befolyásolja a pH. Savas pH-n több H^\bullet van jelen, mert az e_{aq}^- is H^\bullet -ké alakulnak, viszont lúgos pH-n több az e_{aq}^- , mert a H^\bullet -k e_{aq}^- -okká alakulnak. Lúgos tartományban pH 11 felett az $\bullet OH$ $O^{\bullet -}$ -vá disszociál és a H_2O_2 HO_2^- -vé (8. és 9. reakciók).



Levegőztetett híg vizes oldatokban a jelen lévő O_2 reagál az e_{aq}^{-} és $\text{H}\bullet$ részecskékkel, miközben szuperoxid-gyökkanion/perhidroxilgyök pár ($\text{p}K_a = 4,8$) keletkezik (10. és 11. reakciók).



A képződött $\text{O}_2\bullet^{-}$ és $\text{HO}_2\bullet$ gyökök kis sebességgel reagálnak az oldatban jelenlévő szerves vegyületekkel és általában H_2O_2 keletkezése közben távoznak az oldatból (12. és 13. reakciók). A H_2O_2 keletkezhet két $\bullet\text{OH}$ reakciójából is (14. reakció) (Wojnárovits, 2007).



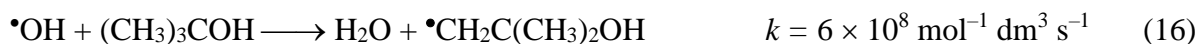
H_2 , H_2O_2 és az O_2 végtermékek. A H_2O_2 keletkezése nagyon lényeges, mivel gondot okozhat a mérések során mivel toxikus lehet a különböző biológiai rendszerekre. A természetes vizek életközösségei evolúciósan adaptálódtak bizonyos mennyiségű H_2O_2 jelenlétére, mivel ez a napsugárzás hatására is keletkezik, tehát kis koncentrációban ($10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ alatt) nem zavaró a jelenléte (Mostofa et al., 2012).

Gyökfogók hozzáadásával a primer gyökök szekunder gyökökké alakíthatóak, és így szelektíven tanulmányozhatók a reaktív közttermékek reakciói. Ha külön csak az $\bullet\text{OH}$ reakcióit szeretnénk vizsgálni, akkor N_2O -val telített oldatot célszerű alkalmazni, mert az N_2O az e_{aq}^{-} -t $\bullet\text{OH}$ -ké alakítja a (15) reakció során (Buxton et al., 1988):



Ilyen oldatokban az $\bullet\text{OH}$ gyökök hozama $G = 0,56 \mu\text{mol J}^{-1}$, de az $\bullet\text{OH}$ gyökök mellett $G = 0,062 \mu\text{mol J}^{-1}$ hozammal $\text{H}\bullet$ atomok is jelen vannak a rendszerben .

Az e_{aq}^{-} reakcióit leggyakrabban $0,1\text{-}0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ *tert*-butanol tartalmazó oldatban vizsgálják, amit N_2 gázzal telítenek, hogy ne legyen jelen az O_2 . A *tert*-butanol nem reaktív gyökké alakítja az $\bullet\text{OH}$ -t a (16) reakcióban.



Hasonló reakció megy végbe a *terc*-butanol és a H^\bullet között is.

A három fontosabb köztitermék közül csak az e_{aq}^- fényelnyelése esik olyan tartományba (elnyelési maximum 720 nm), hogy közvetlenül vizsgálhatjuk a reakcióit impulzusradiolízis segítségével (e_{aq}^- koncentráció lecsengését mérhetjük). Az $\bullet\text{OH}$ és a H^\bullet esetében a reakcióik során képződött, rövid életű gyökök fényelnyelése esik a mérhető tartományba, így ezeknek a felépülésén keresztül kaphatunk információkat a reakciósebességi állandókról.

Az impulzusradiolízis mérések során kinetikus spektrofotométerrel mérik az abszorbancia változásokat és ebből állapítják meg a keletkezett köztitermékek reakciósebességi együtthatóit.

A lejátszódó reakciók sebességi együtthatóját a következő egyenlet fejezi ki:

$$d[\text{R}]/dt = k [\text{M}] [\text{R}] = k' [\text{R}] \quad (17)$$

Ahol a k a másodrendű sebességi együttható, $[\text{M}]$ a vizsgált molekula koncentrációja (mol dm^3), $[\text{R}]$ a köztitermék gyök koncentrációja, k' a pszeudo-elsőrendű reakciósebességi együttható ($k' = k [\text{M}]$), és t az idő. A vizsgált molekula koncentrációja $[\text{M}]$ általában nagyságrendekkel nagyobb, mint a köztitermékéké $[\text{R}]$, így a reakció során $[\text{M}]$ gyakorlatilag állandó marad és a másodrendű reakció pszeudo-elsőrendűvé egyszerűsödik.

Az egyenlet integrálása és a Lambert-Beer törvény alkalmazása után, kapjuk meg a 18. egyenletet:

$$\ln A = \ln A_0 - k' t \quad (18)$$

Ahol A_0 a t_0 időnél mért abszorbancia, és A a t időnél mért abszorbancia. Ezt az egyenletet használják az e_{aq}^- esetében ahol közvetlenül lehet mérni 720 nm hullámhosszon a lecsengést, miközben az e_{aq}^- elreagál a vizsgált molekulával.

Az $\bullet\text{OH}$ és a H^\bullet esetében a reakcióik során képződött rövid életű gyökök felépülését mérik a pszeudo-elsőrendű reakciósebességi állandó meghatározásához. Ebben az esetben a 19. egyenletet használjuk:

$$\ln(A_\infty - A) = \ln A_\infty - k' t \quad (19)$$

Ahol A a t időnél mért abszorbancia és A_{∞} a képződött termék felépülése utáni abszorbancia. A kinetikai mérésekkor pszeudo–elsőrendű sebességi együtthatókat (k') határozzuk meg a kiindulási vegyület koncentrációjának függvényében. A pszeudo-elsőrendű reakciók esetében a reakciósebességi együttható egyenesen arányos a reakcióban részt vevő molekula (M) koncentrációjával. A pszeudo–elsőrendű sebességi együtthatók (k') koncentrációfüggésére illesztett egyenes meredeksége adja a reakcióra jellemző másodrendű sebességi együttható értékét (k) (Wojnárovits, 2007).

Integrálhatóság a szennyvíztisztításba, a megvalósítás lehetőségei

Az AOP módszerek hatékony kiegészítő módszerek lehetnek a szennyvíztisztításban és elsősorban utókezelésként illeszthetők a hagyományos szennyvíztisztítási technológiákhoz. Az utókezelésnek megvan az az előnye, hogy az $\bullet\text{OH}$ csak a hagyományos víztisztítási folyamat után visszamaradt perzisztens szennyezőkkel találkozik, a könnyebben lebontható szennyezőket az előző tisztítási lépésekben már eltávolították. Ha nem utókezelésként alkalmazzák, akkor a szennyvíztisztítás közben az $\bullet\text{OH}$ reagál a jelen lévő szerves ionokkal, (például a klorid, a karbonát és a bikarbonát-ionokkal), és a könnyebben eltávolítható szerves savakkal, mint például a humin- és az aminosavakkal is. Ionizáló sugárzás alkalmazásánál, ebben az esetben, túl nagy dózisa lenne szükség, és ez már nem lenne gazdaságos (He et al., 2016; Pikaev, 2000b). Utókezelésként alkalmazva és 10 kGy alatti dózisok esetén az ionizáló sugárzás használata gazdaságos és hatásos nagy vízmennyiségeknél is, tehát nagyüzemi szennyvíztisztításra is alkalmas a módszer (Pikaev, 2000b; Rivera-Utrilla et al., 2013). Például gamma sugárzás alkalmazásánál (^{60}Co sugárforrás), mindig 50 % feletti eltávolítást értek el különféle gyógyszermolekulákra. Egyes esetekben az eltávolítás hatékonyságát 100 %-hoz közelinek találták (Rivera-Utrilla et al., 2013).

Számos esetben alkalmazzák az ionizáló sugárzást víztisztításra, például kommunális és ipari szennyvizek kezelésére (Han et al., 2012; Han et al., 2016; He et al., 2016). Nagyüzemi méretű alkalmazásra is vannak példák (Han et al., 2012). Általában elektrongyorsítót használnak a víztisztítás során, mert praktikusabb és biztonságosabb, mint a gammasugárzás. Ritkábban előfordul gammasugárzás alkalmazása is ^{60}Co sugárforrással, olyan esetben, ahol megengedhető a kisebb kezelési sebesség (Pikaev, 2000a).

A nagyüzemi víztisztítás során elektronnyalábban történik a besugárzás, miközben a tisztítandó vizet vékony (<10 cm), vízrétegben áramoltatják, és esetleg porlasztják is, vagy levegőztetik. A porlasztás azért előnyös, mert ha aeroszol formában van a tisztítandó anyag, akkor kisebb energiájú (pl. 0,3 MeV-os) elektronok is elegendőek a besugárzáshoz (Pikaev et al., 1997). A levegőztetést gyakran kombinálják ozonizálással. Így nagyobb hatékonyságot lehet elérni és kisebb dózisok is elegendőek (Pikaev et al., 1997; Pikaev, 2000b). Az ozonizálás mellett ritkábban adszorpcióval, koagulációval vagy TiO_2 -os katalízissel is kombinálják az ionizáló sugárzásos módszert (Pikaev, 2000b; He et al., 2016).

A szennyvíztisztításnál szükséges dózis 0,4-0,5 kGy-tól pár kGy-ig terjedhet a szennyvíz fajtájától függően. Nehezen lebontható szerves anyagokkal szennyezett ipari szennyvizek esetében 3-7 kGy is lehet a szükséges dózis (Pikaev, 2000b). A szennyvizeket az ionizáló sugárzásos kezelés fertőtleníti, szagtalanítja és színteleníti, emiatt ez ideális utókezelés (Pikaev, 2000b; He et al., 2016). A hagyományos szennyvíztisztítás után általában 0,5 kGy dózis elegendő a kommunális szennyvíz utókezeléséhez, ez gazdaságosnak számít, viszont emellett néha ózonos kezelésre is szükség van a patogén mikroorganizmusok elpusztításához (Pikaev, 2000b).

Pikaev és munkatársai (1997) Oroszországban hoztak létre egy kísérleti üzemet kommunális szennyvíz tisztításához, ahol a szennyvizet porlasztás közben áramoltatták ózon jelenlétében. Tehát a besugárzás során aeroszol formájában volt jelen a szennyvíz, hogy növeljék a hatékonyságot és az ionizáló sugárzásos módszert ózonos kezeléssel kombinálták. Az üzem 500 m^3 szennyvizet tudott megtisztítani naponta. A besugárzásnál 1,3 kGy dózist használtak és ennek hatására 42 %-kal csökkent a szennyvíz KOI értéke. A besugárzás után még 50 %-kal csökkent a KOI érték mivel a kombinált ionizáló sugárzásos és ózonos kezelés hatására csapadék képződött, és ez segítette a maradék szennyezők eltávolítását. Ha a szennyvíztisztítás végén klórozták a szennyvizet, akkor kisebb dózisok is elegendőek voltak az utókezeléshez.

Nagyüzemű szennyvíztisztításnál, például nagyobb városokban egyszerre 4-5 elektrongyorsítót használnak az utókezelésre (Pikaev, 2000b). Han és munkatársai (2012) ipari méretű szennyvíztisztítónál alkalmaztak elektrongyorsítókat egy koreai textilüzem festékkel szennyezett vizének színtelenítésére és a szerves anyagok biodegradálhatóvá tételére. Úgy találták, hogy 1 kGy dózis elegendő ahhoz, hogy könnyebben biodegradálhatóak legyenek a szennyezők és 30-40 %-kal csökkentek a tisztított szennyvíz KOI és 5 napos biológiai oxigénigény (BOI₅) értékei a besugározatlan szennyvízhez képest. Han és munkatársai (2016)

egy kamionra szerelhető mobilis elektrongyorsítót is kifejlesztettek szennyvíz és füstgáz (széntüzelésű erőmű) kiegészítő tisztításához. A mobilegységgel azt is tesztelték, hogy hol lenne érdemes ipari méretben is alkalmazni az elektrongyorsítókat. Úgy találták, hogy a legtöbb szennyvíz fertőtlenítésére már 0,5 kGy dózis is elegendő.

He és munkatársai (2016) egy kínai textilgyár és festőüzem ipari szennyvizénél alkalmazták a besugárzást elektrongyorsítókkal azért, hogy megállapítsák, hogy elő- vagy utókezelésnek alkalmasabb-e a módszer. Úgy találták, hogy utókezelésnek sokkal hatékonyabb. A BOI_5/KOI arány alapján állapították meg a biodegradálhatóságot. Előkezelésként alkalmazva a módszert nem növekedett jelentősen a tisztított szennyvíz szennyezőinek biológiai bonthatósága, utókezelésként viszont 1 kGy dózis hatására 88 %-kal, 3 kGy dózis hatására 224 %-kal növekedett a biodegradálhatóság az eredeti értékhez képest. Ha az ionizáló sugárzást koagulációval kombinálták, akkor már 1 kGy dózis is elegendő volt az összes perzisztens szennyező lebontásához, tehát a kombinált módszer nagyon hatékonynak és gazdaságosnak bizonyult.

Jiangmen városában, Kínában 2020-ra készült el egy nagyüzemi szennyvíztisztító textilipari szennyvíz tisztításához. Az üzemben 7 elektrongyorsítót állítottak hadrendbe és 30 000 tonna festékkel szennyezett vizet tud megtisztítani naponta. A tisztított szennyvíz 70 %-át ezután újrahasználják a textilgyárban. A fél éves próbaüzem tapasztalatai alapján a besugárzás hatására 75 %-kal csökkent a szennyvíz KOI-ja és 90 %-os szintelenedést értek el (CGN 2020).

Az ionizáló sugárzásos kiegészítő kezelést alkalmazzák a textilgyári szennyvízen kívül más ipari szennyvizek tisztításánál is, például detergensok és klórozott szerves vegyületek, valamint benzolszármazékok eltávolítására, *terc*-butanol és peszticidek lebontására és a szeméttelpek kifolyó vizének ártalmatlanítására. Általában a szennyezők koncentrációjától, a pH-tól és a dózistól is függ a lebontás hatékonysága (Pikaev, 2000b).

3. Irodalmi áttekintés összefoglalása

A gyógyszerhatóanyagok kikerülése a természetes vizekbe korunk egyik jelentős megoldandó kérdése. Különösen az antibiotikumok veszélyesek ezen a téren, mert rezisztens baktériumok kialakulásához vezethetnek. A szennyvíztelepeken rezisztensekké vált baktériumok a tisztított szennyvízzel a természetes vizekbe kerülnek, ahonnan sok esetben egyben az ivóvizet is nyerik. Ezenkívül a természetes vizekben is kialakulhatnak rezisztens baktériumok, ha szennyezőként antibiotikumok vannak jelen. A hagyományos szennyvíztisztítás sok gyógyszerhatóanyag esetében nem eléggé eredményes módszer, mivel egyes esetekben a gyógyszermolekulák csak kevesebb, mint 10 %-át távolítja el. Emiatt kiegészítő kezelésre van szükség, különben a lebontatlan gyógyszermolekulák is a természetes vizekbe, illetve az ivóvízbe kerülnek. Az AOP-k hatékony kiegészítő kezelések lehetnek a gyógyszerhatóanyagok eltávolításánál.

A fluorokinolonok szintetikus antibiotikumok, stabilis a szerkezetük és nehezen biodegradálhatóak. A szakirodalmi áttekintés alapján többféle AOP módszerrel sikeresen távolítottak el fluorokinolonokat, például fotokatalízissel, ózonos kezeléssel és többfajta Fenton-reakcióval. Ezek a módszerek hatékonyak bizonyultak, viszont a legtöbb esetben az 50 % feletti mineralizációhoz hosszú, 1 órás vagy még hosszabb kezelési időkre volt szükség. Az eltávolítás hatékonyságát nagyban befolyásolta a pH. Ezeknél a módszereknél különböző adalékanyagokra van szükség és egyes esetekben módosítani kell a tisztítandó víz pH-ját, például a Fenton-módszerek csak kis pH-n hatékonyak. Az ionizáló sugárzás alkalmazásának előnye, hogy használata során nincs szükség adalékanyagokra és bármilyen pH-n hatékony, bár esetenként eltérő mértékben.

A fluorokinolonok lebontási hatékonyságát ionizáló sugárzás segítségével kevés tanulmány vizsgálta. Ezekből is a legtöbb munka a fluorokinolonok és a reaktív gyökök közötti reakciók sebességi állandóinak meghatározásával foglalkozik impulzusradiolízis segítségével, és ez mellett nem vizsgálták a hatékonyságot.

Mindössze két tanulmány vizsgálta részletesebben az ionizáló sugárzásos eltávolítás hatékonyságát fluorokinolonokra. Mind a két tanulmány ciprofloxacint vizsgált, viszont az egyikben a ciprofloxacin vízoldhatóbb változatát, ciprofloxacin laktátot használták. Utóbbi kísérletekben nagy antibiotikum koncentrációt alkalmaztak ($0,3 \text{ mmol dm}^{-3}$ -t), így csak 10 kGy bizonyult hatásosnak a lebontásban.

Az ionizáló sugárzással foglalkozó cikkek közül csak egy tanulmány vizsgálja a keletkező fluorokinolon bomlástermékeket és azok biológiai hatásait. Tehát az irodalomból lényegében hiányoznak a széleskörű vizsgálatok a fluorokinolonok ionizáló sugárzásos bontásáról és a folyamat során keletkező bomlástermékekről és azok biológiai hatásairól.

Az ionizáló sugárzás ipari alkalmazásának irodalmi áttekintése után egyértelmű, hogy az ionizáló sugárzásos AOP módszer jól alkalmazható ipari méretekben, hatékony és gazdaságos módszer. Szennyvíz utótisztításként hatékonyabbnak bizonyult a legtöbb tanulmány szerint, mint előtisztításként. Általában több, nagyobb teljesítményű elektrongyorsítót használnak nagyüzemi felhasználás esetén szennyvíz utótisztításra. Ennél a módszernél a tisztított szennyvizet porlasztják és vékony pár cm-es rétegben sugározzák be.

4. Célkitűzés

4. 1. A sugárkémiai lebontás hatékonysága, valamint a bomlási utak és termékek azonosítása

Az irodalomban számos hiányosság figyelhető meg a fluorokinolon típusú vegyületek vizes oldatainak ionizáló sugárzásos lebontása terén. A fluorokinolonokra vonatkozó általános bomlási mechanizmusokról nem áll rendelkezésre átfogó kép, másrészt a kiindulási vegyületek eltávolításának hatékonyságot célzó tanulmányok kiegészítésre szorulnak. Mind az általános bomlási mechanizmus részletes leírása, mind a lebontási hatékonyság pontos ismerete segítheti az ionizáló sugárzáson alapuló vízkezelési eljárások optimalizálását a jövőben.

A fent említett hiányosságok pótlására, komplex analitikai vizsgálatokat végeztünk fluorokinolon-tartalmú vizes oldatokon. A besugárzás hatására történő bomlási reakció – μ s-ok alatt lejátszódó – kezdeti lépéseit impulzusradiolízissel vizsgáltuk. A gammaradiolízis során keletkezett, nagyobb, szerves bomlástermékeket nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia és tömegspektrometria (LC-MS) segítségével különítettük el és azonosítottuk. A fluorokinolonok eltávolításának hatékonyságát szintén LC-MS technikával vizsgáltuk. A mineralizációt a TOC változásának mérésével, az oxidáltság fokát pedig a KOI változásával követtük nyomon. Továbbá, vizsgáltuk, hogy a besugárzás hatására megváltozik-e a minták nitrogéntartalma.

4. 2. A fluorokinolonok és a keletkező bomlástermékek biológiai vizsgálata

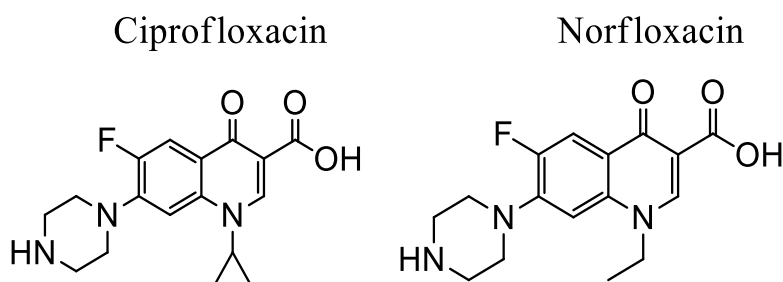
A bomlási mechanizmus és az eltávolítás hatékonyságának vizsgálata mellett, a munkánk során figyelmet fordítottunk a kiindulási vegyületek és a bomlástermékek biológiai rendszerekre gyakorolt hatására. Ennek környezetvédelmi szempontból nagy a jelentősége. A fluorokinolon vegyületek bomlástermékeinek antibakteriális aktivitásáról egyrészt kevés, másrészt ellentmondásos adatok állnak rendelkezésre. A környezeti hatások becslésében segíthet annak megállapítása, hogy a keletkező bomlástermékek milyen mértékben toxikusak és mennyire könnyen biodegradálhatóak. Megállapítottuk a keletkező hidrogén-peroxid koncentrációját is, mivel ennek a vegyületnek a jelenléte nagyban befolyásolhatja a biológiai méréseket.

Az antibakteriális aktivitást turbidimetriás módszerrel határoztuk meg, *Staphylococcus aureus* baktériumtörzs felhasználásával, míg az akut toxicitást *Vibrio fischeri* lumineszcencia gátlási teszttel követtük nyomon. A biodegradálhatóságot a biológiai és a kémiai oxigénigény arányból állapítottuk meg.

5. Anyagok és módszerek

5.1. A munka során felhasznált anyagok

A tesztvegyületként alkalmazott ciprofloxacint (CIP, 1-ciklopropil-6-fluoro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-1,4-dihidro-3-kinolinkarbonsav) és norfloxacint (NOR, 1-etil-6-fluoro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-1,4-dihidro-3-kinolinkarbonsav) a VWR Magyarország Kft.-től szereztük be (3. ábra). Az oldatok készítéséhez és a mérések során használt nagy tisztaságú ioncserélt vizet ADRONA SIA által gyártott, Crystal B30 HPLC típusú víztisztító berendezéssel állítottuk elő. A dozimetriai mérésekhez használt kálium-tiocianátot (KSCN) a Fluka Chemicals, a klórbenzolt a Merck Kft. szállította. A besugárzások során gyökfogóként használt *tert*-butanolt a Molar Chemicals Kft.-től vásároltuk. Az LC-MS vizsgálatokhoz használt HPLC tisztaságú acetonitrilt és hangyasavat szintén a Fluka Chemicals szállította.



3. ábra: CIP és NOR szerkezeti képlete

A toxicitás vizsgálatához használt tesztorganizmusokat, a liofilizált *Vibrio fisheri* (NRRL-B-11177) baktériumtörzset a Hach Lange Kft. szállította, míg az antibakteriális aktivitás vizsgálatához használt tesztorganizmusokat, a *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) baktériumtörzset a Szent István Egyetem biztosította. A tripto-kazein-szója tápoldatot a *Staphylococcus aureus* baktériumok számára a Biokar Diagnostics Kft.-től szereztük be. A BOI mérése során oltóanyagként alkalmazott eleveniszapot a Fővárosi Csatornázási Művek Dél-Pesti Telepének biológiai medencéjéből vételeztük.

5.2. Mintaelőkészítés

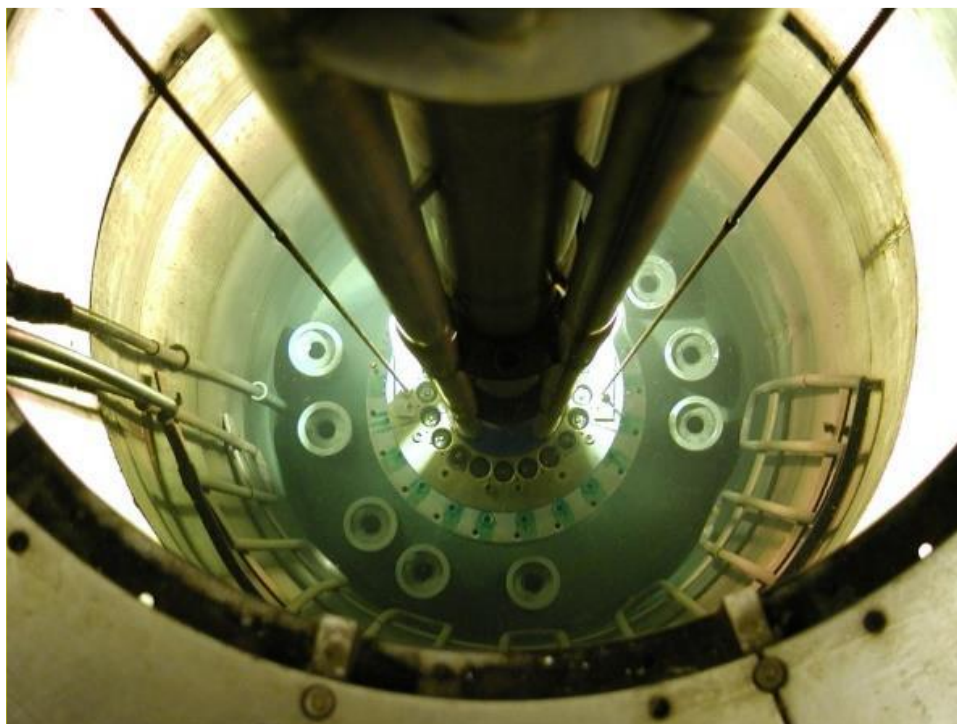
A kísérletekben alkalmazott CIP és NOR minták vizes oldatának kiindulási koncentrációját 0,1 mmol dm⁻³-ra állítottuk be. Ez a koncentráció ugyan nagyságrendekkel meghaladja a

szennyvizekben és a természetes vizekben mért értékeket, azonban lehetővé teszi a *célkitűzések* fejezetben megfogalmazott vizsgálatok megvalósítását.

Egyes esetekben, például a kalibrációs egyenesek felvételéhez és a reakciósebességi állandók meghatározásánál a hígítási sorokhoz kisebb koncentrációkat is készítettünk. Azokhoz az oldatokhoz, ahol csak az e_{aq}^- reakciót vizsgáltuk *terc*-butanol hidroxilgyökfogót is adtunk 5 V/V %-os koncentrációban. Az oldatokat ezután a ^{60}Co gamma besugárzáshoz 1 dm³-es, buborékoltatásra alkalmas üveg edénybe öntöttük, vagy a kisebb mintamennyiségek esetében 15 vagy 50 cm³-es üvegcsékbe és külön buborékoltatót használtunk. (Kisebb mintamennyiségeket például a hidrogén-peroxid koncentrációjának mérésekor és a biológiai vizsgálatokhoz használtunk.) A reaktív gyökök vizsgálatához 5 cm³-es ampullákat használtunk és az oldatokat különböző gázokkal (N₂, N₂O, levegő) telítettük közvetlenül az ampullák leforrasztása előtt. A lineáris elektrongyorsítóval történő besugárzáshoz 0,5 dm³-es, szintén buborékoltatásra alkalmas üvegtartályt használtunk.

5. 3. Besugárzás ^{60}Co gamma-forrással – gammaradiolízis

Az oldatokat az Izotóp Intézet Kft. által üzemeltetett félüzemi, panoráma típusú, ^{60}Co gamma-sugárforrást alkalmazó berendezéssel kezeltük. (4. ábra). A sugárforrás üzemen kívüli állapotban 4x4 m-es alapterületű vizesaknában helyezkedik el a padlószint alatt. A vastag vízréteg leárnyékolja a gamma-sugárzást és lehetőséget biztosít a minták elhelyezésére. A minták elhelyezését követően a kezelőteremből felhúzzák a sugárforrást, majd adott idő letelte után a sugárforrásokat újból leeresztik. A besugárzás hosszától függ a kapott dózis mértéke. A besugárzás során elnyelt dózisokat alkoholos klórbenzol dozimetriával határoztuk meg oszcillometriás detektálással. A sugárzás hatására a HCl képződik, melynek mennyisége arányos az elnyelt dózissal. A besugárzott oldatot nagyfrekvenciájú oszcillátor rezgőkör kapacitív cellájának két lapja közé helyeztük, és az oldat vezetőképességének változását mértük (Razem és Dvornik, 1987; Wojnárovits, 2007).



4. ábra: Az Izotóp Intézet Kft. ^{60}Co gamma-besugárzója

5. 4. Besugárzás lineáris elektrongyorsítóval – impulzusradiolízis vizsgálatok

Az impulzusradiolízis berendezés elektrongyorsítóból és a hozzá kapcsolt kinetikus spektrofotométer (UV-Vis) rendszerből áll. A nagyfrekvenciás TESLA LINAC LPR-4 típusú lineáris elektrongyorsító (LINAC = Linear Accelerator) (5. ábra) 4 MeV energiájú 800 ns impulzusidejű felgyorsított elektronokat állít elő.



5. ábra: A TESLA LINAC LPR-4 típusú lineáris elektrongyorsító

Az impulzusradiolízis technika jól alkalmazható a rövid élettartamú köztitermékek mérésénél. A néhány MeV energiára felgyorsított elektronok rövid μs időtartamú impulzusai hatására a víz radiolízise során rövid élettartamú elsődleges köztitermékek keletkeznek, ahogy azt a 2.3. fejezetben ismertettem, melyek közül a legfontosabbak az $\bullet\text{OH}$ az e_{aq}^- , és a $\bullet\text{H}$. Ezek az elsődleges köztitermékek lépnek reakcióba a híg vizes oldatban az oldott szerves anyaggal és szintén rövid élettartamú másodlagos köztitermékek keletkeznek, melyek fényelnyelése a koncentrációjukkal arányos. A kinetikus spektrofotométerrel a köztitermékek fényelnyelését, illetve az ezzel arányos koncentrációt követjük nyomon az idő függvényében (mikroszekundumtól a milliszekundumig terjedő tartományban). Az így kapott kinetikai görbék egy időhöz tartozó pontjaiból elkészítjük az egyes köztitermékek spektrumát. A spektrum maximumánál mért kinetikai görbék segítségével pedig közvetlenül meghatározzuk keletkezésük és bomlásuk sebességi állandóját. A legtöbb AOP módszernél a sebességi állandók meghatározása csak közvetett módon lehetséges.

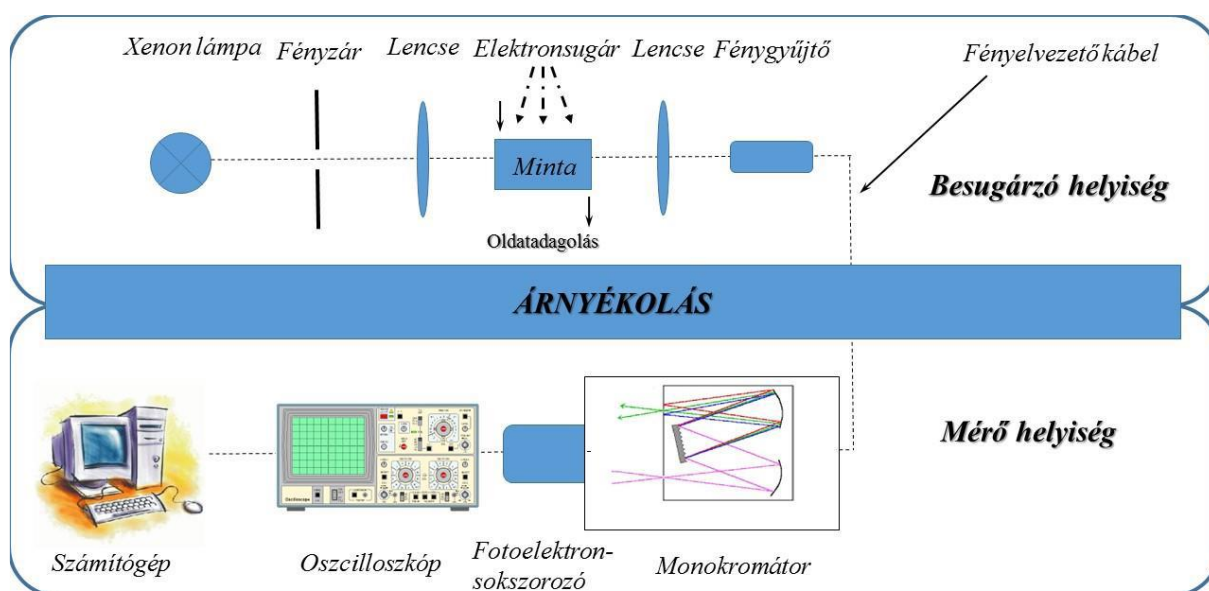
A besugárzó helyiségben található a mintatartó az 1 cm úthosszú átfolyó cellával, és a spektrofotometriai méréshez szükséges xenon lámpával, lencserendszerrel és fényzárral (6. ábra). A lencserendszer és a mérőcella anyaga nagy tisztaságú szintetikus kvarc. A lencserendszer biztosítja az optikai leképezést, a mérőcella előtt elhelyezkedő fényzár a minta melegedését és fotolízisét akadályozza meg. A mérőteremben helyezkednek el a kinetikus spektrofotométer további részei, a monokromátor, a fotoelektron-sokszorozó, az oszcilloszkóp, és a vezérléshez, adatgyűjtéshez és kiértékeléshez szükséges számítógép. A besugárzó helyiség sugárvédelemmel ellátott falakkal készült, hogy a mérőterem biztonságos legyen az emberek és a műszerek számára is.

A mintát $0,5 \text{ dm}^3$ térfogatú üveg besugárzó edényben helyezük a mintatartóba és innen kerül perisztaltikus pumpa segítségével az átfolyó cellába a mérés során. Az átfolyó cella azért szükséges, hogy mindig friss oldatot sugározzunk be és világítsunk meg, azaz a minta összetétele állandó legyen. A mintát a besugárzás előtt 20 percig és a besugárzás közben folyamatosan buborékolatjuk a mérés fajtájának megfelelő gázzal (N_2O vagy N_2). Az elektronok áthaladási irányára merőleges a xenon lámpával történő megvilágítás iránya az átfolyós cellában. A mérőcella a sugárnyaláb és az analízáló fény haladási útjának metszéspontjában helyezkedik el. Az elektrongyorsítóból kilépő elektronok energiája elnyelődik, a mintában és végbemegy a víz radiolízise. A monokromátor segítségével tudjuk változtatni a megfigyelés hullámhosszát, és digitális oszcilloszkóp segítségével követhetjük nyomon a jel időbeli alakját. A monokromátorból a fotonok a fotoelektron-sokszorozóba

kerülnek, ahol a fotokatódból elektronokat ütnek ki fotoeffektussal. Az elektronok ezután a dinódákra kerülnek, ami gyorsítja és sokszorozza őket. Az elektronok végül az anódra jutnak, ami ezt a felerősített elektromos jelet továbbítja a digitális oszcilloszkópnak. Az oszcilloszkópról az adatok számítógépre kerülnek, itt tároljuk és dolgozzuk fel őket.

Mivel a fluorokinolon minták mérése során elszíntelenedés lépett fel, vagyis a kiindulási vegyületek fényelnyelése a kisebb hullámhossz tartományban zavarta a mérést, ezért optikai szűrőt használtunk, ez kiszűrte a 400 nm-nél kisebb hullámhosszú tartományt a fénysugárból. A szűrőt a kvarc mérőcella elé erősítettük a fénysugár útjára merőlegesen.

A spektrumok felvételénél is 400 nm-től kezdtük a mérést és innen haladtunk a nagyobb hullámhosszok felé 5 nm-enként.



6. ábra: Az impulzusradiolízis berendezés felépítése (Wojnárovits, 2007)

Az impulzusradiolízis mérések esetében a dózisokat kálium-tiocianátos dozimetriával határoztuk meg. Ehhez $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ koncentrációjú kálium-tiocianát oldatot használtunk, amit a $0,5 \text{ dm}^3$ térfogatú üveg besugárzó edénybe töltöttünk és levegővel telítettük. A besugárzás hatására tiocianát-dimer-gyökanionok $((\text{SCN})_2^{\bullet-})$ keletkeznek. A keletkező gyökanionoknak 475 nm-en van a fényelnyelési maximumuk. Ezen a hullámhosszon tiocianát-gyökanionok fényelnyelési együtthatója $7580 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A mért abszorbanciaváltozásból számolhatjuk ki a pontos dózist (Wojnárovits, 2007; Buxton et al., 1988).

5. 5. A víz radiolízise során keletkező gyökök reakcióinak elkülönítése

A különféle reaktív gyökök vizsgálatához a frissen készített, nem pufferelt oldatokat ampullákba töltöttük és a megfelelő gázokkal telítettük azokat 4 percen keresztül közvetlenül az ampullák leforrasztása előtt. Négyféle oldatot készítettünk: az oldatokat dinitrogén-oxiddal, nitrogéngázzal vagy levegővel telítettük és egyes nitrogéngázzal telített oldatokhoz *tert*-butanolt, mint hidroxilgyökfogót is adtunk 5 V/V %-os koncentrációban. A mintákat 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 2; 4; 6 és 8 kGy dózissal sugároztuk be a ⁶⁰Co- γ besugárzó berendezésben. A besugárzás után Jasco 550 spektrofotométerrel fényelnyelési spektrumokat vettünk fel 1 cm fényút hosszúságú kvarcküvetében.

Dinitrogén-oxiddal telített közegben a hidratált elektron hidroxilgyökké alakul, így a hidroxilgyök reakcióit vizsgálhatjuk (15. reakció). A dinitrogén-oxid koncentrációja az oldatban körülbelül $2 \times 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$.

A N₂-nal buborékolatással távolítjuk el az oldott az oxigént a közegből. Ilyen körülmények között a hidratált elektron, a hidrogén atom és a hidroxilgyök reakciói is lejátszódnak a vizsgált molekulákkal.

A *tert*-butanol a hidroxilgyököt kevésbé reaktív gyökké alakítja így lehetőség van csak a hidratált elektron reakcióinak vizsgálatára (16. reakció), az oldott oxigén eltávolítása után.

Számos olyan vizsgálatot is végeztünk (például a fluorokinolonok koncentrációjának és a vízkémiai összegparaméterek meghatározásánál és a biológiai méréseknél), amelyeknél levegővel telítettük a szintén nem pufferelt és frissen készített oldatokat és a besugárzás közben is levegővel buborékolattuk, hogy elkerüljük az oldat oxigéntartalmának csökkenését. Ilyen körülmények között a hidroxil gyök ($\cdot\text{OH}$) a szennyezők lebontásáért felelős legfontosabb reaktív köztitermék (Wojnárovits, 2007; Wojnárovits és Takács, 2017). Különböző dózisokat használtunk 0,2 kGy-tól 10 kGy-ig. A mintamennyiségek 5 cm³-től 1 dm³-ig változtak.

5. 6. Fluorokinolonok koncentrációjának meghatározása

A fluorokinolonok koncentrációjának meghatározásához LC-MS/MS műszeres technikát alkalmaztunk. Ezt a módszert az 5.7.1.-es fejezetben ismertetem részletesen. A mennyiségi meghatározás kalibrációs egyenes felvételével történt.

5. 7. Termékanalízis

5. 7. 1. Folyadékkromatográfia-tömegspektrometria

A termékanalízis során LC-MS/MS műszeres technikát használtunk, ami nagyon szelektív módszer a gyógyszermolekulák és bomlástermékeik elválasztására és azonosítására. Ez a technika minőségi és mennyiségi meghatározásra is alkalmas. A kromatográfias mérés során elválasztjuk a kiindulási és a bomlástermékeket egymástól és a szerkezetüket is meghatározhatjuk.

A termékanalízis előtt a besugárzás ^{60}Co gamma-forrással történt, a besugárzás során az oldatokat levegővel telítettük.

Az azonosításhoz Agilent Technologies 6410 típusú, hármass kvadrupól HPLC–MS/MS készüléket használtunk (7. ábra). Az elválasztáshoz használt oszlop EVO C18 100A New Column típusú volt 100 x 3 mm oszlop jellemzővel. Az oszlopban az állófázist alkotó részecskék mérete 2,6 μm .



7. ábra: Agilent Technologies 6410 típusú, hármass kvadrupól HPLC–MS/MS berendezés

Az elválasztásokhoz gradiens elúciót alkalmaztunk, vagyis folyamatosan változtattuk a mozgófázis (eluens) összetételét. Kétféle eluent használtunk. „A” eluentként nagy tisztaságú ioncserélt vizet alkalmaztunk 0,1% hangyasavval, a „B” eluent, vagyis a szerves eluent HPLC tisztaságú acetonitril volt, szintén 0,1% hangyasavval. A gradiens elúció programját a 2. táblázat tartalmazza. Az eluent áramlási sebessége 0,2 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ volt. A méréseket pozitív ion módban végeztük, pásztázó módban, teljes ion szkennelést (SCAN) alkalmazva. Az ionizációs

forrás elektronspray (ESI) típusú volt. Az általunk alkalmazott módszerrel nem lehetséges megállapítani az azonosított bomlástermékekben az egyes csoportok, például a hidroxilcsoport pontos *orto*, *para* vagy *meta* helyzetét.

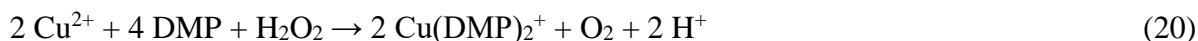
2. táblázat: A kromatográfiás elválasztás során használt gradiens elúció jellemzői

Idő (min)	Eluens A (%)	Eluens B (%)
0	95	5
18	10	90
20	95	5
25	95	5

5. 7. 2. Cu(II)/fenantrolin teszt hidrogén-peroxid méréséhez

Irodalmi adatok szerint jelentős mennyiségű H₂O₂ keletkezik a híg vizes oldatok besugárzásakor (Illés et al., 2017), mely nagymértékű toxikus hatást fejt ki a biológiai vizsgálatokban (Talinli és Anderson, 1992). Az oldatok H₂O₂ tartalmát Cu(II)/fenantrolin rendszeren alapuló gyorstesztrel (Merck-teszt) mértük. Ez a teszt a hidrogén-peroxid és a Cu(II)-ion redoxireakción alapszik 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (DMP) jelenlétében (20. reakció). A reakcióban élénksárga, stabilis Cu(DMP)₂⁺ komplex képződik, melynek koncentrációját spektrofotometriásan mértük 454,5 nm-en.

A mérés során 0,25 cm³-t adtunk 4 cm³-nyi mintához mindkét reagensből (fenantrolin és Cu²⁺), majd 20 perc várakozás után mértük az abszorbanciát Jasco 550 spektrofotométerrel, 1 cm fényút hosszúságú küvettát használva.



A hidrogén-peroxid koncentrációt az 21. egyenlet szerint határoztuk meg:

$$c[\text{H}_2\text{O}_2] = A/\varepsilon \quad (21)$$

Ahol *c* a koncentráció, *A* az abszorbancia, és ε a moláris fényelnyelési együttható. A ε meghatározásához kalibrációs egyenest vettünk fel ($\varepsilon_{454,5\text{nm}} = 16300 \pm 100 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

A biológiai vizsgálatok során a hidrogén-peroxid koncentrációja alapján korrigáltuk a mérési eredményeket Sági et al. (2018) módszere szerint.

5.8. Vízkémiai összegparaméterek

5.8.1. Kémiai oxigénigény

A kémiai oxigénigény (KOI) mérések az MSZ ISO 6060:1991 szabvány alapján történtek, kénsavas közegben és nagy hőmérsékleten.

A szabványtól kismértékben eltértünk, mert 30 cm³ mintát használtunk a szabványban szereplő 10 cm³ helyett, azért hogy ki tudjuk mutatni a várhatóan kis KOI értékeket is, mivel a szabvány szerint a módszer csak 30–700 mg dm⁻³ KOI értékű vizek esetében használható.

A minták roncsolását kálium-dikromáttal végeztük, Behrotest TRS 200 készülékben. A mintaoldatokat 150 °C-n termosztáltuk 2 órán keresztül. Ebben a reakcióban a kálium-dikromát (K₂Cr₂O₇) az oxidálószer és az ezüst szulfát (Ag₂SO₄) a katalizátor. A roncsolás után szobahőmérsékletűre hűtöttük a mintákat és a visszamaradt kálium-dikromát oxidálószerrel titrálással határoztuk meg vas(II)–ammónium–szulfát mérőoldat segítségével, ferroin indikátor jelenlétében. A mintákból három párhuzamos mérést készítettünk, a vakminta desztillált víz volt. Nátrium-hidrogén-ftalátot használtunk referencia oldatnak. A kémiai oxigénigényt 22. egyenlet szerint számítottuk és mg O₂ dm⁻³ mértékegységben tüntettük fel.

$$\text{KOI [mg dm}^{-3}\text{]} = (8000 \times c \times (V_b - V_s))/V_v \quad (22)$$

Ahol a *c* vas(II)–ammónium–szulfát mérőoldat koncentrációja, *V_b* a vakmintára fogyott mérőoldat (cm³), *V_s* pedig a mintára fogyott mérőoldat (szintén cm³). *V_v* a minta térfogata, ebben az esetben 30 cm³. A 8000 a 0,5 mol O₂ molekula moláris tömege (mg mol⁻¹).

5.8.2. Teljes szerves széntartalom

A teljes szerves széntartalom (TOC) jó indikátora a mineralizáció mértékének, a mérésekhez Shimadzu TOC-L CSH/CSN készüléket használtunk. A TOC meghatározására kétféle módszer terjedt el. Az egyik mikor a teljes széntartalom (TC) értékéből kivonják a teljes szervesetlen széntartalom (TIC) értékét (TOC = TC-TIC) (indirekt módszer). A másik, direkt módszer, amikor a nem kibuborékolható teljes szerves széntartalmat méri egy lépésben. Utóbbi módszer a fluorokinolonok vizes oldataiban nem volt használható, mert a fluorokinolonok

a melegítés hatására illékonyvá váltak és távoztak az oldatból, így nagy volt a mintavesztés. Emiatt az indirekt módszert alkalmaztuk a mérések során.

A teljes szerves széntartalom mérése katalitikus égésen alapszik. A minta egy platina katalizátort tartalmazó égetőcsőbe kerül. A katalitikus égetés során, 680 °C-on szén-dioxid képződik a minta széntartalmából. A képződött szén-dioxid mennyiségét nem-diszperzív infravörös detektálással (NDIR: Nondispersive Infrared Detector) mutatja ki a műszer. A teljes szerves széntartalmat (TIC) a készülék másik úton határozza meg. A minta itt az égetőcsövet kikerülve foszforsavval roncsolódik. A mintákból három párhuzamos mérést készítettünk, a vakmintának desztillált vizet használtunk, a készüléket nátrium-hidrogén-ftalát referencia oldattal kalibráltuk.

5.8.3. Teljes nitrogéntartalom

A teljes nitrogéntartalom meghatározása arról nyújt információt, hogy a besugárzás hatására megváltozik-e a minta nitrogéntartalma, keletkeznek-e illékony nitrogén-vegyületek. Ennél a mérésnél is Shimadzu TOC-L CSH/CSN készüléket használtunk. A meghatározás katalitikus égetésen alapul. A minta nitrogéntartalmából NO keletkezik 720 °C-on. A keletkező NO-t ózonnal gerjeszti a készülék és gerjesztett NO mennyiségét méri kemilumineszcens módszerrel. A mintákból három párhuzamos mérést készítettünk. A vakminta desztillált víz volt, a készülék kalibrálására KNO₃ standard oldatot használtunk.

5.9. Biológiai vizsgálatok

5.9.1. Biológiai oxigénigény (BOI)

A BOI méréseket a DIN EN 1899 szabvány alapján végeztük, eleveniszappal történő oltással. A H₂O₂ zavaró hatásának csökkentésére kétszeres hígítást alkalmaztunk. A biológiai oxigénigényt 21 napig mértük, de a 10 napos BOI méréseket (BOI₁₀) vettük alapul. A mérésekhez OxiTop[®] Control rendszert használtunk. A hígítóvizet az OECD Test No. 301 szerint készítettük és kondicionáltuk. 1 dm³ ásványi anyagokat tartalmazó hígítóvizet 20 cm³ szennyvíziszap felülúszóval oltottunk be. A besugárzatlan és besugárzott fluorokinolon minták pH-ját pH 7-8 közé állítottuk híg NaOH és HCl oldatokkal, majd az oltott hígítóvízzel kétszeresére hígítottuk őket. Vak és kontrolmintákat is készítettünk. Előbbi nagytisztaságú víz

és oltott hígítóvíz keveréke, utóbbi D-glükóz és L-glutamin standard oldat szintén oltott hígítóvíz hozzáadásával. Ezen kívül az abiotikus hatások elkülönítése érdekében vizsgáltunk oltatlan kontrollmintát is.

A módszer során a mikroorganizmusok oxigénfogyasztását mértük a zárt palackban történő nyomásváltozás alapján. 0,5 dm³-es légmentesen zárható barna üvegpalackokat használtunk, OxiTop[®] nyomásérzékeny mérőfejjel. Ezekbe töltöttünk 432 cm³-t a mintát és oltott hígítóvizet tartalmazó tesztkeverékből, túlfolyós lombik segítségével. A nitrifikáció gátlása érdekében allil-tiokarbamidot adtunk a rendszerhez, hogy csak a széntartalom biológiai bomlását mérjük. A zárt palackokban NaOH pasztillát helyeztünk el a gáztérben, ami megkötötte a mikroorganizmusok légzése során keletkező szén-dioxidot és így a mért nyomásváltozás arányossá vált az elfogyasztott oxigénnel. A 21 napos inkubációs idő alatt a mintákat sötét helyen tároltuk, folyamatos kevertetés mellett, 20±1 °C-on. Három párhuzamos mérést végeztünk. Az eredményeket a kontrolloldatok értékeivel korrigáltuk.

A biológiai bonthatóságot a biológiai és kémiai oxigén igény arányából (BOI/KOI) határoztuk meg.

5.9.2. Toxicitás

A toxicitási vizsgálatokhoz *Vibrio fisheri* baktériumot választottunk tesztorganizmusnak, mert érzékenyen reagál a különböző környezeti szennyezők akut toxicitásának változására. A vizsgálat során a *Vibrio fisheri* baktériumok természetes fénykibocsátását mérjük. Az akut toxicitást Microtox[®] lumineszcencia gátlási teszttel határoztuk meg, DIN EN ISO 11348-3 szabvány alapján, HACH–LANGE GmbH LUMISTox 300 luminométer segítségével (8. ábra). A teszt előnye, hogy gyors, kicsi a költségigénye és kevés mintamennyiséget igényel.

A *Vibrio fisheri* egy mélytengeri baktérium, így sós környezetre, állandó, meghatározott hőmérsékletre és pH értékre van szüksége. A pH 7-8 közé állított 15 cm³ térfogatú mintákhoz 0,3 g NaCl-ot adtunk. A mintákat 15±2 °C-on termosztáltuk a mérést megelőzően és a mérés közben is. A mérés során felhasznált reagenseket is ezen a hőmérsékleten tartottuk. A H₂O₂ zavaró hatásának csökkentése érdekében a mintákat desztillált vízzel a kétszeresére hígítottuk. A liofilizált baktériumokat 12,5 cm³ glükóz/NaCl oldattal reaktiváltuk 15±2 °C-n. 0,5 cm³ reaktivált baktériumot adtunk 0,5 cm³ fluorokinolon mintaoldathoz. A vizsgálat során a *Vibrio fisheri* baktériumok lumineszcenciáját mértük a teszt oldatok hozzáadása előtt és után 30

perccel LANGE LUMIStox 300 készülék segítségével. Két párhuzamost használtunk és háromszor ismételtük a vizsgálatot. A lumineszcencia gátlást a 23. egyenlet szerint határoztuk meg:

$$\text{Gátlás [\%]} = ((I_0 - I_{30}) / I_0) * 100 \quad (23)$$

Ahol az I_0 a baktériumok átlagos lumineszcencia intenzitása a tesztoldatok hozzáadása előtt, I_{30} pedig a tesztoldatok hozzáadása után 30 perccel.



8. ábra: HACH–LANGE Gmbh LUMIStox 300 luminométer

5.9.3. Antibakteriális aktivitás

A turbidimetriás antibakteriális aktivitás mérését *Staphylococcus aureus* baktériumtörzseken mértük 24 órán keresztül, Multiskan Ascent optikai denzitométerrel (Thermo Electron Corporation). Ebben a mérésben a keletkező H_2O_2 zavaró hatása elhanyagolható (Pérez-Moya et al., 2010).

Az antibakteriális aktivitás mérése nagyon fontos, mert az egyik legnagyobb környezeti kockázatot a kikerült antibiotikumok és metabolitjaik antibakteriális aktivitása okozza, mivel megnöveli a rezisztens baktériumok kialakulásának veszélyét. Az antibakteriális aktivitás méréseket a Szent István Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén végeztük.

A turbidimetriás antibakteriális aktivitás mérésben a baktériumnövekedés gátlását mérjük adott inkubációs idő alatt, vizes közegben, és ebből következtetünk az antibakteriális aktivitásra. Azért választottuk a *Staphylococcus aureus*-t, mert ennek a baktériumtörzsnek tagjai hajlamosak rezisztenssé válni a fluorokinolon baktériumokra (Gade és Quazi, 2013). Ezen kívül a fluorokinolonokat szokták alkalmazni a *Staphylococcus aureus* törzs okozta fertőzések kezelése során (Shah, 1991; King et al., 2000; Andersson és MacGowan, 2003; Dalhoff, 2012).

A baktériumokat ferde agaron tenyésztettük. Tripton-glükózt (Cat. No. 1.08346.9029) és élesztő kivonatot (Cat. No. 1.11926.1000) tartalmazó agart használtunk (TGE-agar, tryptone-glucose-yeast agar). Egy éjszakán keresztül tenyésztettük a baktériumokat és a rákövetkező napon sós-pepton vizes baktériumoldatot készítettünk, majd Grant bio DEN-1 denzitométer készülék segítségével 10^6 cm^{-3} sejtsűrűséget állítottunk be. A fluorokinolon mintaoldatokból 1:1 arányú hígítást készítettünk tápoldattal. Tripto-kazein-szója tápoldatot használtunk. A minta-tápoldat keverékekből $0,27 \text{ cm}^3$ -t helyeztünk a mikrotiter lemez egy-egy mintatartójába és ezeket $0,03 \text{ cm}^3$ baktériumoldattal oltottuk be. Három párhuzamos mintát használtunk és kétféle kontrollmintát. A negatív kontrollminta beoltott steril víz volt, a pozitív kontroll fluorokinolon tesztoldat oltás nélkül (baktériumoldat helyett steril víz), hogy kiszűrjük a szennyeződések. A mikrotiter lemezt 24 órán keresztül 37°C -on termosztáltuk. A baktériumok növekedését folytonos kinetikus leolvasási üzemmódban mértük optikai denzitométerrel 595 nm-en. A készülék minden 30 percben 20 másodpercen keresztül rázza a mikrotiter lemezt 600-as fordulatszámmal, így biztosítva a folyamatos keveredést.

Hígítási sorokat is mértünk a legkisebb gátlási koncentrációk (MIC, minimum inhibitory concentration) megállapítására. Az összes mikrobiológiai vizsgálat steril körülmények között zajlott.

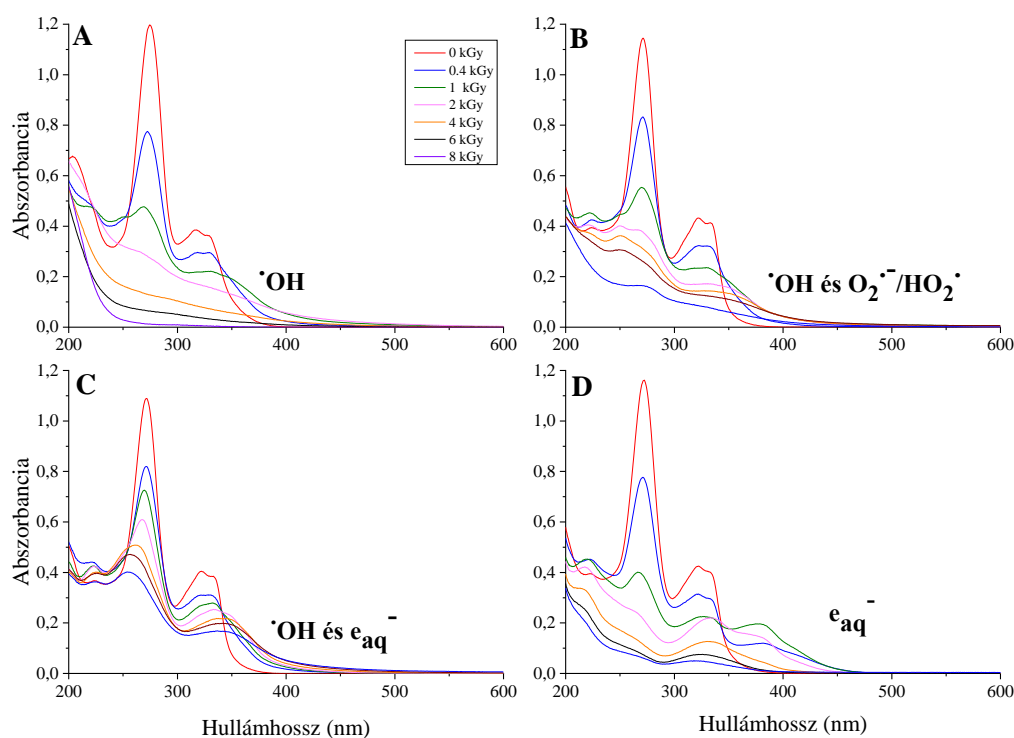
5.10. Statisztikai módszerek

Néhány mérési módszer esetében, a víz radiolízise során keletkező gyökök reakcióinak elkülönítésénél, a fluorokinolonok koncentrációjának meghatározásánál és a toxicitás mérésénél 2 párhuzamost mérést végeztünk. A többi mérési módszer esetén 3-5 párhuzamos mérésre került sor (egyes esetekben 2-5 ismétléssel). A több párhuzamos mérés a mérések reprodukálhatósága miatt fontos. Értekezésemben az átlagértékeket tüntettük fel, az adatok szórását standard hibaként adtuk meg. Annak megállapítására, hogy 2 adatsor statisztikailag szignifikánsan eltér-e egymástól kétmintás t-próbát végeztünk GraphPad tudományos statisztikai szoftver segítségével.

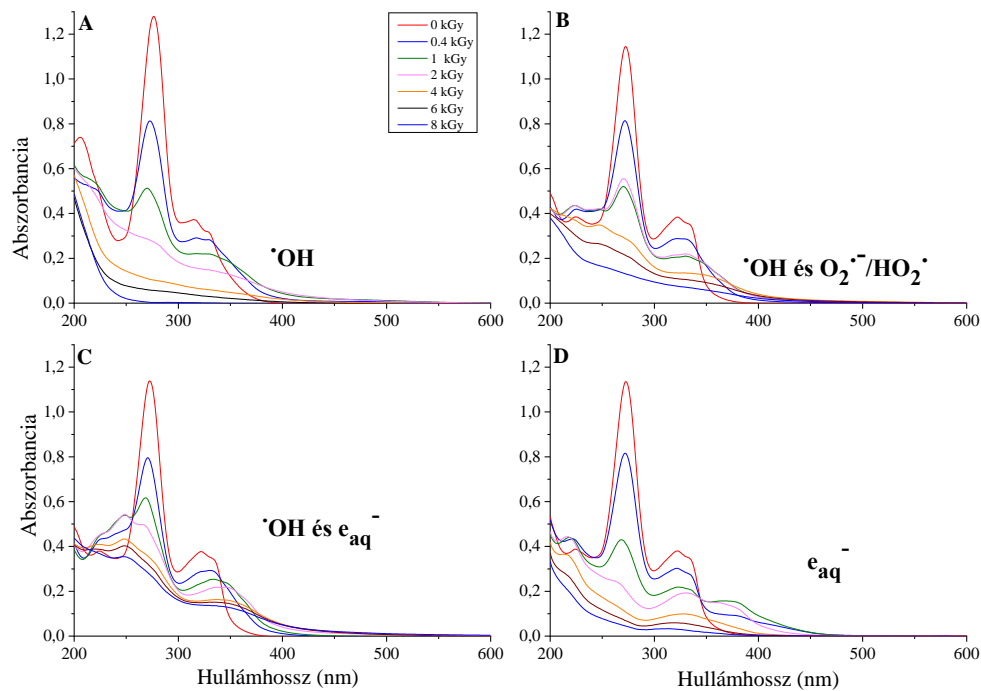
6. Eredmények és értékelésük

6. 1. A víz radiolízise során keletkező gyökök reakcióinak elkülönítése

A 0,1 mol dm⁻³ koncentrációjú besugárzatlan és különböző körülmények között ⁶⁰Co gamma-forrással besugárzott CIP és NOR oldatok spektrumai a 9. és 10. ábrán láthatóak. A spektrumokon két fő elnyelési sáv figyelhető meg, egy 275 nm-es maximummal $\epsilon_{\max} \approx 12000 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ moláris fényelnyelési együtthatóval és egy kisebb 310-340 nm körüli maximummal és $\sim 3000\text{-}4000 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ ϵ_{\max} értékkel. Ez utóbbi elnyelési sáv két maximummal rendelkezik. A két vegyület kémiai szerkezete közötti különbség nem nagy, így kiindulási vegyületek spektruma nagyon hasonló a két vegyületnél és a spektrumok besugárzásra is hasonlóan reagálnak.



9. ábra: CIP oldatok UV-Vis elnyelése négyféle reakcióközegben. A: N₂O-val telített közeg, B: levegővel telített közeg, C: N₂-vel telített közeg, és D: N₂-vel telített közeg *terc*-butanol hozzáadása mellett



10. ábra: NOR oldatok UV-Vis elnyelése négyféle reakcióközegben. A: N₂O-val telített közeg, B: levegővel telített közeg, C: N₂-vel telített közeg, és D: N₂-vel telített közeg *tert*-butanol hozzáadása mellett

Besugárzás után a 275 nm és a 310-340 nm körüli eredeti elnyelési sávok fényelnyelése lecsökkent. A spektrum megváltozott alakjából, illetve a maximumok helyének eltolódásából arra következtethetünk, hogy új kromofór csoportok keletkeztek. A 9. és 10. ábrákról látszik, hogy ezek a változások függenek a reakcióközegtől is.

A N₂O-val telített közegben, ahol csak a •OH van jelen a reaktív gyökök közül, viszont megnövelt hozammal (0.55 μmol J⁻¹), mindkét eredeti elnyelési sáv abszorbanciája intenzíven csökken az elnyelt dózis növelésével (9. A és 10. A ábrák). Az eredeti sávok abszorbanciájának csökkenésével párhuzamosan egy új sáv jelenik meg a 340 nm-nél nagyobb hullámhosszokon, majd 1 kGy feletti dózisoknál ez is eltűnik. Hasonló jelenség gyakran megfigyelhető mikor a •OH aromás molekulákkal reagál (Wojnárovits és Takács, 2008). Ezekben a reakciókban hidroxilált aromás vegyületek képződnek. Nagyon sok hidroxilált vegyület fenol típusú és erősen toxikus (Takizawa et al., 1996; Csay et al., 2014). A hidroxilcsoport nagyobb hullámhossz felé tolja el a fényelnyelési maximumot, ez látható 340 nm felett.

A 340 nm feletti elnyelési sáv a levegővel telített oldatoknál is megfigyelhető (9.B és 10.B ábrák) ahol a •OH-n felül az O₂•⁻/HO₂• gyökpár is reagálhat a vegyületekkel. A kiindulási

vegyület két elnyelési sávjának is gyorsan csökkent az abszorbanciája a levegővel telített oldatokban ugyanúgy, mint a N₂O-val telített oldatokban. Ez arra utal, hogy az O₂^{•-}/HO₂[•] gyökpár is reakcióba lép a CIP-el és a NOR-ral. Az irodalmi adatok is arra utalnak, hogy az O₂^{•-} gyök képes reagálni kinolon típusú vegyületekkel (Bielski et al., 1985).

2 kGy-nél, vagy nagyobb elnyelt dózisoknál eltűntek a kiindulási vegyületek és már csak a bomlástermékek voltak jelen az oldatokban. Az ezeknél a dózisoknál látható 275 nm-nél lévő és 310-340 nm körüli kisebb abszorbanciák már a termékektől származnak. A spektrumok alapján csökken a lebontás hatékonysága a növekvő dózis függvényében.

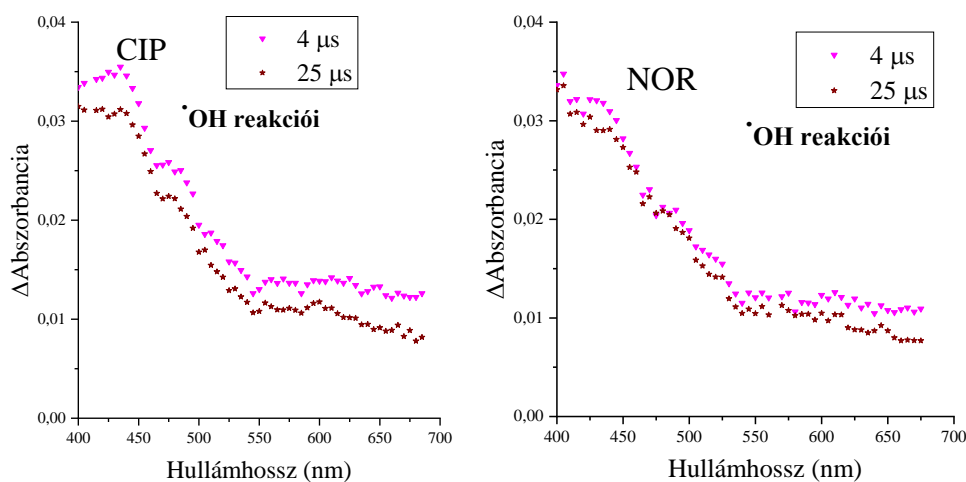
A nitrogénnel telített oldatokban az e_{aq}⁻ és az •OH a fő reaktív gyök (9.C és 10.C ábrák). A lebontás ilyen körülmények között a legkevésbé hatékony. Valószínűleg az e_{aq}⁻ (redukáló részecske), vagy annak a reakciójában keletkezett termék reagál az •OH (oxidáló részecske) reakciójában keletkezett termékkel (Homlok et al., 2011), ez rontja a hatékonyságot. Külön az e_{aq}⁻ reakcióit a *terc*-butanolt tartalmazó nitrogénnel telített oldatokban vizsgáltuk (9.D és 10.D ábrák). Az utóbbi esetben majdnem ugyanolyan gyorsan csökkent a kiindulási vegyületek elnyelési sávjainak abszorpciója, mint az •OH esetében, tehát az e_{aq}⁻ reagált a CIP-el és NOR-ral. Ennek a reakciónak eredményeképpen egy új abszorpciós sáv képződött 380 nm környékén. A másik három közegben nem látható ilyen sáv. 354 nm körül izobetikus pont jelenik meg a spektrumon a kisebb dózisoknál mindkét kiindulási vegyület esetében. Ez arra utal, hogy 310-340 nm körüli elnyelésű kromofór csoport egy új kromofór csoporttá alakul, melynek 380 nm körül látható az elnyelési sávja.

A nitrogénnel telített és *terc*-butanolt is tartalmazó oldatok sárga színűek lettek a besugárzás hatására. Ez a szín arra utalhat, hogy izatin analógok képződnek a lebomlás során (De Witte et al., 2008). (Az izatin egy konjugált indol származék.)

6. 2. Köztitermék analízis impulzusradiolízis vizsgálatokkal

Mindkét kiindulási vegyületnek, a CIP-nek és a NOR-nak és a bomlástermékeiknek is nagy a fényelnyelése 400 nm alatt (9. és 10. ábrák), ami az elnyelt dózissal folyamatosan csökken, ez a köztitermék analízist zavarná. Emiatt az impulzusradiolízis vizsgálatoknál optikai szűrőt használtunk a 400 nm alatti hullámhossz tartomány kiszűrésére.

N_2O -val telített közegben vettük fel az $\bullet OH$ adduktok spektrumait. A 11. ábrán láthatóak a CIP és NOR $\bullet OH$ addukt spektrumai 4 és 25 μs -al az impulzus után. A két vegyület esetén a spektrum nagyon hasonló, tehát hasonló reakciók játszódtak le. Egyféle köztitermék felépülése látható 425 nm maximummal, gyors felépüléssel és 25 μs -nél hosszabb idejű lecsengéssel.



11. ábra: A CIP és a NOR reakcióinak impulzusradiolízis spektrumai N_2O -val telített oldatokban; $c_0 = 0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$; dózis/impulzus: 20 Gy

Az aromás vegyületek és a $\bullet OH$ között lejátszódó első reakció általában $\bullet OH$ addíció az aromás gyűrűre melyben hidroxí-ciklohexadienil típusú gyökök (OH-adduktok) keletkeznek (24. reakció) (Wojnárovits és Takács, 2013).



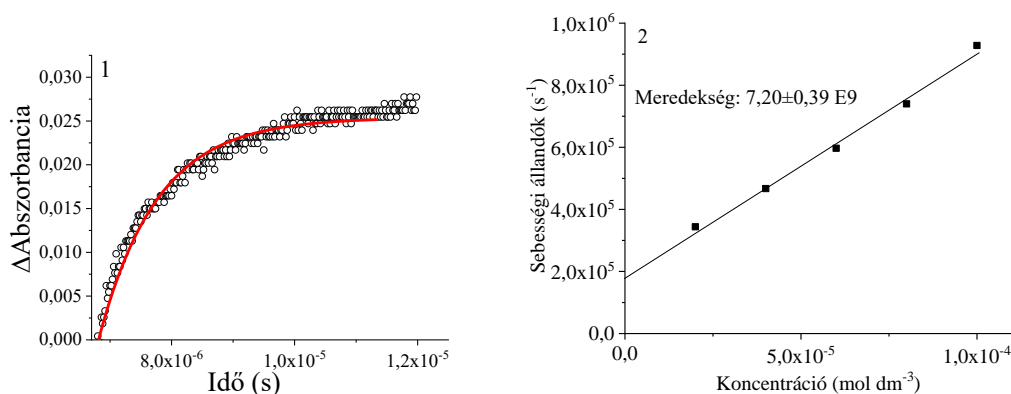
A hidroxí-ciklohexadienil típusú gyököknek 300 és 400 nm között van fényelnyelésük. Ezt nem tudtuk vizsgálni a kiindulási vegyületek abszorbanciája miatt, csak a 400 nm feletti tartományt. Az erősen konjugált gyökök elnyelése a nagyobb hullámhossz tartomány felé tolódik. Valószínűleg ezeket a sávokat látjuk összeolvadva a 400 nm feletti tartományban a 11. ábrán. A hosszabban elnyúló, enyhén csökkenő részt a spektrumon olyan köztitermékek elnyelése alkothatja ahol a kinolonvázra addicionálódott az $\bullet OH$. A kinetikai vizsgálatok (gyors elsőrendű felépülés megállapítása) is ezt az elméletet támasztják alá.

Az $\bullet OH$ különböző elektrontranszfer reakciókban is reagálhat a fluorokinolonokkal:



Ha az $\text{FQ}^{\bullet+}$ egy vízmolekulával reagál, akkor H^+ kilépése mellett hidroxí–ciklohexadienil típusú gyökök keletkeznek (26. reakció), ahogy Neta és munkatársai (1977) leírták a benzol-kationgyök esetében. Ha a második lépés elég gyors (26. reakció), akkor ezt a folyamatot nem lehet elkülöníteni a direkt addíciós reakciótól (24. reakció). Irodalmi adatok szerint az első lépésben képződő kationnak (25. reakció) 400 nm alatt van az elnyelése (An et al., 2010a és 2010b; Zhang et al., 2011).

A 425 nm körüli maximummal látható elnyelési sáv valószínűleg egy erősen konjugált ciklohexadienil típusú köztitermék keletkezését jelzi, ahogy már említettem. Az abszorbancia fokozatosan csökken a nagyobb hullámhosszok felé. A felépülés elsőrendű kinetikát követ (12. ábra (1.)). A pszeudo-elsőrendű reakciósebességi állandó lineárisan függ a CIP vagy a NOR koncentrációjától (12. ábra (2.)). A pszeudo-elsőrendű sebességi együtthatók koncentrációfüggésére illesztett egyenes meredeksége adja a reakcióra jellemző másodrendű sebességi együttható értékét. Az illesztett egyenes meredeksége $7,20 \pm 0,39 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$. Ez az abszolút módszerrel meghatározott másodrendű sebességi állandó.



12. ábra: 1.) 425 nm felvett felépülést mutató kinetikai görbe 2.) A pszeudo-elsőrendű reakciósebességi állandó koncentrációfüggése (Mindkét ábra a ciprofloxacin vizes oldatának impulzusradiolízis vizsgálatán alapszik.)

Ez az érték nagyon hasonló a más laboratóriumokban mért értékekhez (3. táblázat). Zhang és munkatársai (2011) szintén impulzusradiolízissel, hasonló sebességi állandót kaptak: $4,9 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t. Pereira és munkatársai (2007), Yuan és munkatársai (2011) és Kenn és Linden UV/ H_2O_2 kompetitív módszerrel határozták meg a sebességi állandókat és $6,22 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$, $7,5 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t, illetve $(7,8 \pm 0,3) \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t

mérték. Dodd és munkatársai (2006) ozonizálást és kompetitív módszert használtak a sebességi állandó meghatározására és $(4,1 \pm 0,3) \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t értéket kaptak. A mi mérésainknél és az irodalomban is 7-8 pH között volt az oldatok kémhatása. Ez a fluorokinolonok két pK_a értéke között lévő tartományba eső pH érték. A sebességi állandók közötti kis eltérések egyik lehetséges oka a pH értékek közötti kis különbségek és így a kismértékben eltérő protonáltság.

3. táblázat: A hidroxilgyök és a CIP és a NOR reakcióinak sebességi állandói

Módszer	k ($\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$)	Irodalom
Ciprofloxacin		
impulzusradiolízis, abszolút	$(7,20 \pm 0,39) \times 10^9$	<i>Jelen munka</i>
impulzusradiolízis, abszolút	$4,9 \times 10^9$	Zhang et al., 2011
impulzusradiolízis, abszolút	$(2,15 \pm 0,1) \times 10^{10}$	An et al., 2010a
UV/H ₂ O ₂ , kompetitív	$6,22 \times 10^9$	Pereira et al., 2007
UV/H ₂ O ₂ , kompetitív	$7,5 \times 10^9$	Yuan et al., 2011
UV/H ₂ O ₂ , kompetitív	$(7,8 \pm 0,3) \times 10^9$	Keen and Linden, 2013
O ₃ , kompetitív	$(4,1 \pm 0,3) \times 10^9$	Dodd et al., 2006
gammaradiolízis, kompetitív	$2,64 \times 10^9$	Sayed et al., 2016
<i>Átlag</i>	$(6,08 \pm 1,32) \times 10^9$ ^{a)}	
Norfloxacin		
impulzusradiolízis, abszolút	$(5,5 \pm 0,3) \times 10^9$	<i>Jelen munka</i>
impulzusradiolízis, abszolút	$8,0 \times 10^9$	Zhang et al., 2011
impulzusradiolízis, abszolút	$(6,18 \pm 0,18) \times 10^{10}$	An et al., 2010b
<i>Átlag</i>	$6,70 \times 10^9$ ^{a)}	

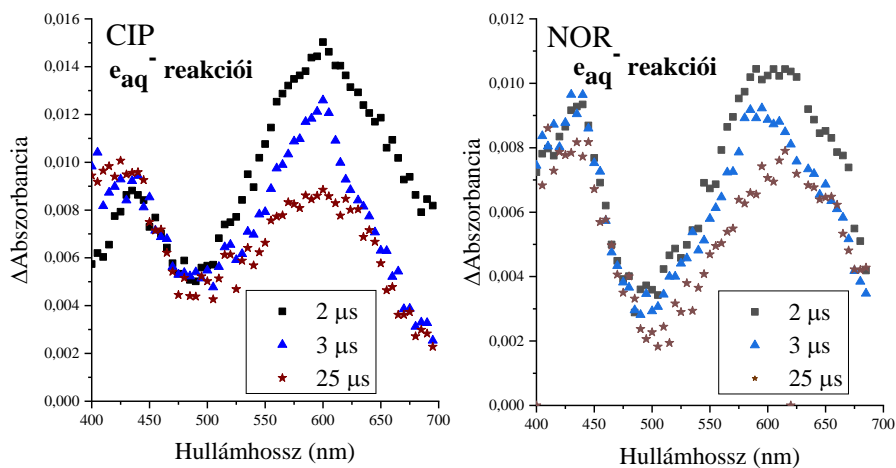
a) A nem reális sebességi állandó értékeket kihagytuk az átlag számításánál (pl. a nem megbízható mérési módszerrel meghatározott értékeket)

An és munkatársai (2010a) és Sayed és munkatársai (2016) az eddigi értékektől eltérő nagyságrendű sebességi állandókat írtak le. An és munkatársai (2010a) a $k_{\bullet\text{OH}}$ -t (vagyis az $\bullet\text{OH}$ sebességi állandóját) 290 nm-en mérték. Ezen a hullámhosszon az eredeti vegyületek elnyelése zavarja a mérést tehát nem várható reális eredmény (9. és 10. ábrák). $(2,15 \pm 0,1) \times 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t mérték, ez nagyobb, mint a diffúzió kontrollált sebességi állandó (Wojnárovits és Takács, 2013). Sayed és munkatársai (2016) kompetitív mérési módszert használtak és a fenolhoz viszonyítva mérték meg a ciprofloxacin sebességi állandóját. Az általuk mért $2,64 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ érték kisebb, mint az irodalomban található többi sebességi állandó, vagy mint az általunk mért érték. A fenol sebességi állandóját ($k_{\bullet\text{OH}}$ -t) $6,6 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -nak vették

(Field et al., 1982). Ha a korszerűbb módszerrel meghatározott, pontosabb $8,41 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ fenol $k_{\text{OH}\cdot}$ -t használjuk (Bonin et al., 2007), akkor $3,4 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t kapunk, de ez az érték még mindig kisebb, mint az irodalomban szereplő többi adat.

A NOR esetében a sebességi állandó ($k_{\text{OH}\cdot}$) $5,50 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$. Ez hasonlít a Zhang és munkatársai (2011) által mért értékre ($8,0 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$). Ennek a két értéknek az átlaga ($6,70 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$) közel áll a CIP átlagos sebességi állandójához ($(6,08 \pm 1,32) \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$) (az irodalmi adatokból és a saját értékünkéből átlagoltunk) (3. táblázat). Ezek az átlagok kevesebb mint egy nagyságrenddel vannak a diffúzió szabályozott határ alatt ($1,1 \times 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$, Wojnárovits és Takács, 2013), tehát a diffúzió és a kémiai reaktivitás is befolyásolja a reakciók sebességét.

N_2 -vel telített és *terc*-butanolt tartalmazó oldatokban vettük fel a hidratált elektron reakció köztitermékeinek spektrumait. A 13. ábrán láthatóak a CIP és NOR e_{aq}^- spektrumai 2; 3 és 25 μs -sel az impulzus után. Itt is nagyon hasonlít a CIP és a NOR spektruma, tehát szintén hasonló reakciók játszódhatnak le. Két elkülöníthető abszorpciós sáv látható 600 nm körüli és 425 nm körüli maximummal.



13. ábra: A CIP és a NOR reakcióinak impulzusradiolízis spektrumai N_2 -vel telített és $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ *terc*-butanolt tartalmazó oldatokban; $c_0=0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$; dózis/impulzus: 20 Gy

A nitrogénnel telített és *terc*-butanolt tartalmazó oldatokban a hidratált elektron eltűnési sebessége 650 nm körül egybeesik a 425 nm körüli abszorpciós jel felépülésével. A 600 nm körüli maximumú elnyelési sáv esetében nagyon gyors felépülést, majd 10 μs -es időskálán

mérhető lecsengést tapasztaltunk. Hasonló abszorpciós sávot figyeltek meg Monti és munkatársai (2001) is hidratált elektronok reakcióinál kinolon típusú molekulákkal. Ez az abszorpciós sáv valószínűleg a CIP és a NOR aniongyökös formáihoz tartozik. A 10 μ s-es időskálán mérhető lecsengés feltételezhetően az aniongyökös köztitermék protonálódásának az eredménye:



A hidratált elektronnal lejátszódó reakciók spektrumainál is látható a 425 nm körüli maximumú abszorpciós sáv, gyors felépüléssel és csak 25 μ s-nál hosszabb időknél kezdődő lecsengéssel. Ennek a sávnak más a kinetikája, mint a spektrumon látható 600 nm körüli sávnak. Valószínűleg a 425 nm maximumú sáv hasonló, ciklohexadienil típusú köztitermék keletkezését jelzi, mint a hidroxilgyökös reakcióban. Erre a következtetésre jutottak Zhang és munkatársai (2011) is.

4. táblázat: A hidratált elektron és a CIP és a NOR reakcióinak sebességi állandói

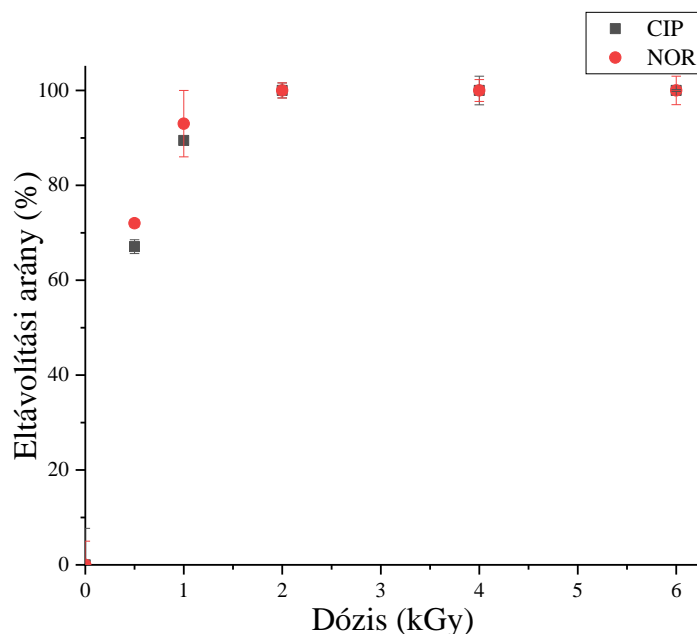
Módszer	k ($\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$)	Forrás
Ciprofloxacin		
impulzusradiolízis, abszolút	$(8,21 \pm 1,22) \times 10^9$	<i>Jelen munka</i>
impulzusradiolízis, abszolút	$6,0 \times 10^9$	Zhang et al., 2011
impulzusradiolízis, abszolút	$(2,65 \pm 0,15) \times 10^{10}$	An et al., 2010a
Norfloxacin		
impulzusradiolízis, abszolút	$(7,26 \pm 1,09) \times 10^9$	<i>Jelen munka</i>
impulzusradiolízis, abszolút	$5,2 \times 10^9$	Zhang et al., 2011
impulzusradiolízis, abszolút	$(1,18 \pm 0,10) \times 10^{10}$	An et al., 2010b

A hidratált elektronnal végbemenő reakciók sebességi állandóit 670 nm-nél mértük. Bomlási görbére illesztettünk az 19. egyenlet alapján. A CIP-re $(8,21 \pm 1,22) \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ -t kaptunk sebességi állandónak, ami közel van a Zhang és munkatársai (2011) által mért értékhez ($6 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$). NOR-ra $(7,26 \pm 1,09) \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ sebességi állandót kaptunk és ez is hasonlít a Zhang és munkatársai (2011) által meghatározott értékhez ($5,2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$) (4. táblázat). Az általunk és Zhang és munkatársai (2011) által mért sebességi állandók a hidratált elektronos reakciók esetében is a diffúzió kontrollált határ alatt vannak, tehát a diffúzió és a kémiai reaktivitás is befolyásolja a reakciók sebességét.

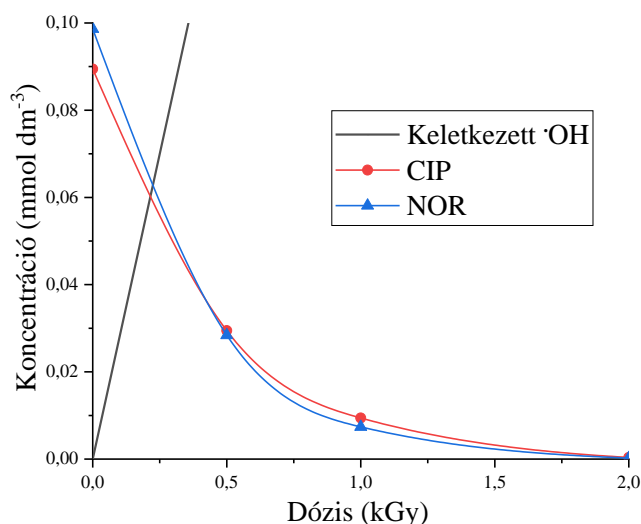
6. 3. Fluorokinolonok eltávolításának hatékonysága gamma-sugárzással

Az LC-MS/MS eredmények tanúsága szerint már 0,5 kGy elegendő ahhoz, hogy 70 % körüli százalékos eltávolítási arányt érjünk el ciprofloxacin és norfloxacin oldatok ($0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$) esetében (14. ábra). Ez az átalakulási arány $0,14 \mu\text{mol J}^{-1} \text{ G}$ értéknek felel meg, ami a keletkezett hidroxilgyök hozamának, vagyis $0,28 \mu\text{mol J}^{-1}$ -nak a fele (Wojnárovits and Takács, 2017). A koncentráció változása a dózis függvényében és az oldatba beinjektált hidroxilgyökök koncentrációja az 15. ábrán látható. Az elnyelt dózis további növelésével 2 kGy-nél a kiindulási anyag koncentrációja a kimutatási határ alá csökkent. Ezek az értékek hasonlítanak Sayed és munkatársai (2016) mérési eredményeire. Ciprofloxacin vizes oldatát vizsgálták $0,01 \text{ mmol dm}^{-3}$ kiindulási koncentrációval és úgy találták, hogy 0,4 kGy elnyelt dózis szükséges a kiindulási ciprofloxacin 80 %-ának eltávolításához.

Az ionizáló sugárzás hatékony módszernek bizonyult a fluorokinolonok eltávolítására. Viszonylag kis dózisu besugárzás követően a kiindulási vegyületek már nincsenek jelen az oldatban, csak a bomlástermékek.



14. ábra: A ciprofloxacin és a norfloxacin százalékos eltávolítási aránya az elnyelt dózis függvényében



15. ábra: A ciprofloxacín és a norfloxacín koncentrációja az elnyelt dózis függvényében, valamint az oldatba injektált hidroxil-gyökök mennyisége

6. 4. Termékanalízis

6. 4. 1. A keletkező bomlástermékek és a reakcióutak meghatározása (LC-MS)

Az LC-MS-sel végzett termékanalízisnél azt tapasztaltuk, hogy 0,5 kGy dózisonál mutatható ki a legtöbb ezzel a módszerrel detektálható, tehát nagyobb molekulatömegű gyűrűs bomlástermék és a csúcsintenzitások is ennél a dózisonál a legnagyobbak. Jellegzetes bomlástermékek a hidroxilált termékek, ezen kívül a dezetilén-ciprofloxacín és -norfloxacín, a kiindulási vegyületek antranilsav analógjai és defluorozott termékei. Az 5. táblázatban láthatóak az általunk meghatározott fontosabb CIP bomlástermékek (*jelen munka*) és az, hogy milyen bomlástermékeket találtak más laboratóriumokban. A 16. ábrán látható a NOR kromatogramja és fontosabb bomlástermékei.

Mindkét fluorokinolon esetében a hidroxilált termékeknek volt a legnagyobb csúcs alatti területük a bomlástermékek közül. A CIP esetében a hidroxilált termék m/z 348 (CIP+OH) a NOR esetében m/z 336 (NOR+OH). A hidroxil gyök addíciója történhet a kinolonvázon és a piperazin csoporton is (16. ábra (I); 5. táblázat (8)).

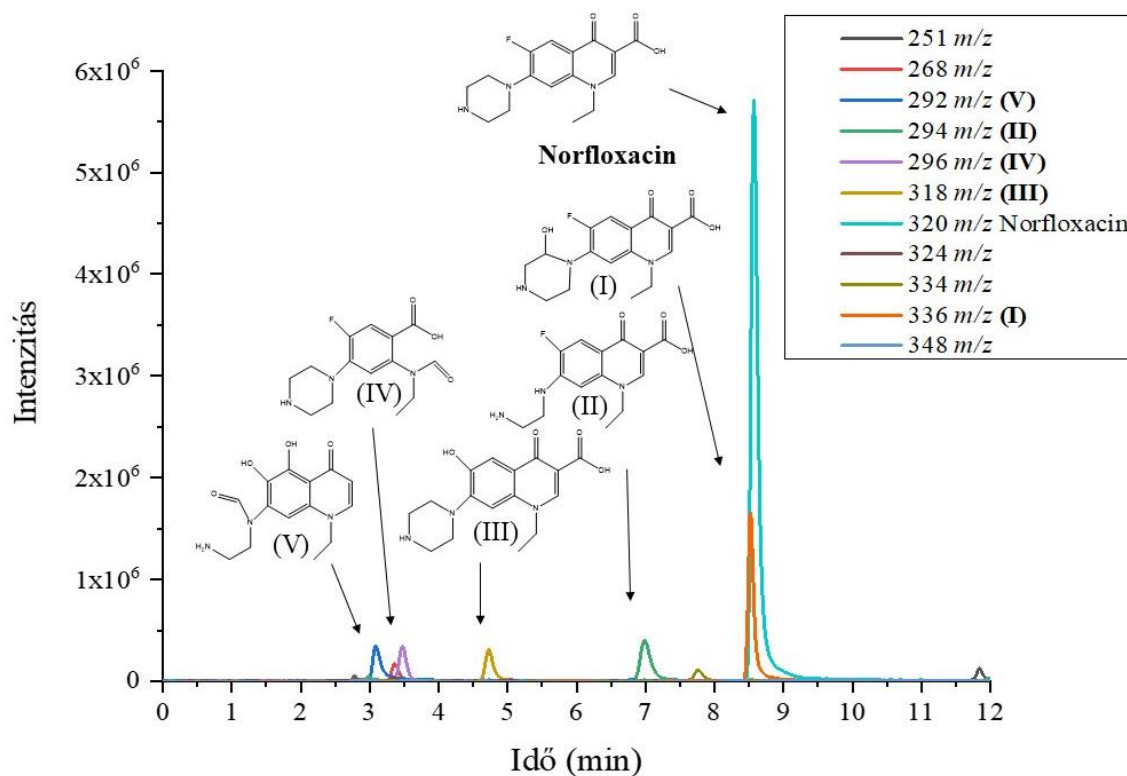
Ha a piperazin gyűrűn támad a hidroxilgyök dezetilén-ciprofloxacín vagy -norfloxacín keletkezhet. Ilyenkor a hidroxilgyök hatására felnyílik a piperazin gyűrű és egy etilén-csoport leszakad belőle. Az irodalmi adatok alapján ez a folyamat egy lépésben játszódik le és gyors

reakció (An et al., 2010a; Liu et al., 2012). (De Witte és munkatársai, (2008) több lépéses folyamatnak találták.) Ha a piperazin gyűrű kinyílik, akkor felgyorsul a lebomlás és általában leszakad a piperazin gyűrű (CIP bomlásterméke: m/z 263 (CIP-C₂H₂-C₂H₅N) (De Witte et al., 2008; An et al., 2010a; An et al., 2010b; Paul et al., 2010; Liu et al., 2012).

A piperazin csoport abban játszik szerepet, hogy semleges kémhatású közegben a molekula ikerionos legyen. A fluorokinolonok ikerionos formában zsíroldhatóak és könnyen át tudnak hatolni a baktériumok sejtmembránján. Tehát ha leszakad a piperazin gyűrű csökken a molekula antibakteriális aktivitása (Paul et al., 2010).

Amikor a kinolon vázon történik az átalakulás akkor is számos termék keletkezik viszonylag nagy gyakorisággal, például, defluorozott termékek vagy a CIP és a NOR antranilsav analógja (*o*-amino-benzoészav). A defluorozott termékek a fluoratom hidroxil-csoportra való cserélődésével keletkeznek egy lépéses folyamatban (An et al., 2010b; Paul et al., 2010; Yahja et al., 2014). A fluoratom segíti a sejtekbe való behatolást, a bakteriális DNS megkötését és annak gátlását, tehát a defluorozott termékeknek is kisebb az antibakteriális aktivitása (Shah, 1991; Paul et al., 2010; Andersson és MacGowan, 2003). A defluorozott termékek további bomlási folyamatokon mehetnek keresztül és ekkor további termékek keletkeznek például a defluorozott termék dihidroxil változatai (m/z 346 (CIP-F+OH), 5. táblázat (6)).

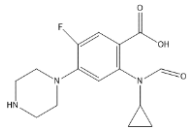
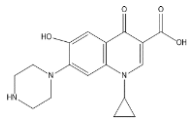
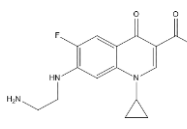
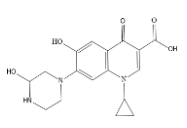
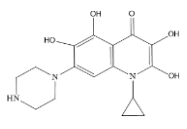
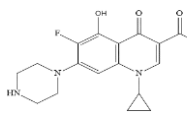
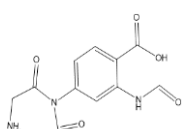
A NOR antranilsav analógjának a keletkezésekor a reakció szintén a kinolon vázon megy végbe a karboxil-csoporthoz kapcsolódó kettős kötésen. A reakció során, a kinolon váz felnyílik, a molekula elveszti karboxil-csoportját és a CIP és a NOR antranilsav analógjai képződnek (m/z 308 és m/z 296; 5. táblázat (3) 16. ábra (IV)) (De Witte et al., 2008; Liu et al., 2012). Ez a reakció irodalmi adatok szerint egy vagy többlépcsős (De Witte et al., 2008), illetve soklépcsős is lehet (Liu et al., 2012). A folyamat során a molekulák elveszítik a karboxilcsoportjukat, ami a bakteriális DNS gátlásáért felelős a keto-csoporttal együtt, és emiatt megszűnik antibakteriális aktivitásuk (Shah, 1991; Paul et al., 2010).



16. ábra.: Norfloxacin és bomlástermékeinek LC-MS kromatogramja

5. táblázat: A ciprofloxacin LC-MS/MS módszerrel azonosított bomlástermékei

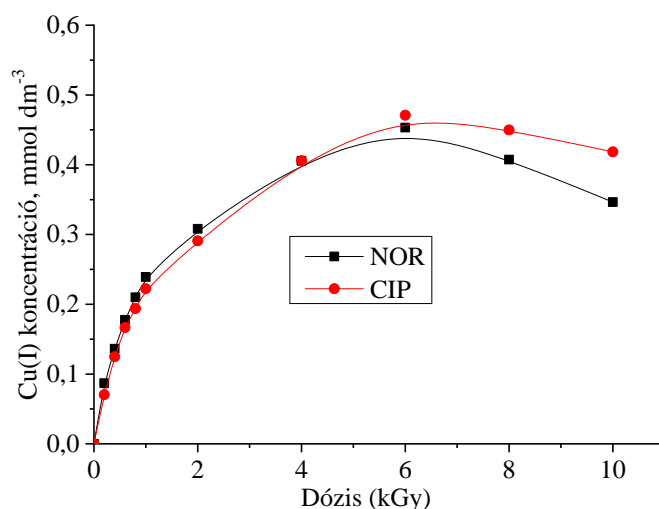
Retenciós idő (perc)	m/z	Szerkezeti képlet	Irodalmi hivatkozások
10.291	332 Ciprofloxacin	<chem>CC1CN(C1)c2cc(F)c3c(c2)C(=O)C(=O)O</chem>	
2.815	338 (I)	<chem>CC1CN(C1)c2cc(F)c3c(c2)C(=O)C(=O)O</chem>	<i>Jelen munka és Liu et al., 2012</i>
8.534	304 (2)	<chem>CC1CN(C1)c2cc(F)c3c(c2)C(=O)C(=O)O</chem>	<i>Jelen munka</i>

8.596	308 (3)		<i>Jelen munka és De Witte et al., 2008; Liu et al., 2012</i>
9.458	330 (4)		<i>Jelen munka és Paul et al., 2010; Cho et al., 2014</i>
9.916	306 (5)		<i>Jelen munka és De Witte et al., 2008, 2009, 2010; An et al., 2010a; Paul et al., 2010; Liu et al., 2012</i>
10.070	346 (6)		<i>Jelen munka</i>
10.285	334 (7)		<i>Jelen munka és An et al., 2010a; Yahya et al., 2014</i>
10.348	348 (8)		<i>Jelen munka és Yahya et al., 2014</i>
10.528	280 (9)		<i>Jelen munka</i>

6. 4. 2. A keletkező hidrogén-peroxid mennyisége

A hidrogén-peroxid erősen toxikus a mikroorganizmusokra (Juven és Pierson 1996; Sági et al., 2018), emiatt fontos nyomon követni a besugárzás során a hidrogén-peroxid koncentrációk változását. A levegővel telített és besugárzott CIP és NOR oldatokat Cu(II)/fenantrolin teszttel is vizsgáltuk. Ez a teszt a hidrogén-peroxid és a Cu(II)-ion redoxireakción alapszik 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (DMP) jelenlétében (20. reakció). A kiindulási vegyületeket tartalmazó oldatok esetében nem játszódott le ez a redoxireakció, csak a besugárzott oldatoknál. A besugárzott oldatokban folyamatosan növekedett a Cu(I) ion koncentrációja az elnyelt dózis

függvényében, a 6 kGy-nál lévő maximumig, ahol elérte a $0,47 \text{ mmol dm}^{-3}$ értéket. Ezután a Cu(I) koncentráció lassú csökkenését tapasztaltuk (17. ábra). Hasonló eredményeket kaptunk más aromás vegyületekre is a kutatócsoportunkban (Illés et al., 2017; Kovács et al., 2017). Ezek alapján egyértelművé vált, hogy nem csak a hidrogén-peroxid reagált a Cu(II) ionokkal, hanem a könnyen oxidálható fenol típusú vegyületek is. Tehát a 17. ábrán látható Cu(I) ion koncentrációk a képződött hidrogén-peroxid koncentrációjával arányosak, de kismértékben közrejátszik a könnyen oxidálható egyéb vegyületek hozzájárulása is. A növekvő szakasz meredekségéből $0,44 \mu\text{mol J}^{-1}$ hozamot (G-értéket) számoltunk. Ez valamivel nagyobb, mint az egyszerű aromás vegyületeknél mért hidrogén-peroxid hozam. Ha a hidrogén-peroxid főleg terminációs folyamatból képződik $\text{O}_2^{\bullet-}/\text{HO}_2^{\bullet}$ gyökökből, akkor a sugárkémiai hozam $0,14 \mu\text{mol J}^{-1}$. Ez sokkal kisebb érték, mint a mért $0,44 \mu\text{mol J}^{-1}$. Az első bomlástermékek között sok fenol típusú vegyület jelenik meg (6.4.1. fejezet). A nagy G-érték ($0,44 \mu\text{mol J}^{-1}$) valószínűleg annak az eredménye, hogy könnyen oxidálható fenol típusú vegyületek is reagáltak a Cu(II) ionokkal, nem csak a hidrogén peroxid. Ez alapján figyelembe kell venni a Cu(II)/fenantrolin teszt eredményeinek értékelésénél, hogy a mért adatot a keletkező bomlástermékek is befolyásolhatják.



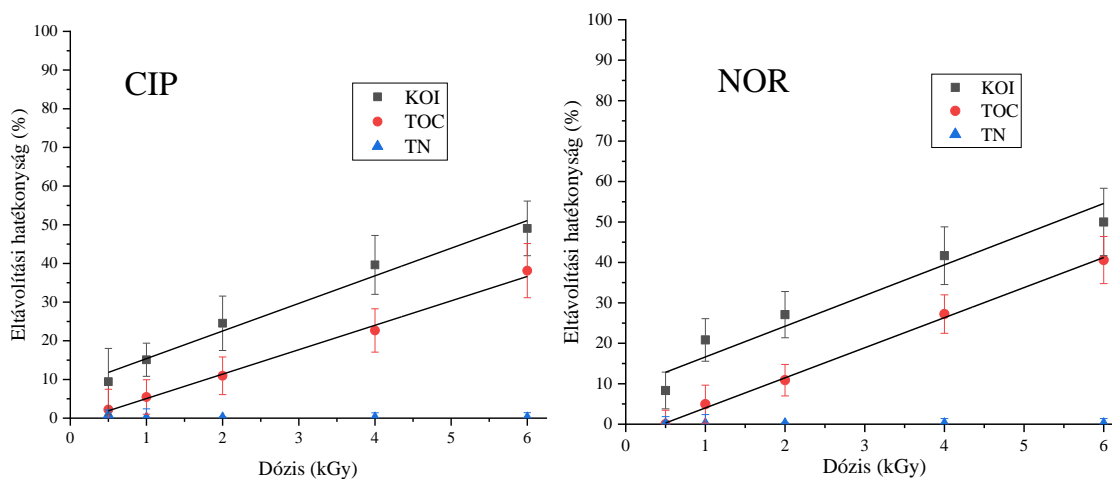
17. ábra: A hidrogén-peroxid és a könnyen oxidálható vegyületek koncentrációja hidrogén-peroxid egyenértékben az elnyelt dózis függvényében

6. 5. Vízkémiai összegparaméterek változásai a besugárzás hatására

6.5.1. Kémiai oxigénigény

A kémiai oxigénigény a lebontás során végbemenő oxidációs folyamatokat jellemzi.

A kiindulási vegyületek eltávolítása 2 kGy elnyelt dózis hatására mindössze 25 és 27 % kémiai oxigénigény (KOI) csökkenéssel párosult CIP illetve NOR esetében. A kiindulási oldatok mért KOI értéke közel vannak az elméleti KOI értékekhez. A kémiai oxigénigény eltávolításának mértéke a dózis függvényében 0,5 kGy dózistól kezdve lineárisan növekszik (18. ábra). Az illesztett egyenesek azonos meredekségűek a CIP és a NOR oldatokban, mind a kémiai oxigénigény (KOI) mind a teljes szerves szén (TOC) értékek esetében, viszont a KOI értékek minden elnyelt dózis esetén nagyobbak, mint a TOC mérés eredményei. A lineáris összefüggés arra utal, hogy hasonló sebességi állandóval reagálhatnak a keletkezett bomlástermékek is a hidroxilgyökkel, mint a kiindulási vegyületek. A KOI 50 %-nak eltávolításához 6 kGy-re volt szükség. Amint az eredmények mutatják, egészen nagy dózissal, mint 6 kGy, sem sikerült nagy mértékű KOI eltávolítást elérni.



18. ábra: A KOI, a TOC és a TN változása az elnyelt dózis függvényében a ciprofloxacin (CIP) és a norfloxacin (NOR) esetében

6.5.2. Teljes szerves széntartalom

Ahogy azt a 18. ábra mutatja, a teljes szerves széntartalom (TOC) értéke mindkét fluorokinolon vegyület esetében mindössze 11 %-kal csökkent a kiindulási vegyület teljes eltűnésekor 2 kGy elnyelt dózis esetén. (A kiinduló oldatokra mért TOC értékek közel esnek az elméleti TOC értékekhez.) A 0,5 kGy-tól 6 kGy-ig terjedő dózistartományban a dózis–TOC összefüggés lineáris és az egyenes meredeksége ugyanaz, mint a KOI görbéknél. A KOI százalékos eltávolítási arányai viszont minden elnyelt dózis esetén nagyobbak, mint a TOC százalékos eltávolítási arányok. Ennek valószínűleg az lehet az oka, hogy lépcsőzetes mineralizáció történik, a kiindulási vegyületek először több lépésben oxidálódnak, majd végül mineralizálódnak, vagyis szerves vegyületek alakulnak át.

A maximális, 6 kGy elnyelt dózis hatására 40 %-kal csökkentek a kiindulási TOC értékek. A mineralizáció és az oxidáció kis mértékének az oka a kiindulási anyagok nagy molekulatömege lehet (CIP: 331,3 Da mol⁻¹ és NOR: 319,3 Da mol⁻¹). Számos tanulmány szerint kisebb molekulák esetén ennél kétszer hatékonyabb volt a mineralizáció és az oxidáció, például fenuron, monuron, diuron és szulfametoxazol eltávolítása esetén (Kovács et al., 2014; 2015; 2016; Sági et al., 2015). Az irodalmi adatok is azt támasztják alá, hogy a fluorokinolon vegyületek nehezen oxidálhatóak és mineralizálhatóak. Lassú és nem hatékony KOI és TOC csökkenést figyeltek meg más AOP módszerek alkalmazása esetén is, például Fenton, elektro-Fenton, direkt fotokatalízis és ozonizálás alkalmazásakor (Yahya et al., 2014; De Souza Santos et al., 2015; Vasconcelos et al., 2009).

A fluorokinolonok hatékonyan távolíthatók el ionizáló sugárzással 0,1 mmol dm⁻³ vizes oldatból, viszont ez nem párosult nagymértékű mineralizációval (40 %), illetve az oxidáltság foka is kicsi maradt (50 %). Ez arra utal, hogy kis dózisoknál a kiindulási molekulák nagy része még nem bomlott le kisebb vegyületekre, hanem valószínűleg nagyobb gyűrűs bomlástermékek formájában vannak jelen, ezek esetleg csak néhány oldalcsoportban térnek el a kiindulási vegyületektől.

6.5.3. Teljes nitrogéntartalom

A nitrogéntartalom nem változott a dózis növelésének függvényében (18. ábra), ami arra utal, hogy a besugárzás során nem keletkeznek nitrogén tartalmú illékony vegyületek. Ez nem meglepő, mivel egybevág a termékanalízis mérések során kapott eredményeinkkel (16. ábra, 5.

táblázat). Emellett más vegyületek besugárzása során is hasonló eredmények születtek (Liu és Wang, 2013; Sági et al., 2015).

6. 6. A keletkező bomlástermékek biológiai vizsgálata

6.6.1. Hidrogén-peroxid hatása a biológiai vizsgálatokra

A besugárzás hatására keletkező H_2O_2 ($0,1-0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$) (17. ábra) jelentős gátlást okoz a biológiai mérések esetében (Sági et al., 2014). A gyökreakciókból keletkező H_2O_2 (Illés et al., 2017) akadályozza a kiindulási vegyületekből keletkező termékek biológiai jellemzését.

Az egyes biológiai vizsgálatok esetén különböző módszerekkel küszöböltük ki a H_2O_2 gátlását. Minden egyes biológiai vizsgálatnál kétszeresére hígítottuk a besugárzott oldatokat, hogy a keletkező H_2O_2 kevésbé befolyásolja a méréseinket. Mindazonáltal, a toxicitás mérésénél a kétszeres hígítás nem volt elegendő a H_2O_2 hatásának teljes kiküszöbölésére, de a nagyobb hígítás alkalmazása már azt eredményezte, hogy a fluorokinolonok bomlástermékeinek toxikus hatása a kimutatási határ alá került. Emiatt a kétszeresére hígított mintákban lévő H_2O_2 -hoz tartozó gátlást a H_2O_2 hígítási sorából mért gátlási görbe segítségével korrigáltuk (Sági et al., 2018). Az így kapott eredmények már kizárólag a fluorokinolonok bomlástermékeinek gátlását mutatják.

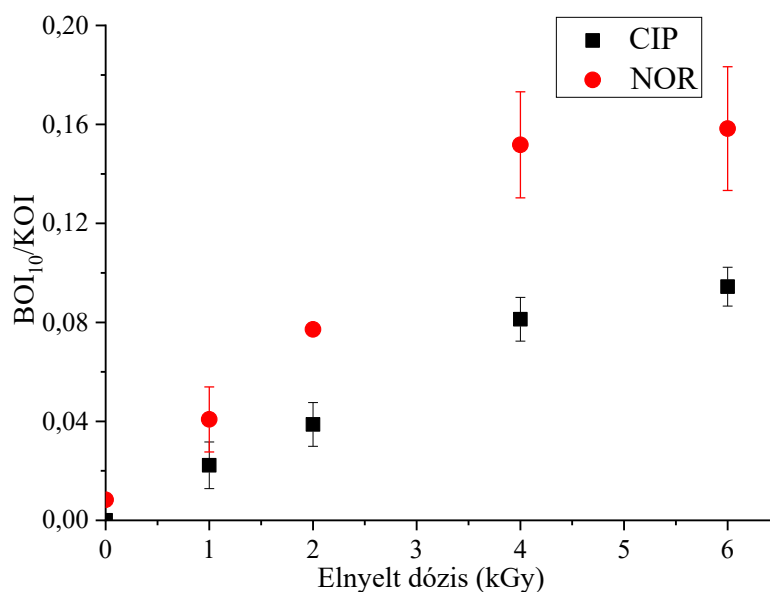
A biodegradálhatóság mérését is jelentősen befolyásolta a H_2O_2 jelenléte, ami a kétszeres hígítás ellenére is gátolja a biológiai lebontást. A nagyobb mértékű hígítás ennél a mérésnél sem vezethetett volna eredményre, ugyanis abban az esetben a szerves anyag mennyisége annyira lecsökken, hogy már nem mérhető a fogyásból eredő oxigénfelhasználás. Ezért a változásokat az általánosan alkalmazott, hosszabb inkubációs időknél is vizsgáltuk, és az általában használt 5 napos mérési idő helyett 10 napos mérési időt vettünk figyelembe.

Az antibakteriális aktivitás vizsgálatánál a keletkező H_2O_2 zavaró hatása elhanyagolható (Pérez-Moya et al., 2010).

6.6.2. Biodegradálhatóság

A biológiai bonthatóságot a biológiai és kémiai oxigén igény arányából (BOI/KOI) határoztuk meg. Általában az 5 napos BOI méréseket szokás figyelembe venni. A mi esetünkben azonban, ahogy az előző fejezetben említettem, a mérést jelentősen befolyásolta a H₂O₂ jelenléte, ezért a változásokat az általánosan alkalmazottnál hosszabb inkubációs időknél is vizsgáltuk (BOI₁₀, BOI₁₄, BOI₂₁). Laboratóriumunkból származó vizsgálatok alapján a besugárzás hatására keletkező hidrogén-peroxid olyan mértékű zavarást jelent, hogy a 10 napos BOI felel meg tulajdonképpen a BOI₅-nek az elhúzódó adaptációs szakasz miatt (Sági et al., 2018). Az értékelés folyamán így a BOI₁₀ adatokat vettük alapul (19. ábra). A kiindulási vegyületek vizsgálatánál, a CIP esetében egyáltalán nem történt biodegradáció, a NOR esetében nagyon kismértékű volt (<0,01 BOI₁₀/KOI). Ez azt jelenti, hogy a 0,1 mmol dm⁻³-es CIP és NOR oldatok nem biodegradálhatóak. 2 kGy elnyelt dózis hatására ez 0,04-re nőtt a CIP esetében és 0,08 BOI₁₀/KOI-ra a NOR oldatoknál. Általában jellemző, hogy a NOR oldatok a besugárzás után könnyebben váltak biodegradálhatóvá, mint a CIP oldatok. A NOR esetében a BOI/KOI arányok körülbelül kétszer olyan nagyok voltak, mint a CIP esetében. A kis arány azt mutatja, hogy nem elég a kiindulási vegyületeket eltávolítani az oldatokból, ahhoz, hogy biodegradálhatóvá váljanak. A besugárzott mintákban jelentősen nőtt a biológiai bonthatóság a dózis növelésének függvényében, 6 kGy-nél elérte a CIP esetében 0,09 és a NOR esetében a 0,16 BOI₁₀/KOI értéket. Ez nem túl nagy, viszont szignifikáns növekedés és lehetővé teszi, hogy a perzisztens fluorokinolonok hozzáférhetővé váljanak a mikroorganizmusok számára. Ennek az értéknek az eléréséhez jelentős oxidációs és mineralizációs változásokra van szükség. (A KOI 50%-kal a TOC 40%-kal csökkent 6 kGy besugárzás hatására.) De Bel és munkatársai (2009) nagyobb BOI₅/KOI arányt határoztak meg (0,6), viszont kisebb kiindulási CIP koncentrációval dolgoztak (0,05 mmol dm⁻³). A vizsgálatot jelentősen hosszabb inkubációs időkkel is elvégeztük (21 nap), de a mért BOI/KOI arány lényegében nem tért el a 10 nap után mért értékektől.

Az eredmények azt mutatják, hogy a CIP és a NOR nagyon ellenállóak a biodegradációval szemben eleveniszapokban. A kisebb dózisoknál keletkező bomlástermékek biodegradálhatósága sem sokkal jobb, mint a kiinduló vegyületeké. Ez nem meglepő, hiszen a termékanalízis (16. ábra, 5. táblázat), szerint a kisebb dózisoknál keletkező termékek szerkezete nem túlságosan tér el az eredeti vegyületekétől. A CIP és a NOR bomlástermékei is csak nagyobb dózisoknál (4-6 kGy) és nagyobb mértékű oxidációnál és mineralizációnál válnak hozzáférhetővé a mikroorganizmusok számára.



19. ábra: A biodegradálhatóság dóziszfüggése

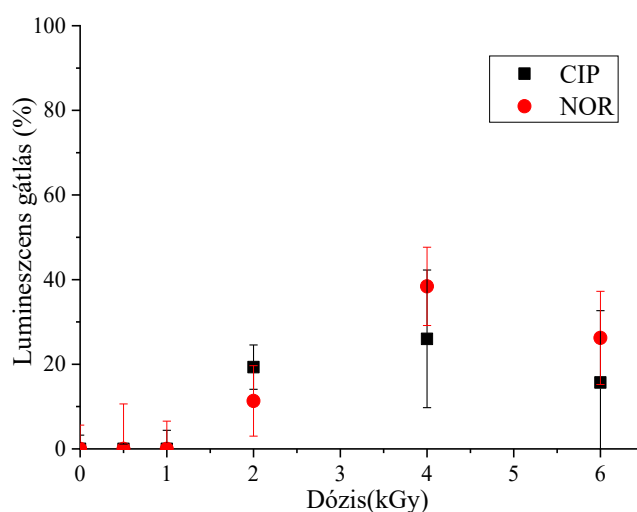
6.6.3. Toxicitás

A *Vibrio fischeri*-vel végzett toxicitási vizsgálatok esetében a kiindulási vegyületek nem okoztak változást a baktériumok lumineszcenciájában. Ez azt jelenti, hogy a kiindulási vegyületek nem voltak toxikusok a vizsgált baktériumtörzsrre 0,1 mmol dm⁻³ koncentrációban. 0,5 és 1 kGy elnyelt dózis után szintén nem mutattak toxicitást a besugárzott oldatok, hasonlóan a besugárzatlan oldatokhoz (20. ábra).

2 kGy-nél a kiindulási vegyületek teljes elbomlásával párhuzamosan megnő a besugárzott oldatok toxicitása. 2 kGy-nél a CIP oldatok esetében 19±5 % és a NOR oldatok esetében 11±8 % a lumineszcens gátlás mértéke. Ennél a dózissnál már eltűntek a kiindulási vegyületek az oldatokból és csak a bomlástermékek vannak jelen (14. ábra). A dózis további növelésével tovább nő a gátlás a 4 kGy-nél mért maximumig, ez 26±16 % a CIP esetében és 39±9 % a NOR oldatokra. Ezek az értékek hasonlítanak De Bel és munkatársai (2009) és Yuan és munkatársai (2011) eredményeihez. Yuan és munkatársai (2011) szintén *Vibrio fischeri* baktériumokkal végeztek toxikológiai vizsgálatokat, és szintén úgy találták, hogy toxikus bomlástermékek keletkeznek a besugárzás hatására (UV sugárzást használtak és CIP oldatokat). De Bel és munkatársai (2009) *Pseudokirchneriella subcapitata* tesztorganizmust alkalmaztak és erre a tesztorganizmusra is toxikusak voltak a kezelés (szonolízis) hatására keletkezett

bomlástermékek CIP oldatokban. Yahya és munkatársai (2014) szerint a fluorokinolonok bomlása során kis molekulatömegű szerves molekulák keletkeznek. Ezek a bomlástermékek, főleg kis szerves savak, toxikusok lehetnek a *V. fischerire* (Pintar et al., 2004). 6 kGy elnyelt dózis alkalmazása esetén ugyan enyhe csökkenést tapasztaltunk a gátlásokban, de a változás statisztikailag nem szignifikáns a 4 kGy elnyelt dózisonál mért értékekhez képest. A H₂O₂ hatása nem befolyásolhatta a toxicitási értékeket, mert a H₂O₂ hígítási sorából mért gátlási görbe segítségével korigáltunk.

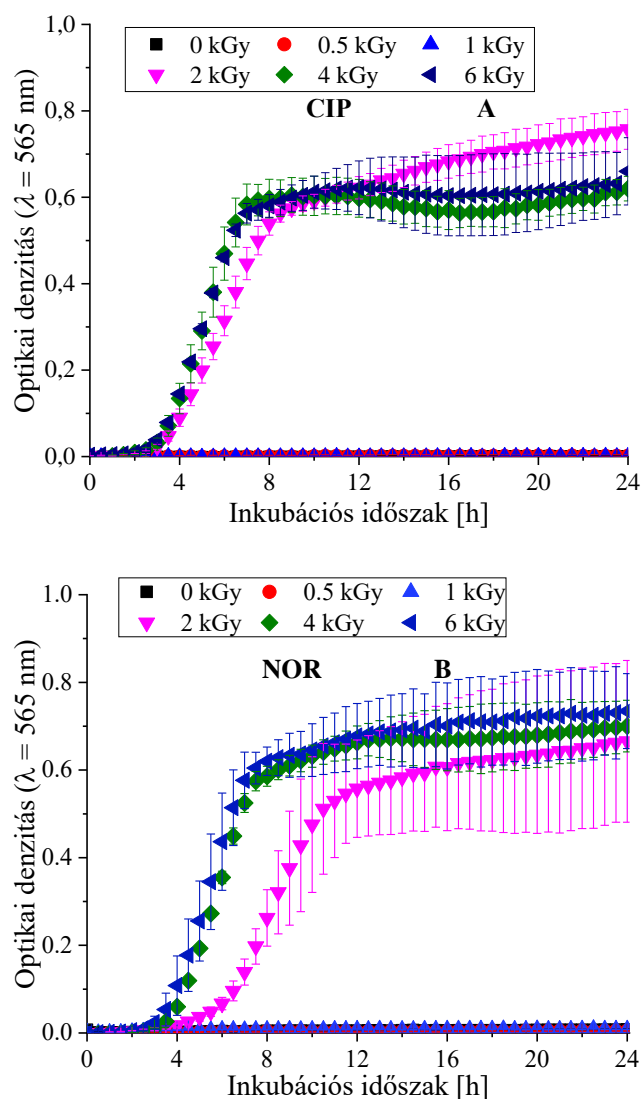
Más gyógyszermolekuláknál is növekvő toxicitást figyeltek meg az ionizáló sugárzásos kezelés után, például klóramfenikol, paracetamol és ibuprofén oldatok esetében (Csay et al., 2012; Szabó et al., 2012; Illés et al., 2013). Viszont nagyobb dózisok alkalmazásánál mindhárom esetben csökkent a toxicitás. A klóramfenikol egy stabilis, nehezen lebontható és toxikus vegyület (Csay et al., 2012). Ennél a vegyületnél 10 kGy-nél volt a toxicitás maximuma, és ez csak nagyobb dózisok hatására csökkent. A CIP és a NOR szintén nagyon stabilis vegyületek, ezért ebben az esetben is nagyobb dózisok szükségesek a toxicitás csökkentéséhez.



20. ábra: Az akut toxicitás változása az elnyelt dózis függvényében

6.6.4. Antibakteriális aktivitás

A hígítási sorok mérése alapján úgy találtuk, hogy a legkisebb gátlási koncentráció (MIC, minimum inhibitory concentration) 0,25 mg dm⁻³ volt a CIP és a NOR esetében is, vagyis ~0,75 μmol dm⁻³. A besugárzatlan oldatokban a CIP és NOR koncentráció 0,1 mmol dm⁻³, ez jóval nagyobb, mint a MIC értékek. Ezzel összhangban a besugárzatlan minták nem mutattak baktériumszám növekedést az antibakteriális aktivitás mérésekor (21. ábra).



21. ábra: *Staphylococcus aureus* növekedési görbék CIP (A) és NOR (B) oldatokban különböző elnyelt dózisoknál (kiindulási koncentráció $0,1 \text{ mmol dm}^{-3}$)

Az antibakteriális aktivitás mérése során a besugárzatlan minta, valamint a 0,5 és 1 kGy dózissal besugárzott oldatok optikai sűrűsége nem változott a 24 órás inkubációs idő alatt. Ez azt mutatja, hogy a *Staphylococcus aureus* baktériumok sejtszáma nem változott a vizsgálati időszak alatt, tehát az oldatoknak antibakteriális aktivitása volt. 2 kGy elnyelt dózis alkalmazásakor – tehát amikor a kiindulási anyag koncentrációja a kimutatási határ alá csökkent – ez az antibakteriális aktivitás megszűnt (21. ábra). Ennél a dózisonál a CIP koncentrációja $0,38 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$ volt a NOR koncentrációja pedig $0,23 \text{ } \mu\text{mol dm}^{-3}$. Ez azt jelenti, hogy az antibakteriális aktivitás megszűnt, amikor a kiindulási vegyületek koncentrációja a MIC értékek alá csökkent. 4 és 6 kGy esetén sem volt mérhető antibakteriális aktivitás. A kiindulási

vegyületek koncentrációjának csökkenése és az antibakteriális aktivitás közötti erős korreláció arra utal, hogy a CIP és a NOR besugárzás hatására létrejövő bomlási termékei nem rendelkeznek biológiai aktivitással.

Ezek az eredmények összhangban vannak Paul és munkatársai (2010) megállapításaival. *Escherichia coli* baktériumokat alkalmaztak az antibakteriális aktivitás méréséhez fotolízissel és fotokatalízissel kezelt oldatokban. Azt találták, hogy a biológiailag aktív, antibakteriális aktivitással rendelkező CIP olyan termékekre bomlott, amelyeknek már nem volt antibakteriális aktivitása.

7. Összefoglalás

Doktori disszertációmban két fluorokinolon antibiotikum, a ciprofloxacín (CIP) és a norfloxacín (NOR) ionizáló sugárzásos lebontását vizsgáltuk 0,1 mmol dm⁻³-os vizes oldatokban. Megállapítottuk az eltávolítás hatékonyságát és meghatároztuk a keletkező bomlástermékek szerkezetét és biológiai hatásait. A kinetikai vizsgálatokat impulzusradiolízis segítségével végeztük. A lebontás hatékonyságát többféle jellemző segítségével hasonlítottuk össze, úgymint a kiindulási vegyületek koncentrációjának csökkenése és a szennyvíztisztítás szempontjából fontos KOI, TOC és TN vízkémiai összegparaméterek változása. Elvégeztük a kiindulási vegyületek és a besugárzás utáni oldatok különböző biológiai vizsgálatait: biológiai bonthatóság, akut toxicitás és antibakteriális aktivitás mérése. Nyomon követtük a keletkező H₂O₂ koncentrációját az elnyelt dózisok függvényében és figyelembe vettük a H₂O₂ hatását a különböző biológiai vizsgálatok során.

A legtöbb vizsgálati módszer esetében levegővel telített oldatokat használtunk, de egyes esetekben különféle gyökfogókat is alkalmaztunk, hogy külön-külön vizsgáljuk a reaktív gyökök reakcióit.

A rövid élettartamú köztitermékeket (gyököket) impulzusradiolízis berendezéssel tanulmányoztuk. Mindkét kiindulási vegyületnek, a CIP-nek és a NOR-nak és a bomlástermékeiknek is nagy fényelnyelése van 400 nm-nél kisebb hullámhosszakon, ez az elnyelt dózissal folyamatosan csökken. Emiatt az impulzusradiolízis vizsgálatoknál optikai szűrőt használtunk a 400 nm alatti hullámhossz tartomány kiszűrésére. Az impulzusradiolízis méréseknél a víz radiolízise során keletkező •OH-k és az e_{aq}⁻-ok reakcióit követtük, a 400 és 700 nm közötti tartományban elkészítettük a rövid élettartamú köztitermékek spektrumát. Az •OH-k reakciójakor egy köztitermék felépülése látható 425 nm maximummal 5 µs-ig az impulzus után, majd ez követően kismértékű lecsengés figyelhető meg. Itt valószínűleg hidroxikiklohexadienil típusú gyökök keletkeznek. Az e_{aq}⁻-ok reakciójakor egy jól elkülöníthető abszorpciós sáv látható 600 nm körüli maximummal. Itt nagyon gyors felépüléssel a fluorokinolonok anionos formái keletkeznek, majd a 10 µs-es időskálán protonálódás történik, melynek során valószínűleg ciklohexadienil típusú gyökökké alakulnak át.

A reakciósebességi állandókat az impulzusradiolízis során kapott kinetikai görbékből, közvetlenül határoztuk meg. Az •OH reakciója esetében számolt sebességi állandók értékei CIP-re $7,2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ és NOR-ra $5,5 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$. Az e_{aq}⁻ reakciójakor a

sebességi együttható értékek CIP-re $8,2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ és NOR-ra $7,3 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$. Ezek az értékek a diffúzió szabályozott határ alatt vannak, tehát a diffúzió és a kémiai reaktivitás is befolyásolja a reakciók sebességét.

A fluorokinolonok eltávolításának hatékonyságát LC-MS/MS-sel követtük nyomon. Az eredmények tanúsága szerint már 0,5 kGy dózis elegendő volt ahhoz, hogy 70 %-nál nagyobb százalékos eltávolítási arányt érjünk el. Az elnyelt dózis további növelésével a kiindulási anyag koncentrációja a kimutatási határ alá csökkent 2 kGy-nél. Tehát viszonylag kis dózisok hatására bomlástermékeikre bomlanak a fluorokinolonok.

A fluorokinolonokat és bomlástermékeiket LC-MS/MS-sel választottuk el és határoztuk meg. A termékanalízisnél azt tapasztaltuk, hogy 0,5 kGy dózis hatására keletkezett a legtöbb LC-MS/MS módszerrel detektálható, tehát nagyobb molekulatömegű, gyűrűs bomlástermék. Mind a két vegyület esetében számos bomlásterméket tudtunk azonosítani a 0,5 kGy dózishoz tartozó kromatogram és a tömegspektrumok alapján. Jellegzetes bomlástermékek a hidroxilált változatok, ezen kívül a dezetilén-ciprofloxacín és -norfloxacín, a kiindulási vegyületek antranilsav analógjai és defluorozott termékei. Számos terméknel feltételezhető, hogy már nincs antibiotikum hatása, mivel leszakadt az aktív részként működő karboxil és ketocsoportja. Más terméknel feltételezhető, hogy csökkent antibakteriális aktivitása van a piperazin gyűrű leszakadása vagy felnyílása miatt, illetve a fluoratom elvesztése következtében. A viszonylag kis, 0,5 kGy dózis elegendő tehát az antibakteriális aktivitás megszüntetésére, vagy legalább annak csökkentésére.

A víz radiolízise során keletkező H_2O_2 zavarhatja a biológiai vizsgálatokat, ezért nyomon követtük a H_2O_2 koncentrációjának változását, Cu(II)/fenantrolin teszt segítségével. A H_2O_2 koncentrációja 6 kGy-ig növekedett utána csökkent, a maximális koncentráció $0,47 \text{ mmol dm}^{-3}$ volt. A növekvő szakasz meredekségéből $0,44 \mu\text{mol J}^{-1}$ hozamot számoltunk. A nagy G-érték valószínűleg annak az eredménye, hogy könnyen oxidálható fenol típusú vegyületek is reagáltak a Cu(II) ionokkal, nem csak a hidrogén peroxid. Ez alapján figyelembe kell venni a Cu(II)/fenantrolin teszt alkalmazásánál, hogy az eredményt a keletkező bomlástermékek is befolyásolhatják.

Az oxidáció és a mineralizáció tanulmányozása során azt tapasztaltuk, hogy a KOI és a TOC értékek is lineárisan csökkentek a dózis függvényében, de a KOI csökkenése jelentősebb volt, mint a TOC-é. Ennek valószínűleg az lehet az oka, hogy a kiindulási vegyületek először több lépésben oxidálódnak és csak utána mineralizálódnak. Nagyobb dózisokra volt szükség a

jelentősebb oxidációhoz és mineralizációhoz. A CIP és NOR teljes elbomlásához elegendő 2 kGy dózis csak 25 % körüli KOI és 11 % TOC csökkenéssel járt. 6 kGy elnyelt dózis esetében viszont 50 %-kal csökkent a KOI és 40 %-kal a TOC, ami jelentős mértékű oxidáció és mineralizáció. A besugárzott minták nitrogéntartalmát is nyomon követtük. A nitrogéntartalom nem változott a dózis növelésének függvényében, ami arra utal, hogy a besugárzás során nem keletkeznek nitrogén tartalmú illékony vegyületek.

A biológiai bonthatóságot a biológiai és kémiai oxigén igény arányából (BOI/KOI) határoztuk meg, az értékelés során a 10 napos BOI értékeket vettük alapul. A kiindulási CIP és NOR esetében rendkívül kicsi a BOI₁₀/KOI érték (0,01), tehát nem biodegradálhatók. A kisebb dózisoknál keletkező bomlástermékek biodegradálhatósága nagyon kismértékű. Ez nem meglepő, hiszen a termékanalízis szerint a kisebb dózisoknál keletkező termékek szerkezete nem túlságosan tér el az eredeti vegyületekétől. A besugárzott mintákban jelentősen nőtt a biológiai bonthatóság a dózis növelésének függvényében egészen 4 kGy-ig, ahol eléri a maximumot. A 4 és a 6 kGy-re kapott értékek között nincs számottevő különbség. A maximális BOI₁₀/KOI érték a CIP esetében 0,09 és a NOR esetében a 0,16. Ezek nem kimagasló értékek, viszont a növekedés szignifikáns és lehetővé teszi, hogy a nehezen lebontható fluorokinolonok hozzáférhetővé váljanak a mikroorganizmusok számára.

A *Vibrio fischeri*-vel végzett toxicitási vizsgálatok esetében a kiindulási vegyület nem okozott változást a baktériumok lumineszcenciájában, tehát a kiindulási CIP és NOR oldatok nem voltak toxikusak a vizsgált baktériumtörzsre 0,1 mmol dm⁻³ koncentrációban. 2 kGy-ig a besugárzott oldatok toxicitása közel azonos a besugárzás előtti értékekkel, 2 kGy dózis esetén viszont a kiindulási vegyület teljes elbomlásával párhuzamosan megnő a besugárzott oldatok toxicitása. A dózis további növelésével tovább nő a gátlás a 4 kGy-nél mért maximumig ez 26±16 % a CIP esetében és 39±9 % a NOR oldatokra. A toxicitás növekedését magyarázhatja, hogy a besugárzás hatására kis szerves savak keletkeztek, amelyek irodalmi adatok szerint toxikusak a *V. fischeri*-re. 6 kGy elnyelt dózis alkalmazása esetén ugyan enyhe csökkenést tapasztaltunk a gátlásokban, de a változás statisztikailag nem volt szignifikáns. A CIP és a NOR nagyon stabilis vegyületek, ezért feltételezhetően nagyobb dózisok szükségesek a toxicitás csökkentéséhez.

Az antibakteriális aktivitás mérése során a besugárzatlan minta, valamint a 0,5 és 1 kGy dózissal besugárzott oldatok optikai sűrűsége nem változott a 24 órás inkubációs idő alatt. Ez arra utal, hogy a *Staphylococcus aureus* baktériumok sejtszáma nem változott a vizsgálati időszak alatt,

azaz az oldatoknak antibakteriális aktivitása volt. 2 kGy elnyelt dózis alkalmazásakor – vagyis amikor már eltűnt a kiindulási vegyület az oldatból – ez az antibakteriális aktivitás megszűnt. A kiindulási vegyületek koncentrációjának a csökkenése és az antibakteriális aktivitás közötti erős korreláció arra utal, hogy a bomlási termékek nem rendelkeznek biológiai aktivitással. Ez az eredmény összhangban van azzal, amit a bomlástermékek szerkezete alapján feltételeztünk.

A fenti eredmények alapján az ionizáló sugárzás hatékony módszer a fluorokinolonok eltávolításához, bár használhatóságát befolyásolhatja a keletkező bomlástermékek toxicitásának mértéke. Érdeemes lenne a hagyományos szennyvíztisztítást ionizáló sugárzásos utókezeléssel kiegészíteni.

8. Summary

This dissertation aimed at investigating the ionizing radiation induced degradation of two fluoroquinolone antibiotics, ciprofloxacin (CIP) and norfloxacin (NOR) in 0.1 mmol dm^{-3} aqueous solutions. The removal efficiency of fluoroquinolones was measured, in addition, the structures and the biological effects of the metabolites were determined. The rate constants of reactions of CIP and NOR with reactive water intermediates were directly determined by pulse radiolysis. The pollutant removal efficiencies were compared based on several parameters: removal of the initial molecules and the water chemistry sum parameters, KOI, TOC and TN, that are important for wastewater treatment. Biological tests of the initial molecules and the irradiated solutions were also assessed: biodegradation, acute toxicity and antibacterial activity. The concentration of the formed H_2O_2 was monitored as a function of the absorbed doses and the effect of H_2O_2 was considered in various biological studies.

Air-saturated solutions were used for most test methods, but in some cases different radical scavengers were added to the system to study the reactions of the reactive radicals separately.

Short-lived intermediates (radicals) were studied with the pulse radiolysis technique. Both initial compounds, CIP and NOR, and their metabolites have strong absorbance at wavelengths below 400 nm, the absorbance decreases continuously with the absorbed dose. Therefore, in pulsed radiolysis studies, an optical filter was used to filter out the wavelength range below 400 nm. During pulse radiolysis measurements the reactions of $\bullet\text{OH}$ and e_{aq}^- formed during the radiolysis of water were monitored, and the spectra of short-lived intermediates were generated in the range between 400 and 700 nm. During the reaction of $\bullet\text{OH}$, the build-up of an intermediate with a maximum at 425 nm is seen up to 5 μs after the pulse, then a slight decay is observed. Presumably hydroxycyclohexadienyl type radicals are formed. During the reaction of e_{aq}^- , there is a well-separated absorption band with a maximum around 600 nm. Anionic forms of fluoroquinolones are formed with very fast build-up. Then protonation occurs on the 10 μs time scale, where presumably cyclohexadienyl type radicals are formed.

Reaction rate constants were determined directly from the kinetic curves obtained during pulse radiolysis. The rate constants were $7.2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ and $5.5 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ for $\bullet\text{OH}$ reaction and $8.2 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ and $7.3 \times 10^9 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ for e_{aq}^- reaction with CIP and NOR, respectively. These values are below the diffusion controlled limit showing that both diffusion and chemical reactivity role in controlling the rate constants.

The removal efficiency of fluoroquinolones was monitored by LC-MS/MS. The results showed that 0.5 kGy was sufficient to achieve a percentage removal of more than 70 %. Complete elimination was achieved by prolonged irradiation, the antibiotic concentration was below the detection limit at 2 kGy. Hence, fluoroquinolones are degraded to their metabolites at relatively low absorbed doses.

Fluoroquinolones and their metabolites were separated and identified by LC-MS/MS. In the product analysis, a dose of 0.5 kGy produced most of the higher molecular weight, aromatic degradation products detectable by LC-MS/MS. For both compounds, a number of degradation products could be identified from the chromatogram and mass spectra at 0.5 kGy dose. The main degradation products were hydroxylated variations of the starting compounds, desethylene-CIP and -NOR, defluorinated products and anthranilic acid analogues of CIP and NOR. For many products, it can be assumed that they have no antibiotic effect due to the cleavage of the carboxyl and keto groups on the active part of the compounds. Other products have reduced antibacterial activity due to the cleavage or loss of the piperazinyl ring or loss of the fluorine atom. Hence, a relatively small dose of 0.5 kGy is sufficient to eliminate or at least reduce antibacterial activity.

H₂O₂ generated during the radiolysis of water can interfere with biological tests, therefore we monitored the change in H₂O₂ concentration using the Cu(II)/phenanthroline test. The H₂O₂ concentration increased to 6 kGy and then decreased, the maximum concentration was 0.47 mmol dm⁻³. A H₂O₂ yield of $G = 0.44 \mu\text{mol J}^{-1}$ was calculated from the slope of the rising part of the H₂O₂ concentration vs. dose curve. The high G-value may be due to the fact that not only H₂O₂, but easily oxidizable phenol-type compounds also reacted with Cu(II) ions. Hence, it should be taken into account when using the Cu(II)/phenanthroline test that the result may also be affected by the formed degradation products.

COD and TOC removals were found to show linear dependence on the absorbed dose in the case of oxidation and mineralization and the slopes of the fitted straight lines were similar. However, the COD removal was significantly higher than the TOC removal at the same absorbed doses. This indicates multistep mineralization processes in which the molecules are first step-by-step oxidized and finally mineralized. To achieve high TOC or COD removals, high doses were needed. A dose of 2 kGy sufficient for complete degradation of the initial CIP and NOR resulted in only ~11 % COD and ~25 % TOC removals. 6 kGy, the highest dose used in this study, resulted in ~50 % COD and ~40 % TOC removals. This is a significant

degree of oxidation and mineralization. The nitrogen content remained constant over the dose-range investigated, indicating that nitrogen containing volatile compounds did not form in course of irradiation.

Biodegradability was determined from the ratio of biological and chemical oxygen demand values (BOD/COD). In the experiments the 10 days BOD test was used. The BOD₁₀/COD ratio in the initial CIP and NOR samples was 0.01, showing practically complete resistance to biodegradation. The biodegradability of degradation products formed at lower doses was very low. This is not surprising, as the product analysis shows that the structure of the products formed at lower doses does not differ too much from that of the initial CIP and NOR. Significant, but still not high, increase in BOD₁₀/COD ratio was seen at higher doses, the maximum was at 4 kGy. There is no significant difference between the values obtained for 4 and 6 kGy. The BOD₁₀/COD ratio at 6 kGy was 0.09 and 0.16 for CIP and NOR respectively. However, irradiation led to conversion of non-biodegradable CIP and NOR to substances accessible for metabolic processes of microorganisms.

Acute toxicity tests evidenced no inhibitory effects of the initial compounds as the light emission of the *Vibrio fischeri* test organisms was not affected by the presence of NOR or CIP in the solutions. Similarly to the untreated solutions, samples irradiated by 0.5 kGy and 1 kGy showed no toxic effects. However, the inhibitory effects of solutions irradiated by 2 kGy increased. At this dose, complete elimination of initial molecules was achieved. The acute toxicity increased by prolonged irradiation to 26±16 % and 39±9 % for CIP and NOR, respectively, at 4 kGy. During the degradation low molecular mass organics are formed. These products may exert toxic effects to *Vibrio fischeri*. Although little difference was found between the values at 4 kGy and 6 kGy but a small decrease can be observed. CIP and NOR have stable structure, therefore, higher doses are needed to eliminate their toxicity.

In the case of the antibacterial susceptibility testing no bacterial growth was observed in the initial samples. Irradiation by doses up to 1 kGy did not lead to changes in the antibacterial activity; the optical densities of the solutions did not change during the 24 h incubation period, the optical density due to *Staphylococcus aureus* bacteria did not increase. The antibiotic effects disappeared at 2 kGy. Products formed in radiolytic degradation of CIP and NOR possess no antibacterial activity. The results are in accordance with what was assumed based on the structure of the degradation products.

Based on the above results, ionizing radiation is an effective method to remove fluoroquinolones from aqueous solution, although its effectiveness may be affected by the degree of toxicity of the degradation products. It would be worthwhile to supplement conventional wastewater treatment with irradiation after treatment.

9. Tézisek

1. Az ionizáló sugárzás hatékony módszer a ciprofloxacín és a norfloxacín lebontására vizes oldatokban. 2 kGy dózis elegendő a kiindulási vegyületek eltávolításához 0,1 mmol dm⁻³ koncentrációjú ciprofloxacín és norfloxacín oldatok esetén, de a kiindulási vegyületek eltávolítása nem járt együtt jelentősebb mértékű oxidációval és mineralizációval. A ciprofloxacín és a norfloxacín a kezelés során először több lépésben oxidálódnak és csak utána mineralizálódnak. A fluorokinolonok nagyon stabilis vegyületek. 6 kGy dózis szükséges 50 % körüli oxidáció és 40 % körüli mineralizáció eléréséhez. (1. közlemény)

2. A ciprofloxacín és a norfloxacín a besugárzás hatására a víz molekulákból keletkező hidroxil gyökökkel ($\cdot\text{OH}$) és hidratált elektronokkal (e_{aq}^-) is reakcióba lép. $\cdot\text{OH}$ hatására hidroxí-ciklohexadienil típusú gyökök, e_{aq}^- hatására a ciprofloxacín és a norfloxacín elektron adduktjai a keletkező köztitermékek. A hidroxí-ciklohexadienil típusú gyököknek 300 és 400 nm között van fényelnyelésük. Ezek az elnyelési sávok nem tanulmányozhatók a spektrumon, mivel csak a 400 nm feletti tartományban lehetséges mérni a kiindulási vegyületek fényelnyelése miatt. A hidroxí-ciklohexadienil típusú gyökökből képződő, erősen konjugált gyökök látszanak a 400 nm feletti tartományban. A ciprofloxacín és a norfloxacín elektron adduktjainak 600 nm körül vannak az elnyelési sávjai. Ezeknél a sávoknál gyors lecsengés figyelhető meg a 10 μs -os időskálán mivel az anionos formák gyorsan protonálódnak és ciklohexadienil típusú gyökök keletkeznek. (2. közlemény)

3. A ciprofloxacín és a norfloxacín legnagyobb hozamú bomlástermékei a hidroxilált változatok. Ezen kívül a dezetilén-ciprofloxacín és -norfloxacín, a kiindulási vegyületek antranilsav analógjai és defluorozott termékei is keletkeznek. A fluorokinolonok és bomlástermékei elsősorban a ~0,5 kGy dózissal besugárzott mintákban tanulmányozhatók, mert ennél a dózisonál keletkezik a legtöbb LC-MS/MS módszerrel detektálható, tehát nagyobb molekulatömegű, gyűrűs bomlástermék. (2. közlemény)

4. Jelentős mennyiségű H_2O_2 keletkezik a híg vizes oldatok besugárzásakor. Megállapítottam, hogy a keletkező könnyen oxidálható bomlástermékek zavarják a Cu(II)/fenantrolin tesztet. Ezt a teszt alkalmazásánál figyelembe kell venni. (2. és 3. közlemény)

5. Közvetlen mérések alapján a besugárzás hatására jelentősen megnő a ciprofloxacín és a norfloxacín oldatok biológiai bonthatósága, tehát hozzáférhetővé válnak a

mikroorganizmusok számára. A kiindulási vegyületek és az első bomlástermékek nem biodegradálhatóak. Ezt támasztja alá a bomlástermékek szerkezetének vizsgálata is, mivel a kisebb dózisoknál keletkező termékek szerkezete nem túlságosan tér el az eredeti vegyületekétől. (1. és 2. közlemény)

6. A ciprofloxacín és a norfloxacín egyes keletkező bomlástermékei toxikusabbak, mint a kiindulási vegyületek, de nagyobb dózisoknál csökken a toxicitás. A toxicitás növekedését magyarázhatja, hogy a besugárzás hatására kis szerves savak keletkeztek, amelyek irodalmi adatok szerint toxikusak az alkalmazott *V. fischeri* teszt baktériumra. (1. közlemény)

7. A ciprofloxacín és a norfloxacín bomlástermékeinek nincs antibakteriális hatása. Ezt alátámasztja a bomlástermékek szerkezete és az antibakteriális aktivitás vizsgálatok is. A szerkezetvizsgálatok alapján számos termékénél feltételezhető, hogy már nincs antibiotikus hatása, mivel leszakadt az aktív részként működő karboxil- és ketocsoportja. Más termékénél feltételezhető, hogy csökkent az antibakteriális aktivitás a piperazin gyűrű leszakadása vagy felnyílása miatt, illetve a fluoratom elvesztése következtében. Az antibakteriális aktivitás mérése esetén a kiindulási vegyületek koncentrációjának a csökkenése és az antibakteriális aktivitás gyengülése közötti erős korreláció arra utal, hogy a bomlási termékek nem rendelkeznek antibakteriális aktivitással. (1. és 2. közlemény)

10. Theses of the PhD dissertation

1. Ionizing radiation is an effective method to remove ciprofloxacin and norfloxacin from aqueous solutions. A dose of 2 kGy is sufficient to remove the initial compounds from 0.1 mmol dm⁻³ solutions, but the removal of the initial compounds was not accompanied by a significant degree of oxidation and mineralization. The initial compounds are first step-by-step oxidized and finally mineralized. Fluoroquinolones are very stable compounds. A dose of 6 kGy is required for oxidation to ~50 % and mineralization to ~40 %. (*Publication 1*)

2. Ciprofloxacin and norfloxacin react with hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) and hydrated electrons (e_{aq}^-). In the reaction with $\bullet\text{OH}$ hydroxycyclohexadienyl type radicals are formed, in the reaction with e_{aq}^- the electron adducts of ciprofloxacin and norfloxacin are produced. Hydroxycyclohexadienyl type radicals may have strong absorption bands between 300 and 400 nm. These absorption bands cannot be studied due to the strong absorption of the initial compounds below 400 nm. However, the absorbances of these strongly conjugated radicals and their transformation products are also visible in the range above 400 nm. The electron adducts of ciprofloxacin and norfloxacin have absorption bands around 600 nm. At these absorption bands, a rapid decay is observed on a 10 μs time scale as the adducts are rapidly protonated and cyclohexadienyl type radicals are formed. (*Publication 2*)

3. The main degradation products of ciprofloxacin and norfloxacin are hydroxylated variations of the starting compounds, desethylene-ciprofloxacin and -norfloxacin, defluorinated products and anthranilic acid analogues of ciprofloxacin and norfloxacin. Fluoroquinolones and their metabolites were separated and identified by LC-MS/MS. For the analysis samples irradiated with a dose of 0.5 kGy were used, because at this dose mostly higher molecular weight, aromatic degradation products detectable by LC-MS/MS were in the solutions. (*Publication 2*)

4. Significant amount of H_2O_2 is generated during the irradiation of dilute aqueous solutions. It was found that the easily oxidizable degradation products formed interfere with the Cu(II)/phenanthroline test. This should be taken into account when applying the test. (*Publication 2 and 3*)

5. Irradiation significantly increases the biodegradability of ciprofloxacin and norfloxacin in solutions, making them accessible to microorganisms of activated sludge. The initial compounds and the first degradation products are not biodegradable. This is also supported by

the product analysis, as the structure of the products formed at lower doses does not differ much from the initial compounds. (*Publication 1 and 2*)

6. Some of the formed degradation products of ciprofloxacin and norfloxacin are more toxic than the parent compounds, the toxicity was reduced at higher doses. The increase in toxicity may be explained by the formation of low molecular mass organic acids, which are reported to be toxic to the *V. fischeri* test bacterium. (*Publication 1*)

7. The degradation products of ciprofloxacin and norfloxacin have no antibiotic effect. This is supported by the structure of the degradation products and by antibacterial activity studies. Based on the structure of the degradation products, it can be assumed that many products have no antibacterial effect due to the cleavage of the carboxyl and keto groups on the active part of the compounds. Other products may have reduced antibacterial activity due to the cleavage or loss of the piperazinyl ring or loss of the fluorine atom. The strong correlation between the decrease in initial compound concentration and antibacterial activity suggests that the degradation products have no antibiotic activity. (*Publication 1 and 2*)

11. Közleményeim

Kapcsolódó közlemények

1.) **A. Tegze**, G. Sági, K. Kovács, R. Homlok, T. Tóth, C. Mohácsi-Farkas, L. Wojnárovits, E. Takács 2018. Degradation of fluoroquinolone antibiotics during ionizing radiation treatment and assessment of antibacterial activity, toxicity and biodegradability of the products. *Radiation Physics and Chemistry* 147, 101-105.

IF: 1,9 Hivatkozások száma: 17 (független: 16)

2.) **A. Tegze**, G. Sági, K. Kovács, T. Tóth, E. Takács, L. Wojnárovits 2019. Radiation induced degradation of ciprofloxacin and norfloxacin: Kinetics and product analysis. *Radiation Physics and Chemistry* 158, 68-75.

IF: 2,23 Hivatkozások száma: 5 (független: 5)

3.) E. Illés, **A. Tegze**, K. Kovács, Gy. Sági, Z. Pap, E. Takács, L. Wojnárovits 2017. Hydrogen peroxide formation during radiolysis of aerated aqueous solutions of organic molecules; *Radiation Physics and Chemistry* 134, 8-13.

IF: 1,45 Hivatkozások száma: 11 (független: 6)

Nem kapcsolódó közlemény

4.) R. E. Abutbul, E. Segev, U. Argaman, **A. Tegze**, G. Makov, Y. Golan 2019. Stability of cubic tin sulphide nanocrystals: role of ammonium chloride surfactant headgroups. *Nanoscale*, 11, 17104–17110.

IF: 6,97 Hivatkozások száma: 2 (független: 0)

Konferenciakiadványban megjelent magyar nyelvű közlemények

5.) Tegze A., Sági G., Takács E., Wojnárovits L. 2018. Norfloxacin vizes oldatának lebontása ionizáló sugárzással: termékanalízis és kinetikai vizsgálatok. Őszi Radiokémiai Napok 2018. 55-59. oldal, ISBN 978-963-9970-93-9

6.) Tegze A., Sági G., Takács E., Wojnárovits L. 2017. Norfloxacin vizes oldatának lebontása gamma sugárzással, valamint a bomlástermékek biológiai vizsgálata. Őszi Radiokémiai Napok 2017. 22-27. oldal, ISBN 978-963-9970-80-9

7.) Tegze A, Illés E, Takács E. 2016. Ciprofloxacin és norfloxacin nagyenergiájú ionizáló sugárzással indukált bontása híg vizes oldatokban. Őszi Radiokémiai Napok 2016. 39-42. oldal, ISBN 978-963-9970-69-4

8.) Tegze A. 2016. Ciprofloxacin és norfloxacin gamma sugárzással indukált lebontása Műszaki Kémiai Napok 2016, 124-128. oldal, ISBN 978-963-396-087-5

12. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban témavezetőmnek Dr. Takács Erzsébetnek köszönöm a rengeteg segítséget, a hasznos tanácsokat és a rám fordított idejét. Továbbá szeretném megköszönni Dr. Wojnárovits Lászlónak is a sok segítséget és a hasznos tanácsokat.

Volt kollégámnak Dr. Sági Gyurinak is nagyon szeretném megköszönni, hogy támogatott, rengeteg hasznos tanáccsal látott el, segített a méréseim során, különösen a biológiai vizsgálatokban, és arra is odafigyelt, hogy ne halogassam a dolgokat. Másik volt kollégámnak Dr. Illés Erzsébetnek is köszönöm a munkám kezdetekor nyújtott segítségét, és hogy megismertette velem az MTA EK Sugárkémiai Laboratóriumában használatos mérési módszereket. Dr. Szabó László volt kollégámnak is szeretném megköszönni az impulzusradiolízis mérésekkel kapcsolatos hasznos tanácsait.

Munkatársaimnak, Dr. Homlok Renátának nagyon köszönöm a mikrobiológiai mérések terén, Dr. Kovács Krisztinának pedig az LC-MS/MS mérésekben nyújtott segítségét. Mindkettőjüknek köszönöm a rengeteg biztatást is, hogy tartották bennem a lelket a disszertációírás során.

Nagyon köszönöm Takács László kollégámnak a LINAC mérések során nyújtott segítségét és Papp Zoltánnak az Izotóp Intézet Kft. munkatársának a gammaradiolízis besugárzásokat.

Továbbá szeretném megköszönni Bezsényi Anikónak a Fővárosi Csatornázási Művek munkatársának a szennyvíztisztítás témájában nyújtott segítségét.

Szeretném megköszönni valamennyi munkatársamnak a doktori munkám során nyújtott rengeteg segítséget.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni férjemnek Halász Péternek és a legjobb barátnőmnek Bessenyei Ágnesnek a rengeteg lelki támogatást, amit kaptam tőlük.

13. Irodalomjegyzék

Adachi, F., Yamamoto, A., Takakura, K., Kawahara, R., 2013. Occurrence of fluoroquinolones and fluoroquinolone-resistance genes in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 444, 508–514.

Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J., Handelsman, J., 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology* 8, 251–259.

An, T., Yang, H., Li, G., Song, W., Cooper, W.J., Nie, X., 2010a. Kinetics and mechanism of advanced oxidation processes (AOPs) in degradation of ciprofloxacin in water. *Applied Catalysis B: Environmental* 94, 288–294.

An, T., Yang, H., Song, W., Li, G., Luo, H., Cooper, W.J., 2010b. Mechanistic considerations for the advanced oxidation treatment of fluoroquinolone pharmaceutical compounds using TiO₂ heterogeneous catalysis. *Journal of Physical Chemistry A* 114, 2569–2575.

Andersson, M. I., MacGowan, A. P., 2003. Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, 1–11.

Baquero, F., 2001. Low-level antibacterial resistance: a gateway to clinical resistance. *Drug Resistance Updates* 4, 93–105.

Barkács, K., Bartholy, J., Kiss, K. T., Nagy, M., Pongrácz, R., Salma, I., Sohár, P., Tóth, B.: *Környezetkémia*. 2012. Typotex Kiadó, Budapest

Barótfi, I.: *Környezettechnológia*. 2000. Mezőgazda Kiadó, Budapest

Bielski, B.H.J., Cabelli, D.E., Arude, R.L., Ross, A.B., 1985. Reactivity of HO₂/O₂⁻ radicals in aqueous-solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 14, 1041–1100.

Bonin, J., Janik, I., Janik, D., Bartels, D.M., 2007. Reaction of hydroxyl radical with phenol in water up to supercritical conditions. *Journal of Physical Chemistry A* 111, 1869–1878.

Buxton, G.V., Greenstock, C.L., Helman, W.P., Ross, A.B., 1988. Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals (•OH/•) in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 17, 513–886.

Cho, J.Y., Chung, B. Y., Lee, K., Lee, G., Hwang, S.A., 2014. Decomposition reaction of the veterinary antibiotic ciprofloxacin using electron ionizing energy. *Chemosphere* 117, 158–163.

Csay, T., Rácz, G., Takács, E., Wojnárovits, L., 2012. Radiation induced degradation of pharmaceutical residues in water: Chloramphenicol. *Radiation Physics and Chemistry* 81, 1489–1494.

Csay, T., Rácz, G., Salik, Á., Takács, E., Wojnárovits L., 2014. Reactions of clofibric acid with oxidative and reductive radicals – products, mechanisms, efficiency and toxic effects. *Radiation Physics and Chemistry* 102, 72–78.

CGN 2020 <https://www.cgndea.com/worlds-largest-industrial-wastewater-treatment-project/>
(Accessed on: 2020. 09. 03.)

Dalhoff, A., 2012. Global Fluoroquinolone Resistance Epidemiology and Implications for Clinical Use. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012, ID 976273

De Bel, E., Dewulf, J., De Witte, B., Van Langenhove, H., Janssen, C., 2009. Influence of pH on the sonolysis of ciprofloxacin: Biodegradability, ecotoxicity and antibiotic activity of its degradation products. *Chemosphere* 77, 291–295.

De Witte, B., Dewulf, J., Demeestere, K., Van De Vyvere, V., De Wispelaere, P., Van Langenhove, H., 2008. Ozonation of ciprofloxacin in water: HRMS identification of reaction products and pathways. *Environmental Science and Technology* 42, 4889–4895.

De Witte, B., Dewulf, J., Demeestere, K., Van Langenhove, H., 2009. Ozonation and advanced oxidation by the peroxone process of ciprofloxacin in water. *Journal of Hazardous Materials* 161, 701–708.

De Witte, B., Van Langenhove, H., Demeestere, K., Saerens, K., De Wispelaere, P., Dewulf, J., 2010. Ciprofloxacin ozonation in hospital wastewater treatment plant effluent: Effect of pH and H₂O₂. *Chemosphere* 78, 1142–1147.

DIN EN 1899-1, 1998. Water quality – Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n).

DIN EN ISO 11348-3. Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) – Part 3: Method using freeze-dried bacteria.

Dodd, M.C., Buffle, M.-O., von Gunten, U., 2006. Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: Moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. *Environmental Science and Technology* 40, 1969–1977.

EMA/380454/2008 https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/questions-answers-recommendation-restrict-use-oral-formulations-moxifloxacin-containing-medicines_en.pdf

EMA/294674/2019 https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2017_en.pdf

Field, R.J., Raghavan, N.V., Brummer, J.G., 1982. A pulse radiolysis investigation of the reactions of $\text{BrO}_2\cdot$ with $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, $\text{Mn}(\text{II})$, phenoxide ion, and phenol. *Journal of Physical Chemistry* 86, 2443–2449.

Gade, N.D., Qazi, M.S., 2013. Fluoroquinolone therapy in *Staphylococcus aureus* infections: Where do we stand? *Journal of Laboratory Physicians* 5, 109–112.

Giri, A.S., Golder, A.K., 2014. Kinetics and mechanisms of ciprofloxacin cleavage in light assisted Fenton reaction. *Recent Research in Science and Technology* 6, 78–82.

Han, B., Kim, J. K., Kim, Y., Choi, J. S., Jeong, K. Y., 2012. Operation of industrial-scale electron beam wastewater treatment plant, *Radiation Physics and Chemistry* 81, 1475–1478.

Han, B., Kim, J. K., Kang, W., Choi, J. S., Jeong, K. Y., 2016. Development of mobile electron beam plant for environmental applications, *Radiation Physics and Chemistry* 124, 174–178.

He K., Soares, A. D., Adejumo, H., McDiarmid, M., Squibb, K., Blaney, L., 2015. Detection of a wide variety of human and veterinary fluoroquinolone antibiotics in municipal wastewater and wastewater-impacted surface water. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 106, 136–143.

He, S., Sun, W., Wang, J., Chen, L., Zhang, Y., Yu, J., 2016. Enhancement of biodegradability of real textile and dyeing wastewater by electron beam irradiation, *Radiation Physics and Chemistry* 124, 203–207.

Homlok, R., Takács, E., Wojnárovits, L., 2011. Elimination of diclofenac from water using irradiation technology, *Chemosphere* 85, 603–608.

- Ikehata, K., Naghashkar, N. J., El-Din, M. G, 2006. Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review. *Ozone: Science & Engineering* 28, 353–414.
- Illés, E., Takács, E., Dombi, A, Gajda-Schranz, K., Rácz, G., Gonter, K., Wojnárovits, L., 2013. Hydroxyl radical induced degradation of ibuprofen. *Science of the Total Environment* 447, 286–292.
- Illés, E., Tegze, A., Kovács, K., Sági, G., Papp, Z., Takács, E., Wojnárovits, L., 2017. Hydrogen peroxide formation during radiolysis of aerated aqueous. *Radiation Physics and Chemistry* 134, 8–13.
- Juven, B. J., Pierson, M. D., 1996. Antibacterial Effects of Hydrogen Peroxide and Methods for Its Detection and Quantitation. *Journal of Food Protection*, 59, 1233–1241.
- Keen, O.S., Linden, K.G., 2013. Degradation of antibiotic activity during UV/H advanced oxidation and photolysis in wastewater effluent. *Environmental Science and Technology* 47, 13020–13030.
- King, D. E., Malone, R., Lilley, S. H., 2000. New classification and update on the quinolone antibiotics. *American Family Physician* 61., 2741–2748.
- Kondor, A. Cs., Jakab, G., Vancsik, A., Filep, T., Szeberényi, J., Szabó, L., Maász, G., Ferincz, Á., Dobosy, P., Szalai, Z., 2020. Occurrence of pharmaceuticals in the Danube and drinking water wells: Efficiency of riverbank filtration. *Environmental Pollution* 265, 114893.
- Kovács, K., Mile, V., Csay, T., Takács, E., Wojnárovits, L., 2014. Hydroxyl radical-induced degradation of fenuron in pulse and gamma radiolysis: kinetics and product analysis. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 12693–12700.
- Kovács, K., He, S., Mile, V., Csay, T., Takács, E., Wojnárovits L., 2015. Ionizing radiation induced degradation of diuron in dilute aqueous solution. *Chemistry Central Journal* 9:21
- Kovács K., He, S., Mile, V., Földes, T., Pápai, I., Takács, E., Wojnárovits, L., 2016. Ionizing radiation induced degradation of monuron in dilute aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry* 124, 191–197.

Kovács, K., Sági, Gy., Takács, E., Wojnárovits, L., 2017. Use of bovine catalase and manganese dioxide for elimination of hydrogen peroxide from partly oxidized aqueous solution of aromatic molecules – Unexpected complications. *Radiation Physics and Chemistry* 139, 147–151.

Kümmerer, K., 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere* 45, 957–969.

Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment – a review – Part I. *Chemosphere* 75, 417–434.

MSZ ISO 6060:1991, 1991. A víz kémiai oxigénigényének meghatározása

Landersdorfer, C. B.: *Bone and Joint Infections 2015*. John Wiley & Sons, New Jersey, USA

Le Caër, S., 2011. Water radiolysis: influence of oxid surfaces on H₂ production under ionizing radiation. *Water* 3, 235–253.

Liu, H., Mulholland, S. G., 2005. Appropriate antibiotic treatment of genitourinary infections in hospitalized patients. *The American Journal of Medicine* 118, 14–20.

Liu, C., Nanaboina, V., Korshin, G.V., Jiang, W., 2012. Spectroscopic study of degradation products of ciprofloxacin, norfloxacin and lomefloxacin formed in ozonated wastewater. *Water Research* 46, 5235–5246.

Liu, Y., Wang, J., 2013. Degradation of sulfamethazine by gamma irradiation in the presence of hydrogen peroxide. *Journal of Hazardous Materials* 250–251, 99–105.

Merck-teszt: http://www.merckmillipore.com/HU/hu/product/Hydrogen-Peroxide-Test,MDA_CHEM-118789 (Accessed on: 2019. 01. 08.)

Miklos, D. B., Remy, C., Jekel, M., G. Linden, K.G., Drewes, J. E., Hübner, U., 2018. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Research* 139, 118-131.

Mishra N. S, Reddy R, Kuila A, Rani A, Mukherjee P, Nawaz A, Pichiah S. 2017. A Review on Advanced Oxidation Processes for Effective Water Treatment. *Current World Environment* 12, 470-490.

Monti, S., Sortino, S., Fasani, E., Albini, A., 2001. Multifaceted photoreactivity of 6-fluoro-7-aminoquinolones from the lowest excited states in aqueous media: A study by nanosecond and picosecond spectroscopic techniques. *Chemistry. A European Journal* 7, 2185–2196.

Mostofa, K. M. G., Yoshioka, T., Mottaleb, M. A., 2012. *Photobiogeochemistry of organic matter, principles and practices in water environments*. Springer, London.

Neta, P., Madhavan, V., Zemel, H., Fessenden, R.W., 1977. Rate constants and mechanism of reaction of $\text{SO}_4^{\cdot-}$ with aromatic compounds. *Journal of the American Chemical Society* 99, 163–164.

OECD Test No. 301, 1992. *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3, Degradation and Accumulation. Test No. 301: Ready Biodegradability*.

Paul, T., Dodd, M.C., Strathmann, T.J., 2010. Photolytic and photocatalytic decomposition of aqueous ciprofloxacin: Transformation products and residual antibacterial activity. *Water Research* 44, 3121–3132.

Pereira, V.J., Weinberg, H.S., Linden, K.G., Singer, P.C., 2007. UV degradation kinetics and modelling of pharmaceutical compounds in laboratory grade and surface water via direct and indirect photolysis at 254 nm. *Environmental Science and Technology* 41, 1682–1688.

Pérez-Moya, M., Graells, M., Castells, G., Amigó, J., Ortega, E., Buhigas, G., Pérez, L. M., Mansilla, H. D., 2010. Characterization of the degradation performance of the sulfamethazine antibiotic by photo-Fenton process. *Water Research* 44, 2533–2540.

Pikaev, A.K., Podzorova, E.A., Bakhtin, O.M., 1997. Combined electron-beam and ozone treatment of wastewater in the aerosol flow, *Radiation Physics and Chemistry*, 49, 155–157.

Pikaev, A.K., 2000a. Current status of the application of ionizing radiation to environmental protection: I. Ionizing radiation sources, natural and drinking water (a review). *High Energy Chemistry* 34, 1–12.

Pikaev, A.K., 2000b. Current status of the application of ionizing radiation to environmental protection: II. Wastewater and other liquid wastes (a review). *High Energy Chemistry* 34, 55–73.

- Pintar, A., Besson, M., Gallezot, P., Gibert, J., Martin, D., 2004. Toxicity to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* of Kraft bleach plant effluents treated by catalytic wet-air oxidation. *Water Research* 38, 289–300.
- Ražem, D., Drovnik, I., 1987. Ethanol–chlorobenzene dosimetry for absorbed doses below 1 kGy. *Applied Radiation and Isotopes* 38, 1019–1025.
- Redgrave, L. S., Sutton, S. B., Webber, M. A., Piddock, L. J. V., 2014. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Cell Press* 22, 438–445.
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M.Á., Gonzalo Prados-Joya, G., Ocampo-Pérez, R., 2013. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* 93, 1268–1287.
- Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J. A., Mezcua, M., Hernando, M. D., Letón, P., García-Calvo, E., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R., 2008. Removal of pharmaceuticals and kinetics of mineralization by O₃/H₂O₂ in a biotreated municipal wastewater. *Water Research*, 42, 3719–3728.
- Sági, G., Csay, T., Pátzay, G., Csonka, E., Wojnárovits, L., Takács, E., 2014. Oxidative and reductive degradation of sulfamethoxazole in aqueous solutions: Decomposition efficiency and toxicity assessment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 301, 475–482.
- Sági, G., Csay, T., Szabó, L., Pátzay, G., Csonka, E., Takács, E., Wojnárovits, L., 2015. Analytical approaches to the OH radical induced degradation of sulfonamide antibiotics in dilute aqueous solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 106, 52–60.
- Sági, G., Bezsenyi, A., Kovács, K., Klátyik, S., Darvas, B., Székács, A., Wojnárovits, L., Takács, E., 2018. The impact of H₂O₂ and the role of mineralization in biodegradation or ecotoxicity assessment of advanced oxidation processes. *Radiation Physics and Chemistry* 144, 361–366.
- Sayed, M., Khan, R.A., Khan, A.R., Khan, A.M., Shah, L.A., Khan, J.A., Shah, N.S., Khan, H.M., 2016. Hydroxyl radical based degradation of ciprofloxacin in aqueous solution. *Journal of the Chilean Chemical Society* 61, 2949–2953.

Shah, P. M. 1991. Ciprofloxacin–review. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1, 75–96.

de Souza Santos, L.V., Meireles, A.M., Lange, L.C., 2015. Degradation of antibiotics norfloxacin by Fenton, UV and UV/H₂O₂. *Journal of Environmental Management* 154, 8–12.

Sprandel, K. A., Rodvold, K. A., 2003 Safety and tolerability of fluoroquinolones. *Clinical Cornerstone*, 5, 29–36.

Szabó, L., Tóth, T., Homlok, R., Takács, E., Wojnárovits, L., 2012. Radiolysis of paracetamol in dilute aqueous solution. *Radiation Physics and Chemistry* 81, 1503–1507.

Takizawa, Y., Akama, M., Yoshihara, N., Nojima, O., Arai, K., Okouchi, S., 1996. Hydroxylation of phenolic compounds under the condition of ultrasound in aqueous solution. *Ultrasonics Sonochemistry* 3, 201–204.

Talinli, I., Anderson, G.K., 1992. Interference of hydrogen peroxide on the standard cod test. *Water Research* 26, 107–110.

Tchobanoglous, G., Burton, F. L., David Stensel, H. D., Metcalf & Eddy, 2014. *Wastewater Engineering, Treatment and Resource Recovery*, Mc Graw-Hill, New York

Vasconcelos, T.G., Kümmerer, K., Henriques, D.M., Martins, A.F., 2009. Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses. *Journal of Hazardous Materials* 169, 1154–1158.

von Sonntag, C., 2008. Advanced oxidation processes: mechanistic aspects. *Water Sci. Technol.* 58, 1015–1021.

Wang, R. X., Wang, J. Y., Sun, Y. C., Yang, B. L., Wang, A. L., 2015. Antibiotic resistance monitoring in *Vibrio* spp. isolated from rearing environment and intestines of abalone *Haliotis diversicolor*. *Marine Pollution Bulletin* 101, 701–706.

Wojnárovits, L.: *Sugárkémia – Sugárzások kémiai hatásai* 2007. Akadémiai Kiadó, Budapest

Wojnárovits L., Takács E., 2008. Irradiation treatment of azo dye containing wastewater: An overview. *Radiation Physics and Chemistry* 77, 225–244.

Wojnárovits, L., Takács, E., 2013. Structure dependence of the rate coefficients of hydroxylradical + aromatic molecule reaction. *Radiation Physics and Chemistry* 87, 82–87.

Wojnárovits, L., Takács, E., 2017. Wastewater treatment with ionizing radiation. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 311, 973–981.

Yahya, M.Sh., Oturan, N., El Kacemi, K., El Karbane, M., Aravindakumar, C.T., Oturan, M.A., 2014. Oxidative degradation study on antimicrobial agent ciprofloxacin by electro-Fenton process: Kinetics and oxidation products. *Chemosphere* 117, 447–454.

Yuan, F., Hu, Ch., Hu, X., Wei, D., Chen, Y., Qu, J., 2011. Photodegradation and toxicity changes of antibiotics in UV and UV/H₂O₂ process. *Journal of Hazardous Materials* 185, 1256–1263.

Zhang, P., Yao, S., Li, H., Song, X., Liu, Y., Wang, W., 2011. Pulse radiolysis of several fluoroquinolones. *Radiation Physics and Chemistry* 80, 548–553.

Nyilatkozat a munka önállóságáról, irodalmi források megfelelő módon történt idézéséről

Alulírott Tegze Anna kijelentem, hogy a

Vízben oldott antibiotikumok (fluorokinolonok) sugárzással indukált lebontása

című benyújtott doktori értekezést magam készítettem, és abban csak az irodalmi hivatkozások listáján megadott forrásokat használtam fel. Minden olyan részt, amelyet szó szerint, vagy azonos tartalomban, de átfogalmazva más forrásból átvettem, egyértelműen, a forrás megadásával megjelöltem.

Budapest, 2020. 12. 10.

Tegze Anna
.....
(aláírás)

Nyilatkozat a nyilvánosságra hozatalról

Alulírott **Tegze Anna** hozzájárulok a

Vízben oldott antibiotikumok (fluorokinolonok) sugárzással indukált lebontása

című doktori értekezésem interneten történő nyilvánosságra hozatalához az alábbi formában*:

- **korlátozás nélkül;**
- elérhetőség csak magyarországi címről;
- elérhetőség a fokozat odaítélését követően 2 év múlva, korlátozás nélkül;
- elérhetőség a fokozat odaítélését követően 2 év múlva, csak magyarországi címről.

Budapest, 2020. 12. 14.



(aláírás)