

**MŰSZAKI SZEMLE**  
**63. szám, 2014.**

**Szerkesztőbizottság elnöke /**  
**President of Editing Committee**

Dr. Köllő Gábor

**Szerkesztőbizottság tagjai /**  
**Editing Committee**

Dr. Balázs L. György – HU,  
Dr. Biró Károly Ágoston – RO,  
Dr. Csibi Vencel-József – RO,  
Dr. Fedák László – UA,  
Dr. Karácsony János – RO,  
Dr. Kása Zoltán – RO,  
Dr. Kászonyi Gábor – HU,  
Dr. Majdik Kornélia – RO,  
Dr. Nagy László – RO,  
Dr. Péics Hajnalka – RS  
Dr. Puskás Ferenc – RO,  
Dr. Szalay György – SK,  
Dr. Turchany Guy – CH  
Dr. Sebestyén-Pál György – RO

**Kiadja / Editor**

Erdélyi Magyar Műszaki  
Tudományos Társaság – EMT  
Societatea Maghiară Tehnico-Științifică  
din Transilvania  
Ungarische Technisch-Wissenschaftliche  
Gesellschaft in Siebenbürgen  
Hungarian Technical Scientific Society  
of Transylvania

**Felelős kiadó / Managing Editor**

Dr. Köllő Gábor

**A szerkesztőség címe / Address**

Romania  
400604 Cluj, Kolozsvár  
B-dul 21. Decembrie 1989., nr. 116.  
Tel/fax: 40-264-590825, 594042  
Levélcím: RO – 400750 Cluj, C.P. 1-140.

**Nyomda / Printing**

Incitato Kft.

ISSN 1454-0746

[www.emt.ro](http://www.emt.ro)

[emt@emt.ro](mailto:emt@emt.ro)

**Tartalomjegyzék – Content – Cuprins**

Az előkezelési mód hatása a vadkömény illóolaj kinyerésére és minőségére

The Effect of Pretreating Methods on Quantity and Quality  
of the Wild Caraway Essential Oil

Influența metodelor de pretratate asupra gradului de extracție  
și a compoziției uleiurilor volatile de chimion sălbatic

**ANDRÁS Csaba Dezső, SALAMON Rozália Veronika,**  
**BARABÁS Imola, SZÉP AI. Sándor**

3

Génkiütés  $\lambda$ -Red rekombinációval Escherichia coli-ban

Gene Knockout using  $\lambda$ -Red Recombination System in Escherichia Coli

Eliminarea genelor în Escherichia coli folosind sistemul de recombinare  $\lambda$ -Red

**FAZAKAS (IUHASZ) Andrea, BODOR Zsolt,**  
**KOVÁCS Erika, LÁNYI Szabolcs, ÁBRAHÁM Beáta**

10

Dobiszap mint tejipari melléktermék anaerob rothaszthatóságának  
vizsgálata biogáz előállítás céljából

Testing of Application of Bactodugate (Dairy by-product)  
in Anaerobic Digestion to Generate Biogas

Examnarea aplicabilității bacto-fugatului de lapte ca substrat  
pentru digestia anaerobă cu scopul producerii biogazului

**GYENGE László, JAKAB Ervin, KELEMEN Edmond,**  
**RÁDULY Botond, LÁNYI Szabolcs, ÁBRAHÁM Beáta**

16

Glikozilált, védett aminosavak szintézise

glikozilált biokonjugátumok előállítása céljából

Synthesis of Glycosilated, Protected Amino Acids

for the Preparation of Glycosilated Bioconjugates

Sinteza glicozilaminoacizilor protejați

în scopul obținerii bioconjugatilor glicozilați

**KOVÁCS Anita Kármén, Dr. HETÉNYI Anasztázia,**  
**Prof. Dr. TÓTH Gábor**

21

Harmadlagos kőolaj-kitermelésre alkalmas tenzidek

kiválasztási módszerei

Screening Methods of Surfactants for Tertiary Oil Recovery

Metode de selecție a tenzidelor utilizabile în exploatarea terțieră al țiteiului

**NAGY Roland, SALLAI Rubina,**  
**Dr. BARTHA László, Vágó Árpád**

26

Cr(III)→Cr(VI) átalakulásának vizsgálata gyakorlati minták hőkezelése során

Conversion of Cr(III) Content of Samples to Cr(VI) During Ashing

Conversia Cr(III)→Cr(VI) a probelor analitice în urma tratamentului termic

**SÓGOR Csilla, BÉNI Áron,**  
**KOVÁCS Róbert, POSTA József**

34

# Az előkezelési mód hatása a vadkömény illóolaj kinyerésére és minőségére

## The Effect of Pretreating Methods on Quantity and Quality of the Wild Caraway Essential Oil

### Influența metodelor de pretratate asupra gradului de extracție și a compoziției uleiurilor volatile de chimion sălbatic

ANDRÁS Csaba Dezső, SALAMON Rozália Veronika,  
BARABÁS Imola, SZÉP AI. Sándor

Sapientia EMTE-Kolozsvár, Műszaki és Társadalomtudományi Kar,  
Élelmiszer-tudományi Tanszék  
Csíkszereda, Szabadság tér 1., andrascaba@sapientia.siculorum.ro

#### ABSTRACT

The caraway (*Carum carvi* L.) samples were collected from a little meadow situated in Harghita Mountain (Csíkmadaras, Hargitafürdő) where a relatively small area was covered by a group of rich populations of wild cumin. The harvested plants are dried by four methods namely: the seeds were dried (a) statically and (b) in laboratory convection dryer; the whole collected plant parts were dried (c) static outdoors in sunshine and (d) in a warm indoor place in darkness. The hand-picked seeds were separated from debris by sieving and elutriation. The essential oil was obtained with electrically heated Clevenger-type laboratory steam distillation equipment both with and without microwave pretreatment. The variation of the obtained essential oil volume in time was measured and the final yield was determined. For comparison, supercritical fluid extraction of the caraway essential oil with carbon dioxide in a laboratory scale SFT 100 supercritical extractor was made. Each sample was analyzed by gas-chromatography. The investigation shows that the essential oil yield is around 7 mL/100 g, less in the case of green plant (6 mL/100 g) and higher in case the mature plant (8,3 mL/100 g).

#### ÖSSZEFOGLALÓ

A vadkömény (*Carum carvi* L.) mintákat a Hargita hegység (Csíkmadaras, Hargitafürdő) havasi kaszálójáról gyűjtöttük, ahol aránylag kis területen csoportos vadkömény populációk gazdagon borítják a rétet. A begyűjtött növényt több módszerrel szárítottuk: (a) leszemelve, statikusan, (b) laboratóriumi konvekciós szárítóban, (c) kévébe kötve meleg helyen és szabad térben, illetve (d) sötét zárt helyiségben. A kézzel leszedett szemeket szitálással és szélfúvással tisztítottuk. Az illóolaj kivonást laboratóriumi, elektromosan fűtött vízgőzdesztillációs térfogatmérésre alkalmas gyűjtővel ellátott, Clevenger-készülékkel végeztük mikrohullámú előkezeléssel vagy anélkül, mérve az illóolaj térfogatának időbeli változását. Összehasonlításként elvégeztük a szuperkritikus fluid extrakciót is (szén-dioxid) egy SFT 100 laboratóriumi berendezésben. Ezután gázkromatográfiásan meghatároztuk a minták illóolaj-összetételét. A vizsgált vadkömény mintáink illóolajtartalma 7 mL/100 g átlagérték körül ingadozott, kevesebb a zöld (6 mL/100g) és több az érett kömény esetében (8,3 mL/100 g).

**Kulcsszavak:** vadkömény, illóolajkinyerés, szárítási módszerek, illóolajösszetétel.

#### BEVEZETÉS

A kömény (*Carum carvi* L.) vadon termő és termesztett formában is közismert fűszernövény, valamint élelmiszeripari aroma- és gyógyszeripari alapanyag<sup>1</sup>. A magyar konyha főleg három területen alkalmazza, egyedüli vagy keverék formában, a húskészítmények, péksütemények és szeszes italok aromaanyagaként<sup>1-4</sup>. A gyógyászatban is elterjedt illóolaj hatóanyagainak következtében. Kivonatát emésztés-serkentőként és görcsoldóként<sup>5</sup> alkalmazzák, antiszeptikus hatású (pld. az *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* ellen kiváló<sup>6</sup>), szabadgyök-fogó képessége négyszer jobb, mint a C vitaminnak<sup>7</sup>, csökkenti a vércukorszintet<sup>8</sup>, asztmaellenes hatású<sup>9</sup>, tejtermelést serkentő hatása is bizonyított<sup>10</sup>, valamint egyes megfigyelések szerint a spontán abortuszt is gátolja<sup>11</sup>. A kömény-extraktumok és főleg azon belül egyes komponensek alkalmasak a növényvédelemben

és terméktárolásban. A d-karvon burgonya-csírázás gátlására<sup>12</sup>, az illóolaj gyökérgolyva növekedésének gátlására alkalmas<sup>13</sup>. Rovarölő hatása is bizonyított, az illóolaja mind a talajban lévő, mind a raktári rovarokkal szemben alkalmazható<sup>4</sup>. Az illóolaj-tartalom változó értéket mutat a vad, illetve a termesztett éves vagy két-éves konyhakömény esetében. Termesztett köménynél az egyéves termés illóolaj-tartalma 2,5 % körüli<sup>4</sup>, a kétéves esetén eléri, sőt túlhaladja a 7%-ot<sup>1-3</sup>. A vadkömény esetén az illóolaj-tartalom 6,5-7,5 mL/100 g szárazanyag mennyiség körüli<sup>3</sup>.

Az illóolaj-tartalmat és az összetevők arányát befolyásoló tényezők: a talaj jellege és megmunkálása, az éves csapadék és tápanyagpótlás mennyiség, a nemesítés, érési, betakarítási, szárítási és kinyerési technológiák<sup>4</sup>. Ami a vadkömény illóolaj hozamát és összetételét illeti, a legfontosabb tényezők közé tartoznak az élőhely, a betakarítás időszaka, a szárítási technológia és természetesen a kinyerési módszer<sup>3</sup>. Jelen kutatás célja főleg a betakarítást követő változók hatásának vizsgálata mind a kinyerésre, mind az illóolaj-összetételére vonatkoztatva.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A vadkömény mintákat a Hargita hegység kaszálóiról gyűjtöttük. Az első mintákat Csíkmadaras havasi kaszálójáról gyűjtöttük, a Madaras patak melletti rétről, ahol aránylag kis területen csoportos vadkömény populációk gazdagon borítják a tisztást. A begyűjtést 2012. július hónap elején és augusztus hónap közepén végeztük. A másik termőhely Hargitafürdő, ahol a begyűjtést 2013. július hónap közepén (2013.07.16) és végén (2013.07.28) végeztük. A szárastól begyűjtött növényt először osztályoztuk, különválasztva a zöld és az érett hajtásokat, majd szárítottuk. Ezt négy módszerrel végeztük el:

- szárán, nyílt térben,
- szárán hűs, napfénymentes térben,
- leszemelve szabad laboratóriumi körülményeken,
- laboratóriumi konvekciós szárítóban.

Az illóolaj kivonást háromféleképpen végeztük el:

a). laboratóriumi 1,5 mL gyűjtőtérfogatú, 0,01 mL beosztású Clevenger-gyűjtővel ellátott, elektromosan fűtött, 125 W teljesítményű vízgőzdesztillációs készülékkel, ahol minden próba 10 g szárított, örölt vagy öröletlen 200 mL desztillált vízben szuszpendált mintát tartalmazott,

b). ugyanarra az elektromosan fűtött Clevenger-vízgőzdesztillációs készülékre csatlakoztattuk a mintát tartalmazó lombikot. Előzetesen a lombikban lévő 10 g, 200 mL desztillált vízben szuszpendált örölt mintákat mikrohullámú készülékben (módosított Hynari Microwave S 110) reflux alatt 5, 15 és 30 percig kezeltük.

c). szuperkritikus széndioxid extrakciós berendezésben (Supercritical Fluid Technology SFT 100 System), ahol a 10 mL hasznos térfogatú cső-extraktorban ( $t=40\text{ °C}$ ,  $p=100\text{ atm}$ ) nyomású szén-dioxiddal dolgoztunk, szakaszos üzemben. A mintavételt a  $42\text{ °C}$  hőmérsékletre felfűtött izotermikus szelep nyitásával végeztük, a kondenzált illóolajat mintagyűjtőbe fogva fel. A gázkromatográfiás elemzésig minden mintát csavarmentes alufóliával borított szilikongumi tömítésű zárt fiolában tároltunk  $+4\text{ °C}$ -on. A gázkromatográfiás (GC-FID) körülmények: *készülék*: Varian CP-3380; *kolonna*:  $100\times 0,25\text{ mm}$  kvarc-kapilláris, CP-Sil 88 (FAME) állófázissal; *detektor*: FID,  $270\text{ °C}$ ; *Injektor*:  $270\text{ °C}$ ; *vivőgáz*:  $\text{H}_2$ ,  $p=235\text{ kPa}$ ; *hőmérséklet-program*:  $50\text{ °C}$ , 1 percig,  $5\text{ °C/perc}$  gradiens  $210\text{ °C-ra}$ ; *injektált oldat térfogata*:  $1\text{ }\mu\text{L}$  higított oldat (1/16).

A vadkömény minták mellett elvégeztük a kereskedelembe forgalmazott örölt és öröletlen termesztett köményekkel is az extrakciót. Ugyanakkor extrakciós kísérleteket végeztünk a Retsch Grindomix GM 200 laboratóriumi malomban örölt szárított köményszárral is.

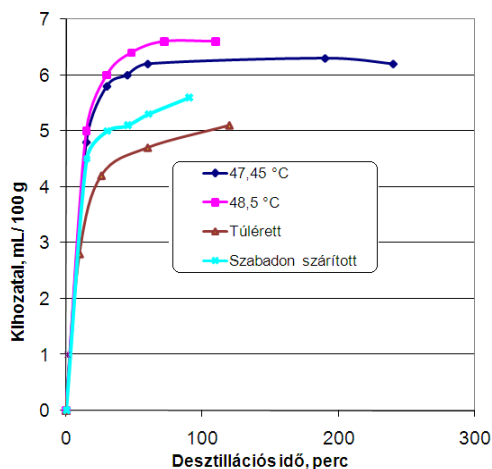
## EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS

Az eredmény kiértékelésében az előkezelés (szárítás, őrlés, mikrohullámú előkezelés) hatását vizsgáltuk az illóolaj kinyerésre és összetételre. A kinyerés meghatározására a Clevenger-feltét mérőskáláját alkalmaztuk, a mérési adatokat mL illóolaj/100 g köménymagra vonatkoztatva fejeztük ki.

*A kinyerés változása a kezelési körülmények függvényében*

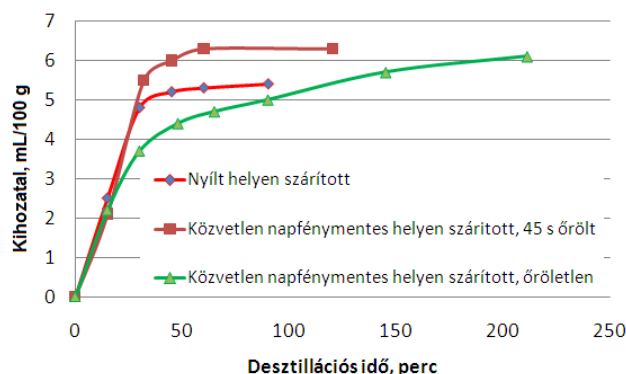
Az illóolaj kinyerést elemezve az tapasztalható, hogy a szárítási módszer – kévében, napos illetve napfénymentes vagy laboratóriumi körülmények között, illetve leszemelve, majd szárítva szabad illetve kényszeráramlásos laboratóriumi szárítóban – fontos tényező. Az 1. és 2. ábrán látható, hogy a legtöbb illóolaj a konvekciós illetve a közvetlen napfénymentes térben szárított magokból nyerhető ki, míg a legkevesebb a száron túlérett magokból. A napfényes helyen szárított, kévébe kötött növény illóolaj kinyerése alacsonyabb, mint a konvekciósan gyors-szárított mintáké, legalacsonyabb illóolaj tartalma a túlérett mintáknak volt. A 3.

és 4. ábrán feltüntetett görbék az őrlési idő befolyását tükrözik. Jól látható, hogy az őrületlen magvakból lassabban nyerhető ki az illóolaj, míg az őrlési idő csoportosítja a görbéket a gyorsabb kinyerési zónába. Megfigyelhető, hogy az érett kömény esetén az illóolaj kinyerés nagyobb, mint a zöld köménynél, illetve az, hogy a jól szárított, érett kömény illóolaj kinyerése 15 s időtartamú őrlésnél bizonyult a legjobbnak.



1. ábra

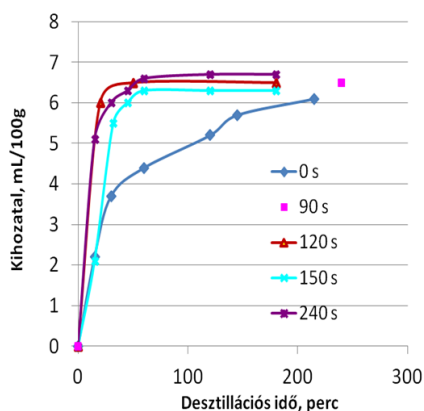
A desztillációs kinyerés időbeli változása a szárítási körülmények függvényében (Csikmadaras, 2012 termés, 30 s őrlés)



2. ábra

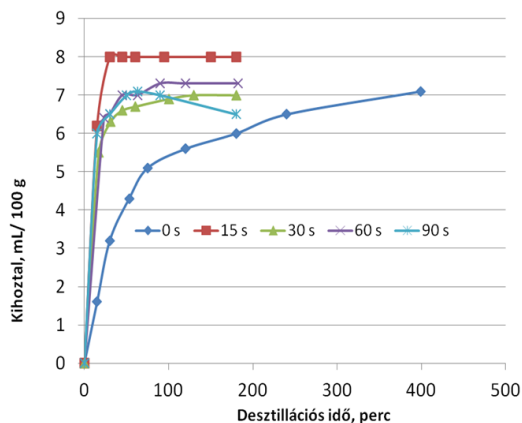
A Hargita fürdői vadkömény kinyerése a szárítási módszerek függvényében (2013 termés)

Jól látható, hogy az őrületlen kömény desztillációs görbe alakja nem különbözik az érési periódustól, ha a kinyerésben eltérést is mutat.



3. ábra

Zölden szedett, sötét helyen szárított köménymag illóolaj kinyerése az őrlési idő függvényében (Csikmadaras, 2012 termés)

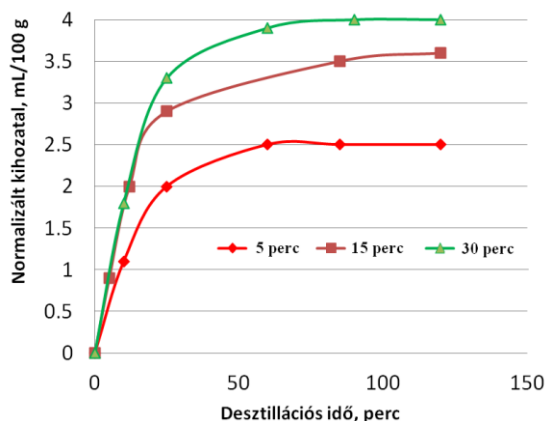


4. ábra

Szabad felületen szárított érett köménymag kinyerésének változása az őrlési idő függvényében (Csikmadaras, 2012 termés)

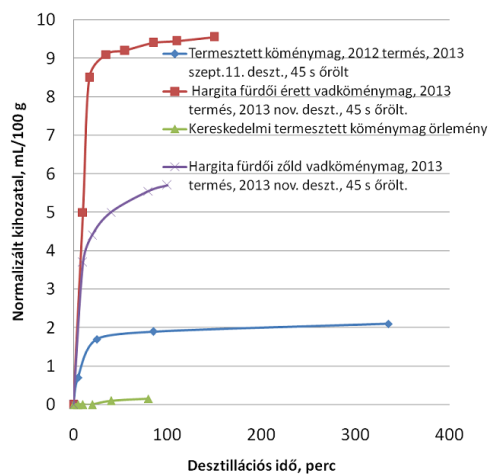
A mikrohullámú előkezelés, amely több esetben javasolt a kinyerés elősegítésére, főként a zöld, még magas sejtlé-tartalmú növények esetében<sup>14</sup>, elég nagy szórást mutat a kinyerés szintjén. Meglepő, hogy a szakaszosan működő mikrohullámú kemence esetében, a forrás kezdetétől számított 5 perces kezelés már jól lecsökkentette a kinyerést (a 63 mL/100 g vakpróbához képest csak 2,5 mL), a magasabb időtartalomnál, bár a veszteség nem elhanyagolható, a kinyerés növekvő tendenciát mutatott (5. ábra). Az illóolaj kinyerés nagymértékben függ a magok eredetétől és annak előkezelési és főleg tárolási körülményeitől. A 6. és 7. ábrán összehasonlítottuk az ugyanolyan körülményeken desztillált köményfélések illóolaj kinyerésének görbéit.

Látható, hogy a természetett köményből előállított örlemény tartalmazza a legkevesebb illóolajat, ezt követi a természetett és köménymagként forgalmazott kömény, majd a zöld vadkömény és legtöbbit az érett, napfénymentes helyen szárított, őrlés előtt jól lehűtött vadkömény.



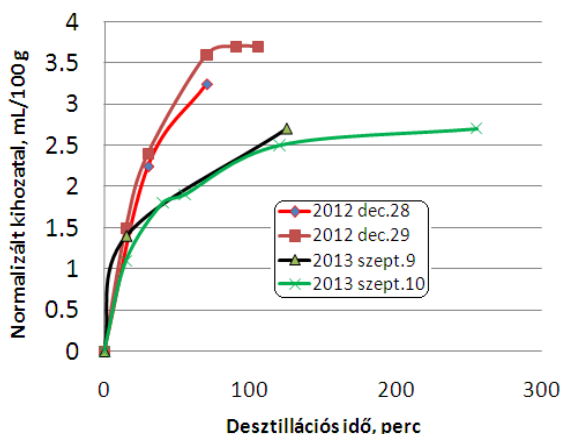
5. ábra

*Mikrohullámú előkezelés befolyása az illóolaj kinyerésre (Csíkmadarasi vadkömény, 2012 termés, 90 s őrlés, 2013 nov. desztillálva)*



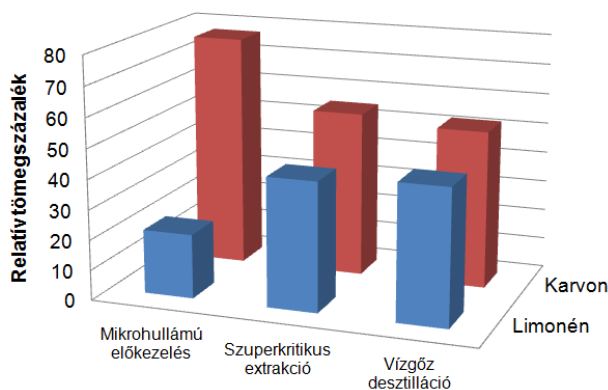
6. ábra

*Köménymag minták illóolaj kinyerése hidrodesztillációval*



7. ábra

*Termesztett, csomagolt köménymag illóolaj kinyerése a tárolási idő függvényében (2012 termés, 45 s őrlt)*

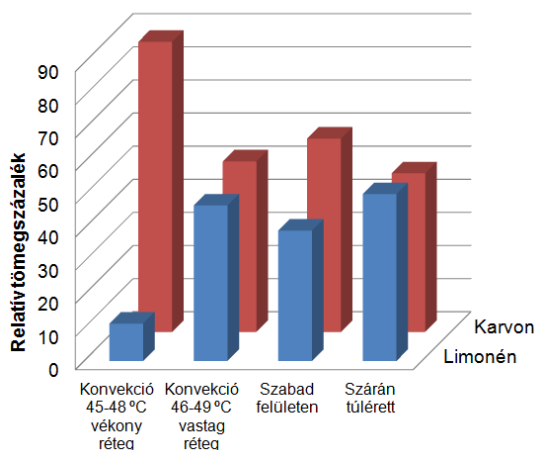


8. ábra

*A különböző technikákkal kivont illóolaj két fő komponensének relatív tömegszázalékos összetétele*

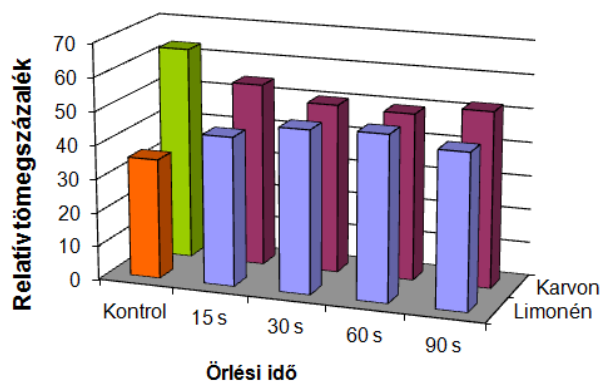
*A kezelési körülmények hatása az illóolaj összetételre*

Az illóolaj-komponensek minőségi meghatározására Kubeczka és Formacek standard kromatogramjait<sup>15</sup> használtuk. A kromatogramokból megállapítható, hogy az illóolaj-mennyiség több mint 87%-át a két főkomponens, a limonén és a karvon össz mennyisége adja. A 8. ábrán látható, hogy a különböző technikával kivont vadkömény illóolaj összetétel (hidrodesztilláció, mikrohullámú előkezelés, és szuperkritikus extrakció) különbséget mutat a két főkomponens arányban a mikrohullámú előkezelés esetében. Itt jól látható, hogy az előkezelés megváltoztatja a limonén/karvon arányt, ami a másik két esetben nem észlelhető. A szárítási módnál is tapasztalható eltérés (9. ábra). A konvekciós, vékonyrétegű szárítás esetében a két főkomponens aránya eltérést mutat, az illékonyabb komponens eltávolításával a relatív tömegszázalék eltolódik a karvon irányába. A két főkomponens változását az őrlési időtartam lényegesen nem befolyásolja (10. ábra).



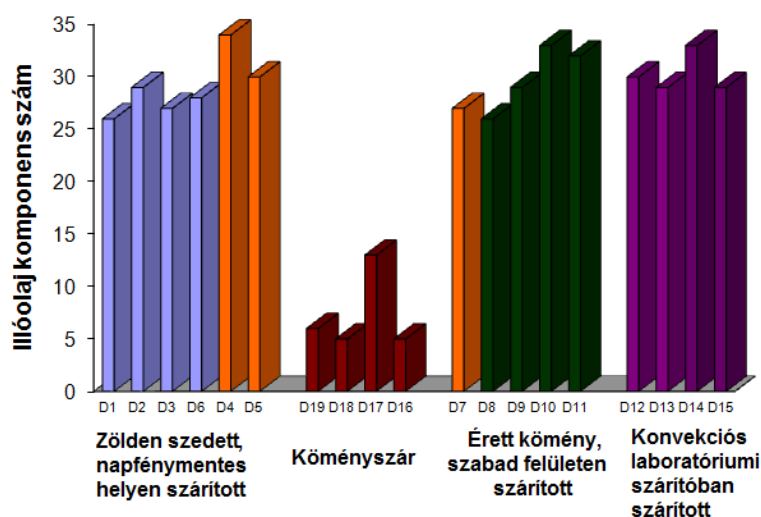
9. ábra

*A két főkomponens relatív tömegszázalékos változása a szárítási körülmények függvényében*



10. ábra

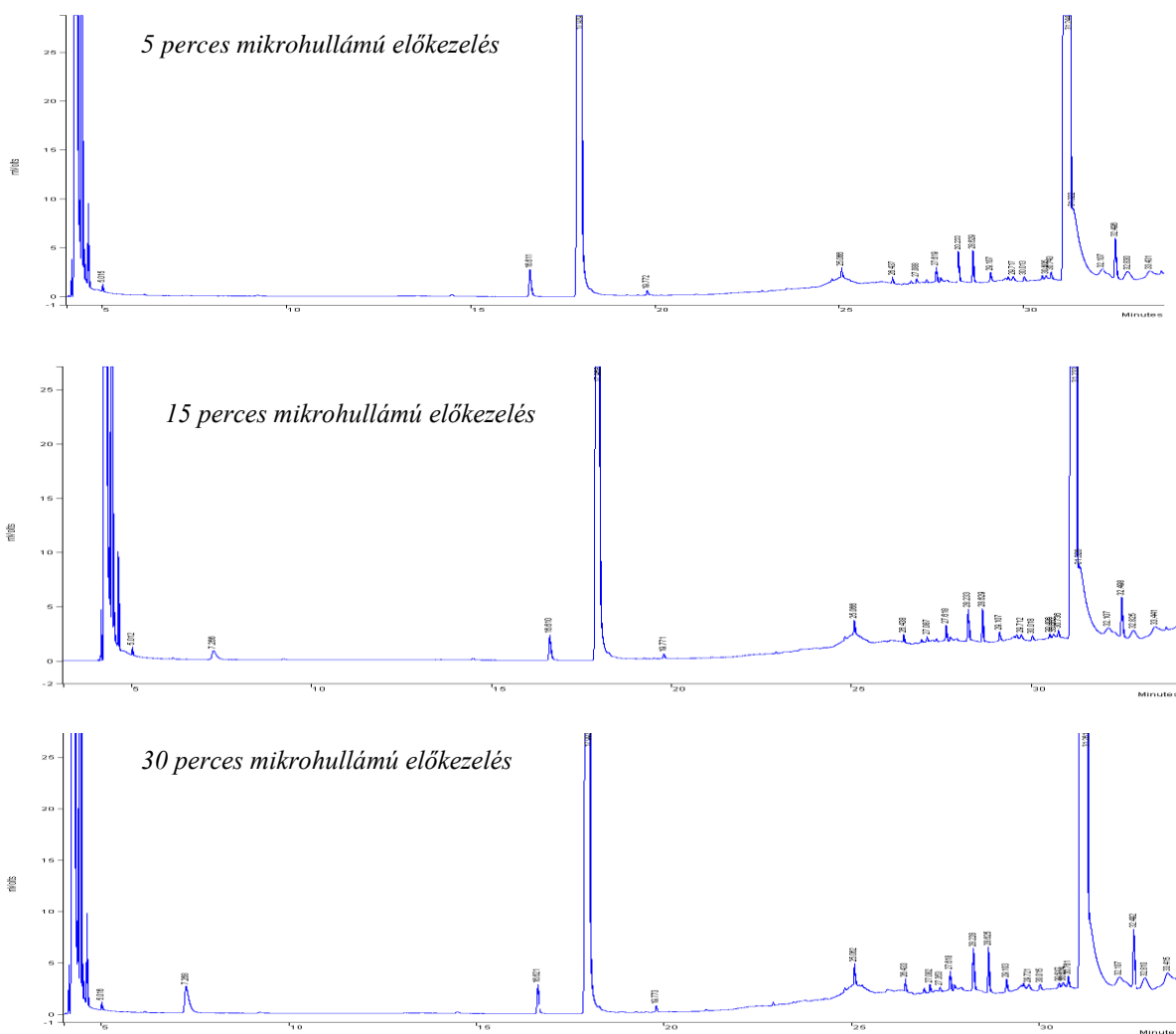
*Az őrlési idő befolyása az illóolaj két fő komponensének mennyiségére*



11. ábra

*Az előkezelési módszer hatása a kromatogramból meghatározható komponensek számára*

A legnagyobb különbséget a komponensek számában találtuk (lásd a 11. ábrát) bár itt is a kontrollokhöz képest még nem beszélhetünk szignifikanciáról. Az azonban kijelenthető, hogy a legtöbb komponenst mutató érett kömény se éri el az irodalomban jelzett 42-43 komponenst. Ezt természetesen azzal is magyarázhatjuk, hogy a szárítás, de főleg az őrlési körülmények kedvezőek a nagyon illékony komponens vesztésre. A mikrohullámú előkezelésnél látható, hogy bár vesztéssel számolhatunk, a kezelési idő növelése nem hoz érdemi változást. Így a 30 perces kezelés megfelel a 15 percesnek, amelynek esetében a cisz- és a transz-dihidrokarvon mennyiség megnő az 5 perces kezeléshez képest. Megállapítható, hogy a szén-dioxiddal végzett szuperkritikus fluid extrakció szelektívebb, mint a vízgőz-desztilláció és jelentősen megnő az  $\alpha$ -terpineol mennyiség az extraktumban. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy vízgőz-desztilláció során az  $\alpha$ -terpineol jelentős hányada a vizes fázisban marad.



12. ábra  
A mikrohullámú előkezelés befolyása az illóolaj összetételre

## ÖSSZEFOGLALÁS

- A kísérletek azt bizonyítják, hogy a kömény szárítási módja főként a kinyerés mennyiségére és a kinyerés sebességére van befolyással;
- Az őrlési időtartam az illóolaj kinyerésének sebességét növeli, ellenben egy bizonyos komponensen túlmenően az összetételt jelentősen nem változtatja;
- A túlérés majdnem teljességében eltávolítja az illóolajakat a szárból, és a túlérlett mag is kevesebb illóanyagot tartalmaz, mint a konvekciós szárítóban, vékonyrétegben kondicionált kömény;
- A főkomponensek minden esetben a limonén és karvon. A minták összes illó-komponenseinek száma kevesebbnek bizonyult, mint a természetett és alacsony hőmérsékleten szárított és őrölt kömény;
- A mikrohullámú előkezelés, bár kissé növeli a kinyerés sebességét, a nagy veszteségen túlmenően (mint ahogy várható is volt) alig volt befolyással a szárított köményből kinyert illóolaj összetételére;
- Az összetétel nagyon kis mértékben függ az előkezelés módjától: mikrohullámos előkezelésnél a cisz- és a transz-dihidrokarvon mennyisége növekszik;
- Szén-dioxiddal végzett superkritikus fluid extrakció szelektívebb, mint a vízgőz desztilláció és jelentősen megnöveli az  $\alpha$ -terpineol mennyiségét az extraktumban. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy vízgőz-desztilláció során az  $\alpha$ -terpineol jelentős hányada a vizes fázisban marad.

## IRODALOM

- [1.] Bernáth J.: *Gyógy- és aromanövények*, 3. kiadás, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 2000, 230-235 o.
- [2.] Szabó L.Gy.: *Gyógynövény-ismereti tájékoztató*, Schmidt und Co.-Méliusz Alapítvány, Pécs, 2005, 109 o
- [3.] Csedő K. (szerk.): *Plantele medicinale și condimentare din județul Harghita - Hargita megye gyógy- és fűszernövényei*, UJCOOP, Tipografia Tg. Mureș-Marosvásárhely, 1980.
- [4.] Valkovszki N.J.: *Az egyéves konyhakömény (Carum carvi L. var. annuum) termesztéstechnológiai feltételeinek optimalizálása csernozjom réti talajon*, Doktori disszertáció, Corvinus Egyetem, Budapest, 2011.ű
- [5.] Madisch A., Holtmann G., Mayr G., Vinson B., Hotz J.: Treatment of functional dyspepsia with a herbal preparation, *Digestion*. 2004, **69** (1), 45-52. o.
- [6.] Bonyadian M., Karim G.: Study of the effects of some volatile oils of herbs (pennyroyal, peppermint, tarragon, caraway seed and thyme) against *E. coli* and *S. aureus* in broth media, *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, University of Teheran. 2002, **57**(4), 81-83. o.
- [7.] Satyanarayana S.: Antioxidant activity of the aqueous extracts of spicy food additives - evaluation and comparison with ascorbic acid in in-vitro systems. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 2004, **4**(2), 1-10. o.
- [8.] Eddouks M., Lemhardi A., Michel J.B.: Caraway and caper: potential anti-hyperglycaemic plants in diabetic rats, *Journal-of-Ethnopharmacology*, 2004, **94** (1), 143-148. o.
- [9.] Haggat E.G., Abou-Moustafa M.A., Boucher W., Theoharides T.C.: The effect of a herbal water extract on histamine release from mast cells and on allergic asthma, *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 2003, **3**(4), 41-54. o.
- [10.] Kholif A. M., El-Shewy A.A.: Response of lactating goats to rations supplemented with the medicinal seeds, *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 2004, **12**(2), 559-567. o.
- [11.] Sadraei H., Ghannadi A., Takei-Bavani M.: Effects of *Zataria multiflora* and *Carum carvi* essential oils and hydroalcoholic extracts of *Passiflora incarnata*, *Berberis integerrima* and *Crocus sativus* on rat isolated uterus contractions, *International Journal of Aromatherapy*, 2003,**13** (2/3), 121-127. o.
- [12.] Toxopeus H., Bouwmeester H.J.: Improvement of caraway essential oil and carvone production in The Netherlands, *Industrial Crops and Products*, 1993, **1**, 295-301. o.
- [13.] El-Zemity, K.: Antibacterial screening of some essential oils, monoterpenoids and novel N-methyl carbamates based on monoterpenoids against *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia carotovora*, *Archives of Phytopatology and Plant Protection*, 2008, **41**(6) 451-461 o.
- [14.] Navarrete A., Wallraf, S., Mato, R.B., Cocero, M.J., Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011, **50**, 4667-4671 o.
- [15.] Kubeczka K.H., Formacek V.: *Essential Oil Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Chichester, 2002, 37-40. o.



# Génkiütés $\lambda$ -Red rekombinációval *Escherichia coli*-ban

## Gene Knockout using $\lambda$ -Red Recombination System in *Escherichia Coli*

### Eliminarea genelor în *Escherichia coli* folosind sistemul de recombinare $\lambda$ -Red

FAZAKAS (IUHASZ) Andrea<sup>1</sup>, BODOR Zsolt<sup>1</sup>,  
KOVÁCS Erika<sup>2</sup>, LÁNYI Szabolcs<sup>1,2</sup>, ÁBRAHÁM Beáta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bukaresti Műszaki Egyetem, Alkalmazott Kémia és Anyagtudományok Kar,  
RO-060042, Bukarest, Splaiul Independenței 313, tel. 4021-402 96 24, fax 4021-402 39 34,  
iuhaszandrea@sapientia.siculatorum.ro, www.upb.ro

<sup>2</sup>Sapientia EMTE, Műszaki és Társadalomtudományi Kar, Biomérnöki Tanszék, Csíkszereda, RO-530104,  
Szabadság tér 1, tel. 40-266-31 71 21, fax 40-266-37 20 99, www.sapientia.siculatorum.ro

#### ABSTRACT

*Industrial biotechnology is an important tool for the production of many commodity and specialty chemicals using microorganisms. Many microorganisms are able to produce industrially important organic compounds, but there are some barriers in the economical production. Metabolic engineering can be used to overcome these problems. The  $\lambda$ -Red recombination system is an efficient method for preparing precisely defined insertions, deletions, and point mutations in the *Escherichia coli* genome. In this study the  $\lambda$ -Red recombination system has been used to knockout the pyruvate format lyase gene from the *E. coli* genome which was isolated from animal faeces.*

#### ÖSSZEFOGLALÓ

*Az ipari biotechnológia nagyon fontos eszköz sok alap-, illetve speciális vegyi anyag előállítására mikroorganizmusokkal. Több mikroorganizmus képes iparilag hasznos szerves vegyületek előállítására, azonban a gazdaságos termelésnek van néhány akadálya. Ezen problémák megoldására az anyagcsere mérnökség ad lehetőséget. A  $\lambda$ -Red rekombinációs rendszer egy olyan hatékony módszer, amelynek alkalmazásával pontosan meghatározott beillesztéseket, törléseket illetve pontmutációkat lehet végezni az *Escherichia coli* genomjában. Kutatásunk során  $\lambda$ -Red rekombinációs rendszer alkalmazásával elimináltuk a piruvát-formát liáz génjét állati eredetű fekáliából izolált *E. coli* genomból.*

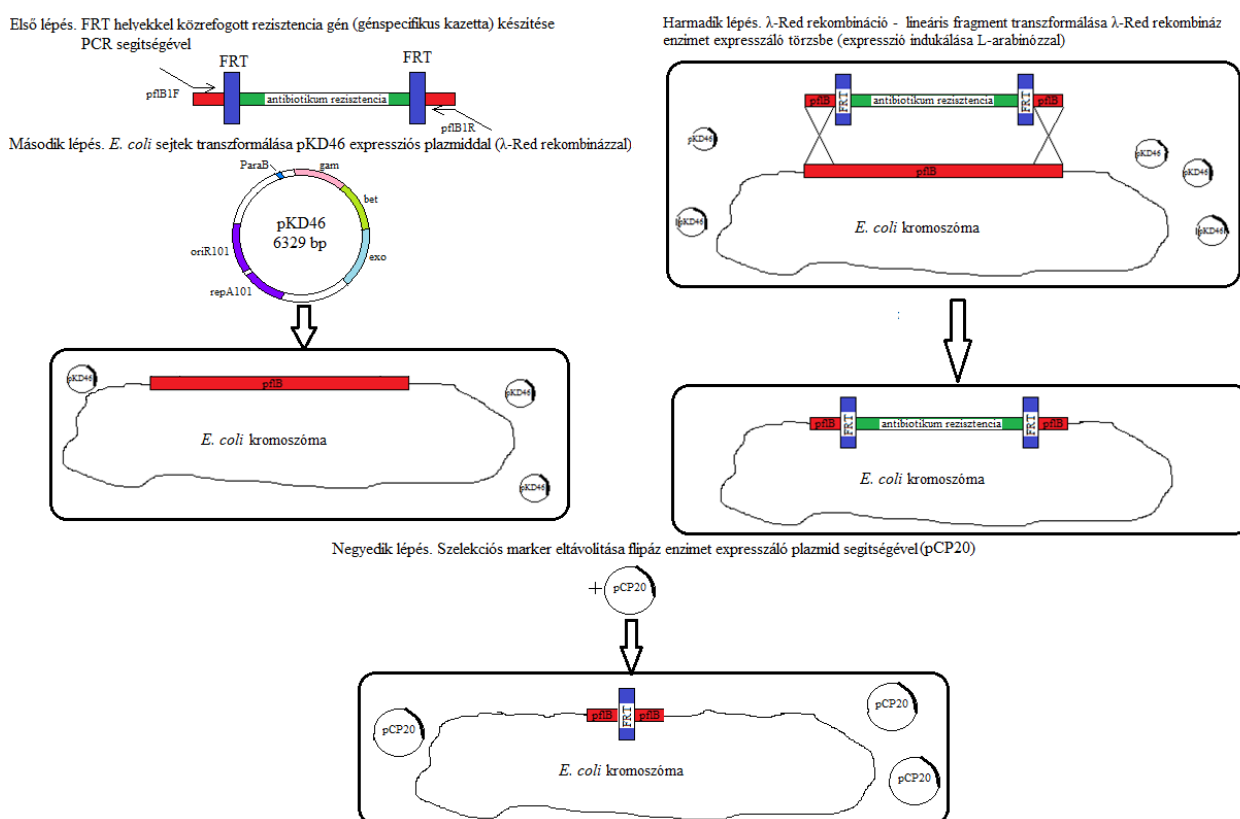
**Kulcsszavak:** génkiütés,  $\lambda$ -Red rekombináció, *Escherichia coli*, piruvát-formát liáz, anyagcsere mérnökség

#### 1. BEVEZETŐ

Napjainkban számos szerves anyagot biotechnológiai úton állítanak elő, mégpedig fermentációval [1]. Fermentáció során a mikroorganizmusok saját élettevékenységükhöz szükséges energiát termelnek, miközben iparilag hasznos metabolitokat állítanak elő [2]. Viszont ezen anyagok ily módon való gazdaságos előállításának korlátai vannak, mint például az alacsony termelékenység, illetve hozam, problémák a mikroorganizmus nevelési körülményeivel stb. [3] Ezen problémák megoldására az anyagcsere mérnökség ad lehetőséget [1]. Az anyagcsere mérnökség a sejt tulajdonságainak irányított megváltoztatását teszi lehetővé, meghatározott biokémiai reakciók módosításával vagy újak bevezetésével, a rekombináns DNS technológiát felhasználva. Olyan törzsek kialakítása a cél, ahol a kívánt metabolit nagy mennyiségben tudja előállítani a sejt [4].

Ennek megvalósításához új anyagcsere útvonalakat lehet beépíteni a sejtbe, enzimaktivitást lehet növelni, vagy a már meglévő útvonalakat meg lehet változtatni génkiütéssel [3, 5]. A  $\lambda$ -Red rekombinációs rendszer egy olyan hatékony módszer, amelynek alkalmazásával pontosan meghatározott beillesztéseket, törléseket illetve pontmutációkat lehet végezni a sejtek genomjában [6]. A rendszer működéséhez a  $\lambda$ -fág három génjére van szükség: az *exo*, *bet* és *gam* génekre [7].

A génkiütés lépéseit az 1. ábra szemlélteti. Első lépésben egy génspecifikus kazettát kell készíteni, amely polimeráz láncreakció segítségével valósítható meg. Ez a génspecifikus kazetta tartalmaz egy antibiotikum rezisztenciáért felelős szakaszt, amelyet két FRT szakasz (flipáz rekombinááz felismerő helyek) határol. A polimeráz láncreakció során olyan primereket kell használni, amelyek lehetővé teszik, hogy a génspecifikus kazetta végei homológok legyenek az eliminálandó gén két határoló régiójával. A génspecifikus kazetta bejuttatása előtt, a sejteket transzformálni kell egy pKD46 nevű plazmiddal. Ez a plazmid a homológ rekombinációért felelős géneket tartalmazza, vagyis a Red rekombinááz részeit (exo, bet, gam). A következő lépés a génspecifikus kazetta bejuttatása a sejtekbe, ami elektroporálás révén valósítható meg. Miután a kazetta bejuttott a sejtekbe, megtörténik a homológ rekombináció. A génmegszakított törzsek szelektálása antibiotikum tartalmú táptalajon történik, a kazettát alkotó antibiotikum rezisztenciáért felelős szakasznak köszönhetően. A rezisztencia megszüntetéséhez pCP20-as plazmidot lehet alkalmazni, amely egy flipáz enzimet kódol. Ez az enzim felismeri az FRT helyeket és kivágja a köztük lévő génszakaszt, vagyis az antibiotikum rezisztenciáért felelős részt.



1. ábra

Génkiütés lépései  $\lambda$ -Red rekombinációs rendszerrel

Kutatásunk célja, hogy a különböző állati eredetű fekáliákból izolált, és a legjobb glicerinnel hasznosító *Escherichia coli* törzsben alkalmazzunk egy génmódosító technikát, a  $\lambda$ -Red rekombinááz rendszert. A folyamat során a piruvát formát liáz (*pflB*) gént elimináltuk a sejt genomjából, annak érdekében, hogy iparilag hasznos törzset állítsunk elő.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. A génspecifikus kazetta elkészítése polimeráz láncreakcióval

A génkiütéshez első lépésben elkészítettük a génspecifikus kazettát polimeráz láncreakció (PCR) alkalmazásával, templákként pKD3 plazmidot használva, amely FRT-vel közrefogott kloramfenikol kazettát tartalmaz. Az PCR során alkalmazott oligonukleotidokat OligoExplorer 1.2 programmal terveztük. Ezek a primerek lehetővé tették, hogy a génspecifikus kazetta végei homológok legyenek a *pflB* gén 5' és 3' végével. A forward primer, pflB 1F 5' CGATTTCAGTCAAATCTAATTACATA GATTGAGTGAAGGTACGTGTAGGCTGGAGCTGCTTCG 3', a reverse primer, pflB 2R: 5' AGC

TTAATGAAAAGTTAGCCACAGCCTGGGAAGGTTTTACATGGGAATTAGCCATGGTCC 3`.

A PCR sikerességét 1%-os agaróz gélen ellenőriztük, ezt követően PCR tisztító kitt alkalmazásával tisztítottuk a gyártó utasításait követve, és 4°C-on tároltuk a felhasználásig.

Annak érdekében, hogy eltávolítsuk a fel nem sokszorozott DNS-t, a tisztított PCR terméket *DpnI* restrikciós enzimmal emésztettük. Az emésztési reakció során 30 µl tisztított PCR terméket 1U *DpnI* restrikciós enzimmal emésztettünk 1x Tango puffer jelenlétében, 37°C-on 3 órán keresztül. Ezt követően az enzim inaktiválása érdekében a reakcióelegyet 80°C-on 20 percig inkubáltuk, majd a DNS-t 2,5 térfogat jéghideg abszolút etanollal kicsaptuk. A kicsapott DNS-t 1 ml jéghideg 70%-os etanollal mostuk, majd a centrifugálás és szárítása után a pelletet felfuszpendáltuk 20 µl desztillált vízzel.

## 2.2. *E. coli* KCTC2441:pflB null mutáns létrehozása λ-Red rekombinációval

Kémiai kompetens *E. coli* KCTC2441 sejteket készítettünk, a sejtek MgCl<sub>2</sub> és CaCl<sub>2</sub> oldatával való többszöri mosása által, és pKD46-os plazmiddal transzformáltuk, amely a homológ rekombinációért felelős Red rekombinázió géneit tartalmazza (beta, gam és exo). Ezek transzkripciója arabinóz indukálható P<sub>araB</sub> promotor szabályozása alatt áll.

A transzformáláshoz 100 µl kémiai kompetens *E. coli* sejthez hozzáadtunk 1 µl pKD46 hőrezisztens plazmidot. A transzformációs keveréket 20 percen át jégen tartottuk, majd 1 percre 42°C-ra helyeztük, ezután ismét jégre tettük. Az optimális 37°C-ról 42°C-ra emeltük a hőmérsékletet, mely idő alatt a felületre tapadt plazmidok a fluid membránon keresztül nagyobb valószínűséggel kerülnek a sejt belsejébe. Ezt követően hozzáadtunk 900 µl LB tápoldatot, és ezzel inkubáltuk egy órát 30°C-on rázatva. Végül a transzformálási mixből 100 µl-t ampicillin tartalmú LB táptalajra szélesztettünk és 37°C-on inkubáltuk egy éjszakán keresztül.

Egy telepből kiindulva, amely pKD46 plazmid tartalmú *E. coli* (*E. coli* + pKD46) sejteket tartalmaz, elektrokompetens sejteket készítettünk, a sejtek glicerinnel való mosása által. Az 50 µl elektrokompetensé tett sejtuszpenzióhoz 1 µl génspecifikus kazettát adunk, 1 percig jégen inkubáljuk, majd a lehűtött elektroporáló küvetkájára pipettázunk, és az elektroporáló kamrába helyeztük. Az elektroporálás körülményei C=25 µF, PC=200 ohm, V=2,5 kV. Az elektrosokkot követően azonnal 1 ml steril, szobahőmérsékletű SOC tápoldatban szuszpendáljuk a sejteket, és steril Eppendorfba pipettázunk. A felfuszpendált sejteket 37°C-on 2 órán keresztül inkubáljuk 250 rpm-en rázatva. Végül a transzformálási mixből 100 µl-ert szélesztünk kloramfenikol tartalmú LB táptalajra, és 37°C-on inkubáljuk egy éjszakán át a telepek megjelenéséig.

SOC tápoldat elkészítéséhez 100 ml SOB oldathoz hozzáadunk (2 g tripton, 0,5 g élesztőkivonat, 0,2 ml 5 M NaCl, 0,25 ml 1 M KCl, 90 ml desztillált víz, pH=7, 100 ml-ig kiegészíteni desztillált vízzel, autoklaválás 20 percig 121°C-n) 2 ml steril 1 M glükóz oldatot.

## 2.3. A piruvát formát liáz gén eliminációjának ellenőrzése PCR-el

A piruvát formát liáz gén megszakítását az *E. coli* törzsben PCR segítségével igazoltuk.

A piruvát formát liáz gén megszakítását a pflB 3F: 5'-AAATCCACTTAAGAAGGTAG GTG -3' és pflB 4R: 5'-TCGTGGAGCCTTTATTGTAC -3' primerekkel végeztük. 4 db *E. coli* null *pflB* telepet ellenőriztünk. A PCR mixbe templátként egy steril fogpiszkáló segítségével jutattuk bele a transzformált telepeket. A PCR termékeket 1%-os agaróz gélen ellenőriztük.

A piruvát formát liáz gént eliminált telepeket LB-kloramfenikol tartalmú táptalajra szélesztettük, és 37°C-on egy éjszakán át inkubáltuk a telepek kifejlődéséig, majd ismét ellenőrző PCR-t készítettünk.

## 2.4. Antibiotikum rezisztencia gén eltávolítása

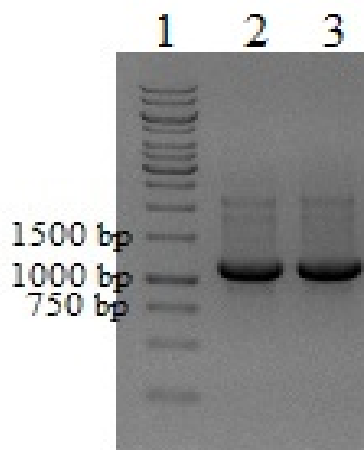
Annak érdekében, hogy eltávolítsuk az antibiotikum rezisztencia gént egy mutáns telepből kiindulva, elektrokompetens sejteket készítettünk, és a sejteket pCP20 hőmérséklet-szenzitív plazmiddal transzformáltuk. A pCP20 egy flipáz nevű enzimet kódol, valamint kloramfenikol rezisztenciáért felelős gént tartalmaz. Ez az enzim felismeri az FRT helyeket és kivágja a köztük lévő génszakaszt, esetünkben az antibiotikum rezisztenciáért felelős szakaszt. A transzformált telepeket egy újabb kloramfenikol táptalajra oltottuk át és 2 napon keresztül 43°C-on inkubáltuk, annak érdekében, hogy a sejtek elveszítsék a plazmidot.

# 3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

## 3.1. A génspecifikus kazetta elkészítése polimeráz láncreakcióval

Gének inaktiválása, vagy új gének bevitele egy eukarióta vagy prokarióta sejt genomjába az anyagcseremérnökség segítségével valósítható meg, amelynek során a sejt valamilyen metabolitot nagyobb mennyiségben fog termelni a vad típusú sejthez képest. A piruvát formát liáz gén inaktiválását λ-Red rekombinációval valósítottuk meg, amely homológ rekombináción alapul.

A géniütéshez használt génspecifikus kazettát polimeráz láncreakcióval készítettük el, amelynek eredményét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük. A 2. ábrán látható, hogy a PCR termék 1100 bp, ami megfelel a génspecifikus kazetta méretének.



2. ábra

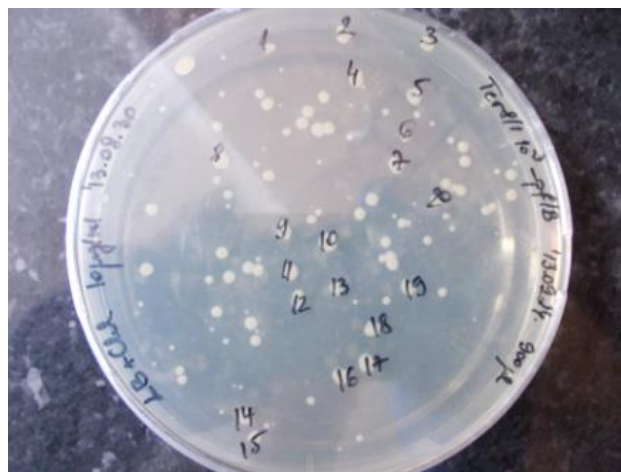
*PCR amplifikált génspecifikus kazetta ellenőrzése 1%-os agaróz gélen*

1: 1 kb DNS molekulaszúly-marker (Fermentas, 1 µl); 2, 3: piruvát formát liáz génspecifikus kazetta.

### 3.2. *E. coli* KCTC2441:*pflB* null mutáns létrehozása $\lambda$ -Red rekombinációval

A génspecifikus kazetta elkészítését követően, *E. coli* kémiai kompetens sejteket hoztunk létre a sejtek kétértékű kationokkal való mosásával, és pKD46 ampicillin rezisztenciáért felelős gént tartalmazó plazmával transzformáltuk. Innen, egy telepből kiindulva, elektrokompetens sejteket készítettünk, amelyekbe elektroporálással bejuttatuk a génspecifikus kazettát. Az elektroporálás eredménye a 3. ábrán látható.

Az antibiotikum tartalmú táptalajon kinőtt telepek arra engednek következtetni, hogy a bakteriális genomon megtörtént a rekombináció, vagyis a *pflB* gén kicserélődött a génspecifikus kazettára a homológ szakaszok mentén.

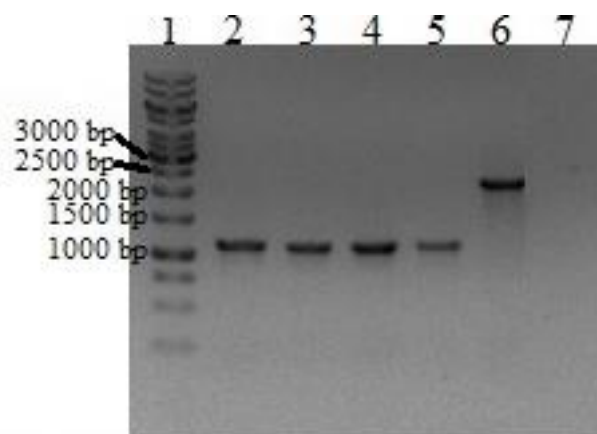


3. ábra

*A génspecifikus kloramfenikol kazettát tartalmazó elektroporált sejtek LB-kloramfenikol tartalmú táptalajon*

### 3.3. A piruvát formát liáz gén eliminációjának ellenőrzése PCR-el

A *pflB* gén eliminációjának sikerességét *E. coli* törzsből egy újabb polimeráz láncreakcióval valósítottuk meg, amelynek eredménye a 4. ábrán látható.



4. ábra

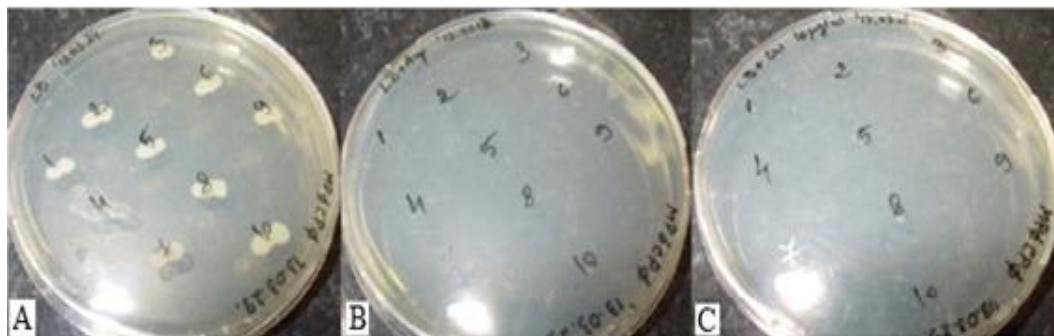
*A génspecifikus kazetta bejuttatásának ellenőrzése polimeráz láncreakcióval, és a PCR termékek futtatása 1%-os agaróz gélen*

1: 1 kb DNS molekulásúly-marker (Fermentas, 1 µl); 2, 3, 4, 5: génspecifikus PCR termékek; 6: az *E. coli* piruvát formát liáz génje; 7: kontroll reakció.

A transzformált telepek közül négyben ellenőriztük le a gén kiütését, kontrollként a vad *Escherichia coli* KCTC2441 törzset használtuk. Az eredmények azt mutatják, hogy sikerült a *pflB* gén cseréje a kloramfenikol kazettára. A második, harmadik, negyedik és ötödik oszlopokban négy telepből kapott PCR termék látható, amelyek mérete megegyezik a génspecifikus kazetta méretével (1100 bp). A 6. oszlopban található kb. 2300 bp nagyságú termék megfelel a vad típusú törzsből felszaporított *pflB* gén méretének (2295 bp). Tehát elmondhatjuk, hogy a transzformált sejtekben a gén helyét a genomban a génspecifikus kazetta vette át.

### 3.4. Antibiotikum rezisztencia gén eltávolítása

Az antibiotikum rezisztencia gén eltávolítása érdekében pCP20 plazmidot juttattunk a sejtekbe elektroporálással, majd ampicillin tartalmú táptalajon szelektáltuk a plazmidot tartalmazó sejteket. Ezt követően a kinőtt telepeket új lemezre oltottuk át, és 2 napig 43°C-on inkubáltuk. Mivel a pCP20 egy hőmérséklet-szenzitív plazmid, ezért 43°C-on a sejtek elveszítik. Ezt követően a 2 napos telepeket három új lemezre oltottuk át, egy antibiotikum nélküli, egy ampicillin tartalmú és egy kloramfenikol tartalmú lemezre. Amint az 5. ábrán látható, a sejtek csak az antibiotikum nélküli táptalajon fejlődtek. Ez azt jelenti, hogy a génspecifikus kazetta kloramfenikolt kódoló része sikeresen eliminálódott, mivel a telepek nem fejlődtek a kloramfenikol tartalmú táptalajon, és a sejtek elvesztették a pCP20 plazmidot is, mivel már nem rendelkeznek ampicillin rezisztenciával sem.



5. ábra

*A mutáns törzs különböző antibiotikum tartalmú táptalajon*

- A. Antibiotikumot nem tartalmazó LB táptalajon fejlődött telepek.
- B. Ampicillint tartalmazó táptalajra oltott mutáns törzs.
- C. Kloramfenikolt tartalmazó táptalajra oltott mutáns törzs.

#### 4. KÖVETKEZTETÉSEK

Következtetésként elmondható, hogy sikeresen megvalósítottuk a *pflB* gén kiütését egy izolált *E. coli* törzsben,  $\lambda$ -Red rekombinációs rendszert alkalmazva.

További céljaink közé tartozik, hogy a létrehozott mutáns törzset minimál tápvelesben neveljük, ahol a baktérium sejt szénforrásként glicerint hasznosíthat, és meghatározzuk a termelt metabolitokat kromatográfiás módszerekkel. Ezek mellett további gének kiütését szeretnénk megvalósítani annak érdekében, hogy egy ipari-  
lag hasznos *E. coli* törzset alakítsunk ki.

#### KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki a „Sectoral Operational Programme Human Resources Development 2007-2013 of the Romanian Ministry of Labour, Family and Social Protection through the Financial Agreement POSDRU/6/1.5/S/19.”, valamint a "BIOBUILD-Synthesis of some C4, C5 carboxylic acid building block chemicals from renewable biomass resources" PN-II-PCCA-2011-3.2-1367 programoknak az anyagiak biztosításáért.

#### IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] Yu C., Cao Y., Zou H., Xian M., Metabolic engineering of *Escherichia coli* for biotechnological production of high-value organic acids and alcohols, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89, 573-583
- [2] Hatti-Kaul R., Törnvall U., Gustafsson L., Börjesson P., Industrial biotechnology for the production of bio-based chemicals - a cradle-to-grave perspective, *TRENDS in Biotechnology*, 2007, 25 (3), 119-124
- [3] Ch. Thakker, Martínez I., San K.-Y., Benett G.N., Succinate production in *Escherichia coli*, *Biotechnology Journal*, 2012, 7, 213-224
- [4] Stephanopoulos, G., Metabolic fluxes and metabolic engineering, *Metabolic Engineering*, 1999, 1 (1) 1-11
- [5] Th. Willke, Vorlop K.-D., Industrial bioconversion of renewable resources as an alternative to conventional chemistry, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 66, 131-142
- [6] Mosberg J.A., Lajoie M.J., Church G.M., Lambda Red Recombineering in *Escherichia coli* Occurs Through a Fully Single-Stranded Intermediate, *Genetics*, 2010, 186, 791-799
- [7] K.A. Datsenko, Wanner B.L., One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products, *PNAS*, 2000, 97 (12), 6640-6645

# Dobiszap mint tejipari melléktermék anaerob rothaszthatóságának vizsgálata biogáz előállítására céljából

## Testing of Application of Bactodugate (Dairy by-product) in Anaerobic Digestion to Generate Biogas

### Examinarea aplicabilității bactofugatului de lapte ca substrat pentru digestia anaerobă cu scopul producerii biogazului

GYENGE László<sup>1</sup>, JAKAB Ervin<sup>1</sup>, KELEMEN Edmond<sup>2</sup>, RÁDULY Botond<sup>2</sup>,  
LÁNYI Szabolcs<sup>1,2</sup>, ÁBRAHÁM Beáta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bukaresti Műszaki Egyetem, Alkalmazott Kémia és Anyagtudományok Kar,  
RO-060042, Bukarest, Splaiul Independenței 313, tel. 4021-402 96 24, fax 4021-402 39 34,  
gyengelaszlo@sapientia.sicilorum.ro, www.upb.ro

<sup>2</sup>Sapientia EMTE, Műszaki és Társadalomtudományi Kar, Biomérnöki Tanszék, Csíkszereda,  
RO-530104, Szabadság tér 1, tel. 40-266-31 71 21, fax 40-266-37 20 99, http://mttk.csik.sapientia.ro

#### ABSTRACT

*During our research we have investigated the applicability of the use of dairy by-product (bactofugate) as substrate for anaerobic digestion at mesophilic temperature. Fermented anaerobic sludge obtained from the effluent of an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor was used as inoculum. During one week-long batch digestion of biomass we measured daily the volume of the generated biogas and its methane concentration. Furthermore we measured the initial and final chemical oxygen demand (COD) of the biomass. As result 320 mL CH<sub>4</sub>/g COD specific methane yield was achieved. The results demonstrate that the bactofugate represents a suitable substrate to biogas generation by anaerobic digestion.*

#### ÖSSZEFOGLALÓ

*Kutatásunk során tejipari melléktermék (dobiszap) anaerob rothasztásban szubsztrátumként való felhasználásának alkalmazhatóságát vizsgáltuk mezofil hőmérsékleten. Ennek megvalósítása érdekében feláramló anaerob iszapréteges szennyvíztisztítóból származó rothasztott iszapot alkalmaztunk inokulumként. A szakaszos üzemeltetésű reaktorokban 1 hétig tartó biomassza rothasztása során naponta mértük a keletkezett biogáz térfogatát és ennek metánkoncentrációját, ill. a biomassza kezdeti és rothasztás utáni kémiai oxigénigényét (KOI). A dobiszap anaerob rothasztása során 320 mL CH<sub>4</sub>/g KOI specifikus metánhozamot érünk el. Eredményeinkből megállapítható, hogy a dobiszap, mint szubsztrátum alkalmas anaerob rothasztással végzett biogáz termelésére.*

**Kulcsszavak:** biogáz, dobiszap, anaerob rothasztás, specifikus metánhozam, kémiai oxigénigény.

#### Rövidítések jegyzéke

KOI - kémiai oxigénigény [mg O<sub>2</sub>/L];

UASB - feláramló anaerob iszapréteges szennyvíztisztító reaktor;

TCD - hővezető detektor;

$\eta_{\text{biogáz}}^{\text{átlag,napi}}$  - átlag napi biogáz hozam, [mL/L biomassza];

$\eta_{\text{biogáz}}^{\text{szórás,napi}}$  - napi biogázhozam szórása, [mL/L biomassza];

$\eta_{\text{biogáz}}^{\text{átlag,kum}}$  - kumulatív biogáz hozam, [mL/L biomassza];

$C_{\text{CH}_4}^{\text{átlag,biog.}}$  - biogáz metánkoncentrációja, [%];

$\eta_{\text{CH}_4}^{\text{átlag,napi}}$  - átlag napi metánhozam, [mL/L biomassza];

$\eta_{\text{CH}_4}^{\text{szórás,napi}}$  - napi metánhozam szórása, [mL/L biomassza];

$\eta_{\text{CH}_4}^{\text{átlag,kum}}$  - kumulatív metánhozam, [mL/L biomassza].

## 1. BEVEZETŐ

A környezeti elemek szennyezése a világ minden táján folyamatosan növekszik. A fő szennyező források az ipar, a mezőgazdaság, valamint a városi tevékenység. A különböző országok kormányai, ipari üzemek vezetői egyre inkább tudatában vannak ezen problémának, így támogatják olyan új technológiák kifejlesztését, melyek segítségével hatékonyan és gazdaságosan lehet eltávolítani a káros anyagokat környezetünkől [1], [2]. Az egyik kiváló technológia, mellyel sikeresen lehet kezelni a szennyezések szerves frakcióját, az anaerob rothasztás. Ezen eljárás ugyan nem alkalmas arra, hogy a melléktermékek és hulladékok képződését megakadályozza, de azok szervesanyag-tartalmának csökkentése mellett biogáz, mint „zöld energia” előállítására is lehetőséget nyújt [3]. Ily módon a környezetre káros anyag felhasználásával számunkra fontos produktum, biogáz (energiahordozó) nyerhető [4]. A biogáz szerves anyagok baktériumok által anaerob körülmények között történő lebontása során képződő gázelegy. Megközelítőleg 45-70% metánt, 30-55% szén-dioxidot, valamint kis mennyiségű nitrogént, hidrogént, kénhidrogént és egyéb gázokat tartalmaz [2], [5].

A tejipar egyik fő mellékterméke a dobiszap, amely a nyers tej fölözése és tisztító centrifugálása (baktofugálása) során keletkezik. Ez a melléktermék igen veszélyes, ha kezeletlenül kerül vissza a természetbe, hisz rengeteg mikroorganizmust és más szennyeződést tartalmaz. Mivel a tej baktofugálása során a dobiszap a tisztítandó tej mennyiségének 0,1%-át teszi ki, így egy átlagos kapacitású tejfeldolgozó üzem éves szinten igen nagy mennyiségű dobiszapot képes termelni. Példaként tekintve egy átlagban napi 50 000 L tejet feldolgozó üzem esetén évi 18 tonna dobiszap gyűlik össze [6], [7]. Manapság ezt a számottevő mennyiségű szerves anyagokat tartalmazó mellékterméket megfelelő sterilizálás után, takarmányként hasznosítják. Ez az eljárás igen energiagényes folyamat [6].

E hagyományos eljárással szemben a magas szervesanyag-tartalmú tejipari hulladék, a dobiszap anaerob rothasztása alternatív felhasználási eljárást nyújthat, mely során a felszabaduló biogáz elégetése során hozzájárulhat a tejfeldolgozó hőenergia-szükséglete egy részének a biztosításában. Továbbá, ezáltal kiváltható a dobiszap sterilizálására fordított számottevő energiamentesség is.

Ebből adódóan kutatásunk céljaként a dobiszap anaerob rothasztásban szubsztrátumként való felhasználásának alkalmazhatóságát tűztük ki célul, továbbá szakaszos rothasztási kísérletekben meghatározni kívánjuk a dobiszap specifikus metánhozamát is.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### Szubsztrátum és inokulum jellemzése

Rothasztási kísérleteinkben szubsztrátumként tejipari mellékterméket, dobiszapot használtunk, melyet a Csíkszeredai tejfeldolgozó üzemből (S.C. Lactate Harghita S.A.) szereztünk be. A dobiszapot felhasználásig 4°C-on tároltuk.

Oltóanyagként a Csíkszeredai Sörgyár (Heineken Romania S.A.) feláramló anaerob iszapréteges szennyvíztisztító (UASB) reaktorából származó granulált típusú rothasztott iszapot használtuk, melyet felhasználás előtt 14 napig 37°C-on tároltunk. Ezen, az úgynevezett „éhező időszak” alatt, az inokulumban esetlegesen visszamaradt szubsztrátum döntő többsége biogázzá alakult, ezáltal minimálisra kívántuk csökkenteni az inokulum metánpotenciálját.

Az inokulum és a szubsztrátum szárazanyag-tartalmának meghatározására az irodalomban leírt standard eljárást alkalmaztuk [8].

Az inokulum és a dobiszap kémiai oxigénigényének (KOI) meghatározására a klasszikus, káliumdikromátos „open reflux” eljárást alkalmaztuk [8]. A kémiai oxigénigény a szervesanyag-tartalom indirekt módon való kifejezésére szolgáló mutató, ami lényegében az egységnyi térfogatú mintában található szerves anyag kémiai oxidációjára felhasznált oxigén-mennyiséget jelöli. A rothasztási kísérlet befejeztével is megmértük a biomassza KOI értékét, melyet összehasonlítva a kezdeti biomassza KOI értékével, becslést tudunk mondani az eltávolított szervesanyag-tartalomra.

### Rothasztási kísérlet előkészítése

A biogázfejlesztésére alkalmas biomassza előkészítésére az inokulum és szubsztrát keverékét használtuk. Mivel a dobiszap szárazanyag-tartalma 5,6%-os, míg a inokulumé 9,7%-os volt, ez utóbbit is 5,6%-ra hígítottuk desztillált vízzel. A biomassza összeállítása során a szubsztrát és az inokulum 1:1 arányú keverékét (szárazanyag-tartalomra számolva) készítettük el. A keverék összeállítása után a biomassza pH-ját 7,5-ös értékre állítottuk be. Erre azért volt szükség, hogy biztosítsuk a anaerob rothasztásban résztvevő mikroorganizmusok számára az optimális kémhatást. Az 1,1 L térfogatú biomassza rothasztását mezofil hőmérsékleten, 37°C-ra beállított inkubátorban, 1,2 L térfogatú reaktorokban végeztük két párhuzamban, 7 napig. Vak próbaként csak inokulumot tartalmazó reaktort is előkészítettünk. E vak próba során termelt biogáz mennyiséget



kivontuk az éles minták biogáz hozamaiból. A reaktorok lezárása előtt ezeket nitrogéngáz befűvással oxigénmentesítettük. A reaktorok kevertetését manuálisan oldottuk meg, melyet napi 2-3 alkalommal végeztünk. A termelt biogázt, a reaktort lezáró gumidugóba helyezett szilikoncsőn keresztül vezetjük el, melynek térfogatát és metántartalmát napi rendszerességgel monitorizáltuk, az alábbiakban ismertetett módszerek segítségével.

### Fejlődött biogáz jellemzése

A rothasztás során fejlődött biogáz térfogatát és összetételét naponta mértük. A termelt biogáz térfogatának mérésére a Walker és mtsai. [9] által leírt módszert alkalmaztuk. A módszer lényege abból áll, hogy egy savas kémhatású, desztillált vízzel (pH=2) feltöltött, felfordított helyzetű mérőhengerben mértük a termelt biogáz által kiszorított térfogatot. A mért biogáz térfogatát hőmérséklet függvényében korrigáltuk normál körülményekre (0°C, 101325 Pa).

A biogáz metántartalmát hővezető detektorral (TCD) felszerelt HP 5890 Series II típusú gázkromatográfval határoztuk meg. Az alkalmazott kapilláris cső típusa: Mol Sieve 5A PLOT (Supelco). Vívógázként analitikai minőségű nitrogént alkalmaztunk. Az alkalmazott injektor-, detektor- és kemencehőmérséklet sorban a következők voltak: 120°C, 120°C ill. 80°C. A gázkromatográfot biogáz metántartalmának meghatározása előtt analitikai minőségű metánnal és széndioxiddal kalibráltuk. Injektorként Hamilton GasTight 250 µL típusú fecskendővel végeztük. E vizsgálat elvégzéséhez 100 µL térfogatú biogázt fecskendeztünk az injektorba.

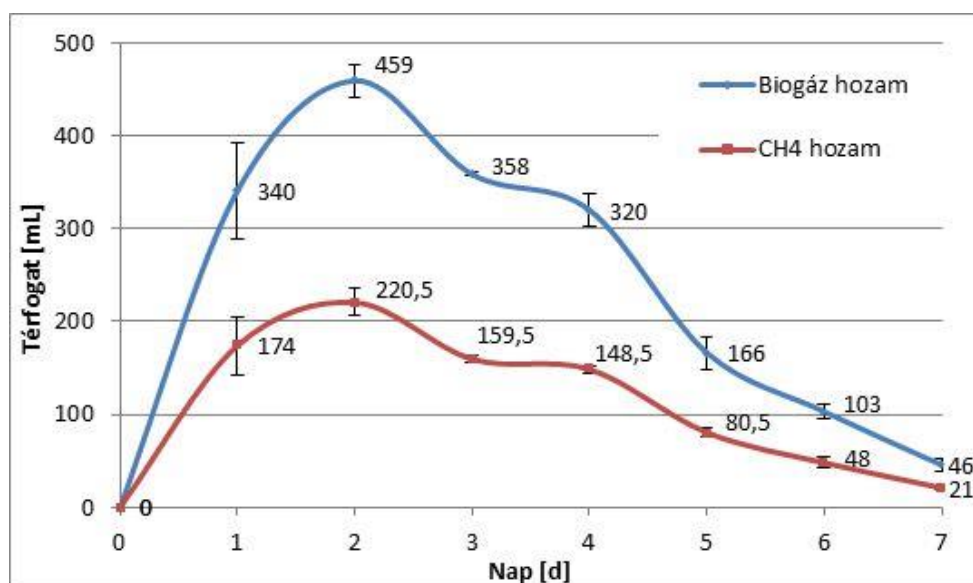
### 3. EREDMÉNYEK ÉS KIÉRTÉKELÉSÜK

A dobiszap anaerob rothasztása során keletkezett biogáz- ill. CH<sub>4</sub>-mennyiségeket 1 L biomasszára számolva az 1. táblázat és az 1. ábra foglalja össze. A táblázatban szereplő adatokat szemügyre véve látható, hogy az egy hétig tartó rothasztási periódus utolsó két napján a termelt biogáz ill. metán mennyisége nagyon lecsökkent. A csökkenés mértéke hasonló volt mindkét fermentor esetén, amit a szórás értékek is megerősítenek ( $\eta_{biogáz}^{szórás,napi}$ , ill.  $\eta_{CH_4}^{szórás,napi}$ ). Ez arra utal, hogy az általunk megválasztott körülmények között a dobiszap anaerob fermentációban lebontható szervesanyag-tartalmának túlnyomó többsége feltehetőleg már biogázzá alakult és így a szakaszos rothasztás időtartamának megválasztott 1 hét elegendő volt.

1. táblázat. Átlagos napi ill. kumulatív biogáz- és metánhozamok 1 L biomasszára kifejezve

Napok	$\eta_{biogáz}^{átlag,napi}$ [mL]	$\eta_{biogáz}^{szórás,napi}$ [mL]	$\eta_{biogáz}^{átlag,kum}$ [mL]	$C_{CH_4}^{átlag,biog.}$ [%]	$\eta_{CH_4}^{átlag,napi}$ [mL]	$\eta_{CH_4}^{szórás,napi}$ [mL]	$\eta_{CH_4}^{átlag,kum}$ [mL]
0	0	0	0	0	0	0	0
1	310	47	310	51	158	28	158
2	417	16	727	48	200	13	358
3	326	2	1053	45	145	3	503
4	291	15	1344	47	135	3	638
5	151	16	1495	49	73	4	712
6	94	7	1589	47	44	5	755
7	42	6	1630	46	19	3	774

A termelt biogáz metántartalma a rothasztás egész időtartama alatt 47% körül mozgott mindkét reaktor esetén, ami megfelel a kommunális iszap rothasztásából származó biogáz CH<sub>4</sub>-tartalmának [5].



1. ábra

*Napi biogáz- és metánhozamok alakulása a rothasztás során 1 L biomasszára kifejezve*

A rothasztandó dobiszap és inokulum ill. a rothasztott biomassza mért KOI értékeit a 2. táblázat tartalmazza. A dobiszap és inokulum szárazanyagban kifejezve 1:1 arányú keveréke képezte magát a biomasszát, amit az előbbieken leírt körülmények között rothasztottunk. A táblázatból látható, hogy a rothasztani kívánt biomassza KOI értéke az 1 héti tartó rothasztást követően 2418,16 mg O<sub>2</sub>/L értékkel csökkent.

Az anaerob rothasztás során a KOI állandó, megmaradó mennyiség. Továbbá, tudva azt, hogy az anaerob fermentáció során - mint azt a neve is mutatja - nem történik oxidáció, az anaerob fermentorba érkező anyagok KOI mennyiségének, azonosnak kell lennie az abból kilépő anyagok KOI mennyiségével. Ebből következik, hogy a rothasztást követően biomasszából távozó KOI mennyiségének a felszabaduló biogáz KOI egyenértékének kell lennie. Mivel a CO<sub>2</sub> KOI értéke 0, csakis a CH<sub>4</sub> KOI-ja képezheti az eltávolított KOI mennyiségét. Ismerve a CH<sub>4</sub> KOI egyenértékét (1 Nm<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>-nak megfelel 2,857 kg KOI egyenérték[3]), a rothasztás során biomasszából távozó KOI mennyiségét (2. táblázat) és a keletkezett CH<sub>4</sub>-mennyiségét (1. táblázat), össze tudjuk hasonlítani a rothasztás során keletkezett CH<sub>4</sub>-mennyiséget, a biomasszából távozó KOI egyenértéknek megfelelő elméleti CH<sub>4</sub>-mennyiséggel [3]. Az eltérés mértékéből viszont meg tudjuk határozni az esetleges veszteséget.

2. táblázat. A biomassza mért kémiai oxigénigény értékei

Biomassza	Komponens	Komponens KOI [mg O <sub>2</sub> /L]	Komponens KOI (átlag) [mg O <sub>2</sub> /L]	Biomassza KOI (átlag) [mg O <sub>2</sub> /L]
Rothasztás előtti biomassza	Dobiszap	56458,83	54805,76	48726,89
		53152,68		
	Inokulum	41638,61	42648,03	
		43657,45		
Rothasztás utáni biomassza	Dobiszap + Inokulum	45388,89	46308,73	
		47228,57		
Biomassza KOI fogyása	2418,16			

A fentebb említett CH<sub>4</sub>-KOI-egyenérték összefüggésből kiindulva a kísérlet végén 1 L biomasszára mért KOI fogyás mértéke (2418,16 mg O<sub>2</sub>/L) az általunk gyakorlatban mért CH<sub>4</sub>-mennyiség (775 mL) helyett 846 mL-nek felelne meg. Ez azt jelenti, hogy a gyakorlatilag mért kumulatív CH<sub>4</sub>-mennyiség, 2213 mg O<sub>2</sub>/L KOI mennyiségnek felelne meg. Tehát 8,5%-al kevesebb CH<sub>4</sub>-t termeltünk gyakorlatban, mint amennyi vár-

ható lett volna a biomassza mért KOI-fogyásából számolva. Ez az alacsony érték arra utal, hogy az általunk biogáz térfogatának megállapítására alkalmazott módszerünk megfelelőnek mondható.

Az irodalomban talált hasonló, más szubsztrátumok rothasztása esetén termelt  $\text{CH}_4$ -mennyiségekkel való könnyebb összehasonlítása végett, az 1 L biomassza által termelt  $\text{CH}_4$ -mennyiség kifejezése helyett, a termelt  $\text{CH}_4$ -mennyiséget célszerű a biomassza rothasztás után tapasztalt szervesanyag-fogyásához vagy KOI-fogyásához viszonyítva kifejezni. Ez az úgynevezett specifikus metánhozam. Esetünkben ez az érték 320 mL  $\text{CH}_4$ /g KOI értéknek felel meg. Ez a  $\text{CH}_4$ -mennyiség több esetben jobb értéknek mondható más élelmiszeripari hulladékok anaerob rothasztása során felszabaduló metán mennyiségénél [10].

## KÖVETKEZTETÉSEK

Következtetésként elmondhatjuk, hogy a dobiszap - mint tejipari hulladék - alkalmas anaerob rothasztásra és biogáz termelésére. Fontos azonban megjegyezni, hogy a dobiszap ipari szintű biogáz termelésre való hasznosítása előtt további laboratóriumi kísérletekre van szükség, mely során a folyamat optimalizálása mellett (pl. rothasztási hőmérséklet, pH-szabályozás, kevertetés stb.) léptéknövelő rothasztási kísérletekre és a folyamatos üzemeltetésű reaktorokban való rothasztási kísérletekre is szükségünk van. Kutatásunk következő lépéseként a dobiszap rothasztási körülményeinek optimalizálását tűztük ki célul.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki a „Sectoral Operational Programme Human Resources Development 2007-2013 of the Romanian Ministry of Labour, Family and Social Protection through the Financial Agreement POSDRU/6/1.5/S/19” programnak az anyagiak biztosításáért. Továbbá köszönjük a *BIBIRC* Biokémiai és Biotechnológiai Kutatóközpont által nyújtott segítséget, mely nélkül nem jöhetett volna létre e kutatómunka.

## IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1]. H.-J. Jördening, J. Winter (eds.), *Environmental Biotechnology: Concepts and Applications*, John Wiley & Sons, Weinheim, 2005.
- [2]. D. Deublein, A. Steinhauser (eds.), *Biogas from Waste and Renewable Resources - An Introduction*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2011.
- [3]. Á. Kárpáti, (szerk.), *A szennyvíztisztítás alapjai*, Nyugat-magyarországi Egyetem, Veszprém, 2007.
- [4]. G. Bitton, *Anaerobic digestion of wastewater and biosolids*, in G. Bitton, (ed.): *Wastewater Microbiology*, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, New Jersey, 2005.
- [5]. A. Bai, (szerk.), *A biogáz*, Budapest, Grafika Press, 2007.
- [6]. J. Csapó, Zs. Csapó-Kiss: *Tej és tejtermékek a táplálkozásban*, Mezőgazda kiadó, Budapest, 2002.
- [7]. Á. Kárpáti (szerk.), *A tejfeldolgozás szennyvízei és tisztításuk*, Veszprémi Egyetem, Veszprém, 1997.
- [8]. L. Clescerl, A. Greenberg, A. Eaton, (eds.), *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*, vol. 20, APHA, 1999.
- [9]. M. Walker, Y. Zhang, S. Heaven, C. Banks, *Potential errors in the quantitative evaluation of biogas production in anaerobic digestion processes*, *Bioresource Technology*, 2009, 100 (24), 6339-6346.
- [10]. [M. Drennan, *A study of high solids anaerobic digestion of Bucknell University food waste followed by aerobic curing*, Thesis, Bucknell University, Lewisburg, 2011.

# Glikozilált, védett aminosavak szintézise glikozilált biokonjugátumok előállítása céljából

## Synthesis of Glycosilated, Protected Amino Acids for the Preparation of Glycosilated Bioconjugates

### Sinteza glicozilaminoacizilor protejați în scopul obținerii bioconjugatilor glicozilați

KOVÁCS Anita Kármén PhD hallgató, Dr. HETÉNYI Anasztázia egyetemi tanársegéd,  
Prof. Dr. TÓTH Gábor egyetemi tanár

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet;  
H-6720 Szeged, Dóm tér 8.; Tel.: +36-62-545-136, Fax: +36-62-545-971,  
e-mail: kovacs.anita@med.u-szeged.hu, <http://www.mdche.u-szeged.hu>

#### ABSTRACT

Incorporation of carbohydrate moieties into biologically active molecules has widespread interest because of their decisive role in the biological recognition, transport and absorption. Despite of the importance of it, only very few building blocks are available, which can be applied for the incorporation of the carbohydrate moiety. Our aim was the preparation of appropriately protected, glycosilated amino acid derivatives which can be applied for glycopeptide synthesis or the preparation of drug conjugates.

**Keywords:** glycosilation, building blocks, bioconjugates, transport, absorption

#### ÖSSZEFOGLALÓ

Szénhidrátok beépítése biológiailag aktív molekulákba széleskörű érdeklődésre tart számot, ugyanis a glikoziláció meghatározó jelentőségű a biológiai felismerés, felszívódás és transzport szempontjából. Nyilvánvaló fontossága ellenére meglehetősen kevés olyan építőkö áll rendelkezésre, amelyekkel szénhidrátok beépítését meg tudnánk valósítani. Célunk megfelelően védett glikozilált aminosav-származékok szintézise, melyek felhasználásával glikopeptideket és gyógyszermolekula-konjugátumokat tudnánk előállítani.

**Kulcsszavak:** glikoziláció, építőkövek, biokonjugátumok, transzport, abszorpció

#### 1. ELMÉLETI HÁTTÉR

Az utóbbi időkben nagyon fontos fejlesztési irányvá vált a gyógyszermolekulák transzportjának, felszívódásának a modulálása. Ennek egyik eszköze az ezen molekulák felszívódásában szerepet játszó transzporterfehérjék igénybevétele.

A bélhámsejteken keresztüli transzportot az aminosavak, peptidek, szteroidok és szénhidrátok is elő tudják segíteni, ezért az ezek konjugátumait tartalmazó készítményeknek a felszívódása jóval kedvezőbb lehet az eredeti hatóanyag-molekuláénál. Erre kiváló példa a vírusellenes Acyclovir valin-észter konjugátuma, amely Valacyclovir néven már bevezetett gyógyszer [1].

Feltételezzük, hogy más, több transzporterfehérjét is felhasználó konjugátumok még hatékonyabbak lesznek, ezért aminosavak, kis peptidek glikozilált származékait kívántuk különböző hatóanyagokhoz konjugálni, hogy így jobb felszívódású anyagokhoz juthassunk.

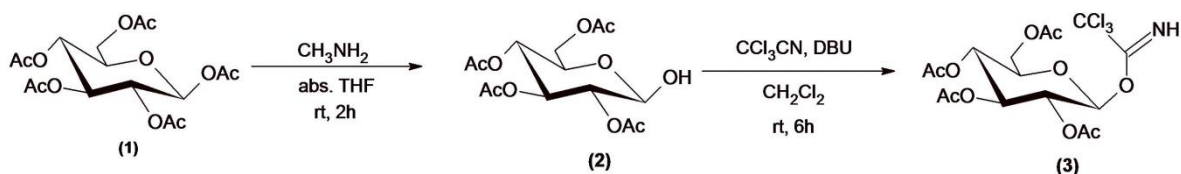
Annak ellenére, hogy az élő szervezetekben lejátszódó egyik legfontosabb reakció a glikoziláció, szintetikus kémiai kivitelezése máig problematikusnak tekinthető a szénhidrát-rész előállításai, a cukor és aminosavrész összekapcsolási, valamint a megfelelő védőcsoport-kombinációk kiválasztásának nehézségei miatt.

## 2. CÉLKITŰZÉS

Célul tűztük ki olyan, megfelelően védett glikozilált aminosav-származékok szintézisét, melyek felhasználásával részben glikopeptideket állíthatnánk elő; másrészt ezek felhasználásával olyan gyógyszermolekula-konjugátumokat tudnánk szintetizálni, melyek az eredetihez képest lényegesen jobb felszívódási, illetve transzport-tulajdonságokkal rendelkeznek.

## 3. A SZINTÉZISEK ÉS AZOK EREDMÉNYEI

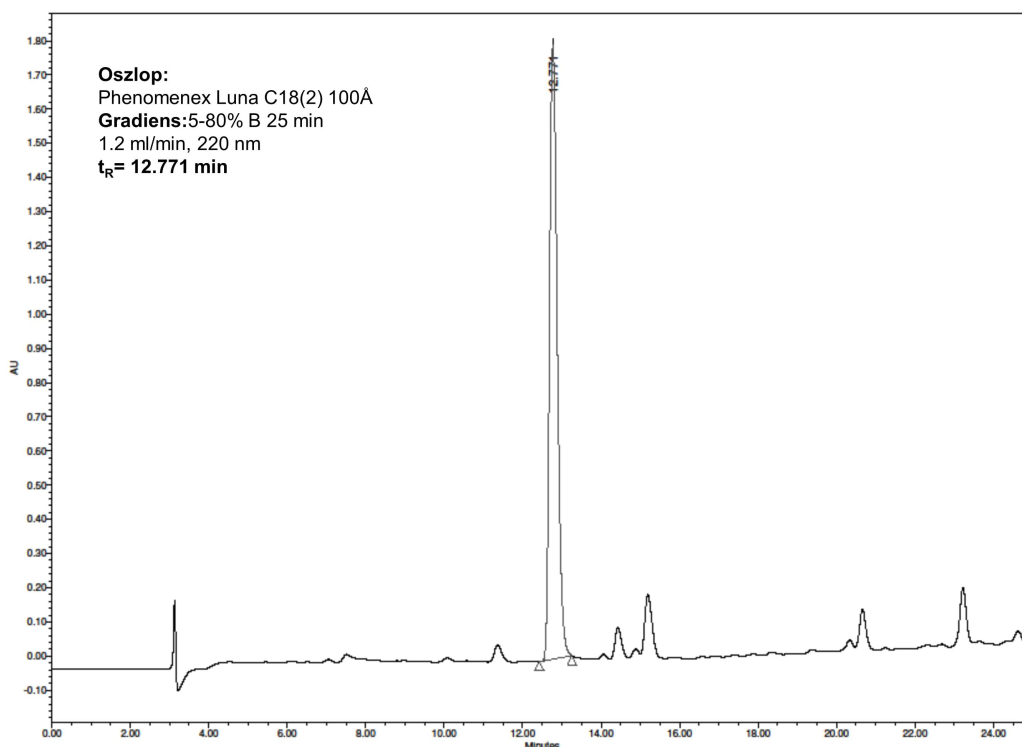
A szintézisek kulcsvegyülete olyan glükóz-származék, amely 2,3,4,6-hidroxil-csoportján védett, az 1-es hidroxil-csoportján pedig aktivált. A kulcsvegyület előállítása során a kereskedelmi forgalomban kapható 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükózból (1) indultunk ki. Ennek a vegyületnek a glikozidos hidroxil-csoportján lévő acetyl-csoportot metil-aminnal távolítottuk el. A kapott termékhez, vagyis a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükózhoz (2) triklóracetonitrilt és 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ént (DBU) adtunk, melyek reakciójával előállítottuk a 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranozil-triklóracetimidátot (3) [2].



1. ábra

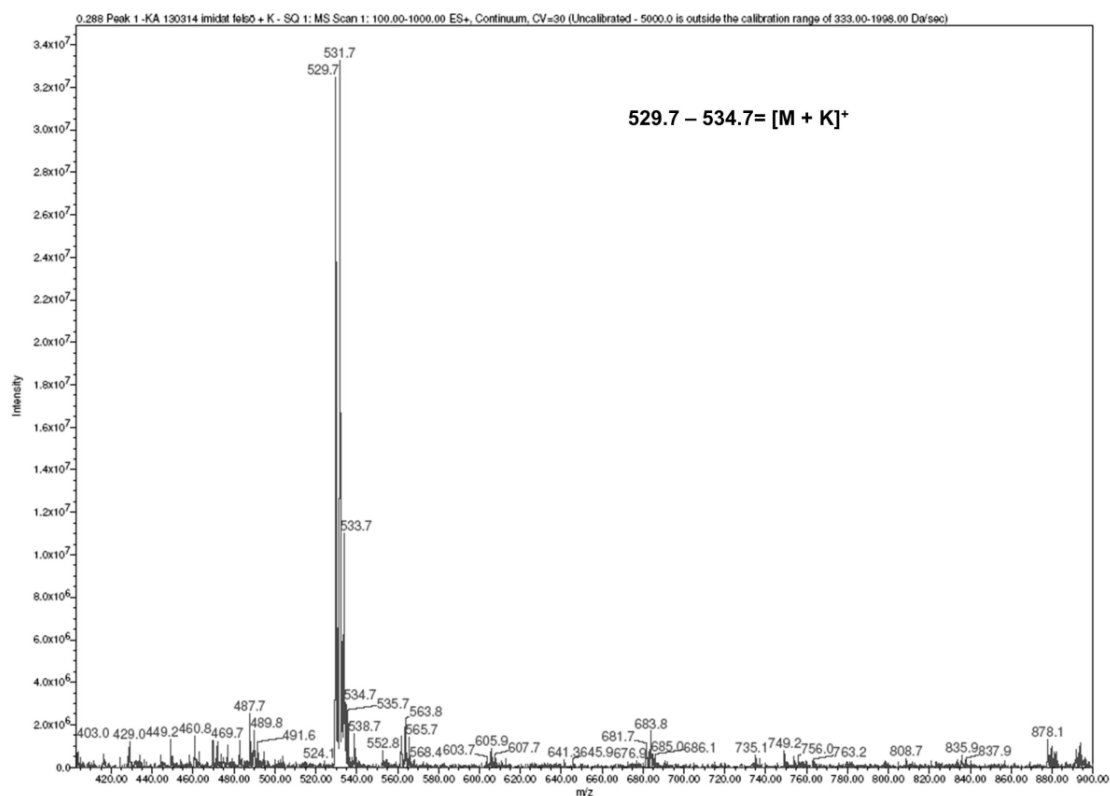
*A kulcsvegyület (3) szintézise*

(3) izolálására az irodalomban leírthoz képest új, hatékonyabb, gazdaságosabb módszert fejlesztettünk ki: kromatográfia helyett az etil-acetátban történő feloldás után 5%-os  $\text{KHSO}_4$ -tal történő extrahálással szabadultunk meg a melléktermékektől.



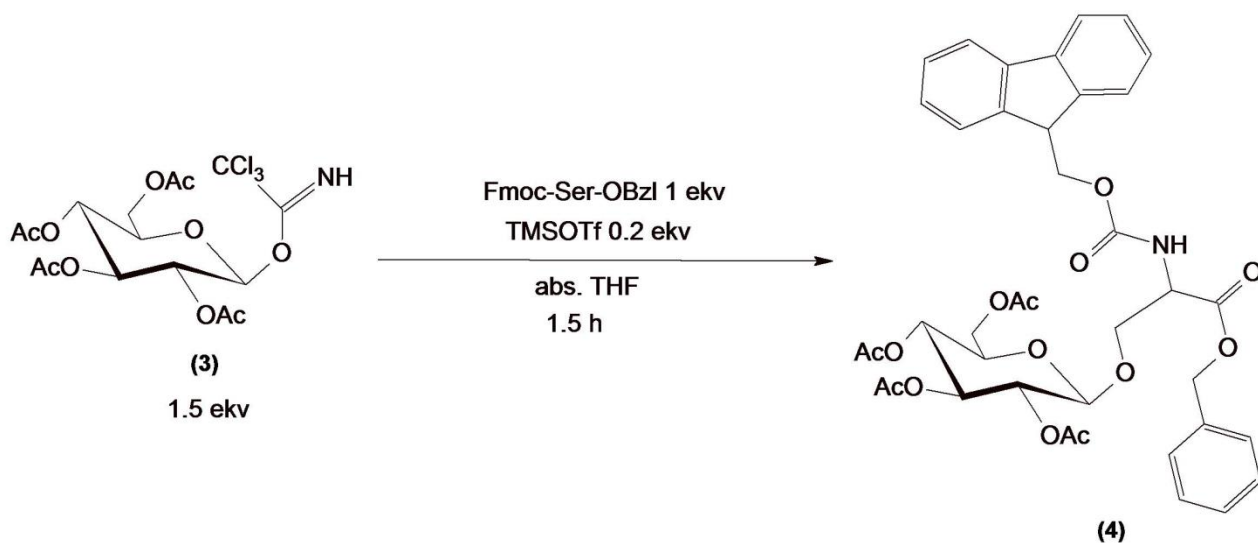
2. ábra

*A tisztított (3) HPLC-profilja*



3. ábra  
A tisztított (3) ESI-tömegspektruma

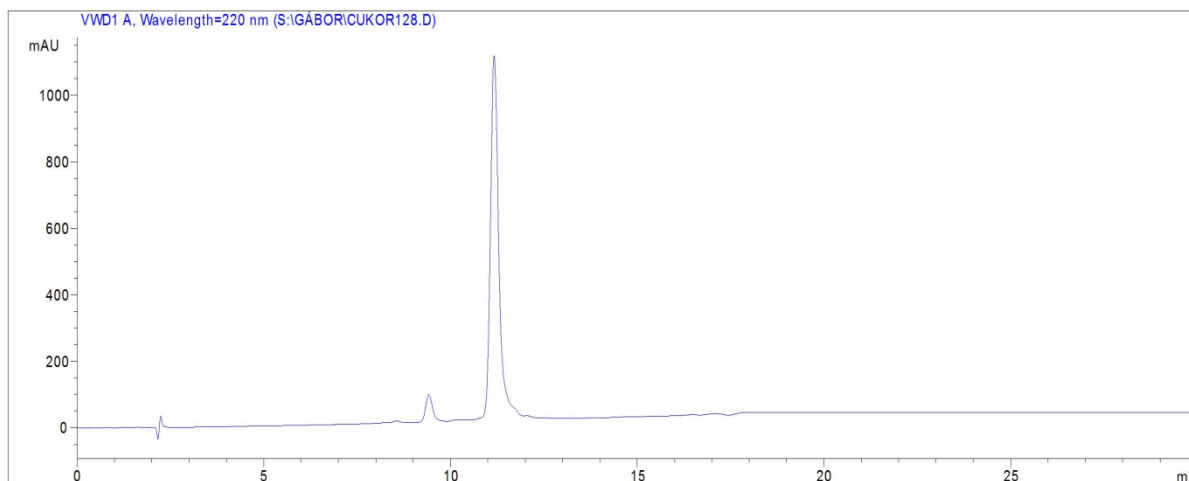
A (3)-t ezek után először Fmoc-Ser-OBzl védetlen alkoholos hidroxil-csoportjához kapcsoltuk trimetilszilil-trifluoro-metánszulfonát (TMSOTf) promóter segítségével. Ennek során megvizsgáltuk a reakció hőmérsékletfüggését: próbareakciót végeztünk  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on /  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on /  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on / szobahőmérsékleten, és azt állapítottuk meg, hogy  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on legjobb a konverzió: 21%. Ez a hozam a Fmoc-Ser-OBzl alkoholos hidroxil-csoportjának nagyfokú térgátlása miatt elmarad a glikoziláció során elvárttól ( $\sim 50\text{-}70\%$ ), ennek ellenére sikerült előállítani a Fmoc-Ser[Glc(4Ac)]-OBzl-t (4).



4. ábra  
A glikoziláció sémája

## 1. táblázat. Konverzió függése a hőmérséklettől

	- 45 °C	- 15 °C	0 °C	szobahőmérséklet
Konverzió (%)	11	21	15	5



5. ábra  
A tisztított (4) HPLC profilja

A kívánt termék mellett azonban jelentős mértékben képződött a 2-es pozícióban dezacetilezett melléktermék, a Fmoc-Ser[Glc(3Ac)]-OBzl, melynek szerkezetét  $H^1$ - és  $C^{13}$ -NMR spektrumának felvételével bizonyítottuk. A tapasztalt mellékreakció a szakirodalomban sem ismeretlen [3].

Az alacsony konverzió és a nagy mértékben képződött melléktermék miatt másik glikozil-akceptorhoz, a Boc-Ser-OBzl-hez fordultunk. Itt a kisebb térgátlás miatt nagyobb hozamra számítottunk.

A reakciót  $-15^\circ\text{C}$ -on végeztük el. 25%-os konverziót értünk el, valamint dezacetilezett melléktermék nem keletkezett.

Ezek alapján elmondható, hogy a Boc-Ser-OBzl alkalmas glikozil-akceptor a glikozilezési reakcióhoz.

A továbbiakban tervezzük más hőmérsékleteken is elvégezni a Boc-Ser-OBzl glikozilációját, annak ki-derítése érdekében, hogy tudunk-e elérni jobb hozamot. Ezek után el kell távolítanunk a Bzl védőcsoportot, majd meg kell tisztítanunk a kapott Boc-Ser[Glc(4Ac)]-OH-t. Ezt követően végezhetjük el az építőkő konjugálását különböző gyógyszermolekulákhoz, valamint építhetjük be peptidekbe glikopeptidek szintézise céljából.

## 4. KÍSÉRLETI RÉSZ

### 4.1. 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranoz (2) előállítása

1,05 g (2,70 mmol) penta-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükóz oldása 10 ml abs. THF-ban. 680  $\mu\text{l}$  (5,40 mmol) metilamin hozzáadása. Kevertetés 2 óra hosszúra szobahőmérsékleten. Bepárlás. Sárgásbarna olajos anyag.

*HPLC-kromatogram*: oszlop: Phenomenex Luna 10 $\mu$  C18(2) 100Å; gradiens: 5-80% B 25 min, 1,2 ml/min, 220 nm,  $t_R$  = 15.332 min

*ESI-MS*: 366,4 =  $[M + NH_4]^+$

### 4.2. 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glükopiranozil-triklóracetimidát (3) előállítása

1,39 g (3,98 mmol) (2) oldása 22 ml abs. THF-ban. 1,28 ml (12,80 mmol) triklóracetónitril és 0,120 ml (0,80 mmol) DBU hozzáadása. Kevertetés szobahőn 6 óra hosszúra. Bepárlás. Barna olajos anyag.

*HPLC-kromatogram*: oszlop: Phenomenex Luna 10 $\mu$  C18(2) 100Å; gradiens: 5-80% B 25 min, 1,2 ml/min, 220 nm,  $t_R$  = 12.452 min

*ESI-MS*: 531,3 =  $[M + K]^+$

#### 4.3 A 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glükopiranozil-triklóracetimidát (3) tisztítása

8,60 g (2) oldása 50 ml etil-acetátban. Extrahálás 3 x 50 ml 5%-os  $\text{KHSO}_4$ -tal, majd 1 x 50 ml telített NaCl-oldattal. Szárítás *sicc.*  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -on. Szűrés, majd bepárlás. Tisztított (3) tömege: 4,60 g.

*HPLC-kromatogram:* oszlop: Phenomenex Luna 10 $\mu$  C18(2) 100Å; gradiens: 5-80% B 25 min, 1,2 ml/min, 220 nm,  $t_R$ = 12.771 min

*ESI-MS:* 531,7= [M + K]<sup>+</sup>

#### 4.4. Fmoc-Ser[Glc(4Ac)]-OBzl (4) előállítása

0,084 g (0,20 mmol) Fmoc-Ser-OBzl oldása 0,5 ml abs. THF-ban. 7  $\mu$ l (0,039 mmol) TMSOTf hozzáadása. -45 °C-on (aceton/szárazjég) / -15 °C-on (NaCl/jég) / 0 °C-on (jég) / szobahőmérsékleten 1 ml THF-ban oldott 0,237 g (0,30 mmol) (3) hozzáadása. Kevertetés 1,5 óra hosszáig. Bepárlás.

*HPLC-kromatogram:* oszlop: Phenomenex Luna 10 $\mu$  C18(2) 100Å; gradiens: 70-100% B 15 min, 1,2 ml/min, 220 nm,  $t_R$ = 11.941 min

*ESI-MS:* 748,82= [M + H]<sup>+</sup>

#### 4.5. Boc-Ser[Glc(4Ac)]-OBzl (5) előállítása

0,060 g (0,20 mmol) Boc-Ser-OBzl oldása 0,5 ml abs. THF-ban. 7  $\mu$ l (0,039 mmol) TMSOTf hozzáadása. -15 °C-on (NaCl/jég) 1 ml THF-ban oldott 0,237 g (0,3 mmol) (3) hozzáadása. Kevertetés 1,5 óra hosszáig. Bepárlás.

*HPLC-kromatogram:* oszlop: Phenomenex Luna 10 $\mu$  C18(2) 100Å; gradiens: 70-100% B 15 min, 1,2 ml/min, 220 nm,  $t_R$ = 9.486 min

*ESI-MS:* 670,76= [M + H]<sup>+</sup>

### 5. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0047 és a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0052 számú pályázatoknak a kutatáshoz nyújtott anyagi fedezetért.

### 6. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- [1] B. S. Anand, S. Katragadda, A. K. Mitra; Pharmacokinetics of Novel Dipeptide Ester Prodrugs of Acyclovir after Oral Administration: Intestinal Absorption and Liver Metabolism; The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics; The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics; 2004, vol. 311, No. 2, p. 659-667.
- [2] H. G. Sudibya, J. Ma, X. Dong, S. Ng, L. Li, X. Liu, P. Chen; Interfacing glycosilated carbon nanotube network devices with living cells to detect dynamic secretion of biomolecules; Wiley-VCH 2009; Angewandte Chemie, International Edition; 2009, Vol. 48, p. 2723-2726.
- [3] F. Kong; Recent studies on reaction pathways and applications of sugar orthoesters in synthesis of oligosaccharides; Carbohydrate Research; Elsevier; 2007, Vol. 342., p. 345-373.



# Harmadlagos kőolaj-kitermelésre alkalmas tenzidek kiválasztási módszerei

## Screening Methods of Surfactants for Tertiary Oil Recovery

### Metode de selecție a tenzidelor utilizabile în exploatarea terțiera al țiteiului

NAGY Roland<sup>1</sup>, SALLAI Rubina<sup>1</sup>, Dr. BARTHA László<sup>1</sup>, Vágó Árpád<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pannon Egyetem, Mérnöki Kar, MOL Ásványolaj- és Széntechnológiai Intézeti Tanszék, Veszprém, Egyetem u. 10, Magyarország

<sup>2</sup>MOL Nyrt. ÚT IMA, Budapest Októberhuszonharmadika u. 6., Magyarország

#### ABSTRACT

*The vegetable based surfactants are widely used in several industries. The importance of the tertiary oil recovery (EOR) is growing in the petroleum industry, where the application of nonionic surfactants is becoming common. Only 30-60% of the oil content from the reservoir can be produced by using primary and secondary oil recovery methods. The chemical EOR technology has developed for increasing the efficiency of the oil recovery. There is a productive research for years at the University of Pannonia, Institute of Chemical and Process Engineering, Department of MOL - Hydrocarbon and Coal Processing in the aim to use some new surfactant types for EOR utilization. In the research work the elaboration of the performance test methods of the own-developed surfactant properties is a relevant task.*

#### ÖSSZEFOGLALÓ

*A növényi olaj alapú nemionos tenzidek ma már a különféle iparágak széles körben alkalmazott vegyületei. A kőolajiparban egyre nagyobb jelentőséggel bíró harmadlagos kőolaj-kitermelésben (EOR) is terjed a nemionos felületaktív anyagok használata. Az elsődleges és másodlagos kőolaj-kitermelési eljárások esetén a felszínre hozható kőolajmennyiség a tároló olajtartalmának legfeljebb 30-60%-a. A kitermelési hatásfok növelése céljából fejlesztették ki a kémiai kizsorításon alapuló harmadlagos eljárást. A Pannon Egyetem Vegyészmérnöki és Folyamatmérnöki Intézetének MOL Ásványolaj- és Széntechnológiai Intézeti Tanszékén évek óta intenzív kutatás folyik új EOR célú tenzidek kifejlesztése céljából. Ennek keretében, a saját fejlesztésű tenzidek minősítésére alkalmas vizsgálati módszereket dolgoztuk ki.*

**Kulcsszavak:** nemionos tenzid, kémiai elárasztáson alapuló harmadlagos kőolaj-kitermelés, tenzidminősítés, módszerkidolgozás

#### 1. BEVEZETÉS

Az ásványolajipar számára a növényi olaj alapú emulgeátorok alkalmazása perspektivikus lehetőséget jelent a természetben könnyen lebomló tenzidelegyek és új, környezetbarát technológiák kifejlesztésére. A nemionos tenzidek egyik kiemelt fontosságú tulajdonságának a vízben illetve olajban való korlátozott oldhatóság tekinthető, amelyet mindig a felhasználási célnak megfelelően szükséges beállítani [1.]. A növényi olaj alapú nemionos tenzideknek számos előnyük mellett jelentős hátrányuk, hogy az alapanyagaikként felhasznált növényolajok, vagy az azokból nyert zsírsavak, illetve észterei sokkomponensűek és összetételük nagymértékben függ az előállításuk változó összetételű alapanyagától, a növényolajtól és annak tisztítási technológiájától. A szintézisük során az átalakulatlanul maradt komponensek, illetve a keletkező melléktermékek jelenléte szintén érzékenyen befolyásolják a tenzid oldhatóságát. Így a fő hatóanyag melletti komponensek koncentrációját és hatásait elengedhetetlen figyelembe venni az oldhatósággal összefüggő felhasználási tulajdonságok vizsgálatakor. Fontos a tenzid emulgeáló kapacitása illetve az olajkimosó hatása is, amelyek az alkalmazott kőolaj-kitermelési mód (EOR) eredményessége szempontjából nélkülözhetetlenek [2.]. A szakirodalmi adatok azonban a kedvező molekulaszervezeteket és e hatá-

sok célszerű arányait illetően nagyon hiányosak, és a gyakorlati feladatok mai igényeknek megfelelő színvonalú megoldását nem teszik lehetővé. Emiatt szükségessé vált a tenzidek jellemzésére alkalmas eddiginél pontosabb hatásvizsgálati módszerek kidolgozása.

Az elmúlt 10 év szakirodalmát áttekintve megállapítottuk, hogy a tenzides kőolaj-kitermelési módszer kémiai hátterével széles körben foglalkoznak, áttekintést adnak a kőolaj és az áramló közeg közötti határfelületi feszültség csökkentéséről, a kitermelési határfokról, vagy a maradékolaj mobilizálásáról. Általános tapasztalatként értékelhető, hogy a kitermeléshez alkalmazott tenzidösszetétel és a technológiai rendszer optimumának becslése és meghatározása alkalmával mindig figyelembe kell venni a gazdasági és a speciális tárolórétegbeli körülményeket [6.]. Fontos megemlíteni, hogy az EOR szakirodalom jelentős része kizárólag a tenzidek által csökkentett kőolaj-víz határfelületi feszültség (IFT) mérésére támaszkodik [2., 3., 4.].

YeSung és SungNan anionos tenzidként alkil-benzolszulfonsav és szekunder-alkán-benzolszulfonsav származékokat alkalmazott. Az anionos tenzid mellett nemionos tenzidet vagy oldószert illetve oldószereket is használtak, amelyekkel ultra alacsony ( $<10^{-2}$  mN/m) határfelületi feszültséget lehetett elérni [5.].

Berger egy újszerű kőolajkinyerési technológiát ismertetett. Az általa felhasznált tenzidelegy alkohol-éter-szulfonát alkáli fém vagy ammónium só származékait tartalmazza, melyeket telítetlen alkohol éterekből állított elő. Emellett még telítetlen alkoxilált alkoholt és változó összetételű etilén-oxidot, propilén-oxidot és butilén-oxidot is tartalmazott, amelyek arányainak jó megválasztásával a határfelületi tulajdonságok kedvezően alakultak ki különböző kőolajok és különböző közetek esetén [6.].

Az új, EOR célú tenzidek kifejlesztési költségeinek csökkentése céljából a saját fejlesztésű kísérleti termékek minősítésére alkalmas vizsgálati módszerek kidolgozása is szükségessé vált.

Célunk a különböző összetételű tenzidek minősítésére alkalmas, ún. szelekciós módszerek kiválasztása és felhasználási lehetőségeinek vizsgálata volt. Emellett az ismertetett módszerekkel a felületaktív tulajdonságok és a tenzidek összetétele közötti összefüggéseket is tanulmányozni kívántuk.

## 2. FELHASZNÁLT ANYAGOK

A méréseink során a Pannon Egyetemen kifejlesztett anionos gemini tenzideket illetve újonnan szintetizált nemionos, változó komponens összetételű zsírsav-poliol észter típusú tenzideket használtunk fel. A méréseinkhez egy kereskedelmi forgalomban kapható, poliakrilamid típusú folyásmódosító polimert is alkalmaztunk. Az előállított tenzidkompozíciók összetételét az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: Tenzidkompozíciók összetétele

Kompozíció jele	ST-jelű kompozíció sorozat	SM-jelű kompozíció sorozat
<b>Komponensek</b>	Komponensarány, %	
<b>MOLANIONIC</b>	55	60
<b>PENONIONIC I</b>	25	40
<b>PENONIONIC II</b>	20	-

Az ST és SM jelű tenzidkompozíciókat  $15 \text{ g/dm}^3$ , a folyásmódosító polimert pedig  $1 \text{ g/dm}^3$  koncentrációban alkalmaztunk. A polimert és tenzideket tartalmazó oldatokat az Algyő-2 jelű kőolajtermelő mezőből származó szűrt rétegvízből készítettük. A PENONIONIC I jelű, zsírsav-észter típusú tenzid sorozat, monoészter tartalma 80 és 98% közötti volt. A kőolajat emulgeáló hatás vizsgálatára egy algyői kőolajmezőből származó, a 2. táblázatban feltüntetett tulajdonságú, paraffinbázisú modell kőolajat használtunk.

2. táblázat: A vizsgálatához alkalmazott kőolaj (Algyő)

Jellemző	Az algyői kőolaj minta jele
	ALG 892/A2
Sűrűség, $\text{kg/m}^3$	830,8
Szín, ASTM	8
DV $20^\circ\text{C}$ , mPas	92,9
DV $80^\circ\text{C}$ , mPas	19,3
Víztartalom, % (Marcusson)	0,05
VK $40^\circ\text{C}$ , $\text{mm}^2/\text{s}$	4,92

Vizsgálatainkhoz a későbbi mezőkísérlet elvégzéséhez kijelölt tárolóból származó, valódi rétegvizet használtunk fel.

### 3. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Az EOR célra előállított tenzidek minősítését számos laboratóriumi vizsgálat adatai alapján végeztük. Ezek közül a teljesség igénye nélkül, az EOR technológia szempontjából legfontosabb felületaktív tulajdonságokat ismertetjük.

#### 3.1. Emulgeáló hatás vizsgálata

A vizsgálat azon alapul, hogy a vizsgálandó kőolajat és a kísérleti tenzidet tartalmazó, beállított pH-jú rétegvizes oldat azonos térfogatú mennyiségét összemérjük, a fázisokat összerázzuk, majd ülepités után mérjük a kialakult fázisok térfogati megoszlását, illetve hőkezeléseket követően a térfogatarányok ismételt mérésével meghatározzuk az emulzió termikus stabilitását.

A vizsgálati eljárás során a  $10\text{ cm}^3$  térfogatú  $15\text{ g/dm}^3$  emulgeátor elegyet tartalmazó vizes oldatot és a  $10\text{ cm}^3$  modell olajat egymás után bemérjük a mérőhengerbe. A folyadék keveréket szobahőmérsékleten 7 teljes ciklusú fordítással összerázzuk. A vizes és az emulziós fázis térfogati arányára vonatkozó mérési adatokat a teljes térfogatra vonatkoztatott folyadék térfogat %-ában adjuk meg. A méréseket  $25$  és  $90^\circ\text{C}$ -on, 0-48 óra ülepitési időtartamban végezzük. A párhuzamos mérések között megengedett legnagyobb eltérés:  $\pm 2\%$ .

#### 3.2. Olajkimosó hatás vékonyréteg kromatográfiás (VRK) meghatározása

A mérés végrehajtása során a vizsgálandó kőolaj meghatározott mennyiségét egy üveglapra előzetesen modell kőzetporból elkészített kromatográfiás rétegre cseppentjük, majd a kőolajtárolóban lévő víznek megfelelő összetételű, az emulgeátor elegyet  $15\text{ g/dm}^3$  koncentrációban tartalmazó, algyői rétegvízben futtatjuk. A kőolajfolt felső szélének a cseppentés középpontjától mért elmozdulásának távolságát mm egységben határozzuk meg.

A vizsgálati eljárás előkészítéseként először a vékonyréteget állítjuk elő. A tiszta, száraz üveglapot az előzőleg 4-5 percig erőteljesen összerázott modell kőzetörleményt tartalmazó kloroformos szuszpenzióba mártjuk ( $100\text{ g}$  rétegeképzőhöz  $60\text{--}65\text{ cm}^3$  kloroformot adunk), és 20 percig hagyjuk száradni a réteget. Ezután az üveglap aljától  $2\text{ cm}$ -re felcseppentünk  $4\text{ }\mu\text{l}$  kőolajat. Az olajfolt szétterülése és 30 perces száradása után mm-ben mérjük a folt futtatás irányába eső sugarát. Mindig frissen készített lemezzel dolgozunk, mert a réteg akkor a legaktívabb.

A  $15\text{ g/dm}^3$  tenzidet tartalmazó modell rétegvízből  $15\text{ cm}^3$ -t a henger alakú vizsgálócsőbe bemérünk, az üveglapot behelyezzük, majd a kémcsövet alufóliával lezárjuk.  $80^\circ\text{C}$ -os szárítószekrényben, 3 óra időtartamú futtatás után a lemezt kivesszük a kémcsőből és megmérjük a cseppentés helye és az olajfolt széle közötti távolságot. A mért elmozdulásokat mm mértékegységekben adjuk meg, és a párhuzamos mérések közötti különbségek nem haladhatják meg az átlagértékre vonatkoztatott  $\pm 10\%$ -ot.

#### 3.3. Határfelületi feszültség (IFT) mérés

A víz-olaj határfelületi feszültség meghatározásának egyik lehetősége az ún. forgócsepp módszer (spinning drop method). A mérést egy forgó vízszintes hengerben végzik, ami a sűrű folyadékot tartalmazza. Amíg a henger forgása centrifugális erőt fejt ki annak falára, a kisebb sűrűségű folyadék (olaj) cseppjei elnyúlt formában deformálódnak. Ez a deformáció akkor szűnik meg, ha a határfelületi feszültség és a centrifugális erők kiegyenlítődnek. Az egyensúlyi helyzetben a két folyadék közötti felületi feszültség a csepp formájából számítható ki. A módszer elvégzésére alkalmas eszközt forgócsepp tenziométernek nevezik.

Az 1-5% tenzidkoncentráció-tartományban végzett párhuzamos mérések közötti különbségek nem haladhatják meg az átlagértékre vonatkoztatott  $\pm 5\%$ -ot.

#### 3.4. Kőolaj-kiszorítási modell kísérlet

A kőolaj-kiszorítási vagy elárasztási kísérleti eljárás alapja, hogy a tenzid megváltoztatja a kontaktszöveget az olaj-víz határfelületen, és ezáltal a vizes rendszerben is képes a magmintán kötődött és vízzel már nem eltávolítható kőolaj kiszorítására. A mérést egy automatizált kiszorító berendezésen végzik, amelynek során egy kőolajat is tartalmazó tárolóközetből nyert magmintába sajtolnak be rétegvizet és rétegvizes polimer-tenzid elegyet meghatározott program szerint. A kísérlet útján megállapítható a besajtolt folyadék által nyerhető többletolaj-kinyerés. A gyakorlati adatok szerint a gazdaságilag is jelentős többletolaj-kinyerés a laboratóriumi adatok tartományában 20% feletti értékek esetén valószínűsíthető.

#### 4. MÉRÉSI EREDMÉNYEK

Méréseink során az *1. táblázat* szerinti összetételű, két különböző típusú, egy kétkomponensű (SM jelű) és egy háromkomponensű (ST jelű) tenzidkompozíciót vizsgáltunk. A vizsgált kompozíciók mintasorozatát úgy állítottuk össze, hogy a nemionos tenzid komponensük kémiai összetételében a felületaktív tulajdonságokat domináns mértékben hordozó zsírsav-monoészter tartalom viszonylag jelentős arányban (88-97%-ban) volt jelen.

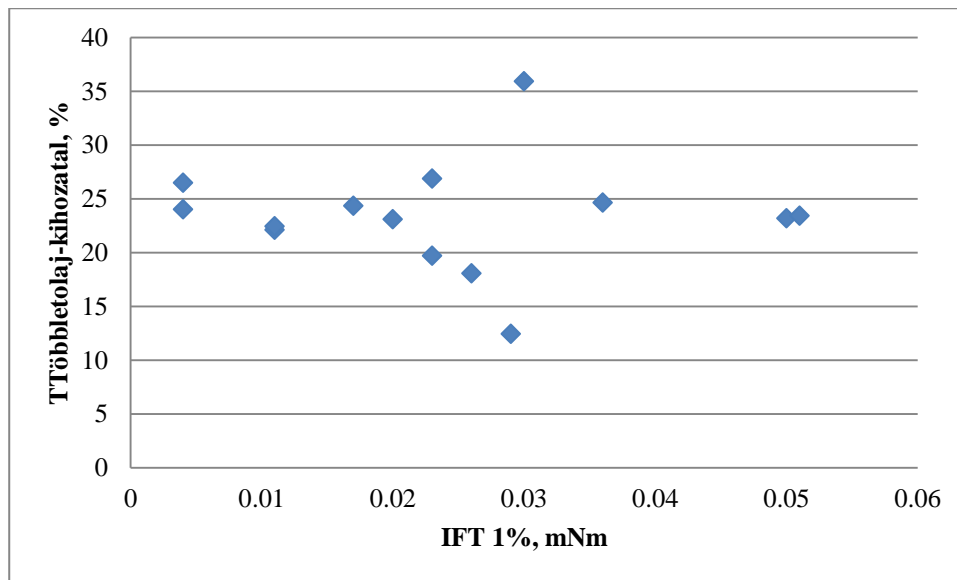
##### 4.1. SM és ST jelű tenzidkompozíciók vizsgálata

A folyásmódosító polimert és a különböző komponens-összetételű nemionos tenzidet is tartalmazó kompozíciók vizes oldatainak gyakorlati felhasználási hőmérséklete 80-100 °C közötti. Ezért az SM és ST jelű tenzidek hatásvizsgálatait 80 °C-on végeztük, a mérési adatokat pedig a *3. táblázatban* foglaltuk össze.

**3. táblázat:** Tenzid- és polimer elegyeit tartalmazó oldatok vizsgálati adatai

	PENONIONIC I jelű nemionos tenzidkompozíció		IFT, mNm 1%	EH 1h, 80°C, %	VRK mm	Többletolaj- kinyerés %
	Monoészter, %	Diészter, %				
SM-1	88,2	4,1	0,03	100	25	35,9
SM-2	97,0	2,5	0,05	97,5	20	23,2
SM-3	81,9	16,9	0,029	10	15	12,5
SM-4	86,0	13,4	0,023	10	21	19,7
SM-5	78,9	15,1	0,039	50	16	-
SM-6	86,4	12,2	0,045	12,5	19	-
SM-7	97,0	2,5	0,051	95	14	23,4
SM-8	97,0	2,5	0,036	85	15	24,6
SM-9	97,0	2,5	0,023	40	16	26,9
ST-1	97,0	2,5	0,004	90	16	24,0
ST-2	97,0	2,5	0,026	97,5	9	18,1
ST-3	88,2	4,1	0,011	95	25	22,1
ST-4	88,2	4,1	0,02	97,5	26	23,1
ST-5	88,2	4,1	0,011	92	22	22,5
ST-6	86,4	12,2	0,017	80	14	24,4
ST-7	97,0	2,5	0,004	94	25	26,5

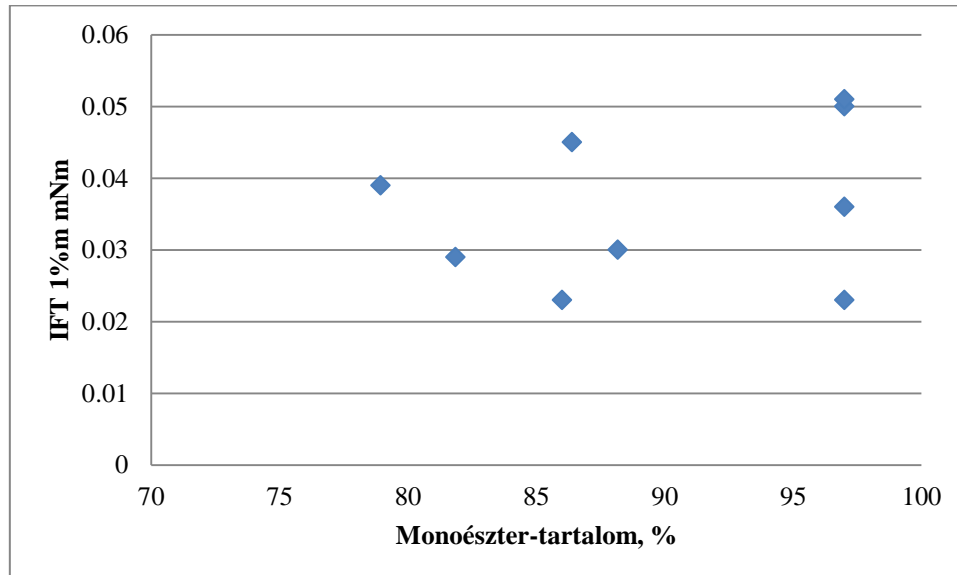
Az adatok első összehasonlítását a szakirodalomban több szerző által preferált IFT és az oldatok készítéséhez felhasznált nemionos tenzidkompozíciók monoészter-tartalma közötti esetleges összefüggés vizsgálata céljából végeztük (*1. ábra*).



1. ábra

*A határfelületi feszültség és a többletolaj-kinyerés közötti kapcsolat*

A mérési adatok szórása alapján megállapítható (1. ábra), hogy a tenzidkompozíciók határfelületi feszültsége és a kompozíció többletolaj-kinyerése között nincs egyértelmű korreláció annak ellenére, hogy az EOR szakirodalmi közlemények többségében a határfelületi mérést tartják kulcsfontosságú jellemzőnek a kitermelhetőség szempontjából. Jamaloei közleményében fontosnak tartja, hogy jelenleg a megoldások kidolgozása során az új és relatíve gazdaságos felületaktív anyagok és más kiegészítő hatású vegyületek fejlesztése a fő cél, amelyek jelentős határfelületi feszültségcsökkentő tulajdonsággal rendelkeznek [7].

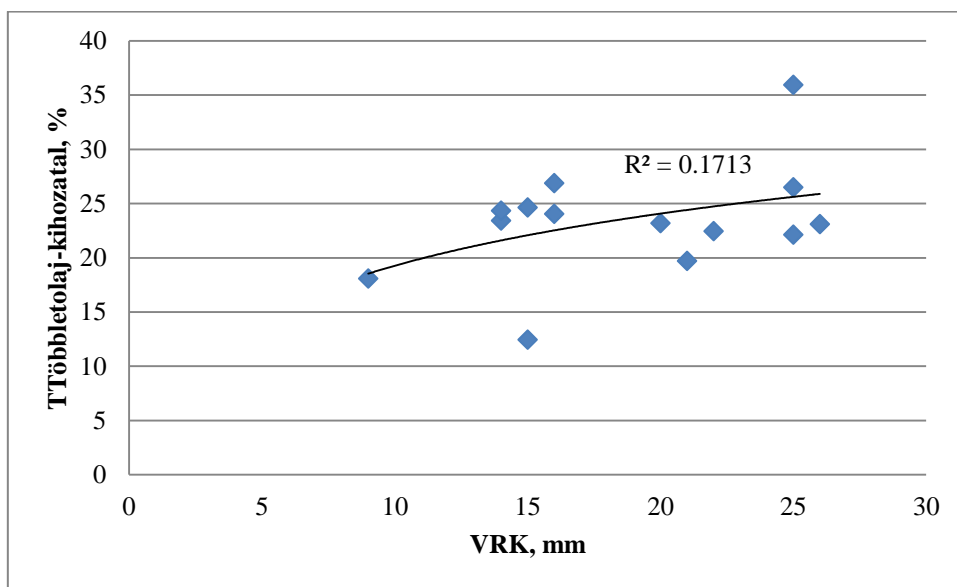


2. ábra

*A monoészter tartalom és a határfelületi feszültség közötti kapcsolat*

A mérési adatok közötti összefüggések további vizsgálata alapján azt is megállapítottuk, hogy a nemionos tenzid összetételében lévő monoészter-tartalom és a kompozíció határfelületi feszültséget csökkentő hatása között sem lehetett egyértelmű korrelációt találni (2. ábra). Az adathalmaz, illetve a kőolaj-kiszorítási kísérletek adatai alapján (1. ábra) csak az következtetést lehetett levonni, hogy a 20% feletti olajkinyeréshez tartozó IFT értékek túlnyomó többsége 0,05 mN/m alatt volt. Így az IFT 0,005 alatti értékek pozitív hatása a sikeres kémiai EOR technológia szempontjából megalapozottan valószínűsíthető. Ugyanakkor önma-

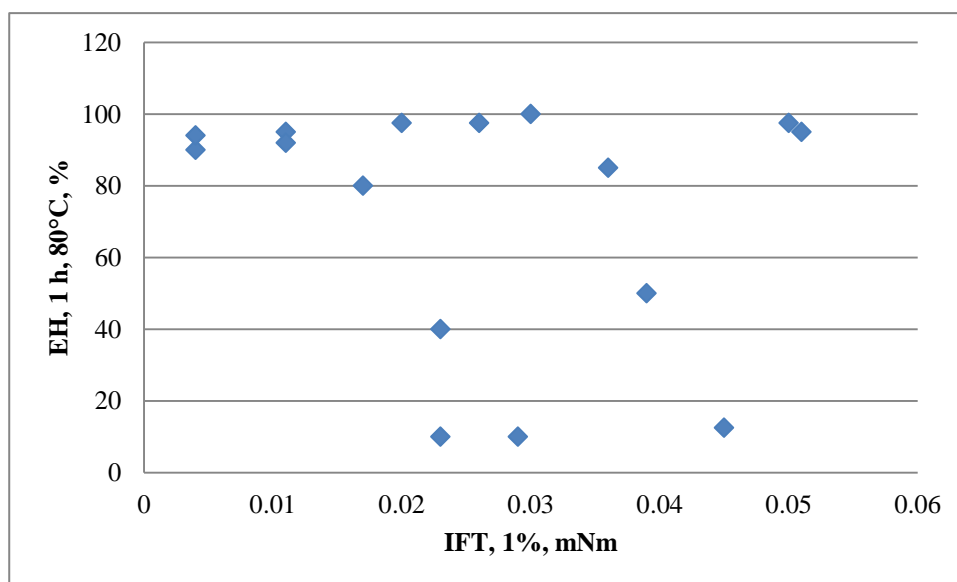
gában ez a jellemző nem bizonyult elegendőnek a hatékonyság szempontjából sikeres szelekcióhoz. A továbbiakban tehát az egyéb mért hatásjellemzők és a többletolaj kinyerés közötti összefüggést vizsgáltuk (3. ábra).



3. ábra  
A VRK és a többletolaj-kinyerés közötti kapcsolat

Megállapítottuk, hogy a VRK adatok és többletolaj kinyerés között laza korrelációjú telítési görbe szerint alakuló tendencia mutatható ki.

Az általános tapasztalatok alapján a laboratóriumi kőolaj-kiszorítási vizsgálati módszer tekinthető az EOR célú tenzidek legfontosabb osztályozási módszerének. Ezért ezen eredmények alapján a VRK módszer alkalmazása, illetve jelentősen olcsóbb és gyorsabb segédeszköz lehet az EOR tenzidek kiválasztási folyamatában. A VRK értékek viszonylag kis tartománya viszont bizonytalanná teheti az értékelést. Ezért további jellemzők bevonásával kerestük a szelekciós módszer megbízhatóságának növelési lehetőségét.



4. ábra  
Az emulgeáló hatás és a határfelületi feszültség közötti kapcsolat az ST-jelű kompozíciók esetén

Az IFT értékek 0,1 alattinak adódtak, így ezen tenzidkompozíció sorozat tagjai is alkalmasak voltak többletolaj kinyerésre. Az emulgeáló hatás és felületi feszültség között nem volt egyértelmű tendencia. Megállapítottuk, hogy az IFT módszer önmagában tehát nem elegendő az EOR célú tenzidek kiválasztásához.

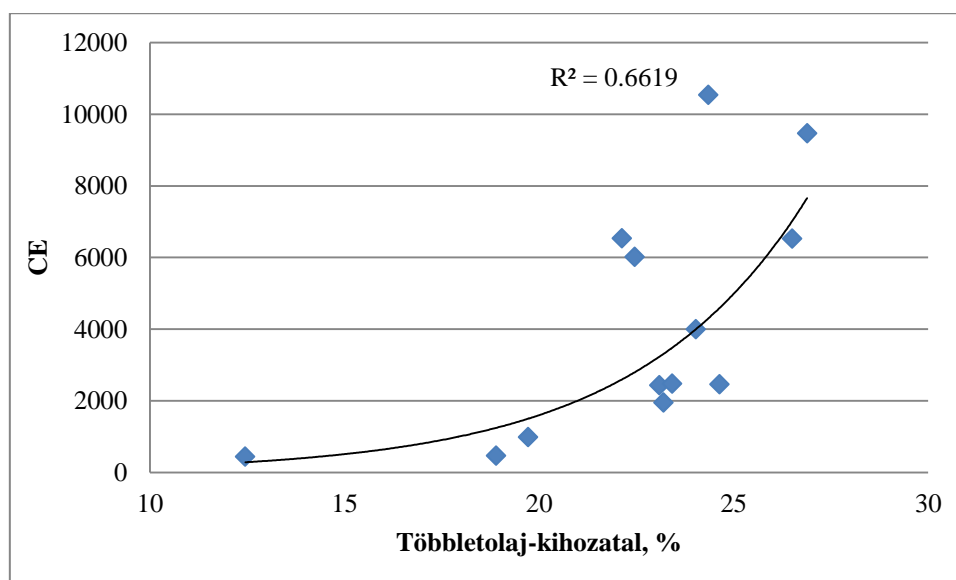
### 4.3. Tenzidek jellemzése értékszámmal összesített értékszámmal

A korábban bemutatott három felületaktív hatás jellemző felhasználásával és az adatok statisztikai elemzése alapján egy új, a hatékonyságot jellemző összetett értékszámot (CE) definiáltunk. Ezzel kívántuk szelektálni az EOR célra előállított tenzidkompozíciókat. Az értékszámot definiáló alábbi egyenlettel a tenzidek jellemzésére alkalmazott felületaktív tulajdonságokat súlyozva vettük figyelembe (1. egyenletet).

$$CE = \frac{VRK * 0,25 * EH}{IFT^2 * 100} \quad (1)$$

A CE értékszám és a többletolaj hozam közötti összefüggés (5. ábra) alapján megállapítottuk, hogy minél magasabb az értékszám, annál nagyobb többletolaj-kinyerést értünk el a vizsgált tenzidkompozícióval.

Megjegyezzük, hogy más típusú tenzidkompozíciónál várhatóan más lehet a CE értékszám olajkinyerés-görbe, ezért ezen adatok alapján még nem lehet egy általánosan elfogadott határértéket megállapítani, amely felett megfelelő hatásúnak becsülhető a vizsgált tenzidkompozíció.



5. ábra

A CE érték és a többletolaj-kinyerés közötti kapcsolat az SM és az ST-jelű kompozíciók esetén

Ugyanakkor megállapítottuk, hogy a CE érték növekedésével egyértelműen nőtt a kőolaj-kiszorítási hatásfok. Bár a relatíve kis korrelációs együttható még mindig csak laza összefüggést jelent, a több hatásjellemező értékének összesítése mégis az együttható növekedését tette lehetővé. Ezzel a komplex minősítési módszerrel csökkenhet a tenzidek szelekciója során elvégzendő mérések száma, ami időtakarékos és költséghatékonyabb kutatást eredményezhet.

Az eredmények egyben arra is utalnak, hogy az egyes hatásjellemezők nem függetlenek egymástól és az olajkiszorítási hatékonyságuktól. Így az összesítő értékszám továbbfejlesztése során az összefüggés szorosságának fokozása érdekében újabb hatásjellemezők mérésére és beépítésére kívántunk kísérletet tenni.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Közleményünkben az alábbi eredményeket összegezhetjük:

- EOR célú tenzidek minősítésére és szelekciójára alkalmas módszereket mutattunk be;
- az egyes módszerek között nem minden esetben találtunk egyértelmű és szoros korrelációt;

- az új, összetett módszer segítségével a tenzidek, illetve tenzidkompozíciók EOR szempontú hatékonysága becsülhető;
- egyes felületaktív tulajdonságok között különböző szintű korrelációkat határozzunk meg;
- a bemutatott komplex minősítési módszerrel csökkenhet a tenzidek szelekciója során alkalmazott mérések száma, amely időtakarékos és költséghatékonyabb kutatást eredményezhet.

## IRODALOMJEGYZÉK

- [1.] Milton J. Rosen: *Surfactants and interfacial phenomena*, John Wiley and Sons, 2004.
- [2.] Laurier L. Schramm: *Surfactants: Fundamentals and applications in the petroleum industry*, Cambridge University Press, 2000.
- [3.] Drew Myers: *Surfactant science and technology*, Wiley-Interscience, 2006.
- [4.] Benyamin Yadali Jamaloei: *Insight into the Chemistry of Surfactant-Based*, Recent Patentson Chemical Engineering, 2, 1-10, 2009.
- [5.] Yesung, O., Sungnan, N.: US 20006/022834, 2000.
- [6.] Berger, P.D., Berger, C. H., Cao, G., Hsu, O.: US 2008/0176772, 2008.
- [7.] Benyamin Yadali Jamaloei: *Insight into the Chemistry of Surfactant-Based*, Recent Patentson Chemical Engineering, 2, 1-10, 2009.



# Cr(III) →Cr(VI) átalakulásának vizsgálata gyakorlati minták hőkezelése során

## Conversion of Cr(III) Content of Samples to Cr(VI) During Ashing

### Conversia Cr(III) →Cr(VI) a probelor analitice în urma tratamentului termic

SÓGOR Csilla<sup>1</sup>, BÉNI Áron<sup>2</sup>, KOVÁCS Róbert<sup>2</sup>, POSTA József<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Babes-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki Kar, sogor@chem.ubbcluj.ro

<sup>2</sup>Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar

#### ABSTRACT

*We have studied, how the different forms of chromium depend on the temperature of the ashing and how large the conversion of Cr(III) to Cr(VI) at different temperature is.*

*The basic materials of construction materials, cement and brick do not contain Cr(VI), but their Cr(III) salt content can be oxidised into Cr(VI). A digestion procedure was developed for determining total chromium content in bricks. Wet digestion and microwave assisted digestion procedures were tested. The brick samples can only be quantitatively dissolved under extremely aggressive conditions, by microwave assisted digestion.*

*2 mL cc. HNO<sub>3</sub>, 2 mL cc. HF and 1 mL cc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was added to 0.2000 g pulverized brick; complete dissolving was reached by using 250-400-600 watt microwave power for 5-5-10 minutes.*

*The toxic Cr(VI) contents of high temperature baked brick samples was examined after water extraction. It was found that the total chromium content of construction materials (tile, brick, cement, furnace slag) is an average of 50 µg/g, 1-2% of which is Cr(VI). In conclusion, there is no risk of contamination with Cr(VI), in case of rains or floods, no significant amount of Cr(VI) is dissolved from brick, tile and construction materials.*

*There is no literary data available for us about the formation of the toxic chromium compounds during toasting bread. That's why we considered so important to examine it.*

#### ÖSSZEFOGLALÓ

*Korábbi közleményeinkben tanulmányoztuk, hogy az izzítás hőmérsékletétől hogyan függ a különböző krómformák aránya.*

*Az építőanyagok, cement, téglá, alapanyagaiban nincsenek Cr(VI) vegyületek, de a bennük nyomokban jelen levő Cr(III)-sók kiegészítőkor Cr(VI)-tá oxidálódhatnak. Módszert dolgoztunk ki téglaminták teljes feltárására, az összkrómtartalom meghatározása érdekében. A téglát csak nagyon agresszív körülmények között lehet maradék nélkül feloldani. A mintákat nyílt és zárt rendszerben (platinatégely, illetve mikrohullámú roncsoló) egyaránt megpróbáltuk feltárni. A bemért téglapor teljes mennyiségét csak egy módon, zárt rendszerben, nyomás alatt sikerült oldatba vinni. 0,2000 g lisztfinomságúra őrölt téglaporhoz 2 mL tömény salétromsavat, 2 mL tömény hidrogén-fluoridot és 1mL tömény kénsavat adva, 5-5-10 perces időtartamig 250-400-600 watt mikrohullámú teljesítményt alkalmazva elérhető volt a teljes oldódás.*

*Vizsgáltuk nagy hőmérsékleten kiegészített különböző téglaminták vízzel kioldható toxikus Cr(VI)-tartalmát. A vizsgált építőipari mintákban (cserép, téglá, cement, kohósalak) az összkrómtartalom átlagosan 50 µg/g, aminek a Cr(VI) 1-2%-át teszi ki. Ebből az a következtetés vonható le, hogy nem kell attól tartanunk, hogy esőzések, illetve belvíz hatására veszélyes mennyiségű Cr(VI) oldódna ki téglá, cserép, stb... építőipari alapanyagaiból, és dúsulna fel a talajban.*

*Irodalmi adat nem áll rendelkezésünkre, hogy a kenyér pirításánál keletkezhet-e toxikus krómvegyület, ezért tartottuk fontosnak ennek a vizsgálatát is.*

**Kulcsszavak:** toxikus Cr(VI), Cr(III) oxidáció, téglaminták feltárása, krómspeciációs vizsgálatok, kenyér krómtartalma

## 1. BEVEZETÉS

A króm +2, +3, +4, +5, +6 vegyértékállapotú formái közül a természetben csak a Cr(III) és Cr(VI) vegyületek stabilak [1]. E két forma környezetre, biológiai rendszerekre gyakorolt élettani hatása teljesen ellentétes. A Cr(III) az állati és emberi szervezet számára létfontosságú [2], a Cr(VI) viszont kis mennyiségben is kifejezetten mérgező, rákkeltő [3].

A környezetben található króm természetes forrásból és emberi tevékenységből származik. Az utóbbit a fém-, a festégyártó-, a bőr- és a vegyipar, a galvánüzemek, valamint az égető-berendezések, a cementgyárak és a szennyvíztisztító telepek bocsátják ki. Természetes források közé a vulkánkitörések, kőzetmállások és az erdőtüzek tartoznak.

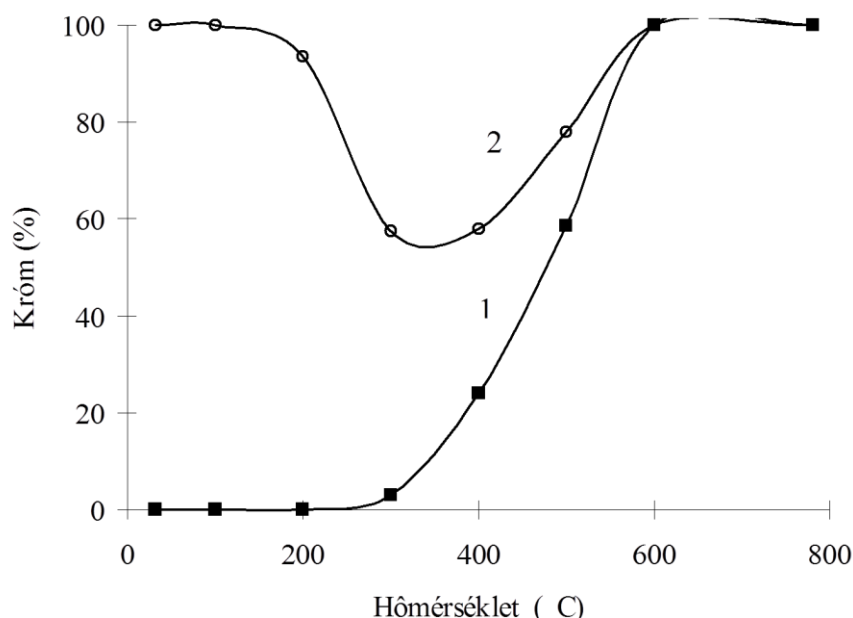
Igen fontos annak a vizsgálata, hogy különböző emberi tevékenységek során mikor és hogyan keletkezik Cr(VI), mivel csak ezen információk birtokában lehet megakadályozni, hogy a mérgező Cr(VI) a környezetbe, illetve az emberi szervezetbe jusson. Már régebben tanulmányozott folyamat a természetes vizekben (folyókban, tavakban) jelenlevő szerves anyagok hatására a toxikus Cr(VI) spontán átalakulása, detoxifikálódása Cr(III)-má. Tengerek vizében ugyanakkor megfigyelhető volt ezzel ellentétes folyamat is.[4] Nevezetesen a tengeri üledékek mangán-oxidjai hatására lejátszódhat a Cr(III) Cr(VI)-tá alakulása is. Utóbbi átalakulási folyamatok azonban elsősorban emberi tevékenység következményei.

Az irodalomban ismeretes, hogy nagy hőmérsékleten, atmoszferikus nyomáson és oxidatív körülmények között a Cr(III) (különböző oxidációs állapotokon keresztül) Cr(VI)-tá alakulhat [5].

Korábbi kísérleteink során tanulmányoztuk a Cr(III) → Cr(VI) átalakulását természetes mintákban. Azt tapasztaltuk, hogy ezen minták összes krómtartalma 800°C fokon Cr(VI)-tá alakul. A Cr(VI) forró desztillált vízzel kioldható a hamvasztási maradékból.[6]

Az 1. ábrán a cigaretta hamvasztásakor végbemenő Cr(III)→Cr(VI) átalakulást követhetjük nyomon. Az ábrán 100 %-nak a cigarettához előzőleg hozzáadott króm mennyiségét tekintettük.

A 2. jelzésű görbe jól mutatja, hogy a mintához adott Cr(III) egy része 200-600 °C-on vízben és tömény salétromsavban sem oldódó krómvegyületekké, valószínűleg dikróm-trioxiddá (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) alakul. Az 1. jelzésű görbe (forró desztillált vízzel kioldható krómforma görbéje) jelzi, hogy kb. 270 °C-on megkezdődik a Cr(VI)-képződés, majd 800 °C-on a minta összes krómtartalma 100 %-ban Cr(VI)-tá alakul. A szorpciós dúsítással [7] és lángatomabszorpciós (FAAS) meghatározással ugyanis a 800 °C-on keletkező hamuból a cigarettamin-tához előzetesen hozzáadott króm teljes mennyiségét visszakaptuk.



1. ábra

*Cigaretta különböző hőmérsékleten történő hamvasztásakor kapott*

*maradékok desztillált vizes Cr(VI) - (1) és tömény salétromsavval extrahálható krómtartalma (2)*

(A cigarettához előzetesen 100 µL, 1 mg/mL Cr(III)-at adtunk, ez a mennyiség felel meg a 100 % krómnak.)

*Ezért igen fontos gyakorlati feladat minden olyan levegő kizárása nélkül folyó hőfolyamat követése, ahol a krómot tartalmazó anyag égetése, több 100 °C-on folyó hevítése (cserép, téglá égetése, kenyérsütés, kenyérpírítás) zajlik.*

## **2. ALKALMAZOTT BERENDEZÉSEK**

A mintaoldatok elkészítéséhez nagy tisztaságú ioncserélt vizet használtunk, melyet Millipore Milli-Q RG készülékkel állítottunk elő. A minták feltárásához nagy tisztaságú Spektrum 3D vegyszereket használtunk. A mérőműszer kalibrációjához szükséges oldatok elkészítéséhez 1000 µg/L króm(III)-nitrát, illetve káliumbikromát (Merck) standard oldatokat alkalmaztunk.

A termoderivatográfias vizsgálatokhoz Merck gyártmányú szilárd krómvegyületeket használtunk.

A mikrohullámú feltárásokat MILESTONE-MLS-1200 Mega MDR készülékkel végeztük a műszerkönyvben megadott recept szerint. A minták száraz hamvasztását egy 1000°C-ig elektromosan fűthető Electhermax kemencében végeztük.

A grafitkemencés atomabszorpciós mérések Zeeman háttérkorrekciós Perkin Elmer AAnalyst 600-as típusú készülékkel, a FAAS mérések Varian SpectrAA-10 típusú készülékkel történtek.

A termoderivarográfias vizsgálatokat Paulik-Paulik-Erdey rendszerű MOM gyártmányú derivatográfával végeztük.

## **3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK**

### **3.1 Cr(III) átalakulásának vizsgálata építőanyagok hőkezelése során**

Az építkezéshez használt téglá gyártásához elsősorban nagy mennyiségben előforduló jó minőségű agyagra van szükség. A kibányászott agyagot általában egy évig ún. depókban pihentetik, ahol az alapanyag homogenizálódik. A gyártási folyamatba bekerülő agyaghoz – a szükséges porózusság elérése céljából – adalékanyagot kevernek, amely majd a kiégetéskor távozik a téglából. A szigorú környezetvédelmi technológiai előírásoknak megfelelően ez csak tiszta anyagok, elsősorban fűrészpor alkalmazását jelenti, mert a téglá kiégetésekor ebből nem keletkeznek környezetet károsító égéstermékek. A kellőképpen finomra őrölt, homogén és nedvesített agyagot azután formára préselik és vágják. A felesleges nedvességet szárítással vonják ki belőle, mintegy 48 órával később kerül a kemencébe, ahol kiégetik [8].

Mivel a téglákat nagy hőmérsékleten égetik, felmerül az a kérdés, hogy a téglá eredeti krómtartalma milyen mértékben alakul át toxikus Cr(VI)-tá. Ehhez először a téglaminták összes krómtartalmát kellett meghatározunk.

#### **3.1.1 Teljes krómtartalom meghatározása**

Az általunk vizsgált téglamintákat két szempont szerint csoportosítjuk: lelőhelyük szerint, illetve felhasználtságuk alapján:

- 4 különböző lelőhelyről származtak (elsősorban Tiszántúli téglagyárakból)
- új (1 évnél nem régebben gyártott), ill. bontott (5-10 éve már használt téglá)

A téglát csak nagyon agresszív körülmények között lehet maradék nélkül feloldani. Számos komponens nehezen oldható. Szilikát váza legkönnyebben hidrogén-fluoriddal bontható szét. A nyomnyi mennyiségben jelen levő titán és ritkaföldfém-oxidok rendkívül ellenállóak. Egyetlen reagens önmagában történő alkalmazása nem vezet eredményre, ezért általában a rendszert alkotó sok komponens eltérő igényeihez igazított feltáráselegyet célszerű használni.

A mintákat először porítottuk, majd achátmozsárban kellő finomságúra őröltük. Ezután a mintákat nyílt és zárt rendszerben (platinatégely, illetve teflon-bomba) egyaránt megpróbáltuk feltárni. Az 1. táblázatban foglaltuk össze a téglaminták feltárására alkalmazott módszereket.

A bemért téglapor teljes mennyiségét csak egy módon, zárt rendszerben, nyomás alatt sikerült oldatba vinni. 0,2000 g lisztfinomságúra őrölt téglaporhoz 2 mL tömény salétomsavat, 2 mL tömény hidrogénfluoridot és 1 mL tömény kénsavat adva, 5-5-10 perces időtartamig 250-400-600 watt mikrohullámú teljesítményt alkalmazva elérhető volt a teljes oldódás. Az előbbi savelegy más arányainál és más savak alkalmazásával a téglamintáknak mindig volt szilárd maradéka.

Későbbiekben más építőipari alapanyagokra is (cement, tetőfedő-cserepek, kohósalak) kiterjedt vizsgálatunk. E minták feltárását is a fentebb ismertetett módon végeztük, változtatva a savarányokon, hogy teljes legyen a feloldás. A mérési eredményeket a 2. táblázat tartalmazza.

**1. táblázat.** Téglaminták feltárása nyílt és zárt rendszerben

Rendszer	Feltárási elegy 200mg téglaporhoz	Feltárás	A feltárt anyag oldása/hígítása	Megjegyzés
platinatégely	1000-1200mg NaOH 600 mg Na <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hevítés szűrőlágon	desztillált vizes oldás átsavanyítás sósavval	Szilárd maradék az oldatban
platinatégely	20 mL tömény HCl 20 mL tömény HF 2 mL HClO <sub>4</sub> (1:1)	Melegítés homokfürdőn	2 mL HClO <sub>4</sub> (1:1)	Szilárd maradék az oldatban
teflonbomba*	2 mL HNO <sub>3</sub> 2 mL HF 0,5 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 min 250 W 5 min 400 W 10 min 600 W	desztillált víz	Szilárd maradék * Milestone Gmbh MLS-1200 Mega mikrohullámú roncsoló kézikönyve ajánlása téglaminták feltárásához
teflonbomba	5mL HNO <sub>3</sub> 2 mL HF 1 mL HClO <sub>4</sub>	5 min 250 W 5 min 400 W 10 min 600 W	desztillált víz	Szilárd maradék
teflonbomba	2mL HNO <sub>3</sub> 2 mL HF 1 mL H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5 min 250 W 5 min 400 W 10 min 600 W	desztillált víz	Nincs szilárd maradék

**2. táblázat.** GFAAS-val mért összkrom koncentráció építőipari mintákban

Minta neve	Összkrom tartalom (µg/g)	RSD %
H-böszörményi (bontott)	56,8	4,5
H-böszörményi (samott)	60,5	8,3
Hajdúnánási (bontott)	56,1	1,4
Hajdúnánási (új)	48,7	2,8
Mályi téglá (bontott)	133,0	7,1
Porotherm Leier téglá (új)	44,5	2,2
H-böszörményi (új)	52,5	4,9
H-böszörményi (bontott)	77,2	8,8
Hajdúnánási (bontott)	53,2	11,3
Hajdúnánási (új)	49,8	7,5
Portland cement	61,1	17,6
H-böszörményi cserép (új)	81,6	9,2
Kohósalak	167,0	8,9
H-böszörményi cserép (bontott)	54,9	2,3

A kidolgozott feltárási módszerrel és GFAAS meghatározással az építőipari minták összkróm koncentrációjának meghatározása rutinszerűen elvégezhető. A továbbiakban az a célunk, hogy meghatározzuk, mennyi a teljes krómtartalomból a mérgező Cr(VI)-tartalom.

### 3.1.2 Cr(VI) tartalom meghatározása

A rákkeltő Cr(VI)-tartalom meghatározására modellezni próbáltuk azt a feltételezett, természetben lejátszódó folyamatot, ahogyan az esővíz hatására évek alatt kioldódik a Cr(VI)-tartalom akár téglá, cserép vagy egyéb építőipari anyagból. A belvizes területeken az átnedvesedett falakból szintén hasonló kioldódás mehet végbe.

Első lépésben ezt úgy valósítottuk meg, hogy a lisztfinomságú téglaport 2 órán keresztül ioncserélt vízzel refluxoltattuk, majd szűrtük. A szűrlet krómtartalmát GFAAS-an mértük.

Ezt követően ugyanabból a mintából 0,2 g-os részleteket 5 mL ioncserélt vízben 10, 20, 30, 40, 50 illetve 60 percig áztattuk 70-80 °C-on, majd szűrés után GFAAS-en mértük a szűrlet krómtartalmát.

Azt tapasztaltuk, hogy időben előrehaladva a kioldódott Cr(VI)-mennyisége nem változott számottevő mértékben (a 10 percenként vett mintákban), és ezek az eredmények nem különböztek a refluxoltatás után mért értéktől. Az eredmények arra engedtek következtetni, hogyha van a mintákban Cr(VI)-tartalom, az már 10 perc alatt szinte teljesen kioldódik.

Ezért a mintákat ezután csak 10 percig tartottuk a kb. 80 °C-os vízben, majd szűrés után a Béni és munkatársai által kidolgozott extrakciós dúsító módszerrel mértük a mérgező Cr(VI)-tartalmat [9]. A mérési eredményeket a 3. táblázat tartalmazza.

A vizes kioldás után a szűrlet pH-ját 1,7-re állítottuk be, majd 1 cm<sup>3</sup> etil-acetátot (EtOAc) adtunk hozzá, és az elegyeket 10°C alatti hőmérsékletre hűtöttük. A lehűtött oldatokhoz 125 µl 3%-os hidrogén-peroxidot mértünk, és műanyag kémcsőben kb. 1 percig erősen összeráztuk. Ezután a felső szerves (etil-acetátos) fázisból a GFAAS mintatartó edényeibe pipettáztunk, és elvégeztük a Cr(VI)-meghatározásokat. Így 5-szörös dúsítással detektálható volt a Cr(VI)-mennyisége.

**3. táblázat.** Cr(VI) meghatározás GFAAS-módszerrel, EtOAc/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-os dúsítás után

Minta neve	Cr(VI) (µg/g)	RSD%
H-böszörményi (bontott)	0,8	4,4
H-böszörményi (samott)	0,8	9,3
Hajdúnánási (bontott)	0,7	6,7
Portland cement	0,2	5,1
Mályi téglá (bontott)	0,9	7,9
Porotherm Leier téglá (új)	0,3	3,5
Kohósalak	1,2	9,3
H-böszörményi cserép új	0,4	2,2
H-böszörményi cserép (bontott)	0,3	4,2

Az eredmények alapján látható, hogy vizsgált építőipari mintákban (cserép, téglá, cement, kohósalak) az összkrómtartalom átlagosan 50 µg/g, aminek a Cr(VI) 1-2%-át teszi ki. Néhány minta esetén valamivel 100 µg/g fölött volt az összkrómtartalom, de a Cr(VI) toxikus forma itt sem haladta meg számottevően az 1 ppm-es koncentrációt. Mindezek azt mutatják, hogy minimális a vizsgált építőipari mintatípusokban a rákkeltő Cr(VI)-mennyisége. Ebből az a következtetés vonható le, hogy nem kell attól tartanunk, hogy esőzések, illetve belvíz hatására veszélyes mennyiségű Cr(VI) oldódna ki az építőipari alapanyagokból, és dúsulna fel a talajban.

### 3.2 Cr(III) átalakulásának követése kenyér piritása során

Első lépésben a kenyérben és a lisztben lévő krómtartalmat határoztuk meg GFAAS módszerrel. A mérési eredményeket a 4. táblázat tartalmazza. Azt tapasztaltuk, hogy a lisztben és az abból készült kenyérben (búzaliszt, kukoricaliszt) közel azonos a krómtartalom. Méréseink bebizonyították, hogy a kenyér krómtartalma döntően a lisztből származik, ezért továbbiakban a kísérletekhez különféle típusú liszteket használtunk.

4. táblázat. Gabonaőrlemények és kenyér krómtartalma

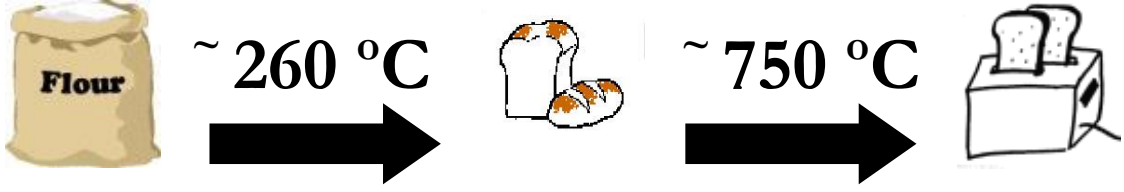
Minta	Minta adatai*	Krómtartalom µg/100 g minta
Durum simaliszt	MÉ-2-61/1/10	9,22
Búzakorpa	MÉ-2-61/1/8	3,29
Kukoricaliszt	MÉ-2-61/4/1	3,28
Búzaliszt	BL 55	2,66
Búzadara	MÉ-2-61/1/4	0,89
Graham kenyér	-	5,41
Nánási rozskenyér	-	3,11
Félbarna kenyér	-	2,32

\*Azonosító szám: Magyar Élelmiszerkönyv

Izzító tégelyekbe 0,5 g durum lisztet és rendre 0; 0,5; 1; 5 mL 5 µg/L Cr(III) oldatot adagoltunk. Ezek után a mintákat programozott felfűtési izzítókemencébe helyeztük. A hőmérsékletet 50 °C/ 30 perces felfűtési lépcsőkkel 800° C-ra emeltük. A minták lehűlése során zöldes elszíneződést tapasztaltunk. A minták Cr(VI) tartalmát forró ioncserélt vízzel oldottuk ki, 10mL-re hígítottuk és GFAAS módszerrel mértük. Eredményként azt kaptuk, hogy nem volt számottevő mennyiségben króm az oldatban. A liszt szervesanyag-tartalma hevítés során nem kedvez a Cr(III) →Cr(VI) átalakulásának. A keletkezett zöld termék valószínűleg Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

E feltevés igazolására derivatográfiai kísérleteket végeztünk. 0,5 g mintát egyenletesen 900°C-ig hevítettünk. A kísérletet és az észlelt átalakulásokat az 5. táblázat szemlélteti. A búzaliszt esetében a felfűtés után a tégely szinte teljesen üres maradt, a szervesanyag-tartalom eltávozott a rendszerből. Derivatográfiai mérést végeztünk szilárd Cr(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> x9H<sub>2</sub>O, Cr(CH<sub>3</sub>COO)<sub>3</sub> és K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> vegyületekkel, melynek derivatogramjai meggyeznek az irodalmi adatokkal.[10] A Cr(CH<sub>3</sub>COO)<sub>3</sub> és K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 1:1 arányú keveréke hasonlóan viselkedett, mint a két vegyület külön-külön. A derivatogram alapján a Cr(III) és Cr(VI) aránya nem változott. Ezek után a krómvegyületek és liszt 1:1 arányú keverékét hevítettük. A Cr(III) vegyületek esetén zöld színű Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> termék maradt vissza a tégelyben, ugyanúgy mint a Cr(VI)-liszt elegyéből. A keletkezett termékekre 250 mL forró ioncserélt vizet öntöttünk, melyben a csapadék leülepedett és a tisztájából FAAS módszerrel határoztuk meg a krómot. Az oldatokban nem volt kimutatható króm. Ez azzal magyarázható, hogy a liszt redukzív környezetet biztosít a Cr(VI) számára és az Cr(III)-á redukálódik. [11]

**5. táblázat.** A lisztben található króm és a liszt és krómvegyületek 1:1 arányú keverékében hőkezelés során észlelt átalakulások modellezése

		
Liszt eredeti krómtartalma (Cr) + a hozzáadott krómvegyület	Sütés hőmérsékletén bekövetkezett változás/a mintában található krómforma	Pirítás hőmérsékletén a mintában található krómforma
Cr	Nincs változás/ Cr(III)	Cr(III)
Cr + Cr(III) (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Nincs változás/ Cr(III)	Cr(III)
Cr + Cr(VI) (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	Nincs változás/ Cr(III)+Cr(VI)	Cr(III) (Cr(VI) átalakulás Cr(III)-má)

Vizsgálataink azt mutatják, hogy kenyér pirítása során nem kell számolnunk toxikus krómvegyület keletkezésével.

## IRODALOMJEGYZÉK

- [1.] Pál, K. *Króm a környezetben*, OMIK, Környezetvédelmi füzetek 2000.
- [2.] Mertz, W. *Contemp. Nutr.*, 1982, 9, 2-18.
- [3.] Caroli, S. *Element Speciation in Bioinorganic Chemistry*, Wiley: New York 1996.
- [4.] A.Syty, R.G. Christensen,, T.C. Rains: *J. Anal. At. Spectrom.*, 3, 193, 1988
- [5.] Rollinson, C.L., Bailar, J.C., Emelens, H.J., Nyholm, R., Trotman-Dickensen, A.F. *Comprehensive Inorganic Chemistry*, Pergamon: New York 1973.
- [6.] Cs. Sógor, A. Gáspár, J. Posta. *Microchem. J.*, 58, 1998, 251-255.
- [7.] Gáspár A., Posta J.: *Magyar. Kémiai Folyóirat*, 104, 1998, 153-164
- [8.] Balázs, G. *Építőanyagok és kémia*, Műegyetemi kiadó: Budapest 1994.
- [9.] Béni, Á., Karosi, R., Posta, J. *Microchem. J.*, 85, 2007, 103-108.
- [10.] Liptay G., *Atlas of thermochemical curves*, Akadémiai kiadó, Budapest 1976
- [11.] Kovács R., Béni Á., Karosi R., Sógor Cs., Posta J. *Food Chem.*, 105, 2007, 1209-1213