

**CYCLOLAB**

Cyclodextrin Research & Development Laboratory Ltd.
Budapest, P.O.Box 435, 1097, Illatos út 7.

H-1525 Hungary

Tel/Fax: 36-1-206-5136, 36-1-206-5137

E-mail: cyclolab@cyclolab.hu



CIKLODEXTRINEK HATÁSA TALAJOK SZÉNHIDROGÉN SZENNYEZŐANYAGAIRA. GÁZKROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLAT

<i>Abstract</i>	1
1. BEVEZETÉS	1
2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	2
<i>2.1 Anyagok és reagensek</i>	2
<i>2.2 Gázkromatográfiás rendszer</i>	2
<i>2.3 Dízelolaj kimutatása és a kapott kromatogram értékelése</i>	2
<i>2. 4 Mennyiségi elemzés</i>	3
3. KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA BINER RENDSZEREKBEN	5
<i>3.1 A talaj-dízelolaj kölcsönhatás vizsgálata</i>	5
<i>3.2 A β-ciklodextrin-dízelolaj kölcsönhatás vizsgálata</i>	6
4. KÖLCSÖNHATÁSOK VIZSGÁLATA TERNER RENDSZEREKBEN.....	8
<i>4.1 A dízelolaj-talaj-ciklodextrin kölcsönhatás vizsgálata</i>	8
5. ÖSSZEFOGLALÁS	13

Abstract

Vizsgálataink során a ciklodextrinek hatására bekövetkezett illékonyság változást követtük nyomon gőztéranalízissel dízelolajjal szennyezett talajok esetén, amelyekhez különböző mennyiségű és minőségű ciklodextrint adtunk. Összehasonlítottuk az α -, β -, γ -ciklodextrin valamint a hidroxipropil-, random metil- és acetyl- β -ciklodextrinek (HPBCD, RAMEB és Ac β CD) hatását. Vizsgáltuk továbbá, hogy mennyiben befolyásolják a talajok tulajdonságai az illékony szennyező anyagok kötődését, ezért vályog-, homok-, és agyagtalajon is végeztünk kísérletet. Kiválasztott szénhidrogén komponensek esetén a szénatomszám függvényében értékeltük a ciklodextrinek hatását. Tapasztalataink szerint frissen szennyezett talajoknál az α - és β -CD csökkenti legnagyobb mértékben a komponensek illékonyságát, míg a γ CD és a RAMEB sok esetben kis mértékben növelte az illékonyságot megakadályozva a szénhidrogén-komponensek adszorpcióját a talajon.

1. Bevezetés

A talaj szénhidrogén szennyezőanyagait négy fő összetevőre bonthatjuk: lineáris szénhidrogének, aromás illetve poliaromás szénhidrogének, valamint ezek származékai. Ezen szennyezőanyagok többsége képes zárványkomplexet képezni ciklodextrinokkal (CD). A komplexbe zárt vendégmolekula tulajdonságai jelentősen különböznek a szabad vendégmolekula tulajdonságaitól, így például illékonysága csökken a megnövekedett molekulásúly miatt, kevésbé adszorbeálódik a talajszemcséken, mert jelentősen fokozódik vízdékonysága és hozzáférhetősége a talajmikroorganizmusok számára. Régi szennyeződés esetén a ciklodextrin hatására a szennyezőanyagok deszorbeálódnak a talajról és ez illékonyság növekedésben jelentkezhet. Az illékonyságváltozást legkézenfekvőbb gőztéranalízissel vizsgálni.

Célunk a ciklodextrinek hatásának vizsgálata gőztéranalízissel a talajban lévő dízelolaj illékony illetve kevésbé illékony komponenseire. Tanulmányoztuk a ciklodextrin koncentráció hatását hatféle ciklodextrin (α -, β -, γ CD valamint a háromféle β CD származék:

HPBCD, Ac β CD és RAMEB) esetén. Humuszos, agyagos és homokos talajok alkalmazásával teszteltük, hogy a talaj minősége mennyiben változtatja a ciklodextrinek működését.

2. Anyagok és módszerek

2.1 Anyagok és reagensek

Az alkalmazott ciklodextrineket a Cyclolab Kft. forgalmazza, a dízelolaj a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Tanszékéről származik. A vályog-, az agyag-, illetve a homoktalaj saját gyűjtés, amely a Budai-hegységből, Kisújszállásról, valamint Nyírlugasról származik. Az addíciós módszerhez alkalmazott hexán (>99,0 %) a Fluka, heptán (99 %) a Reachim, oktán (98 %) a Aldrich, valamint a dekán (99 %) a Sigma cég terméke.

2.2 Gázkromatográfiai rendszer

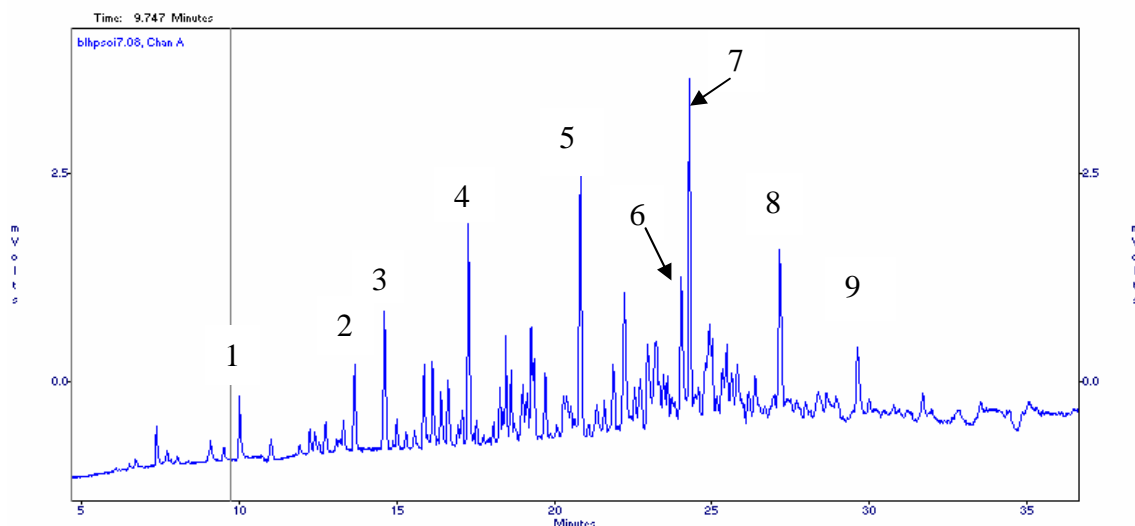
A gázkromatográfiai rendszer egy lángionizációs detektorral (FID) felszerelt Shimadzu GC-17A készülék, amelyhez AOC-5000 automata injektor biztosítja az injektálást. Az injektorhoz tartozó tű 2,5 ml térfogatú, gőztérből való injektálásra alkalmas fecskendő volt. Vivőgázként nitrogént alkalmaztunk. Az elválasztás HP-1 töltetű szilika kapilláris kolonnán (kémiaileg kötött polidimetil-sziloxán, 13m \times 0,2mm \times 0,11 μ m) valósult meg.

2.3 Dízelolaj kimutatása és a kapott kromatogram értékelése

20 ml-es Headspace üvegbe 10 μ l dízelolajat mértünk be, és feltöltöttük 5 ml desztillált vízzel. 40°C-on 40 percig tartó inkubálás után 2 ml mintát vettünk a gőztérből, amelyet a gázkromatográfba injektáltunk az 50°C-os tűvel. 50°C-ról indítottuk a kolonna hőmérsékletét, majd 10°C/min felfűtési sebességgel 180°C-ra fűtöttük fel, majd a kevésbé illó komponensek eltávolítása érdekében gyors felfűtést (25°C/min) alkalmaztunk 250°C-ig, és leégettünk 3 percen át. A detektor illetve az injektor hőmérséklete egyaránt 230°C volt.

Lineáris áramlási sebességként 14 cm/sec-ot találtuk optimálisnak. Split/splitless technikát alkalmaztunk 9:1 split aránnyal.

Mivel a dízelolaj számos nem lineáris szénláncú illékony komponenst is tartalmaz, a könnyebb kiértékelhetőség kedvéért kiválasztottunk kilenc fő csúcsot és ezek alapján jellemeztük az adott vizsgálatot (1. kromatogram).



1. kromatogram: A dízelolaj főbb komponensei

1: hexán (C_6), 2: heptán (C_7), 3: nem azonosított nem lineáris szénhidrogén (NA1), 4: oktán (C_8), 5: nonán (C_9), 6: nem azonosított nem lineáris szénhidrogén (NA2), 7: dekán (C_{10}), 8: undekán (C_{11}), 9: dodekán (C_{12})

2. 4 Mennyiségi elemzés

Bonyolult, összetett rendszerek mennyiségi értékelésére az addíciós módszer nyújt megoldást, mivel ennek alkalmazásával a mátrix jelenlétét is figyelembe tudjuk venni. Esetünkben a kilenc szénhidrogén közül négyre (C_6 , C_7 , C_8 és C_{10}) végeztük el a mennyiségi értékelést, melyhez az alábbi minta-előkészítést alkalmaztuk:

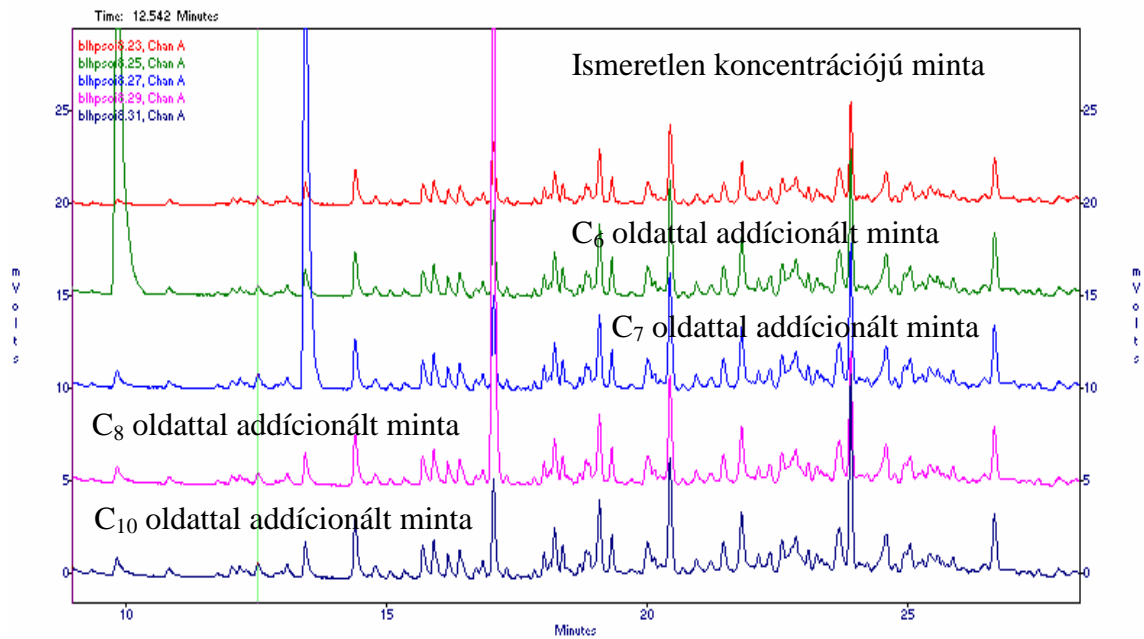
Két 20 ml-es headspace üveg egyikébe 1 g talajt és 10 μ l dízelolajat (G_x) mértünk be tömegre, majd 5 ml desztillált vízzel egészítettük ki, ez az ismeretlen koncentrációjú minta. A másik üvegbe a fentiekén kívül ismert mennyiségben C_6 (m_i) oldatot mértünk be, ez az addíciónált minta. Ugyanígy készítettünk oldatokat C_7 , C_8 , C_{10} hozzáadásával is. A megnövekedett csúcsterületből következtethetünk az ismeretlen minta koncentrációjára, ugyanis az

ismeretlen minta kromatografálása során A' csúcsterületet kapunk a kérdéses komponensre, az addíciónált minta kromatografálása során pedig a csúcsterület A'', ebből az alábbi képlettel számolhatjuk a koncentrációt:

$$c_{i,x} = \frac{m_i}{G_x \left(\frac{A_i''}{A_i'} \frac{q}{p} - 1 \right)} \cdot 100 \text{ (tömeg \%)}$$

Ha az ismeretlen és az addíciónált mintából azonos térfogatot injektálunk, akkor $q=p$, tehát

$$\frac{q}{p} = 1.$$



2. kromatogram: Addíciós módszerrel nyert minták kromatogramjai

1. Táblázat: Az ismeretlen dízelolajminta komponenseinek koncentrációja addíciós módszerrel kiszámolva

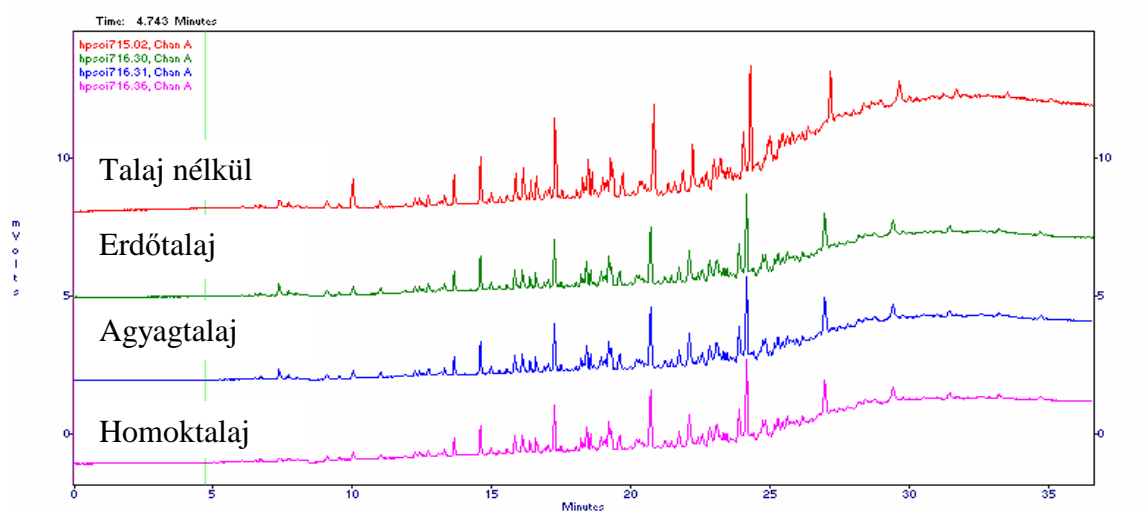
	A'	A''	G_{20} mg	m_b mg	c (m/m%)
C ₆	2867	231381	12.8	0.0564	0.005528
C ₇	7797	221675	13.55	0.0642	0.017273
C ₈	13229	183623	16.14	0.1112	0.05349
C ₁₀	22243	42376	14.04	0.0804	0.632665

3. Kölcsönhatások vizsgálata biner rendszerekben

3.1 A talaj-dízelolaj kölcsönhatás vizsgálata

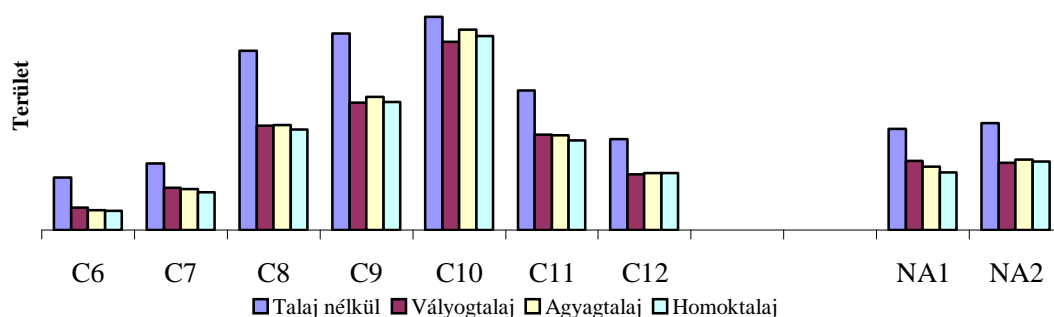
A vizsgálat során arra a kérdésre kerestük a választ, mennyire kötődik a dízelolaj a talajszemcsékhez, csökkentve ezáltal a dízelolaj koncentrációját a gőztérben. Ennek a hatásnak a vizsgálatához a következő modellkísérletet végeztük el: 4 db 20 ml-es Headspace üveg egyikébe 10 µl dízelolaj mellé 1 g "tisza" erdőtalajt, a másodikba 1 g homoktalajt, a harmadikba 1 g agyagtalajt mértünk be, a negyedikbe viszont nem tettünk talajt, majd 5 ml desztilláltvízzel egészítettük ki mindegyiket. Vizsgáltuk, hogy a talaj minősége illetve jelenléte megváltoztatja-e a dízelolaj illékonyságát.

Az alábbi kromatogramok alapján jól láthatóan csökken a szénhidrogén csúcsok területe a különböző talajok jelenlétében, melynek mértékét a 2. táblázatban foglaltuk össze.



3. kromatogram: A talaj-dízelolaj kölcsönhatás vizsgálata

Az 1. ábra a kiválasztott komponensek területét mutatja talajok jelenlétében és anélkül.



1.ábra: A dízelolaj kiválasztott komponenseinek területe különböző talajok jelenlétében

2. Táblázat: A kiválasztott szénhidrogén komponensek területének csökkenése a különféle talajok jelenlétében a talaj nélküli mintához képest

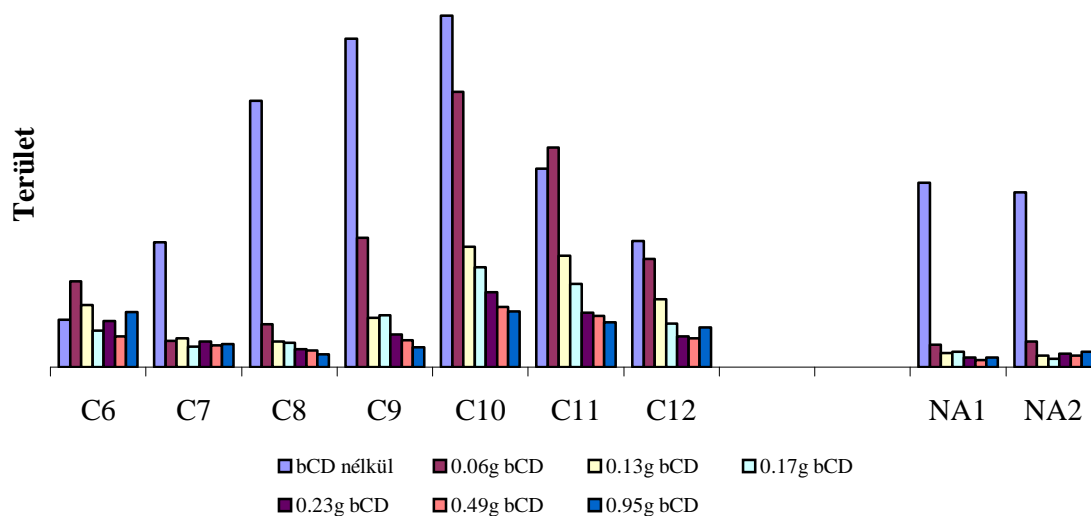
	<i>C₆ %</i>	<i>C₇ %</i>	<i>C₈ %</i>	<i>C₉ %</i>	<i>C₁₀ %</i>	<i>C₁₁ %</i>	<i>C₁₂ %</i>	<i>NA1 %</i>	<i>NA2 %</i>
Vályogtalaj	56.55	36.45	41.74	35.15	11.75	31.58	38.84	31.82	36.82
Agyagtalaj	61.49	38.96	41.47	32.20	6.13	31.95	37.23	37.55	34.16
Homoktalaj	62.69	43.03	43.87	34.72	9.05	35.69	37.37	43.00	35.59

A fenti táblázat alapján látható, hogy mindegyik talaj esetén tapasztalható illékonysegsökkenés, melynek értéke komponenstől függően 30-40%, kivéve C₁₀, ahol 10% körüli és a C₆, ahol 60 % körüli ez az érték. Ha összehasonlítjuk a különböző talajokat, nem figyelhető meg számottevő különbség.

3.2 A β-ciklodextrin-dízelolaj kölcsönhatás vizsgálata

Amennyiben a ciklodextrin komplexet képez a dízelolaj komponenseivel, a megnövekedett molekulásúly miatt várhatóan csökken az illékonyosságuk. Ezt a következőképpen vizsgáltuk: 20 ml-es headspace üvegek egyikébe csak 10 µl dízelolajat, míg a többi üvegbe a dízelolaj mellé növekvő mennyiségben β-ciklodextrint mértünk be, majd 5 ml desztillált vízzel egészítettük ki. A hozzáadott βCD 40°C-on feloldódik a vízben. A vizes oldat βCD

koncentrációját 0-20 % között változtatjuk. A kiválasztott dízelolaj komponensek területét a CD koncentráció függvényében a 2. ábrán szemléltetjük.



2. ábra: A β CD koncentráció hatása a dízelolaj kiválasztott komponenseinek illékonyására

Látható, hogy a ciklodextrin koncentráció növelésével az egyes szénhidrogén csúcsok területe nagy mértékben csökken. Az illékonyág-csökkenést a csúcsterület csökkenésével jellemeztük (3. táblázat).

3. Táblázat: A kiválasztott komponensek csúcsterületének csökkenése a CD-t nem tartalmazó mintához viszonyítva

	C6	C7 %	C8 %	C9 %	C10 %	C11 %	C12 %	NA1 %	NA2 %
0.053 mmol β CD	az	21.02	16.18	39.41	78.30	110.76	85.90	12.13	14.68
0.115 mmol β CD	eredmények	23.11	9.55	15.02	34.23	56.20	54.07	7.50	6.64
0.15 mmol β CD	szórnak	16.53	9.25	15.85	28.49	42.03	34.76	8.31	4.76
0.203 mmol β CD	nem	20.58	6.77	9.95	21.27	27.60	24.55	5.28	7.87
0.432 mmol β CD	kiértékelhető	17.48	6.26	8.20	17.20	25.88	22.65	3.96	6.50
0.837 mmol β CD		18.61	4.78	6.04	15.89	22.50	31.53	5.30	8.69

Feltűnő, hogy milyen nagy mértékben csökkent a két nem azonosított komponens (NA1 és NA2) koncentrációja a gőzfázisban. Tervezzük, hogy GC-MS segítségével később

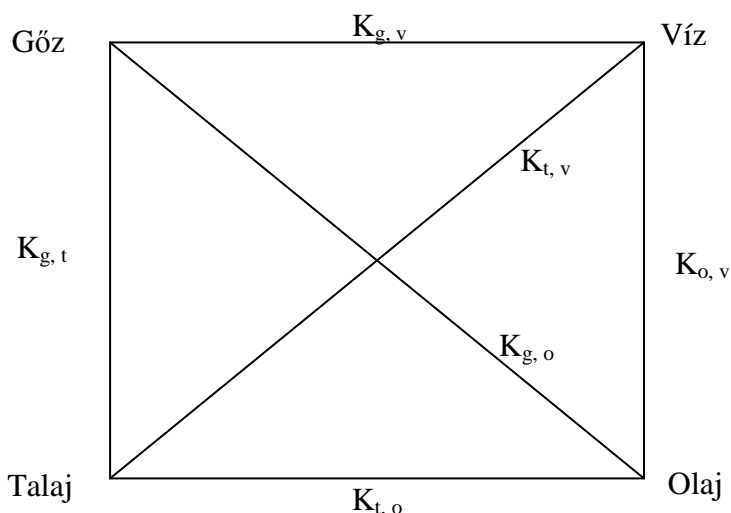
azonosítjuk ezt a két komponenst. A lineáris szénhidrogének közül a C₈ esetében tapasztaltuk a legnagyobb mértékű illékonyságcsökkenést. A szénatomszám növekedésével és csökkenésével egyaránt gyengül ez a hatás, ami arra enged következtetni, hogy a βCD a vizsgált lineáris szénhidrogének közül az oktánnal képezi a legnagyobb stabilitású komplexet.

4. Kölcsönhatások vizsgálata termer rendszerekben

4.1 A dízelolaj-talaj-ciklodextrin kölcsönhatás vizsgálata

A kísérlet annak kiderítésére szolgált, hogy a ciklodextrin és a talaj együttesen hogyan befolyásolja a szénhidrogének illékonyságát. Célunk volt továbbá különböző ciklodextrinek összehasonlítása.

20 ml headspace üvegbe 1 g talaj és 10 μl dízelolaj mellé növekvő mennyiségben különböző ciklodextrineket (αCD, βCD, γCD, HPBCD, RAMEB és AcβCD) adagoltunk, 5 ml desztillált vízzel egészítettük ki. A ciklodextrinek a vízben legalábbis a 40°C –os inkubálás során feloldódnak. Ebben az esetben tehát egy bonyolult rendszert vizsgálunk. Négy fázis van egymással egyensúlyban: szilárd (talaj), vizes folyadék fázis (CD oldat), nem-vizes folyadék fázis (dízelolaj) és a gőzfázis. A dízelolaj e négy fázis között oszlik meg, melyet hat féle megoszlási hányadossal írhatunk le (3. ábra).

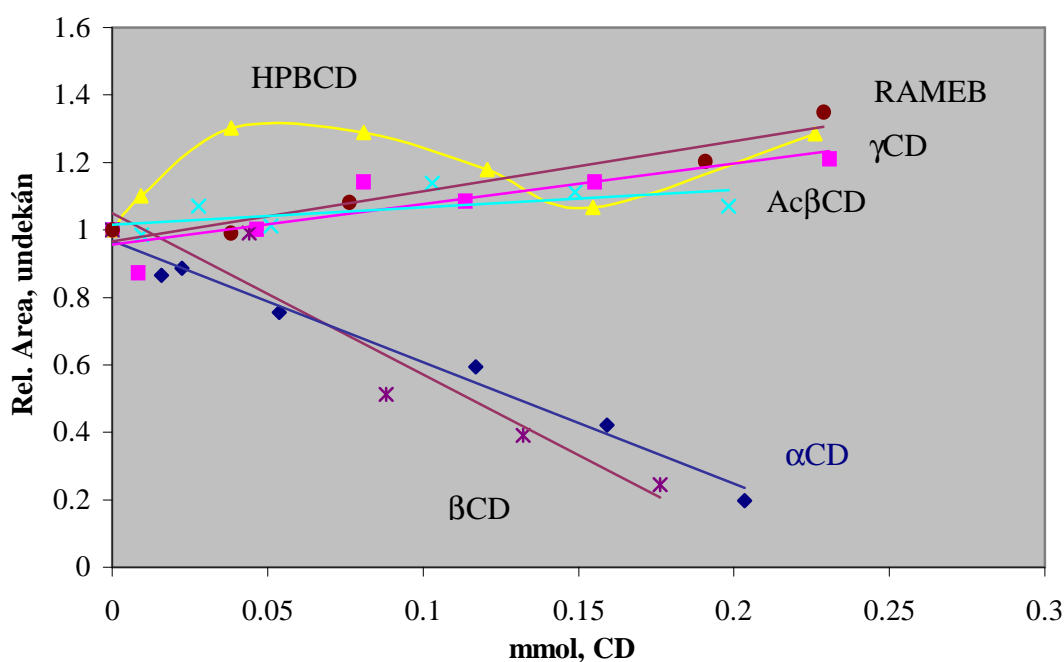


3. ábra: A dízelolaj megoszlása a különböző fázisok között

Tovább bonyolítja a jelenséget, hogy a vizes fázison belül egy dinamikus egyensúlyi folyamatban keletkeznek és bomlanak fel a ciklodextrinnel alkotott zárványkomplexek. Ezt az egyensúlyt a komplexstabilitási állandóval jellemezzük (K_{st}).

Ha tehát le akarjuk írni a jelenségeket komponensekét hét állandót kellene meghatározni. Erre a bonyolult feladatra egyelőre nem vállalkoztunk. Most csak a tapasztalatok összegyűjtése és félkvantitatív értékelése volt a célunk.

A 4. ábrán az undekán példáján mutatjuk be a különböző ciklodextrinek hatását.

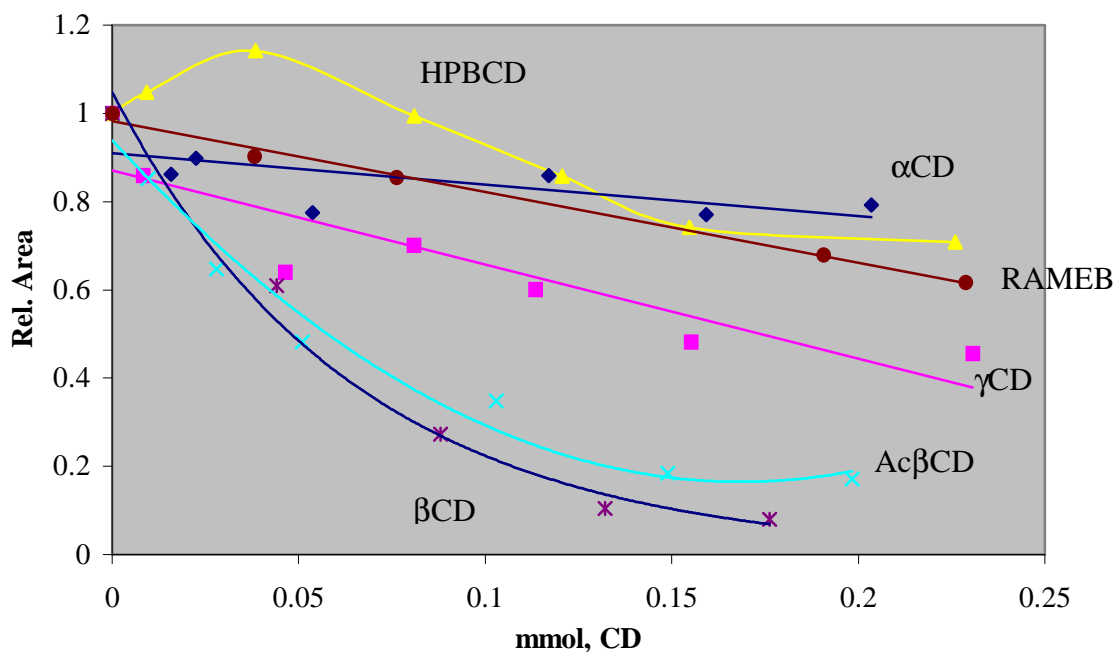


4. ábra: Az undekán relatív területe a ciklodextrin koncentráció függvényében vályogtalajon

A 4. ábrán jól látható, hogy az α - és a β -ciklodextrin csökkenti az undekán illékonyágát. Valószínűleg olyan nagy stabilitású komplexek keletkeznek, amelyekből a vendégmolekula az erős kölcsönhatásból adódóan nehezen szabadul fel. Ugyanakkor, ha megfigyeljük a RAMEB, a γ -ciklodextrin és az acetil- β -ciklodextrin alkalmazása esetén az undekán viselkedését, láthatjuk, hogy az illékonyág növekszik a ciklodextrin koncentráció növekedésével. Ez feltehetően abból adódik, hogy ezen ciklodextrinek jelenlétében csökken az undekán adszorpciója a talajszemcsék felületén. Olyan komplexeket képeznek, amelyek

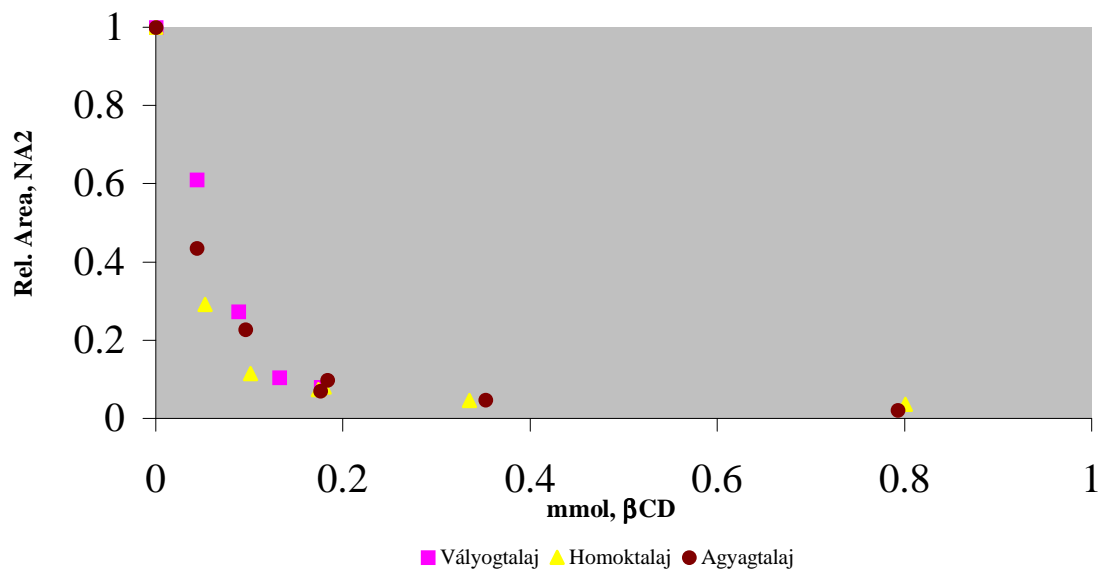
vízben jól oldódnak, de koránt sem olyan nagy stabilitású, mint az α - és β -ciklodextrin esetében. Ennek köszönhetően ez a komplexbe zárt szénhidrogén melegítés hatására könnyen felszabadul a ciklodextrin gyűrűjéből. E két hatás eredője figyelhető meg a HPBCD esetén, ahol kezdetben az illékonyság nő (a talajadszorpció gátlása miatt), majd egy adott ciklodextrin koncentráció elérése után csökkenni kezd (a komplexképzés illékonyságot csökkentő hatása jut érvényre).

Hasonló viselkedés figyelhető meg az NA2 komponens esetében is, azzal a különbséggel, hogy itt –a HPBCD kivételével- mindegyik ciklodextrin alkalmazásával csökken a szénhidrogén illékonysága.



5. ábra: Az NA2 komponens relatív területe a ciklodextrin koncentráció függvényében

A talajok tulajdonságai nem befolyásolják jelentősen a ciklodextrinek hatását. A 6. ábrán a három különböző talajon kapott görbét az NA2 példáján mutatjuk be. Számottevő különbség nem tapasztalható.



6. ábra: Az NA2 komponens relatív területe a β CD koncentráció függvényében vályog-, homok- és agyagtalajon

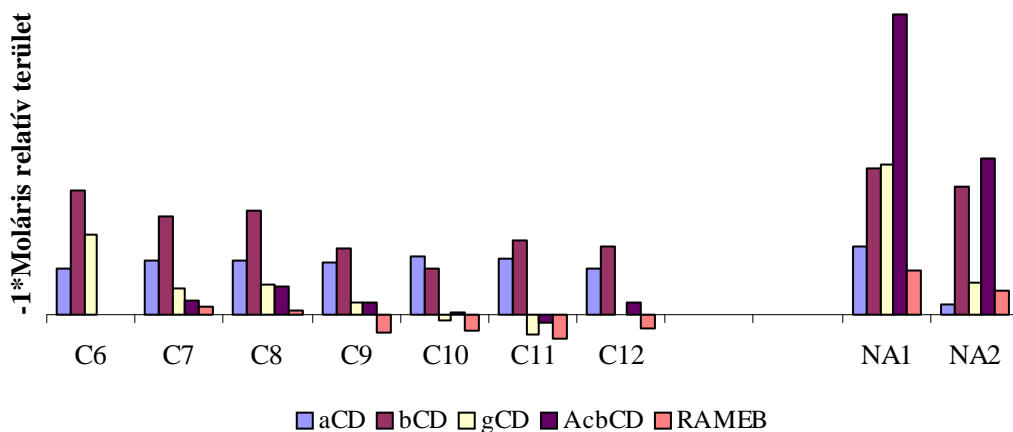
A kölcsönhatások jellemzésére minden komponensre elkészítettük az 5.-6. ábrához hasonló ábrákat és a görbék kezdeti szakaszának meredekségét számítottuk. Ez a meredekség, amit moláris illékonyagsökkenésnek (moláris relatív terület) is nevezhetünk jellemzi a szénhidrogén-ciklodextrin kölcsönhatást. Példaként a 4. táblázatban a vályogtalaj esetében kapott értékeket tüntettük fel.

4. táblázat: A relatív terület vs. koncentráció függvény kezdeti szakaszának meredeksége a szénatomszám függvényében vályogtalajon

	C_6	C_7	NAI	C_8	C_9	NA2	C_{10}	C_{11}	C_{12}
α CD	2.9467	3.479	4.3408	3.5588	3.4015	0.7114	3.7033	3.598	3.0408
β CD	7.9528	6.3914	9.4617	6.7515	4.3155	8.2514	2,9845	4.783	4.4213
γ CD	5.1385	1.6636	9.7344	1.9301	0.754	2.1326	-0.317	-1.2047	#
HP β CD	-0.4081	-0.0288	2.684	0.3206	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓	↑↓
Ac β CD	≈	0.9576	19.386	1.886	0.7493	10.014	0.1881	-0.5122	0.748
RAMEB	0.0008	0.4923	2.908	0.2911	-1.1894	1.6037	-0.9709	-1.4869	-0.8688

Jelölések: ↑↓: kezdetben emelkedő, majd csökkenő görbe, ≈: nem eldönthető, hullámzó görbe, #: nem értékelhető

A 4. táblázatban szereplő, ábrázolható értékeket a 7. diagramon szemléltetjük:



7. ábra: A relatív terület vs. koncentráció függvény kezdeti szakaszának negatív meredeksége a szénatomszám függvényében

Elemelve a fenti diagramot láthatjuk, hogy az α -ciklodextrinnel mindegyik szénhidrogén esetén közel azonos a kapott egyenesek meredeksége. A két nem lineáris komponens közül az NA2 jelűvel nem lép kölcsönhatásba. A β -ciklodextrin oszlopdiagram sorozatában maximumot látunk a C6-C8 tartományban, illetve a nagyobb szénatomszámú lineáris szénhidrogének esetén ettől kisebb meredekségűek az egyenesek.. Ugyanakkor a két nem lineáris szénhidrogén esetében nem mutatkozik számottevő eltérés β -ciklodextrin alkalmazásával. A szénatomszám függvényében a γ -ciklodextrin oszlopdiagram sorozata egyre csökkenő tendenciát mutat. A kisebb szénatomszámúaknál csökken, a nagyobbaknál növekszik az illékonyság. A dekánál a két hatás kioltja egymást. A legnagyobb meredekségű egyenest az NA1 komponensnél kaptuk. Az acetyl- β -ciklodextrin hullámzó, szinusz-görbeszerű kölcsönhatást mutat a szénatomszám függvényében, melynek maximuma az oktánál, minimuma pedig az undekánál található, de ez nem mondható jelentős mértékű kölcsönhatásnak. Kiugróan nagy meredekségű egyeneseket kaptunk azonban a két nem lineáris komponens esetén, amelyekkel igen erős kölcsönhatásba lép az acetyl- β -ciklodextrin. Ennek megértéséhez a komponensek azonosítására (GC-MS technikára) van szükség, amely

egy további kísérlet része lesz. A RAMEB nem mutat különösebb kölcsönhatást egyik szénhidrogénnel sem, inkább illékonyság növekedést, mint csökkenést tapasztaltunk. Hogy jelenlétében kevésbé adszorbeálódtak a szénhidrogének a talajokhoz, ez részben azzal magyarázható, hogy RAMEB hatására megváltozik a talajok pórusszerkezete.

5. Összefoglalás

A alábbi következtetéseket vonhatjuk le a kölcsönhatások tanulmányozása során kapott eredményekből:

1. Talaj jelenlétében csökken a szénhidrogén csúcsok területe, de a különböző talajok között nem mutatkozik eltérés.
2. β -ciklodextrin alkalmazásával az illékonyság nagy mértékben csökken mindegyik vizsgált szénhidrogén esetén.
3. β -ciklodextrinnel legerősebb kölcsönhatást a két nem lineáris szénhidrogén mutat, a lineárisok közül a hexán-oktán tartományban van a maximum.
4. Az α -ciklodextrin minden szénhidrogén esetén azonos mértékben csökkenti az illékonyságot, nem tapasztaltunk szelektivitást.
5. γ -ciklodextrin esetén, ha a szénatomszám nő, a komplexképzéssel együttjáró illékonyság-csökkentő hatás egyre inkább csökken, majd az illékonyság fokozatosan nő: a dekánnal egyáltalán nem lép kölcsönhatásba.
6. γ -ciklodextrinnel is a két nem lineáris szénhidrogén esetén a legerősebb a kölcsönhatás a vizsgált szénhidrogének közül
7. A HPBCD koncentráció növelésekor kettős hatás mutatkozik, kezdetben nő az illékonyság, majd elérve egy adott ciklodextrin koncentrációt, csökkenni kezd. Emiatt a moláris illékonyság-csökkenés nem értelmezhető ebben az esetben.
8. Az acetyl- β -ciklodextrin és a lineáris szénhidrogének között kisebb a kölcsönhatás, maximumot a β -ciklodextrinhez hasonlóan az oktánnál látunk.

9. A két nem lineáris komponens viszont kiemelkedően nagy stabilitású komplexet alkot az acetyl- β -ciklodextrinnel
10. A RAMEB nincs jelentős hatással a vizsgált szénhidrogének illékonyására, a nagyobb szénatomszámnál inkább kis mértékű illékonyág-növekedést tapasztalunk.