

CHEMIKUT projekt a Debreceni Egyetemen

TÁMOP-4.2.2/08/1-2008-0012 Kémiai és biotechnológiai alap kutatások vízzáró rétegek és talajvizek halogénezett szénhidrogén szennyezőinek eltávolítására: CHEMIKUT projekt.

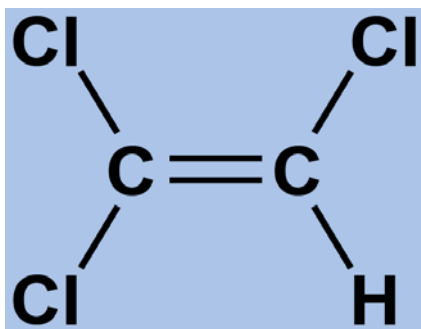
A CHEMIKUT projekt, amely mintegy 340 millió forintot fordított a megvalósításra, 2009 júliusában indult. Fő célja – az egyes szakterületek multi- és interdiszciplináris együttműködésére alapozva – klórozott szénhidrogén környezeti szennyezők lebontására szolgáló új eljárások kémiai és biológiai alapjainak kidolgozása volt, az elért eredmények gyakorlati alkalmazási lehetőségének szem előtt tartásával. A klórozott szénhidrogének környezeti vonatkozású kutatására hat tematikus csoportból álló innovatív kutatói team jött létre. A csoportok eredményeit a következő hat cikk tartalmazza.

A TÁMOP-4.2.2/08/1-2008-0012 projekt keretében végzett kutatómunka ezzel nem fejeződik be, a megalkult csoportok folytatják a munkát a gyakorlati alkalmazás irányában, és eredményeiket az egyetemi oktatásban is kamatoztatják.



1. A triklór-etilén lebontása kémiai módszerekkel

2011. szeptember 28-án az Amerikai Egyesült Államok Környezetvédelmi ügynöksége közel két évtizedes eljárás lezárásaként rákkeltő anyagnak minősítette a triklór-etilén nevű anyagot (összegképlete C_2Cl_3H , molekulaképlete az ábrán látható,



angol nevéből származó, nagyon széles körben elterjedt rövidítése TCE). Ez a molekula a kémikusok számára nagyon egyszerűnek tűnik, mindösszesen hat atomból áll. Eredetileg orvosi felhasználásokra (műtételnél az altatásra és érzés-telenítésre) alkalmazták, de erre a célra találtak nála kedvezőbb anyagokat; később az iparban viszont nagy mennyiségben használták, elsősorban fémalkatrészek zsírmentesítéséhez. Olyannyira elterjedt vegyületté vált a világban, hogy a rákkeltővé minősítés miatt az Amerikai Egyesült Államok 761 ipari telephelyén kell majd új biztonsági rendszabályokat bevezetni.

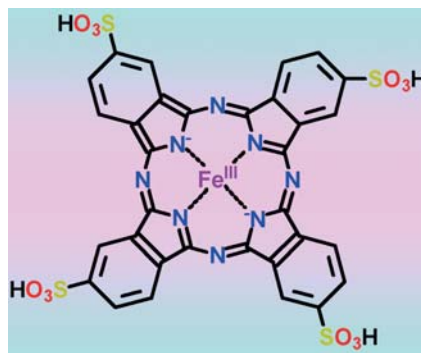
A triklór-etilén nemcsak az Atlanti-óceán amerikai partján okoz problémákat, ezért a Debreceni Egyetem Kémiai Intézetében a CHEMIKUT projekt keretében egy horvát, lengyel, magyar és szerb tudósokból álló nemzetközi kutatócsoport a triklór-etilénnel szennyezett természetes vizek kémiai kezelési lehetőségeit vizsgálta két éven

át. Az alap kutatás jellegű munka során három vegyület is alkalmasnak bizonyult a szennyezőanyag lebontására: ezek az ózon (O_3), a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és az Oxon márkanevű, kicsit összetettebb vegyület (kémiai képlete: $2KHSO_5 \cdot KHSO_4 \cdot K_2SO_4$).

Az ózonos eljárás előnye a rendkívüli gyorsaság: a vízben lévő szennyezőt néhány perc alatt ártalmatlan bomlástermékekkel alakítja. Hátrány viszont az a tény, hogy az ózon a közhiedelemmel ellentétben mérgező, viszonylag költségesen előállítható és nehezen tárolható anyag. A hidrogén-peroxid és az Oxon nagy tömegben is csekély költséggel hozzáférhető és hosszú ideig tárolható anyagok. A hidrogén-peroxid esetében a kémiai lebontáshoz viszont még egy anyag, katalizátor hozzáadására van szükség, amely bonyolítja és költségesebbé teszi az eljárást. Többféle anyag is használható ilyen célra: a kutatócsoport ötvegyértékű vanádiumvegyületeket és az ábrán látható, vasat nagy szerves vegyületben kötve tar-



talmazó ftalocianinszármazékot is sikerrel alkalmazta. Ez utóbbi vegyület festékmolekula, amely kémiai szerkezetét tekintve hasonló a vérben az oxigén szállítását végző hemoglobinhoz. Az Oxon használatával bizonyult a leglassabbnak az oxidációs folyamat, amely jó néhány órát is igénybe vehet, de más anyagok hozzáadása nélkül is lezajlik. Ebben az esetben az alap kutatások a folyamat egy nagyon különleges tulajdonságára is rámutattak: a reakció autokatalitikus, vagyis a reakció sebessége az idő előrehaladtával igen jelentősen növekszik. Részletes vizsgálatok azt mutatták, hogy ezért a különleges hatásért a folyamat közben keletkező, vízben oldott klórgáz felelős. Ebből az a meglepő következtetés vonható le, hogy a triklór-etilén klórmentesítése az ivóvízek fertőtlenítésénél is használt klór hozzáadásával elősegíthető.



Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujszechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638

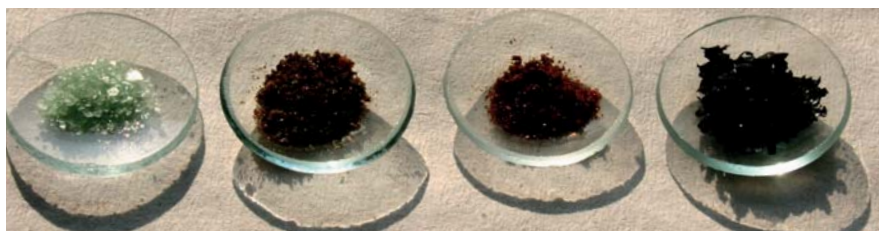


A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

2. Szerves halogén-származékok dehalogénezése reduktív módszerekkel

A vizsgált reduktív módszerek köre magában foglalta a homogénkatalitikus és heterogénkatalitikus hidrogénezést mind hidrogéngáz, mind hangyasav és formiátsók mint hidrogéndonorok alkalmazásával, továbbá a nanoméretű vasrészecskéket tartalmazó szuszpenziók, mint nem-katalitikus redukálószer felhasználását. A klórozott szénhidrogének reduktív dehalogénezését modellvegyületek (kloroform, ciklohexil-, benzil- és aromás halogenidek) reakcióiban vizsgáltuk.

1) A homogén katalízis céljára új típusú, vízben oldható ligandumokat (N-heterociklusos karbén-származékok, valamint szulfonált szalán) és ezek palládium(II), nikkel(II), ródiium(III) és arany(I) komplexeit szintetizáltunk. Ezek a komplexek csak nagyobb (5–10 atm) hidrogénnyomás alatt hasították a szén-klor kötést, és ilyenkor gyakran fém vált ki. (Ezek a vegyületek ugyanakkor sikeresen katalizáltak más reakciókat, úgymint acetilén hidratálását ketonokká, illetve allilalkoholok redox izomerizációját 2-oxo-vegyületekké.) A kísérletes vizsgálá-



Polivinilpirrolidonnal stabilizált Ni-, Rh- és eltérő fémtartalmú Pd-katalizátorok

latokat elméleti kémiai (DFT) számításokkal egészítettük ki a reakciók végbemene-
telének megismerése céljából.

2) A heterogén katalizátorok körében kifejezetten aktívnak bizonyult a polivinilpirrolidonnal (PVP) stabilizált nano méretű fém palládium. Elsőként valósítottuk meg ennek az egyébként könnyen diszpergálható anyagnak a heterogénizálását.

Az ún. szől-gél módszerrel nyert üvegbe zárt katalizátor is jelentős hidrogénező aktivitást mutatott. A heterogénizálás módjának szisztematikus változtatásával gyakorlatban is használható aktív és stabilis hidrodehalogénező katalizátor előállítását is lehetségesnek tartjuk.

3) A klórozott szénhidrogének lebontására ismert módszer a finom eloszlású elemi vassal történő redukció, amelynek hátránya, hogy a kolloid, illetve nanoméretű vas szuszpenziók levegőn könnyen oxidálódnak. Előzetes vizsgálataink szerint statisztikusan metilezett β -ciklodextrin (RAMEB) hatására az ilyen szuszpenziók reaktivitása és stabilitása növelhető. Ez történhet azért, hogy a ciklodextrin adszorbeálódik a részecskék felületén, másrészt a RAMEB és a benzil-klorid kölcsönhatása megnöveli utóbbinak az oldékonyságát a vizes fázisban és koncentrációját közvetlenül a vasrészecskék felületén.

3. A fémkomplexek szerepe a klórozott szénhidrogének lebontásában



A fémionok mindennapi környezetünk részei, benne vannak a talajban (vas, kalcium, magnézium), ivóvizeinkben (ők adják az ásványvizek üdítő ízét), szervezetünkben az enzimek is fémionokat tartalmaznak, de az ember tevékenysége következtében szennyezésként is jelen vannak a környezetünkben. Részei a mindennapi „laboratóriumi életünknek” is, hiszen ha egy kémiai folyamatot megfelelő sebességgel végre akarunk hajtani, akkor a fémionok komplex

vegyületeihez nyúlunk katalizátorként. A katalitikus reakciók természetüknél fogva soklépéses, bonyolult folyamatok. Ismeretük hatékony eszköz a kémikus kezében a valódi, nem szlogen szintű környezetvédelemben, nem ismeretük a környezetszennyezés egyik súlyos okozója is lehet. A teljes projekten belül a csoport munkája a triklóretilén hidrogén-peroxiddal történő oxidatív lebontása

fémkomplexekkel való katalízisének vizsgálata volt. Fémionként a vanádiumot választottuk, mert annak koordinációs kémiája igen jól ismert. Megállapítottuk, hogy olyan könnyen hozzáférhető ligandumok, mint a borkósav, borostyánkősav, citromsav, pikolinsav vanádiumkomplexei katalizálják a TCE oxidációját. Multinukleáris NMR vizsgálatokkal (a képen látható a készülő) a reakció részleteit is tisztáztuk, és megállapítottuk, hogy epoxidon keresztül

hangyasav és foszgén, majd széndioxid és klorid-ion képződik. A reakcióban valószínűleg a két pikolinsav ligandumot tartalmazó monoperoxo-komplex bomlásából keletkező oxigényökök aktívak. Természetes eredetű poli- γ -glutaminsav platformra hidrofób karakterű csoportot és vanádium-peroxo-részecskéket kötő ligandumot vittünk rá, így olyan nanoméretű vanádiumkomplexeiket állítottunk elő, amelyek elképzeléseink szerint megvalósíthatják a katalizátor, a TCE és az oxidálószer összegyűjtését egy makromolekulában. Ezt a reakciótipust dendritikus katalízisnek nevezik, nevét a dendrimer típusú makromolekulákról kapta. A valódi dendrimer komplexek és az új komplex hatását is megvizsgáltuk, gyorsítást igen, de jelentős sebességnövekedést nem észleltünk. A vizsgálataink egyértelműen azt mutatják, hogy a hidrogén-peroxid eredményes alkalmazásának alapvető feltétele a fémionokkal való kölcsönhatásának ismerete, mert a képződő komplexek gyorsíthatják a hatást, de – hasznos reakció nélkül – el is bonthatják a hidrogén-peroxidot.

4. SPME dúsítási eljárások kidolgozása klórozott szénhidrogének GC-MS módszerrel történő meghatározására

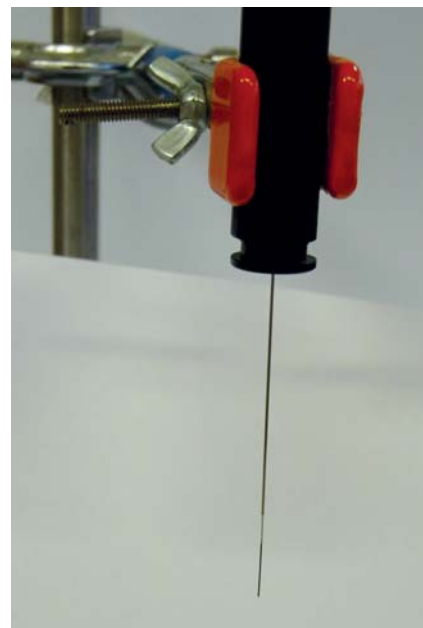
Az Analitika munkacsoport a CHEMIKUT projekten belül azt a feladatot vállalta, hogy kidolgoz és optimál egy megbízható eljárást, klórozott szénhidrogének vizekből történő nyomnyi mennyiségű meghatározására, különös tekintettel a triklór-etilénre (TCE). Erre



a célra GC-MS detektálással összekötött szilárd-fázisú mikroextrakciós (GC-MS-SPME) technikát dolgoztunk ki, amely segítségével a mentesítő eljárások után visszamaradó $\mu\text{g/L}$ koncentrációtartományba eső TCE is mennyiségileg meghatározható. A forgalomban lévő SPME szálak közül irodalmi adatok alapján polidimetil-sziloxán és karboxil adszorbens réteggel ellátott SPME szálakat használtunk. Kidolgoztuk a legmegfelelőbb minta-előkészítési eljárást, optimaltunk a GC

fűtési programot, és kalibráló egyenes segítségével meghatároztuk a Toxikológiai munkacsoport által *Pseudomonas putida* F1 baktériummal kezelt mintákban a még megmaradt triklór-etilén koncentrációját. A mérés bizonytalansága 7% alatt van, ami megfelel a kis koncentrációjú klórozott szénhidrogénekkel szemben támasztott követelményeknek. A referenciamérésekből nyert adatokból arra a következtetésre jutottunk, hogy a mikrobiológiai kezelés, illetve a minta-előkészítés során a párolgásból eredő mintavesztés elhanyagolható. A TCE koncentráció csökkenése a folyamat hatékonyságának köszönhető.

A kezdetben triklór-etilént 20 mmol/L (2 670 000 $\mu\text{g/L}$) koncentrációban tartalmazó toluolos oldat triklór-etilén tartalma a folyamat végén 0,45 $\mu\text{g/L}$ koncentrációra csökken, ami a mérés bizonytalanságát is figyelembe véve a hatályban lévő, felszíni, illetve felszín alatti ivóvizekre vonatkozó maximális megengedett koncentráció (10 $\mu\text{g/L}$) alatt van, több mint egy nagyságrenddel. Megvizsgáltuk továbbá, hogy a metabolizmus során milyen bomlástermékek képződnek. Megállapítható, hogy a folyamat végén a maradék triklór-etilén mellett legnagyobb mennyiségben triklór-



Laboratóriumi manuális SPME szál száltartóval

metán (kloroform), illetve hosszú szénláncú, egyes pozícióban klóratommal monoszubsztituált alkánszármazékok vannak jelen. Elvégeztük továbbá a lebontás során keletkezett közti- és végtermékek minőségi analízisét, valamint megállapítottuk az SPME módszer kimutatási határát, ami triklór-etilén esetében 50 ng/L-nek bizonyult.

5. A triklór-etilén (TCE) mikrobiológiai lebontásának vizsgálata

A biotechnológia egyik legdinamikusabban fejlődő területe a biológiai remediáció, vagyis élőlények (elsősorban mikroorganizmusok) felhasználása olyan anyagok lebontására, amelyek fizikai és kémiai úton csak nagyon nehezen (drágán) közbövíthetők. A legintenzívebb bioremediációs stratégia, az ún. bioaugmentáció során speciális degradációs kémiai reakciók kivitelezésére képes, laboratóriumban kifejlesztett mikroorganizmusokat juttatunk a szennyezés környezetébe. A CHEMIKUT projekt keretében végzett munkánk során olyan baktériumtörzset próbáltunk meg kifejleszteni, amely alkalmas a klórozott szénhidrogének, ezen be-



Pseudomonas putida F1 baktérium tenyészet

lül a triklór-etilén (TCE) hasznosítására, és ezen keresztül történő közbövítésére.

Kutatásaink alanya a *Pseudomonas putida* F1 baktériumtörzs volt. A szakirodalom alapján a törzs genetikailag alkalmas a monoaromás szénhidrogének (benzol, toluol, etil-benzol, xilolok), illetve a halogénezett szénhidrogének (pl. TCE) degradációjára. Előbbieket szén- és energiaforrásként hasznosítja, utóbbiakat az ún. ko-metabolizmus eredményeként degradálja. Ez azt jelenti, hogy ugyan a baktériumnak praktikusán semmi haszna nincs belőle, de az aromás szénhidrogéneket bontó enzimek széles szubsztrát-specifitása miatt a halogénezett vegyületek is „beleesnek a szórásba”.

A TCE ko-metabolikus degradációját *P. putida* F1-ben leghatékonyabban a toluollal lehet kiváltani, amely maga is toxikus, vagyis a környezetbe nem juttatható ki. Munkánk legfontosabb eredménye az volt, hogy a toluolt kiváltottuk egy olyan környezetbarát induktorról, melynek jelenlétében minden fontos biológiai paraméter (sejtnövekedés, TCE-bontó enzimrendszer megjelenése és maga a TCE-degradáció rátája) jobb lett, vagy változatlan maradt.

A kezünkben van tehát egy laboratóriumi léptékű aerob biotechnológia a TCE degradációjára, mely nem tartalmaz a környezetre nézve káros komponenseket, viszonylag olcsó és robusztus, vagyis valószínűleg terepen, valós körülmények között is alkalmazható.

6. A klórozott szénhidrogének toxicitásának és perniciozitásának vizsgálata

A tetraklór-etán, a tetraklór-etilén és a triklór-etilén a legkülönbébb iparágak által széles körben használt, kismolekulájú klórozott szénhidrogének. E szennyező anyagok felszíni vizekben való megjelenésének kockázata sajnos napjainkban sem csekély. Vízi ökoszisztémában megfigyelhető hatásai nem ismeretlenek, azonban – különösen a planktonikus, fotoszintetizáló („termelő”) szervezetek szempontjából – még sok a megválaszolatlan kérdés.

A CHEMIKUT projekt keretében kismolekulájú klórozott szénhidrogének toxikológiájának, fotoszintetizáló vízi szervezetekre gyakorolt hatásainak vizsgálatára került sor.

A *Synechococcus elongatus* cianobaktériummal, mint közismert modellszervezettel végzett vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy mindhárom klórozott szénhidrogén kedvezőtlen hatással van a vizsgált organizmus szaporodására, anyagcseréjére. Ezáltal feltételezhető, hogy a termelő szervezetekre gyakorolt károsító hatás a közvetlen mérgezésen túl is nega-

tív irányban befolyásolhatja felszíni vizeink ökológiai egyensúlyát. Ezt a feltételezést támasztották alá a valódi tóban megfigyelhető viszonyokat modellező rendszer tanulmányozása során született eredmények. A tetraklór-származékokkal való kezelés hatására szignifikánsan kevesebb algaegyed volt megfigyelhető, mint a többi esetben. Nemcsak az átlagos egyedszám, de a megfigyelt fajok száma is csökkent a kezelésekre hatására, különösen a tetraklór-származékok esetében. A kezelés hatására csaknem teljesen eltűntek a vizsgált fitoplankton-együttesből a szűrő táplálkozású szervezetek fontos táplálékai, mint az egybarázdás moszatok, bizonyos zöldalgafajok, sárgásmoszatok.

Kísérleteink a vizsgált vegyületek oldódásának, illetve rendszerben maradásának nem kedvező („természetközeli”) körülmények között zajlottak, vagyis a megfigyelt káros hatások a vegyületek viszonylag gyors párolgása (a 100%-os telítettségnek megfelelő mennyiség gyors csökkenése) mellett, rövid idő alatt következtek be. A vizsgált



Fitoplanktonminta fénymikroszkópos képe (400x-os nagyítás)

kismolekulájú klórozott szénhidrogének már igen kis mennyiségben (1%-os telítettségnek megfelelő mennyiség alatt is) súlyosan károsítják a vízi ökológiai rendszerek termelő szintjének képviselőit, jelentősen csökkenthetik a fajok számát, így nemcsak a vízi élőlények közvetlen mérgezésével, hanem a víztér ökológiai viszonyainak felborításával hosszabb távon károsíthatják vizeink természetes egyensúlyát.

