



**CYCLOLAB**  
Cyclodextrin Research & Development Laboratory Ltd.  
Mail address: Budapest, P.O.Box 435, H-1525 Hungary  
Location: Illatos út 7., Budapest, H-1097-Hungary  
TEL: (361) 347-60-60 or -70, FAX: (361) 347-60-68  
E-mail: cyclolab@cyclolab.hu  
Homepage: www.cyclolab.hu



# **A CIKLODEXTRINES EXTRAKCIÓ ÉS AZ OLDÓSZERES EXTRAKCIÓ ÖSSZEHASONLÍTÁSA DÍZELOLAJVAL ÉS PAKURÁVAL SZENNYEZETT TALAJOK ESETÉN**

**NKFP-3/020/2005**


**MOKKA**

**II/4.-6**

*Készítették:* Balogh Klára, Dr. Fenyvesi Éva

*Ellenőrizte:* Dr. Szenté Lajos

2007. szeptember 22.

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 2 of 27

## II/4. feladat 6.1 részfeladata A biológiai hozzáférhetőség

### Fejlesztés: új kémiai módszer (extrakció vizes ciklodextrin oldattal) a biológiai hozzáférhetőség jellemzésére


#### Tartalom

<b>Rövid összefoglalás</b> .....	<b>2</b>
<b>Bevezetés</b> .....	<b>3</b>
<b>Anyagok és módszerek</b> .....	<b>4</b>
Ciklodextrinek.....	4
Talajok .....	4
Összes extrahálható szénhidrogéntartalom meghatározása .....	5
Szennyezett talaj extrakciója ciklodextrin oldatokkal .....	5
Kromatográfiás körülmények .....	5
Biodegradációs tesztek.....	6
<b>Eredmények és értékelés</b> .....	<b>7</b>
Dízelolajjal frissen szennyezett talajok extrakciója .....	7
Dízelolajjal régóta szennyezett talajok extrakciója.....	14
Pakurával frissen szennyezett talajok extrakciója.....	19
Pakurával régóta szennyezett talajok extrakciója .....	23

#### Rövid összefoglalás

Kétféle ciklodextrint alkalmaztunk: az irodalomból ismert HPBCD-t és a random metilezett  $\beta$ CD-t (RAMEB-et) kétféle szennyezőanyag (a könnyen bontható dízel olaj és a nehezen biodegradálódó pakura) extrakciójára szennyezett talajokból. Mindkét szennyezőanyaggal frissen szennyeztünk talajt és összehasonlítottuk régebben (dízelolaj esetén három hónappal korábban, pakura esetén évekkel korábban) szennyezett talajokkal. Vizsgáltuk mind a 4 talaj esetén a BME kutatócsoportjában végzett biodegradációs kezelések hatását.

Eredményeink szerint a kimerítő extrakcióhoz képest (hexán-aceton 2:1) jelentősen kevesebb szennyezőanyagot extrahálunk a vizes RAMEB oldattal, és még kevesebbet a HPBCD oldattal. Az extrahált szennyezőanyag mennyisége függ a szennyezőanyag minőségétől és a szennyeződés korától. Ha egyértelműen nem is feleltethető meg a biodegradálható frakció és a ciklodextrinnel extrahálható frakció, összehasonlításra alkalmas. A jobban hozzáférhető, könnyebben biodegradálható komponensek extrahálódnak inkább, amikor vizes ciklodextrin oldatokat, különösen amikor vizes HPBCD oldatot alkalmazunk, ezért a ciklodextrines extrakció jobban mutatja a biodegradációs kezelés hatásait: a kisebb mólsúlyú komponensek fogyását, a nagyobbak mobilizálódását, dúsulását. Emiatt a módszer alkalmazható a biodegradáció követésére, megindulásának jelzésére.

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 3 of 27

## Bevezetés

Az irodalomban számos cikkben leírták, hogy hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin (HPBCD) vizes oldatával végzett extrakció alapján becsülhető a mikrobiális hozzáférhetőség, jól korrelál a biodegradálható frakció és az extrahálható frakció mennyisége, sőt ennek alapján becslés tehető arra vonatkozóan is, mennyi a biodegradáció utáni maradék koncentráció. Számos példában igazolódott a módszer alkalmazhatósága, elsősorban PAH-vegyületek és PCB-származékok esetén.

Nem volt kielégítő a korreláció akkor, ha a PAH vagy PCB vegyületek mellett más szennyezőanyagok, pl. dízelolaj, transzformátorolaj is jelen voltak, mert ezek egyrészt versenyezhetnek a ciklodextrin üregért különösen nagyobb koncentrációknál ezzel csökkentve a HPBCD oldatos extrakció határfokát, másrészt segédoldószerként csökkenthetik a szorpciót a talajon, emiatt valójában nő a PAH és PCB hozzáférhetősége és lebomlásuk sebessége. A hatás függ a koncentrációtól.


Az I. munkaszakaszban áttekintettük az irodalmat (MOKKA tanulmány CycloLab II.1.1.), megfogalmaztuk a kérdéseket, melyekre kísérleteinkkel választ kerestünk:

Hogyan befolyásolják az extrakció körülményei (idő, a fázisok érintkeztetésének intenzitása: rázatás, kevertetés, hőmérséklet, nyomás) az extrakció határfokát?

Van-e korreláció a biodegradálhatósági tesztek eredménye és az extrahálhatóság között?

Hogyan függ a szennyezőanyag minőségétől, a szennyeződés korától az extrakció hatékonysága?

Az első két kérdésre a Lokális kockázatfelmérési módszerek kifejlesztése című GVOP pályázatban adtuk meg a választ pakurával régóta szennyezett területről származó talajjal végezve a vizsgálatokat. A MOKKA pályázatban a harmadik kérdésre próbáltunk választ adni, amikor különféle keverék-szennyezőanyagokkal (a könnyebben bontható dízelolajjal és a nehezen biodegradálódó pakurával) frissen és régóta szennyezett talajokat tanulmányoztunk.

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 4 of 27

Összehasonlítottunk kétféle ciklodextrint: az irodalomból ismert HPBCD-t és a random metilezett  $\beta$ CD-t (RAMEB-et). Az eredményeket összevetettük a biodegradációs tesztek eredményeivel.

### **Anyagok és módszerek**

A talajok szennyezéséhez felhasznált *dízelolaj* MOL termék, míg a *pakura* a pestszentlőrinci pakuratavak fenékiszapjából származik.

A vegyszerek analitikai tisztaságúak ( Reanal, Merck )

#### ***Ciklodextrinek***

RAMEB (random metilezett  $\beta$ -ciklodextrin) (Wacker Chemie, München, Németország)

HPBCD (hidroxipropil- $\beta$ -ciklodextrin) (CycloLab Kft, Budapest)

Mindkét ciklodextrin-származék technikai minőségű.

#### ***Talajok***

##### ❖ Kontroll erdőtalaj III.

Budai hegységből származó Raman-féle barna erdő talaj, mely az USA Talajtani Szolgálat által kidolgozott textúraminősítés szerint: iszapos vályogtalaj


##### ❖ Dízelolajjal szennyezett erdőtalaj

Az erdőtalajt magunk szennyeztük kb. 30 000 mg\*kg<sup>-1</sup> dízelolajjal. Egy két hónappal ezelőtt és egy frissen szennyezett mintát hasonlítottunk össze.

- Régi: kb. 3 hónapos mesterséges szennyezés (30 000 mg\*kg<sup>-1</sup>)
- Friss: frissen, a felhasználás előtt 1 héttel készült mesterséges szennyezés (30 000 mg\*kg<sup>-1</sup>)

##### ❖ Pakurával szennyezett talaj

- Régi: északi depóniából származó, több évtizedes folyamatos szennyezésnek kitett talaj

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 5 of 27

- Friss: frissen, a felhasználás előtt 1 héttel végzett mesterséges szennyezés erdőtalajjal ( 30 000 mg\*kg<sup>-1</sup>)

### ***Összes extrahálható szénhidrogéntartalom meghatározása***

Az összes extrahálható szénhidrogéntartalmat (EPH) a MSZ 21470-94:2001számú magyar szabvány szerint határoztuk meg a következőképpen: 5-5 g talajmintát 2x10 ml hexán-aceton (2:1) eleggyel ultrahangos fürdőben 10-10 percig extraháltunk, az extraktumot egy éjszakán át üleptítettük, majd gázkromatográfiásan vizsgáltuk. Az extraktumból 4 ml-t levegőn beszárítottuk, majd az extrakttartalmat gravimetriásan mértük (SEM, solvent extractable material).

### ***Szennyezett talaj extrakciója ciklodextrin oldatokkal***

3 g talajmintát 50 ml vizes ciklodextrin oldattal (10% RAMEB, 10% HPBCD) 2 órán át ultrahangos fürdőben extraháltunk. Az extrakció után a lecentrifugált extraktum 40 ml-ét, aminek pH-ját 100 µl 6 N HCl hozzáadásával 2-re állítottuk be, szilárd fázisú extrakcióval vízmentesítettük. A szilárd fázisú extrakcióhoz Isolute TPH jelű adszorbenst (International Sorbent Technology) használtunk. Az oszlopot 2 ml metanollal majd 2 ml 1 N HCl oldattal kondicionáltuk, majd 40 ml vizes fázist vittünk fel rá. Ezután 30 percig vákuumban szárítottuk az adszorbenst, majd 2 ml hexán-aceton (2:1) eleggyel mostuk le az adszorbeálódott anyagot. A kapott oldatotokat nitrogénnel (30-35°C) kb. 1 ml-re lefűvattuk. A bekonzentrált oldatot 2 ml-es mérőlombikba átmostuk, hexán-aceton (2:1) eleggyel jelre állítottuk, gázkromatográfiásan vizsgáltuk.

### ***Kromatográfiás körülmények***

Gázkromatográf:	Shimadzu GC-17A
Detektor:	Lángionizációs detektor (FID)
Injektor:	Shimadzu AOC-5000 automata injektor

### **Gázok:**

Vivőgáz:	Hélium (99,999 %)
Segédgázok:	Nitrogén (99,999%)
	Szintetikus levegő (99,999%)



A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén

Report No: CYL II.4.6

Compiled by: E.Fenyvesi

File: CYLII36

Date: 2007.08.22.

Page : 6 of 27

Hidrogén (Whatman Hidrogén generátorból)

*Oszlop:*

BP1 (13m x 0,2mm x 0,11 $\mu$ m)

*Hőfokprogram:*

A kolonnát 50°C-on tartjuk 3 percig, majd 315°C-ra fűtjük 10°C/min-es felfűtési sebességgel, ezen a hőmérsékleten tartjuk 12 percig.

*Injektor hőmérséklete:* 325°C

*Detektor hőmérséklete:* 325°C

*Injektálási mód:* Splitless, 0,5 min


*Injektált térfogat:* 2  $\mu$ l

*Lineáris áramlási sebesség:* 14 cm/sec

Kalibráció: Mind a dízelolajjal, mind a pakurával szennyezett talajok vizsgálatára dízelolaj hexános oldataival készített kalibrációs egyenest használtunk.

### ***Biodegradációs tesztek***

A biodegradációs tesztek a BME kutatócsoportja végezte. Kétféle tesztre került sor: 1.) A talajmintákban bekövetkezett légzésintenzitás változások mérésére fejlesztették ki a **zárt palack tesztet**. A vizsgálat a talaj feletti légnyomás mérésével a mintában lévő élő mikroorganizmusok aerob légzése során felhasznált oxigén fogyását követi nyomon, a kilélegzett szén-dioxid elnyelése közben. 2.) A talajlégzés mérésére **levegőztethető reaktort** is használtak. Ebben a kb. 1 l térfogatú oszlopreaktorban helyeztük el a talajt, melyen levegőt szivattunk keresztül. A keletkezett CO<sub>2</sub>-ot lúgban elnyeljük, és ennek mennyiségét titrálással határoztuk meg.

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 7 of 27

## Eredmények és értékelés

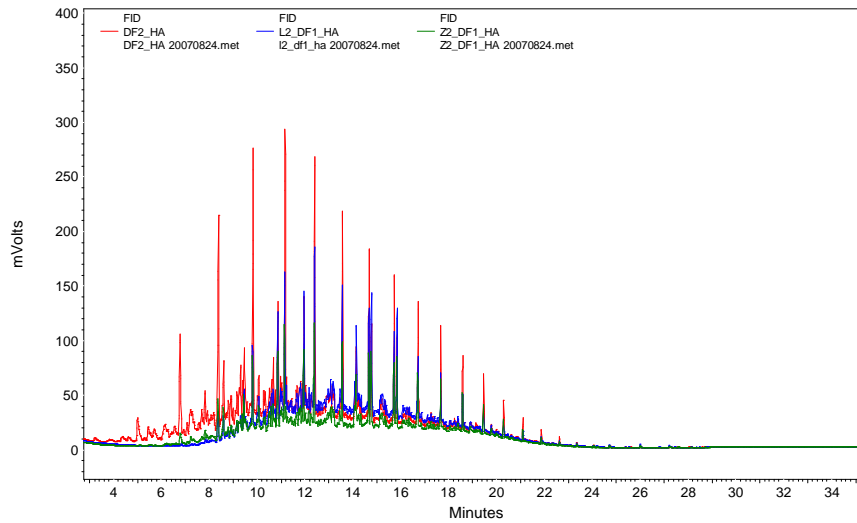
Dízelolajjal régóta és frissen szennyezett (DR és DF), és pakurával régóta és frissen szennyezett (PR és PF) talajokat vizsgáltunk a biodegradációs kísérletek előtt (BIOE) és a levegőztetett oszlopreaktoros kísérlet (L) valamint a zárt palack teszt (Z) után hexán-acetonos (2:1), vizes RAMEB és HPBCD-oldatos extrakcióval. A kapott extraktumok jelölését az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat A talajextraktumok jelölése

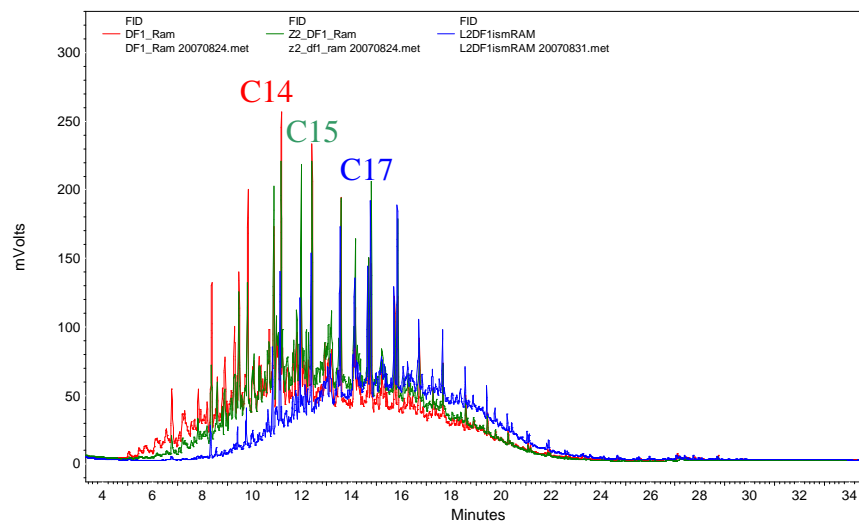
	Dízelolaj régi szennyezés	Dízelolaj friss szennyezés	Pakura régi szennyezés	Pakura friss szennyezés
Biodegradációs kísérletek előtt	BIOEDRHA BIOEDRRA BIOEDRHP	BIOEDFHA BIOEDFRA BIOEDFHP	BIOEPRHA BIOEPRRA BIOEPRHP	BIOEPFHA BIOEPFRA BIOEPFHP
Levegőztetett oszlopreaktoros kísérlet után	LDRHA LDRRA LDRHP	LDFHA LDFRA LDFHP	LPRHA LPRRA LPRHP	LPFHA LPFRA LPFHP
Zárt palack teszt után	ZDRHA ZDRRA ZDRHP	ZDFHA ZDFRA ZDFHP	ZPRHA ZPRRA ZPRHP	ZPFHA ZPFRA ZPFHP

### *Dízelolajjal frissen szennyezett talajok extrakciója*

Az extrakciókat elvégeztük hexán-aceton (2:1) eleggyel, 10%-os vizes RAMEB és HPBCD-oldattal is a biodegradációs tesztek előtt és után. Az 1.-3. ábra mutatja az extraktumok kromatogramjait. A teszt előtt a hexán-aceton (2:1) eleggyel kapott extraktum kromatogramja a dízelolaj tipikus csúcseloszlását mutatja. RAMEB esetén hasonló a kromatogram, de kisebb a csúcsok magassága. A HPBCD extraktumok kromatogramja sokkal szűkebb mólusúlytartományban tartalmaz komponenseket, nem látszanak az alkán-homológok jellegzetes csúcsai.



1. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) hexán-aceton (2:1) eleggyel extrahálva

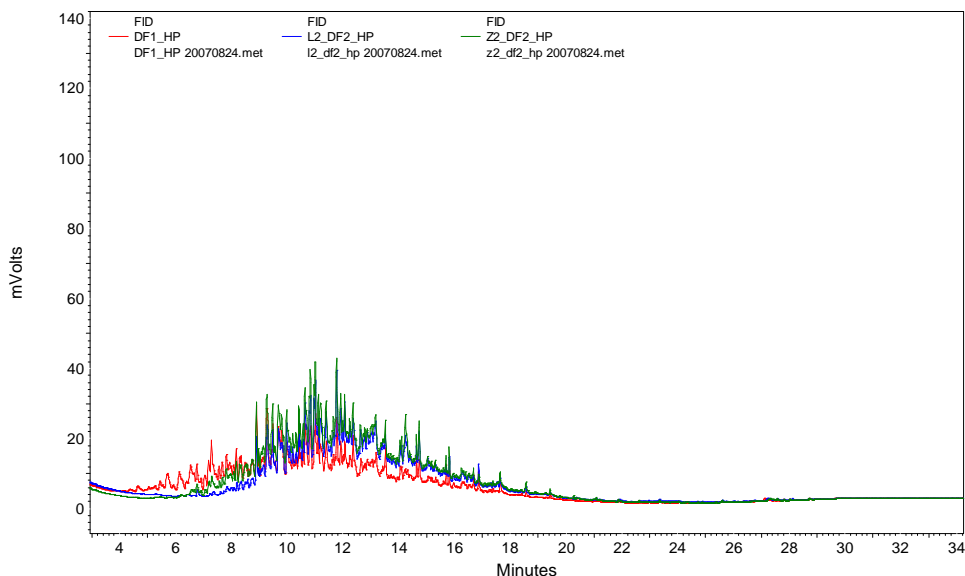


2. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os vizes RAMEB-oldattal extrahálva

Mindhárom extrahálószer használatakor jól látszik, hogy a kis móltömegű komponensek aránya csökken a biodegradációs kezelések hatására. A ciklodextrines extraktumokban a nagyobb mólsúlyú komponensek feldúsulását figyelhetjük meg. Különösen a RAMEB-



oldatos extraktumok esetén észrevehető, hogy a friss dízelolajra jellemző maximum (C14) eltolódik zárt palack teszt esetén C15-re, levegőztetés után pedig C17-re.



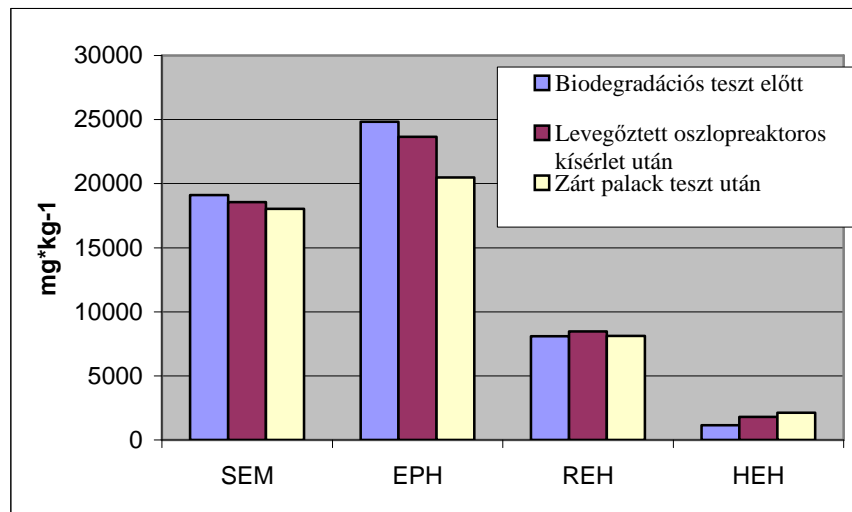
3. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os vizes HPBCD-oldattal extrahálva

A kromatogramok alapján számított összes extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (extractable petroleum hydrocarbon content, EPH), a RAMEB-oldattal és HPBCD-oldattal extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (REH és HEH) értékeket soroltuk fel a 2. táblázatban kiegészítve a hexán-aceton (2:1) eleggyel nyert extraktumból gravimetriásan meghatározott SEM (solvent extractable material) értékével.

2. táblázat A biodegradációs tesztek hatása a különféle extraktumok szénhidrogén-tartalmára (mg/kg)

	SEM	EPH	REH	HEH
Biodegradációs teszt előtt	19106	24835	8098	1157
Levegőztett oszlopreaktoros kísérlet után	18566	23654	8475	1791
Zárt palack teszt után	18031	20476	8120	2112

A 2. táblázat adatait a 4. ábrán szemléltetjük.

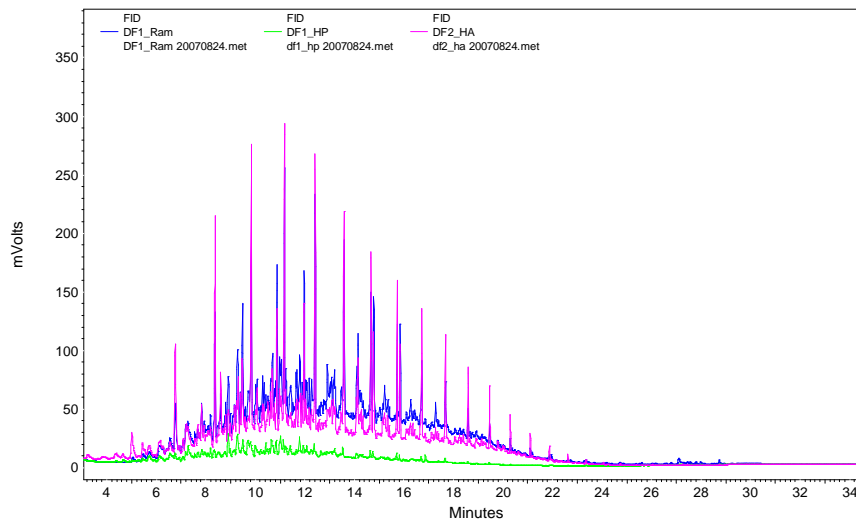


4. ábra A különböző extrahálószeres hatékonyságának összehasonlítása dízelolajjal frissen szennyezett talajok esetén a biodegradációs tesztek előtt és után

Megállapíthatjuk, hogy az extrahálószeres hatásfokának sorrendje:

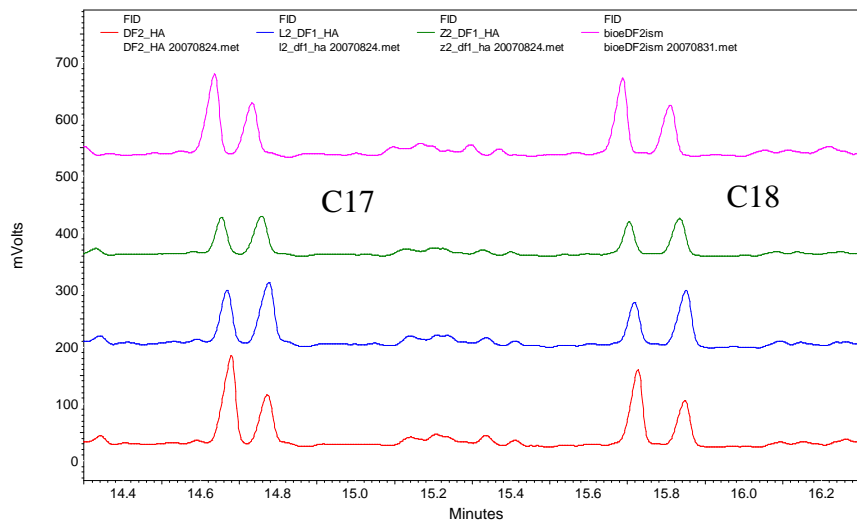
hexán-aceton (2:1) >10%-os RAMEB-oldat > 10%-os HPBCD-oldat.

Ezt illusztrálják az 5. ábra kromatogramjai is.



5. ábra A különböző extrahálószeres hatékonyságának összehasonlítása dízelolajjal frissen szennyezett talajok esetén a biodegradációs tesztek előtt: hexán-aceton (2:1) (lila), 10%-os RAMEB-oldat (kék), 10%-os HPBCD-oldat (zöld) (a ciklodextrin-oldatos extraktumokat az oldószeres extraktumhoz képest 7-szeres töménységben vittük fel az oszlopra)

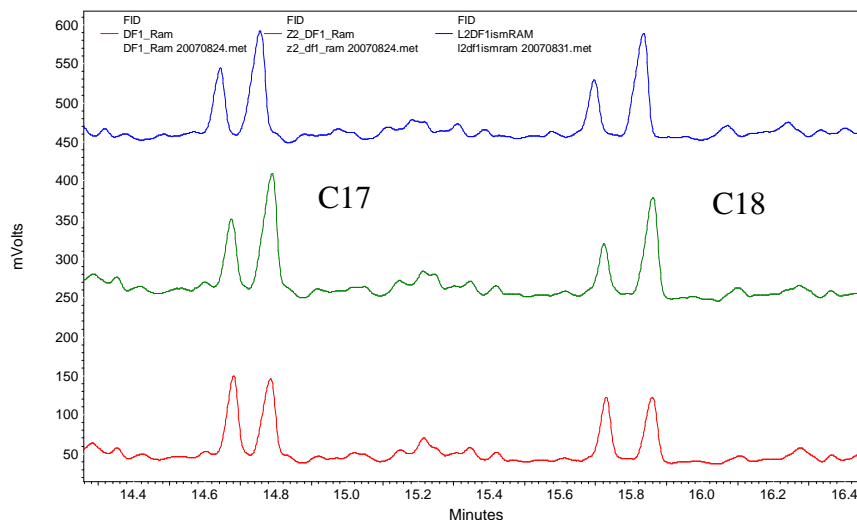
A biodegradáció egyik indikátora a C17/prisztán és C18/fitán arány (az azonos C-atomszámú lineáris és elágazó láncú szénhidrogének aránya), amely csökken a biodegradáció előrehaladtával, mivel a lineáris láncúak könnyebben bonthatóak. A 6. és 7. ábrán példaképpen kinagyítottuk a kromatogram 14-16 perc közötti részletét.



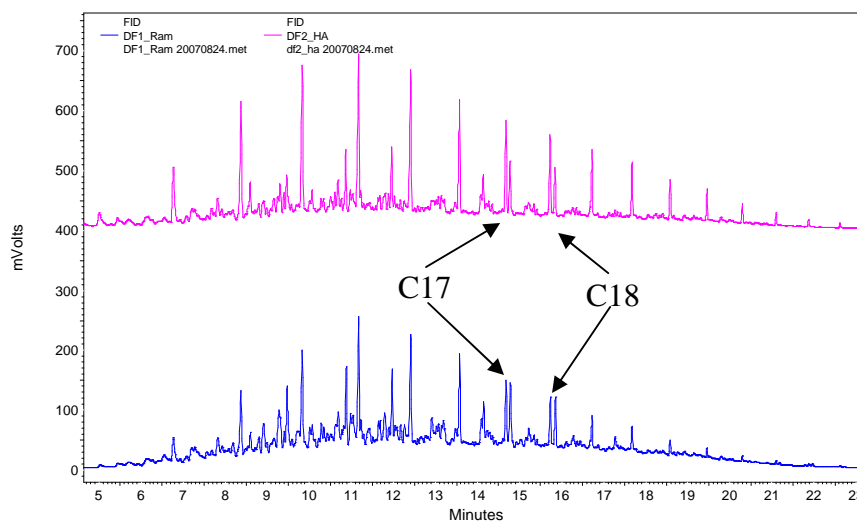
6. ábra A lineáris és elágazó láncú szénhidrogének csúcsarányainak változása a biodegradáció előtt (piros és lila görbék), levegőztetés (kék) és zárt palack teszt után (zöld) hexán-aceton (2:1) eleggyel végezve az extrakciót

Jól látható, hogy a csúcsok aránya megfordul: a biodegradációs kísérletek előtt az előbb eluálódó lineáris láncúak csúcsa nagyobb, mint elágazó párjuké, a kísérlet után pedig fordított a helyzet.

Érdekes megfigyelni, hogy a kétféle extrahálószerben nem azonos a lineáris/elágazó arány. Úgy tűnik, a RAMEB nagyobb affinitású az elágazó láncú szénhidrogénekkel szemben. Ez jól látszik a 8. ábra kromatogramjain.




7. ábra A lineáris és elágazó láncú szénhidrogének csúcsarányainak változása a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os RAMEB-oldattal végezve az extrakciót



8. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talajok extraktumainak összehasonlítása a biodegradációs tesztek előtt: hexán-aceton (2:1) (lila), 10%-os RAMEB-oldat (kék)

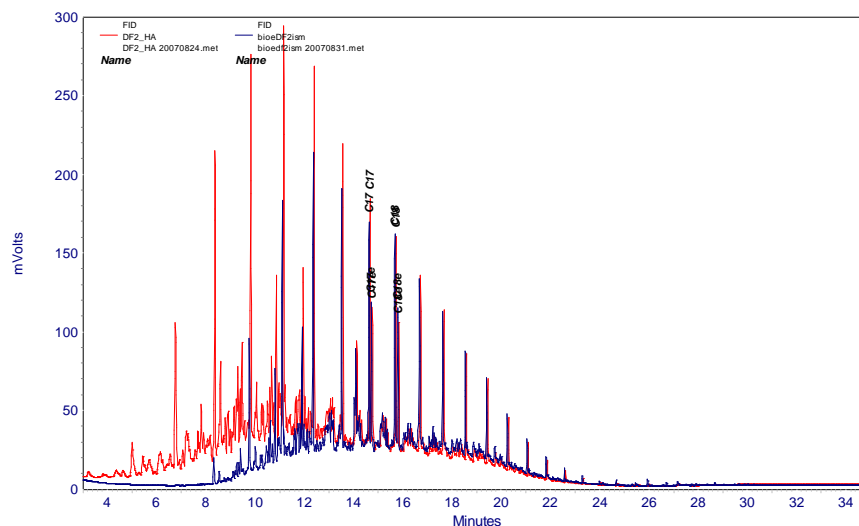
A C17/prisztán és C18/fitán csúcsok területének arányát a biodegradációs tesztek előtt és után a 3. táblázatban tüntetjük fel.

	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 13 of 27

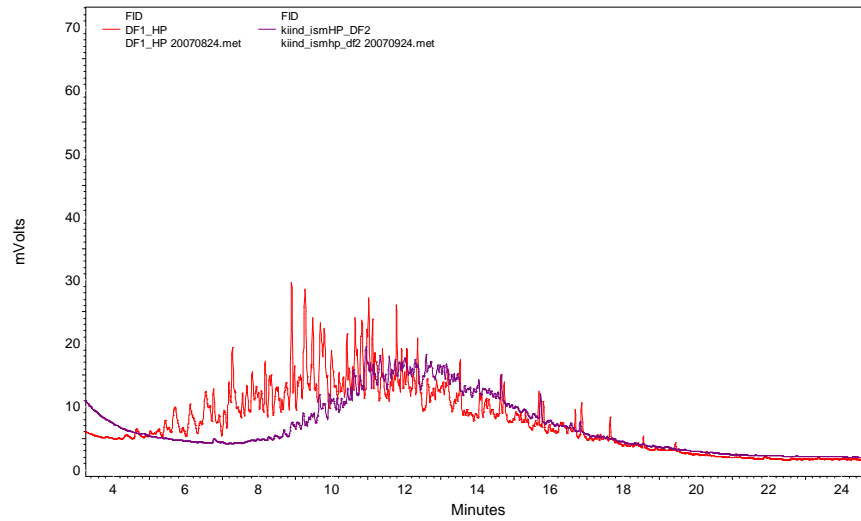
3. táblázat A C17/prisztán és C18/fitán arány változása a biodegradációs kezelések hatására a különböző extrahálószerrel nyert extraktumok kromatogramjai alapján dízelolajjal frissen szennyezett talaj esetén

	hexán-aceton		RAMEB		HPBCD	
	C17/prisztán	C18/fitán	C17/prisztán	C18/fitán	C17/prisztán	C18/fitán
Biodegradációs teszt előtt	1,165	1,369	0,774	0,987	0,786	0,865
Levegőztetett oszlopreaktoros kísérlet után	0,695	1,014	0,603	0,899	0,475	0,661
Zárt palack teszt után	0,723	0,923	0,598	0,883	0,591	0,667

Megfigyeltük, hogy a dízelolajjal frissen szennyezett talajban részben abiotikus folyamatok (párolgás), részben a spontán lezajló biodegradáció is hasonló változásokat eredményez, mint a biodegradációs tesztek (9. és 10. ábra), mert az aktiválódott mikroflóra működött a szabad levegőn, szobahőmérsékleten tárolt talajmintákban.



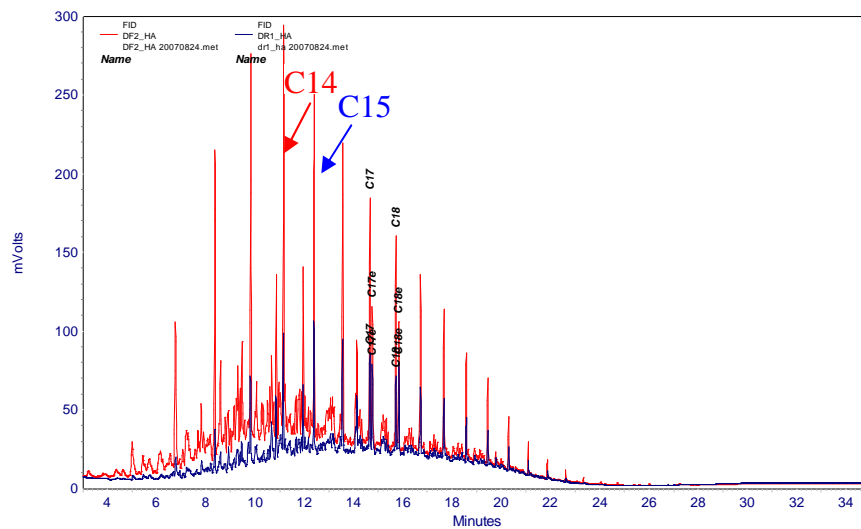
9. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talaj extrakciója hexán-aceton (2:1) eleggyel a szennyezés (2007.07.15.) után 2 nappal (piros) és 6 héttel (kék)



10. ábra Dízelolajjal frissen szennyezett talaj extrakciója 10%-os HPBCD-oldattal a szennyezés után 2 nappal (piros) és 8 héttel (lila)

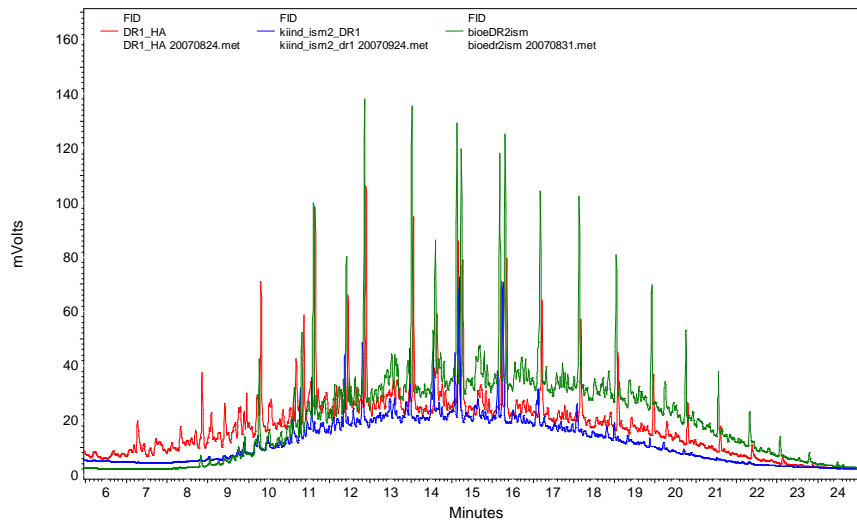
### *Dízelolajjal régóta szennyezett talajok extrakciója*

Egy frissen és egy 3 hónappal korábban szennyezett talajt hasonlítottunk össze (11. ábra).



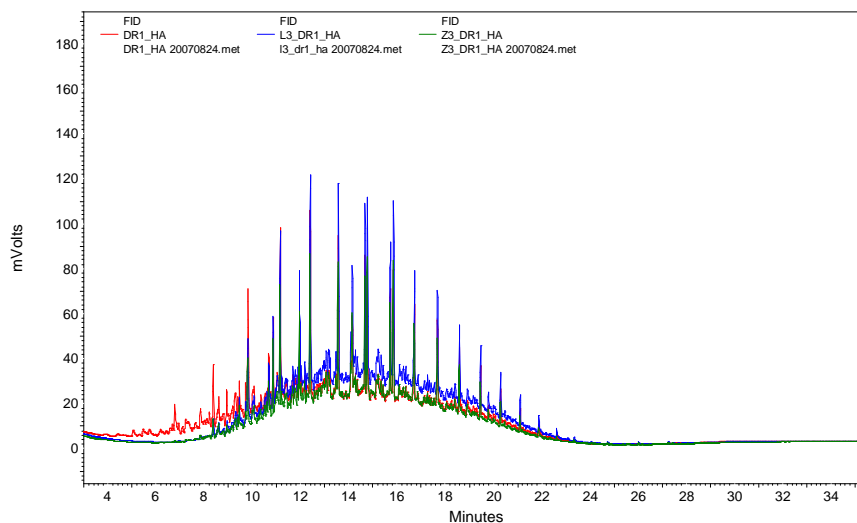
11. ábra Dízelolajjal frissen és régóta (3 hónappal korábban) szennyezett talaj extrakciója hexán-aceton (2:1) eleggyel

A 3 hónap alatt bekövetkezett változások a mikroflóra adaptálódását, a biodegradáció spontán beindulását mutatják (a maximum eltolódása, kis csökkenés a kis C-atomszámú, és dúsulás a nagyobb C-atomszámú komponenseknél), ami tovább folytatódott (12. ábra)

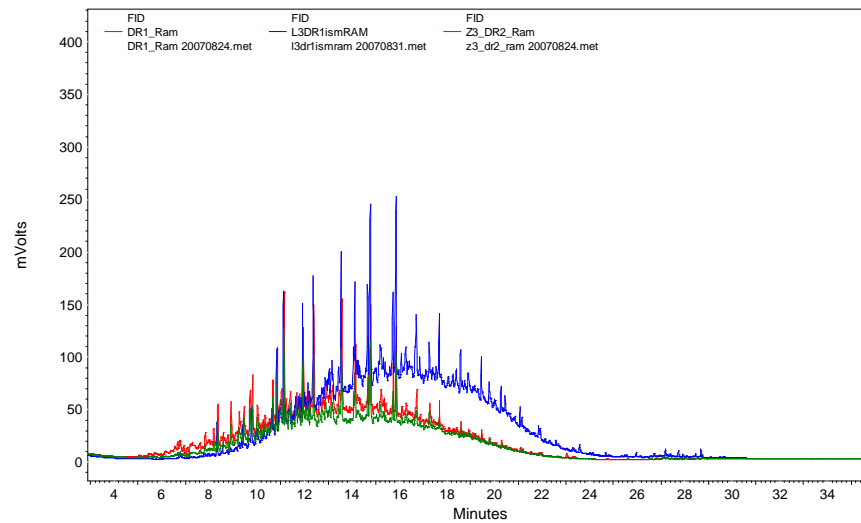


12. ábra Dízelolajjal régen szennyezett talaj extrakciója hexán-aceton (2:1) eleggyel a szennyezés után 3 hónappal (piros), 4,5 hónappal (kék) és 5 hónappal (kék)

A biodegradációs tesztek hatására hasonló változásokat figyeltünk meg, mint a frissen szennyezett talaj esetén (13.-15. ábra)

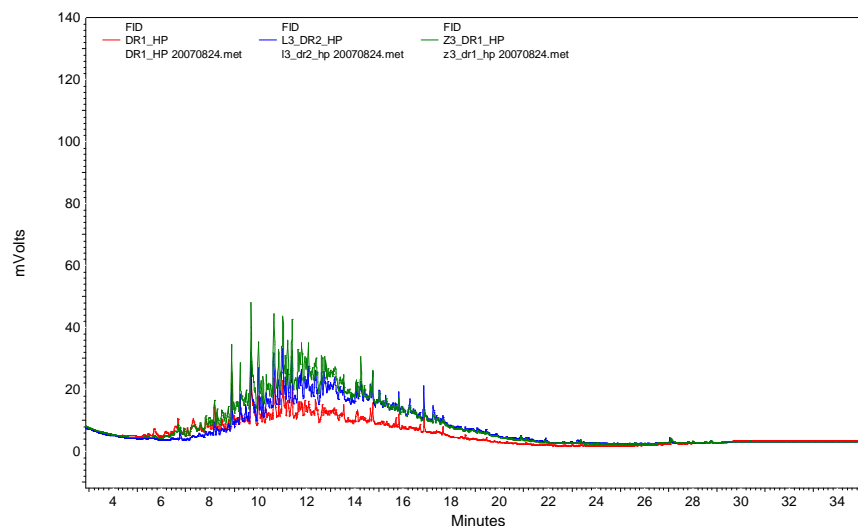


13. ábra Dízelolajjal régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) hexán-aceton (2:1) eleggyel extrahálva



14. ábra Dízelolajjal régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os vizes RAMEB-oldattal extrahálva

Látható a kis C-atomszámúak fogyása, a nagy C-atomszámúak dúsulása a levegőztetés után (a zárt palack teszt után ez nem számottevő). Csak a HPBCD-oldatos extrakció mutatja a zárt palack teszt után is a nagyobb C-atomszámúak dúsulását.



15. ábra Dízelolajjal régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os vizes HPBCD-oldattal extrahálva

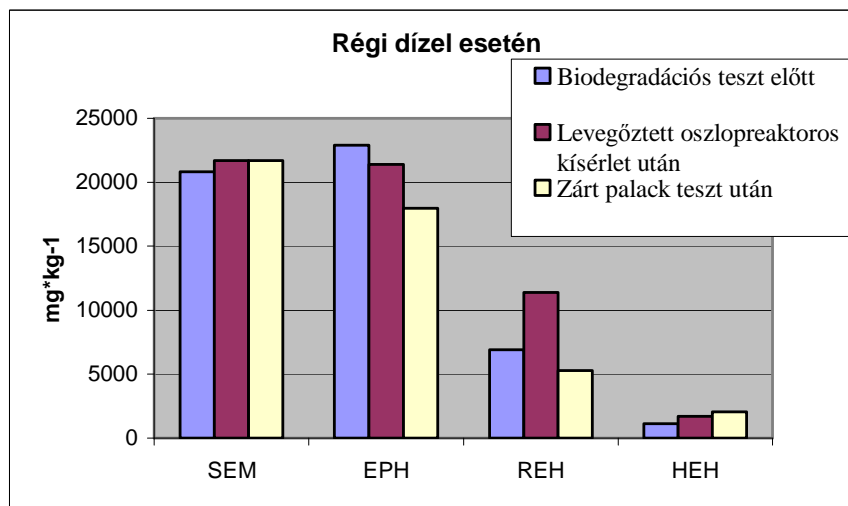


A kromatogramok alapján számított összes extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (EPH), RAMEB-oldattal és HPBCD-oldattal extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (REH és HEH) értékeket soroltuk fel a 4. táblázatban kiegészítve a hexán-aceton (2:1) eleggyel nyert extraktumból gravimetriásan meghatározott SEM (solvent extractable material) értékével.

4. táblázat A biodegradációs tesztek hatása a különféle extraktumok szénhidrogén-tartalmára (mg/kg)

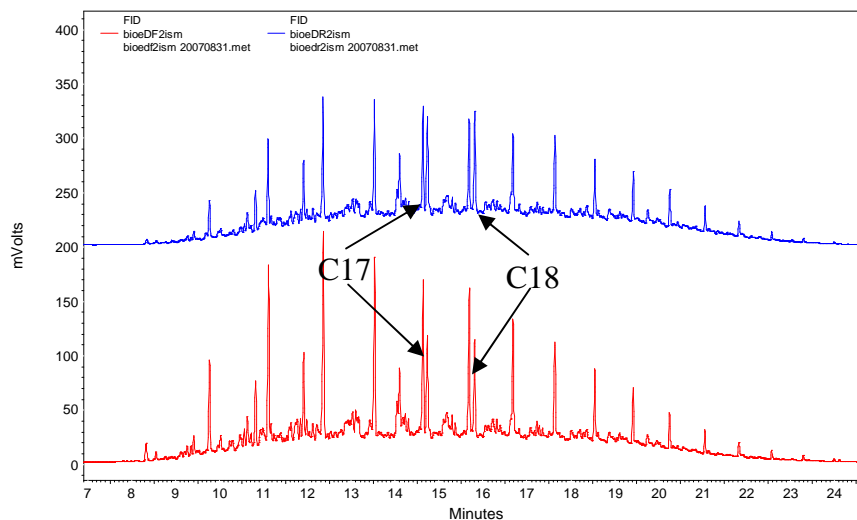
	SEM	EPH	REH	HEH
Biodegradációs teszt előtt	20810	22872	6925	1155
Levegőztett oszlopreaktoros kísérlet után	21681	21399	11386	1735
Zárt palack teszt után	21681	17976	5262	2071

A 4. táblázat adatait a 16. ábrán szemléltetjük.



16. ábra Dízelolajjal régóta szennyezett talajból különböző oldószerrel extrahált szennyezőanyagok mennyisége a biodegradációs tesztek előtt és után

A lineáris és elágazó láncú szénhidrogének aránya már a biodegradációs tesztek előtt kisebb, mint a frissen szennyezett talaj esetén (17. ábra).



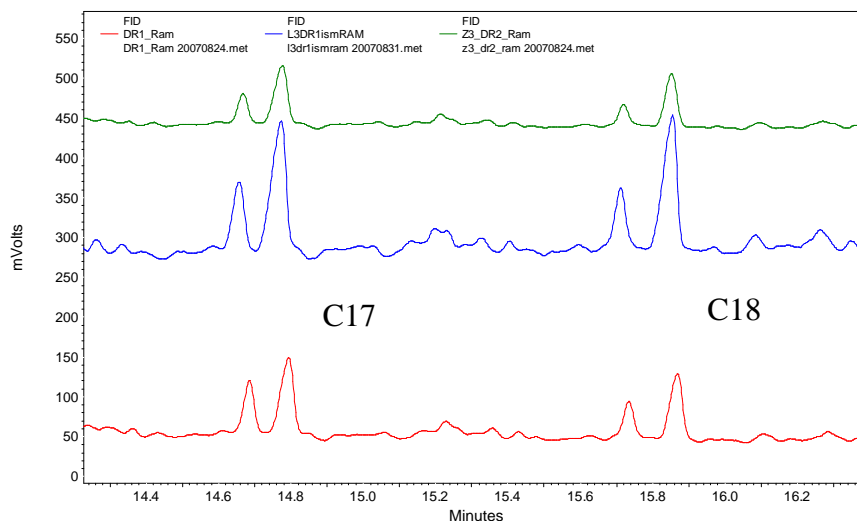
17. ábra Dízelolajjal frissen (piros) és régóta (kék) dízelolajjal szennyezett talaj hexán-aceton (2:1) eleggyel nyert extraktumai

A biodegradációs tesztek kezelése során tovább csökkentek az arányok (5. táblázat).

5. táblázat A C17/prisztán és C18/fitán arány változása a biodegradációs kezelések hatására a különböző extrahálószerrel nyert extraktumok kromatogramjai alapján dízelolajjal régóta szennyezett talaj esetén

	hexán-aceton		RAMEB		HPBCD	
	C17/prisztán	C18/fitán	C17/prisztán	C18/fitán	C17/prisztán	C18/fitán
Biodegradációs teszt előtt	0,719	1,037	0,795	0,797	0,999	0,707
Levegőztett oszlopreaktoros kísérlet után	0,671	0,858	0,566	0,706	0,844	0,679
Zárt palack teszt után	0,643	0,905	0,631	0,748	0,637	0,605

Példaként a RAMEB-oldatos extraktumok kromatogramjait nagyítottuk fel, hogy szemléltessük a biodegradációs tesztek hatására bekövetkező lineáris/elágazó arány változást (18. ábra).

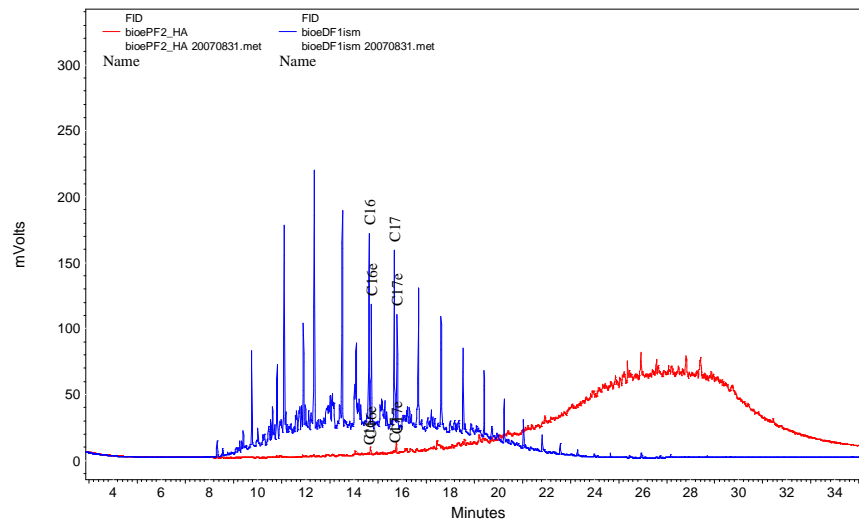


18. ábra A lineáris és elágazó láncú szénhidrogének csúcsarányainak változása a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os RAMEB-oldattal végezve az extrakciót

### ***Pakurával frissen szennyezett talajok extrakciója***

A pakura az ásványolaj feldolgozás során visszamaradó, sötét színű, sűrű folyadék, melyet fűtőértéke miatt régen elterjedten használtak hőenergia-termelő berendezésekben – elsősorban ipari felhasználók – fűtőanyagként. Paraffinokat, ciklikus aromás és nem aromás szénhidrogén-származékokat tartalmaz. Továbbfeldolgozása során vákuumdesztillációval gázolajat, kenőolajat állítanak elő belőle. A lepárlási maradék a bitument és paraffinos kenőolajakat tartalmazó gudron.

Kromatogramját a dízelolajével összehasonlítva látjuk, hogy a pakurában nincsenek meg a dízelolajra jellemző lineáris szénhidrogének csúcsai (19. ábra). A sokféle komponens nem válik el ebben a kromatográfias rendszerben, a burkológörbe kb. a C20-C40 tartományba esik.

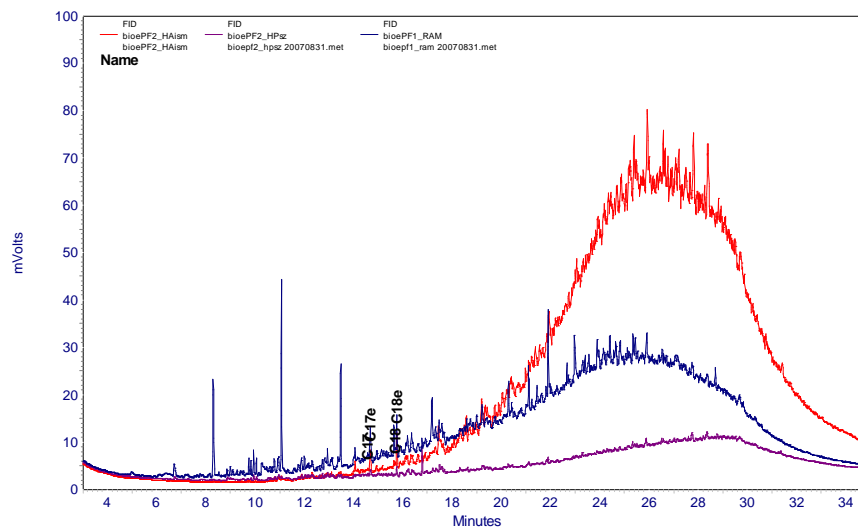


19. ábra A talaj szennyezéséhez használt pakura és a dízel olaj összehasonlítása

A pakurával frissen szennyezett talaj extrakcióját elvégeztük mindhárom extrahálószerrel. Az extrahálószeres hatékonysága ugyanolyan sorrendben változik, mint a dízelolaj esetén:

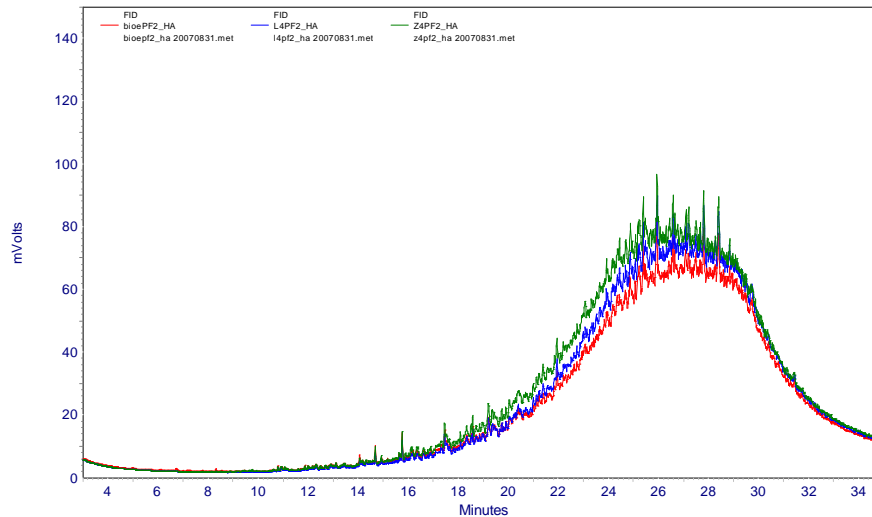
hexán-aceton (2:1) >10%-os RAMEB-oldat > 10%-os HPBCD-oldat.

Példaképpen a biodegradációs kezelések előtti talajok extraktumait hasonlíthatjuk össze a 20. ábrán.



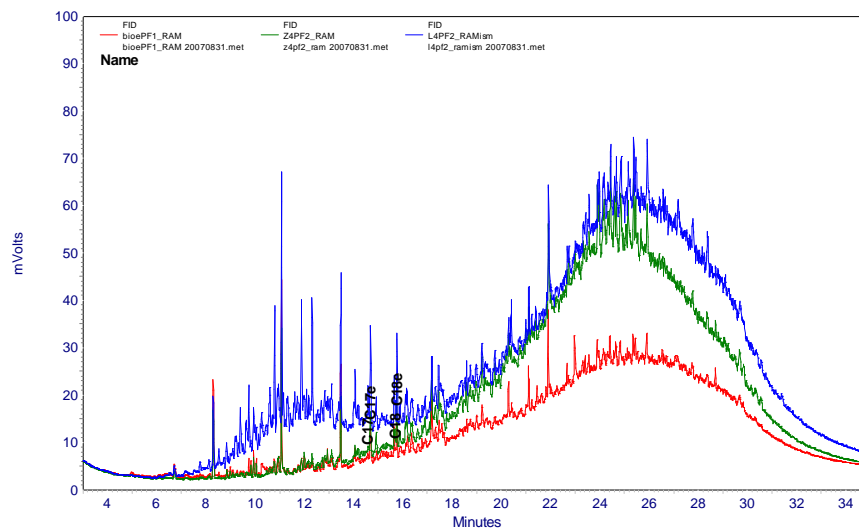
20. ábra Pakurával frissen szennyezett talaj extraktumai hexán-aceton (2:1) (piros), 10%-os RAMEB-oldat (kék) és 10%-os HPBCD-oldat (lila) (a ciklodextrin-oldatos extraktumokat az oldószeres extraktumhoz képest 7-szeres töménységben vittük fel az oszlopra).

A biodegradációs kezelések hatását mutatják a 21.-23. ábra kromatogramjai.

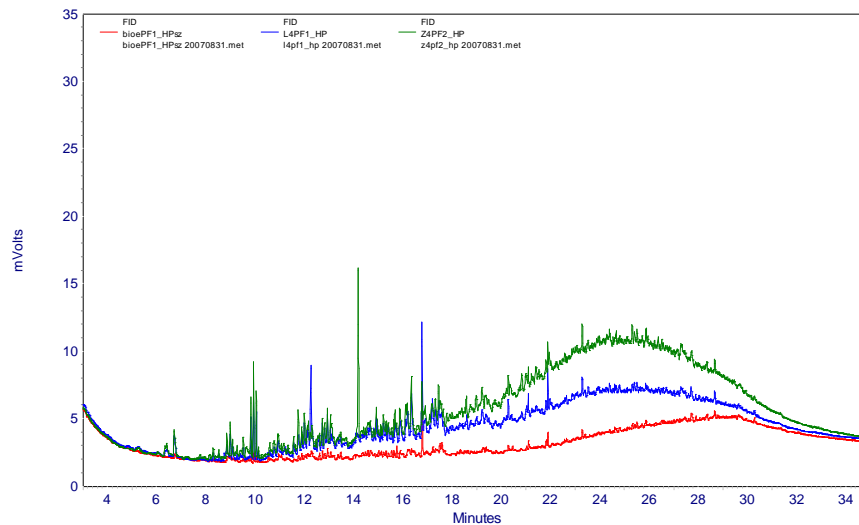


21. ábra Pakurával frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) hexán-aceton (2:1) eleggyel extrahálva

A biodegradációs kezelések után nem csökken, inkább nő a hexán-aceton (2:1) eleggyel és RAMEB-oldattal extrahálható pakura mennyisége, csak a HPBCD-oldatos extraktumok mutatják a várt változást: a C-atomszám eltolódását a kisebbek felé. Valamiféle mobilizálódás következhetett be a kezelések hatására.



22. ábra Pakurával frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os RAMEB-oldattal extrahálva



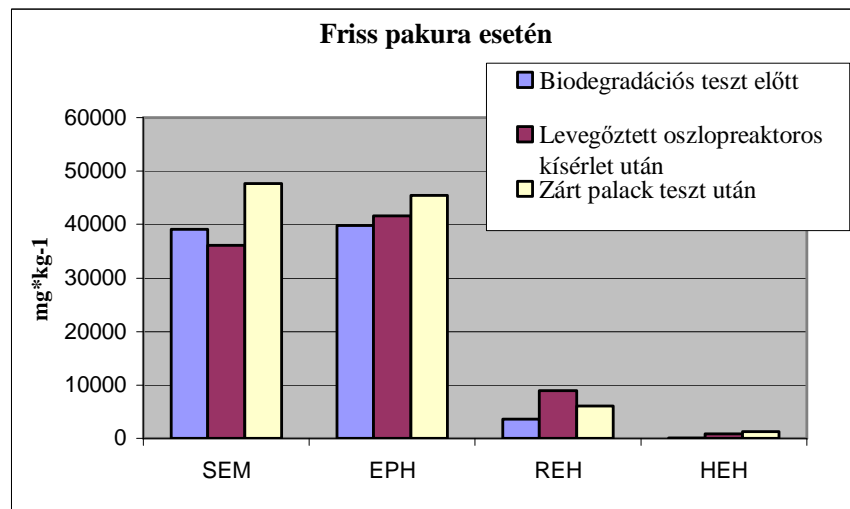
23. ábra Pakurával frissen szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os HPBCD-oldattal extrahálva

A kromatogramok alapján számított összes extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (EPH), RAMEB-oldattal és HPBCD-oldattal extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (REH és HEH) értékeket soroltuk fel a 6. táblázatban kiegészítve a hexán-aceton (2:1) eleggyel nyert extraktumból gravimetriásan meghatározott SEM (solvent extractable material) értékével.

6. táblázat A biodegradációs tesztek hatása a különféle extraktumok szénhidrogén-tartalmára (mg/kg)

	SEM	EPH	REH	HEH
Biodegradációs teszt előtt	39051	39820	3567	100
Levegőztett oszlopreaktoros kísérlet után	36111	41678	8893	798
Zárt palack teszt után	47632	45496	6031	1283

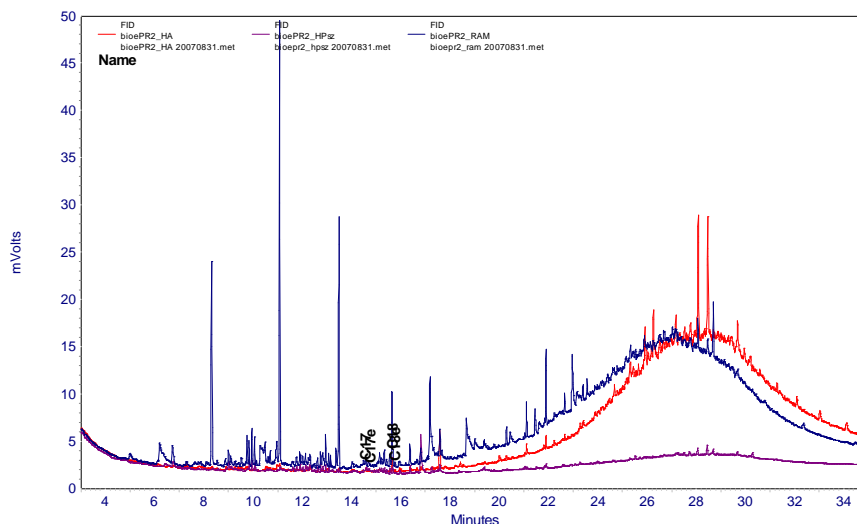
A 6. táblázat adatait a 24. ábrán szemléltetjük.




24. ábra Pakurával frissen szennyezett talajból különböző oldószerekkel extrahált szennyezőanyagok mennyisége a biodegradációs tesztek előtt és után

### *Pakurával régóta szennyezett talajok extrakciója*

A vizsgált talajminta a pestlőrinci pakura-tavak területéről származik, több évtizeden át szennyeződött pakurával. Extraktumainak kromatogramjai a 25. ábrán láthatók.

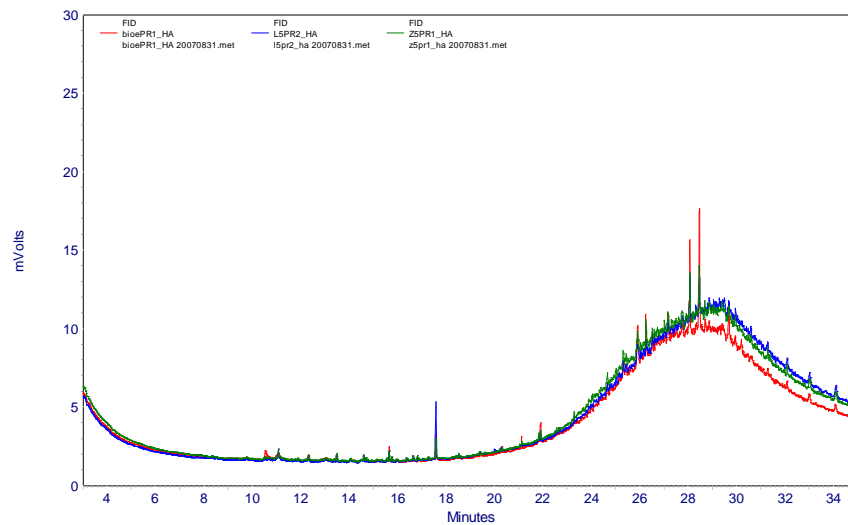


25. ábra Pakurával régóta szennyezett talaj extraktumai hexán-aceton (2:1) (piros), 10%-os RAMEB-oldat (kék) és 10%-os HPBCD-oldat (lila) (a ciklodextrin-oldatos extraktumokat az oldószeres extraktumhoz képest 7-szeres töménységben vittük fel az oszlopra).

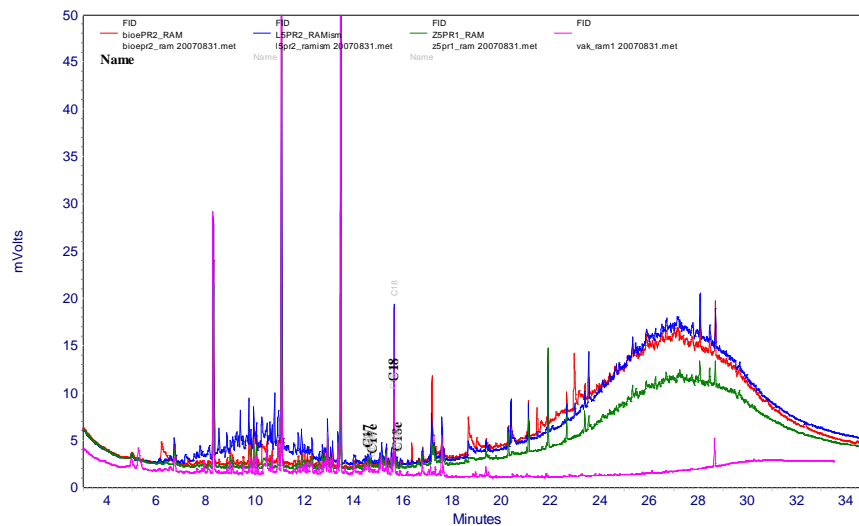
	A ciklodextrines extrakció és az oldószeres extrakció összehasonlítása dízelolajjal és pakurával szennyezett talajok esetén	Report No: CYL II.4.6
		Compiled by: E.Fenyvesi
		File: CYLII36
		Date: 2007.08.22.
		Page : 24 of 27

A biodegradációs kezelések hatásának nyomon követésére elvégeztük az extrakciókat (26.-28. ábra).

Mind a hexán-aceton (2:1) eleggyel, mind a RAMEB-oldattal végzett extrakciók a várt változást mutatják: csökken az extrahálható szénhidrogén-tartalom a kezelések hatására.



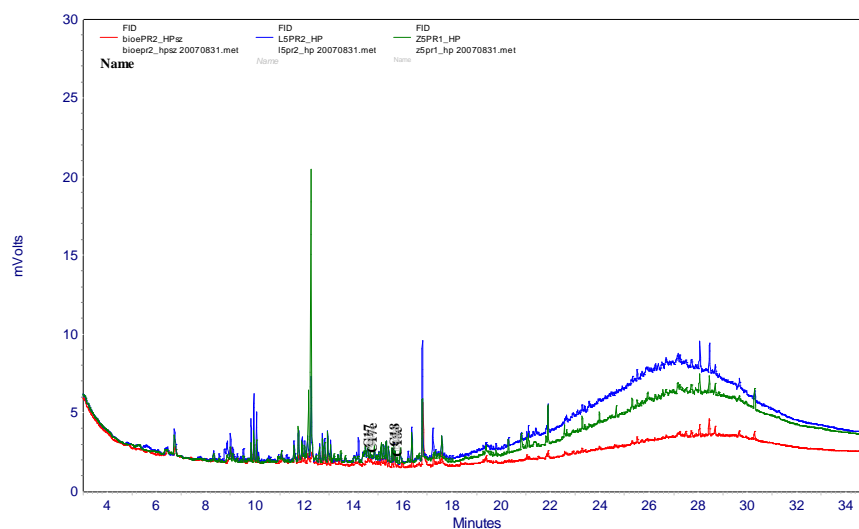
26. ábra Pakurával régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) hexán-aceton (2:1) eleggyel extrahálva



27. ábra Pakurával régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os RAMEB-oldattal extrahálva összehasonlítva magával a RAMEB oldattal (lila)



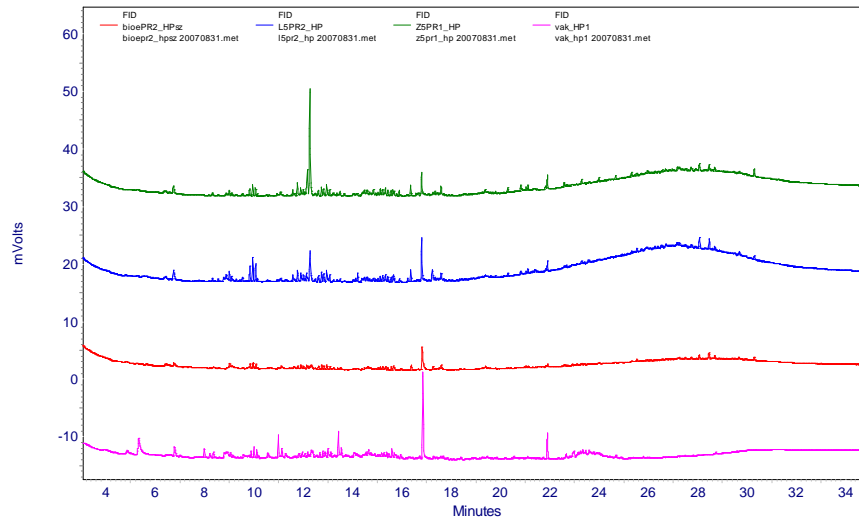
Érdekes megfigyelni a 22. és 27. ábrán, hogy a levegőztetés hatására megjelennek olyan 7-14 perc között eluálódó komponensek, melyek csak a RAMEB-oldatos extraktumban látszanak akár friss, akár régi a pakura-szennyezettség. Látszik a 26. ábrán a vak (a RAMEB oldat) kromatogramja alapján, hogy ezek a komponensek nem a RAMEB-oldat szennyezőkomponensei, és nincsenek sem a biodegradációs kezelés előtti, sem a zárt palack tesztben végzett kezelés utáni talajminták extraktumainak kromatogramjain.



28. ábra Pakurával régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os HPBCD-oldattal extrahálva

A 28. ábra kromatogramjai egymáshoz képest eltolva mutatják az extrakcióra használt HPBCD oldatból megfelelő mintaelőkészítés után felvett kromatogramot az ezzel az extrahálószerrel nyert extraktumok kromatogramjával.

A kromatogramok alapján számított extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (EPH), RAMEB-oldattal és HPBCD-oldattal extrahálható petróleum szénhidrogén-tartalom (REH és HEH) értékeket soroltuk fel a 7. táblázatban kiegészítve a hexán-aceton (2:1) eleggyel nyert extraktumból gravimetriásan meghatározott SEM (solvent extractable material) értékével.

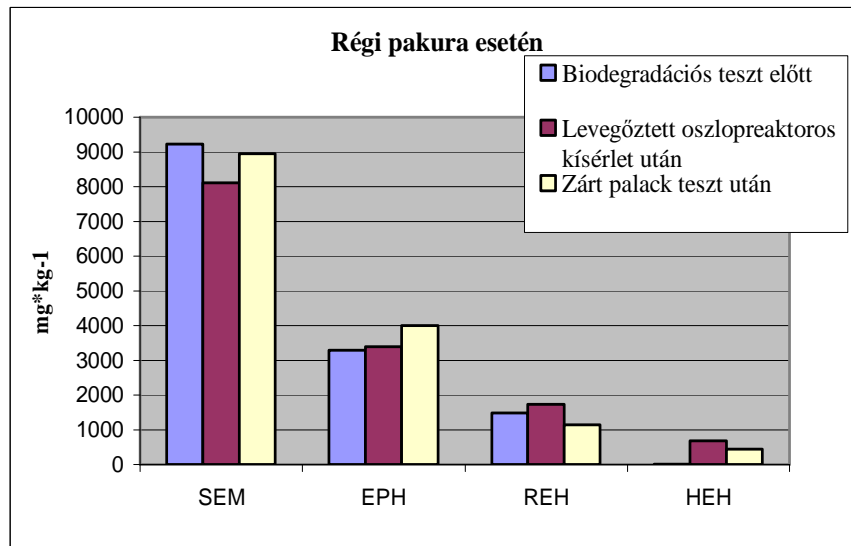


29. ábra Pakurával régóta szennyezett talaj a biodegradáció előtt (piros), levegőztetés után (kék) és zárt palack teszt után (zöld) 10%-os HPBCD-oldattal extrahálva összehasonlítva a HPBCD oldattal (lila)

7. táblázat A biodegradációs tesztek hatása a különféle extraktumok szénhidrogéntartalmára (mg/kg)

	SEM	EPH	REH	HEH
Biodegradációs teszt előtt	9234	3300	1493	20
Levegőztett oszlopreaktoros kísérlet után	8121,5	3390	1735	682
Zárt palack teszt után	8945	4001	1144	439

A táblázat adatait a 30. ábrán szemléltetjük.



30. ábra Pakurával régóta szennyezett talajból különböző oldószerekkel extrahált szennyezőanyagok mennyisége a biodegradációs tesztek előtt és után