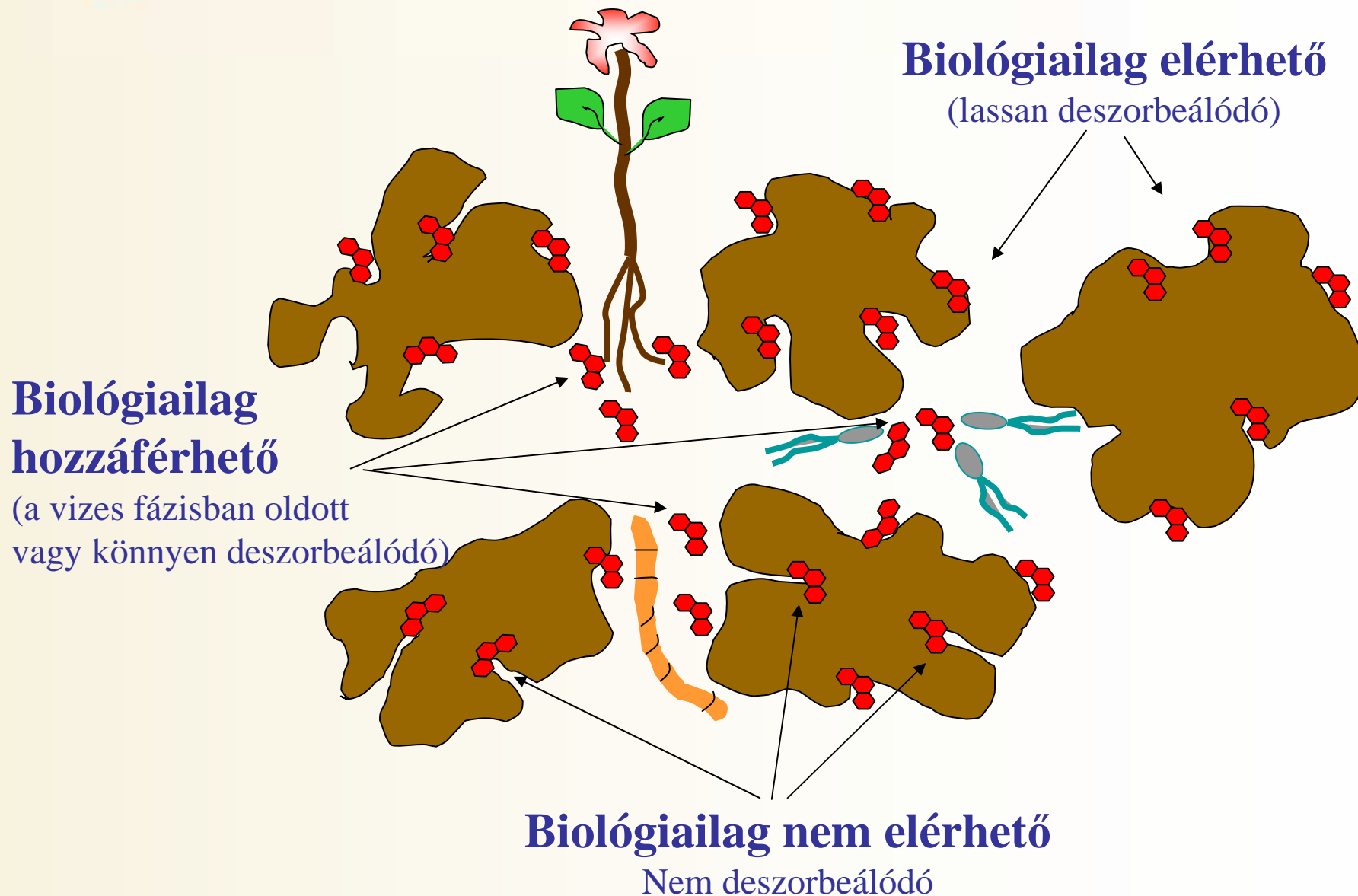




**SZÉNHIDROGÉNEKKEL SZENNYEZETT  
TALAJOK EXTRAKCIÓJA  
CIKLODEXTRIN OLDATTAL  
A BIOLÓGIAI HOZZÁFÉRHETŐSÉG  
KÉMIAI MODELLEZÉSÉRE**

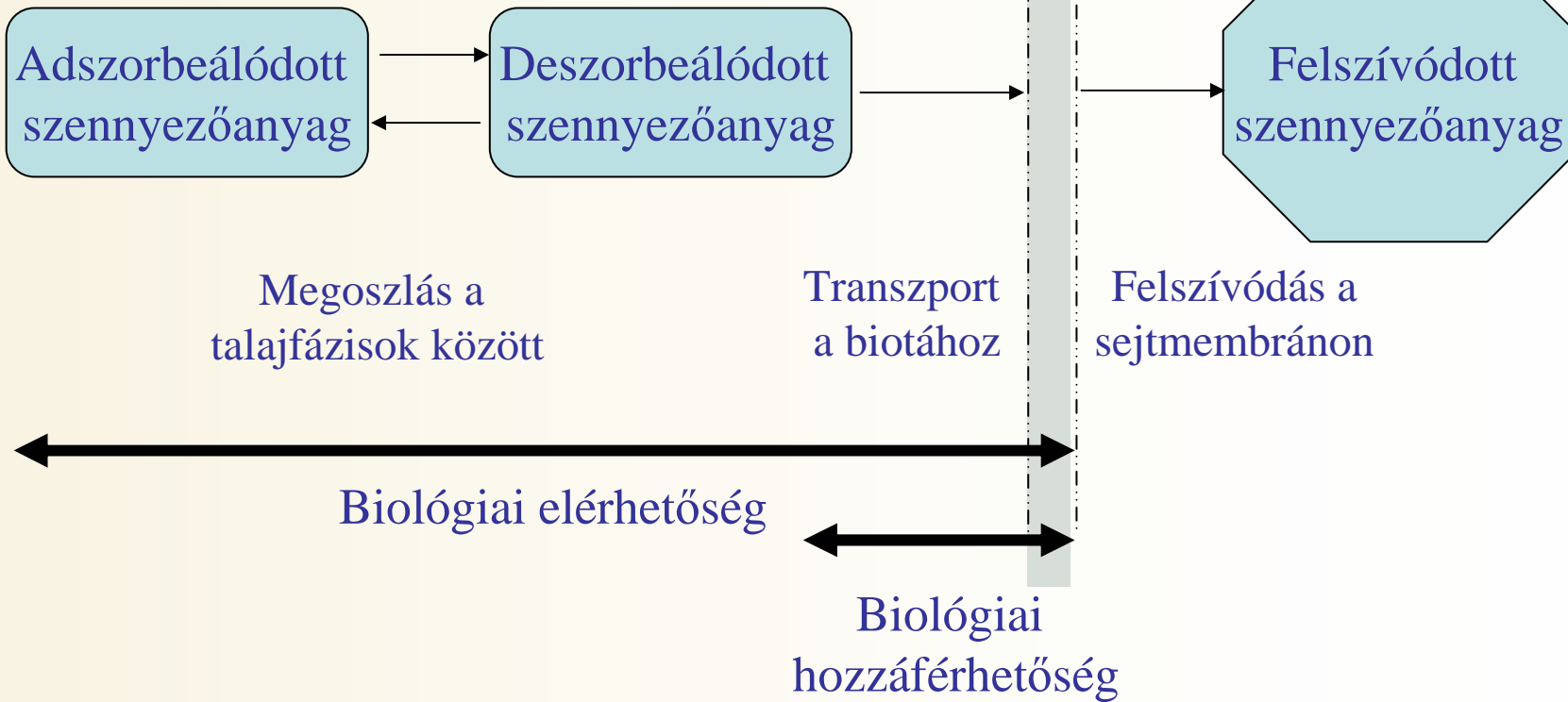
*Fenyvesi Éva,  
Molnár Mónika, Kánnai Piroska, Illés Gábor,  
Balogh Klára, Gruiz Katalin*

# A szennyezőanyagok kockázatát a biológiai hozzáférhetőségük határozza meg





sejtmembrán





## Meghatározó tényezők:

- Szennyezettség kora
- Vegyület transzportja
- Bejutása a sejtbe

Összes szennyezőanyag a talajban

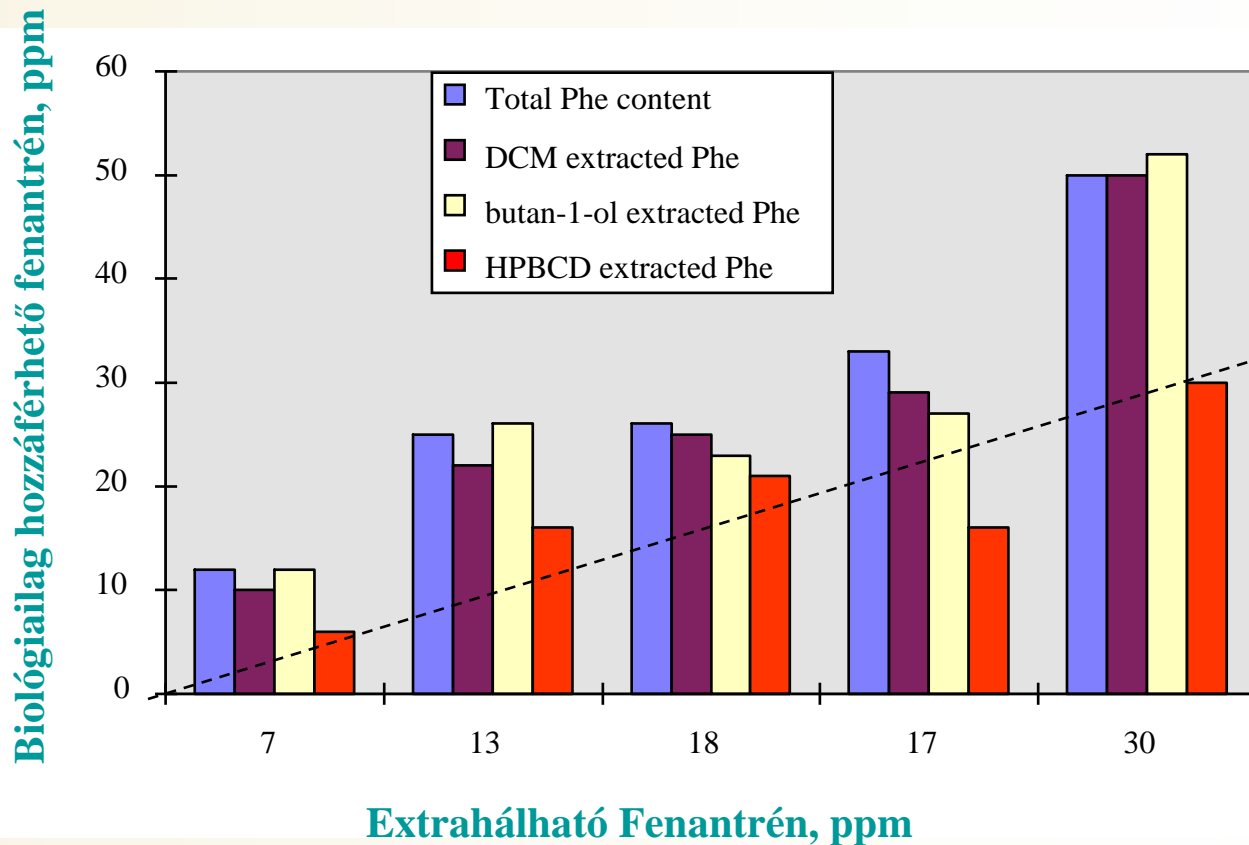
Kémiaailag extrahálható mennyiség

Biológiailag hozzáférhető mennyiség



# Korreláció az extrahálható és biológiailag hozzáférhető fenantrén-koncentráció között

(Reid, B.J., Stokes, J.D., Jones, R.C., Semple, K.T., *Environ. Sci. Technol.*, 2000, 34, 3174)



<sup>14</sup>C-jelölt fenantrénnel kevert talaj.

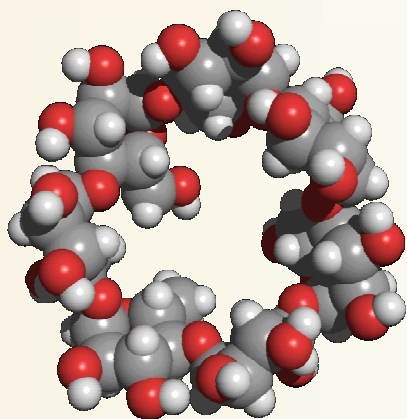
**Biológiailag hozzáférhető fenantrén:** a termelt CO<sub>2</sub> koncentrációból számítva



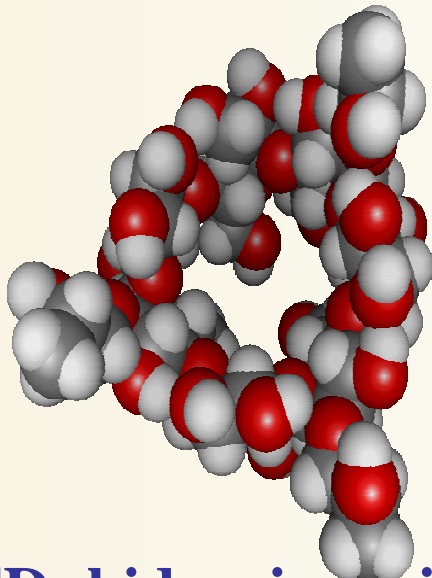
- ❖ *A biológiai hozzáférhetőség és a mikrobiológiai lebontás folyamatainak modellezése egyszerű kémiai extrakciós lépésekkel*
- ❖ *A lassú biotesztek kiváltása*
- ❖ *PAH-vegyületek biodegradálhatóságának becslésére javasolt ciklodextrines extrakciós módszer kipróbálása tipikus keverék-szennyezőanyagokra: **dízelolajra, pakurára, transzformátorolajra***
- ❖ *Összefüggés keresése a biológiai és a kémiai vizsgálatok eredményei között*



# Ciklodextrinek



Ciklikus oligoszacharidok



HPBCD: hidroxipropilezett  $\beta$ CD RAMEB: random metilezett  $\beta$ CD

## Nanotechnology

1 Nanometer =  $10^{-9}$  meter = 10 Angstroms

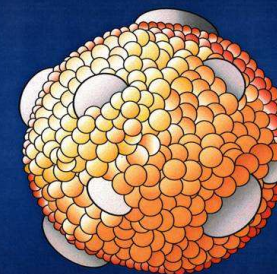
Red Blood Cells  
(7500 nm - 75,000 Å)



$\beta$ -Cyclodextrin  
(1.5 nm - 15 Å)



Insulin  
(3.5 nm - 35 Å)

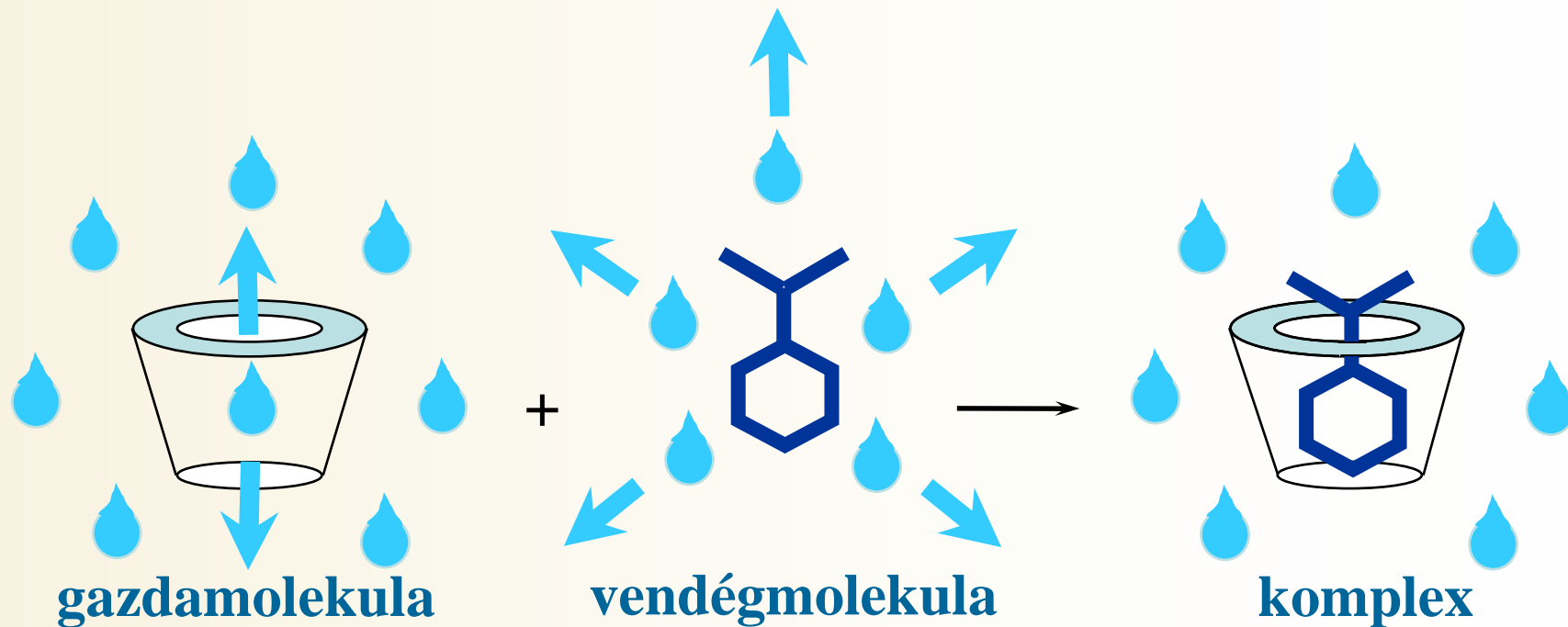


Lipoproteins  
(7.5 nm - 75 Å)

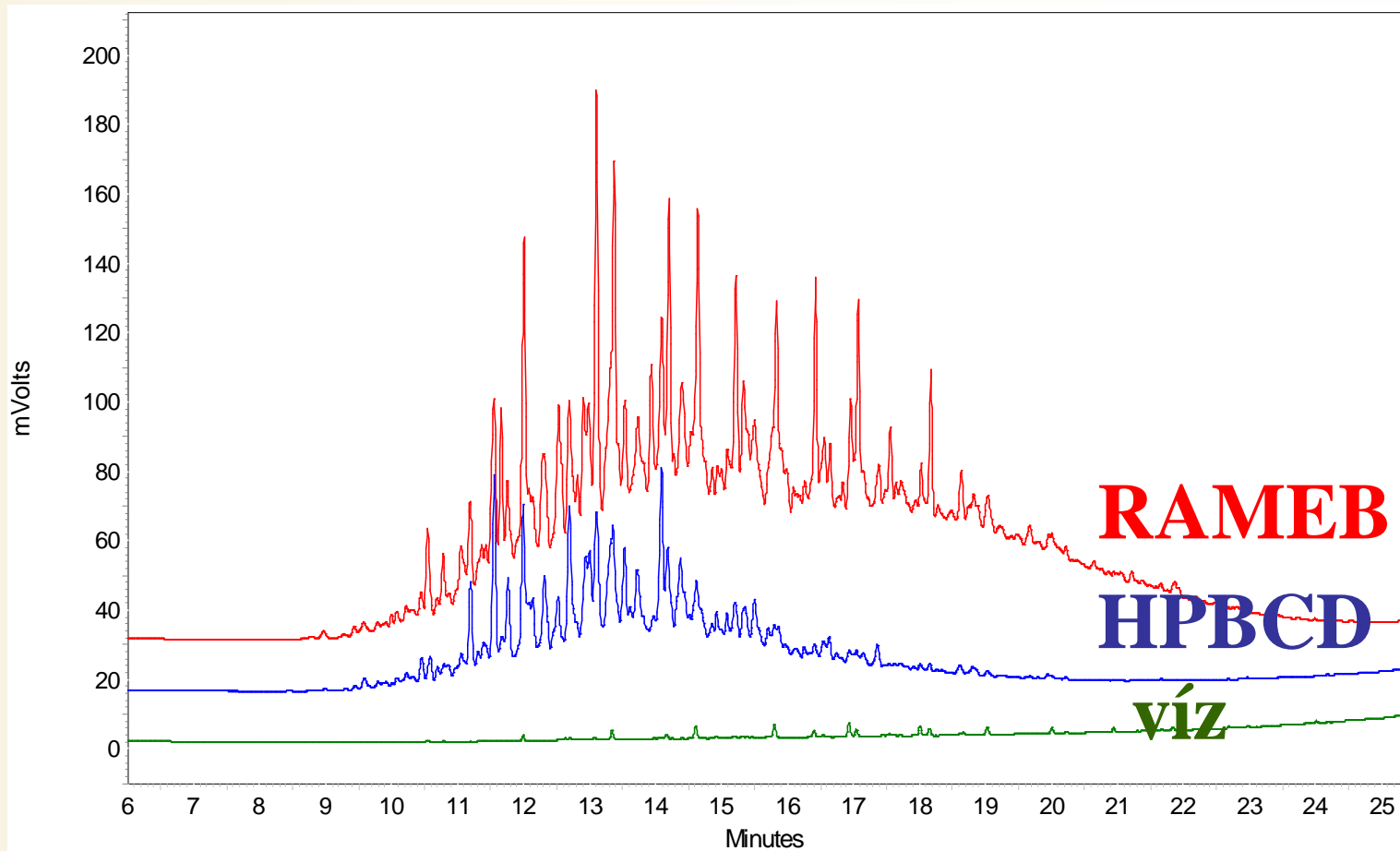
Graphics Courtesy of Kaneto Uekama, Kumamoto University, JAPAN

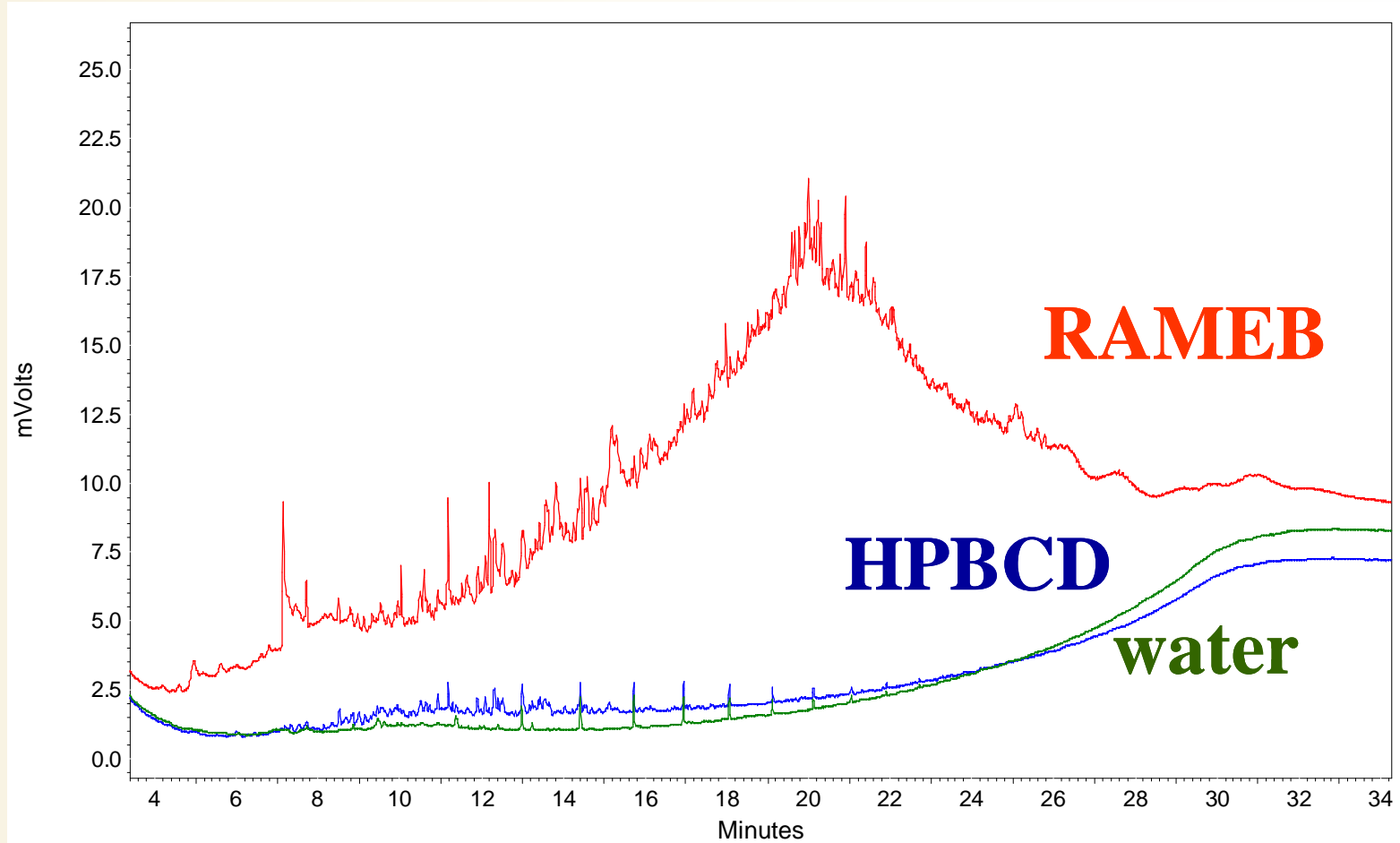


# Zárványkomplex-képzés











The Cyclodextrin Company

## A $K_{ow}$ érték csökkenése



	<b>Dízel olaj</b>	<b>Transzf. olaj</b>	<b>Pakura</b>
Oktanol/víz	5,0	5,1	3,4
Oktanol/HPBCD	4,3	4,4	2,7
Oktanol/RAMEB	3,6	3,7	2,6



## Zárt palack teszt



O<sub>2</sub> fogyasztást és ezzel  
nyomáscsökkenést mérünk  
5 napon keresztül

## Átlevegőztetett rendszer



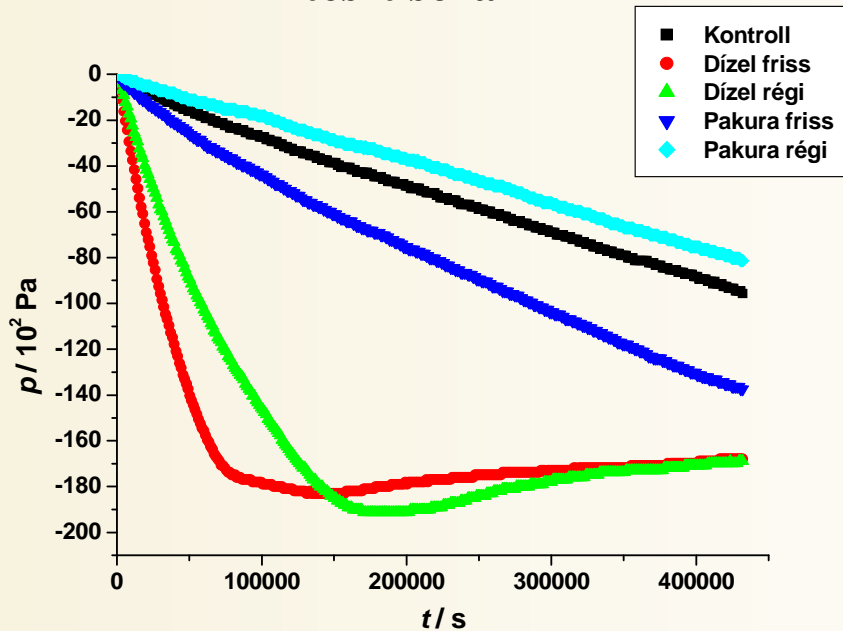
CO<sub>2</sub> termelés követése titrálással  
5 napon át napi 1 óra  
a légzési folyamatok durva  
jellemzésére

### ***Megállapítható:***

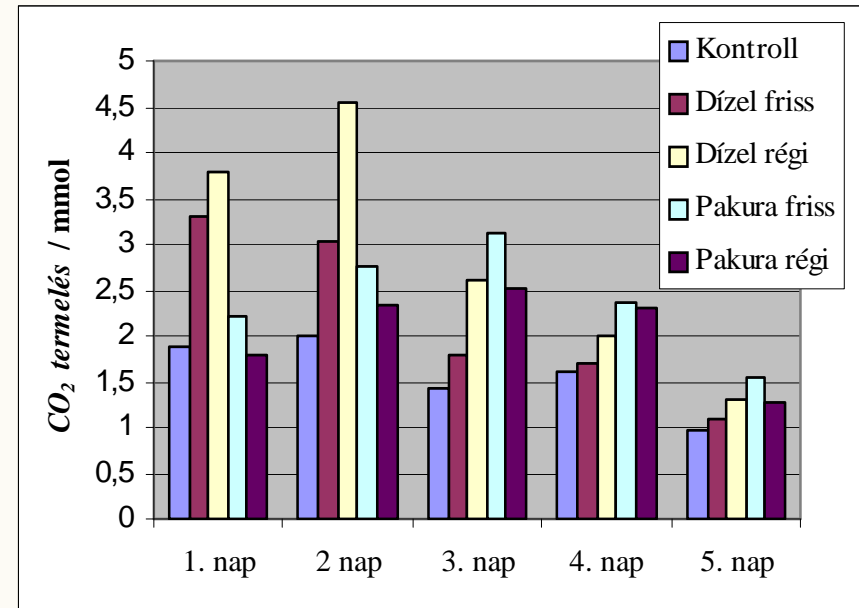
Toxikus hatású-e a szennyezőanyag,  
Gátolja-e a mikrobák működését,  
Adaptálódott-e a mikroflóra, és aktívan működik-e,  
Aktiválható-e a mikroflóra,  
Ha aktiválható, akkor milyen technológiai paraméterek  
szükségesek az optimális működéshez



**Nyomáscsökkenés az 5 napos zárt palack teszt során**



**A termelt  $\text{CO}_2$  mennyisége a levegőztetett talajoknál**



**A frissen szennyezett talajban gyorsabban bontják a szennyezőanyagot a mikrobák, mint a régebben szennyezett talajban**

**A dízelolaj sokkal gyorsabban és könnyebben bontható a nagy molsúlyú pakurakomponenseknél**



*Folsomia candida*  
(Collembola): Akut, egy  
fajt alkalmazó teszt

A szennyezőanyagok környezetre  
gyakorolt ökológiai hatását  
tanulmányozhatjuk

érzékeny reakció a talajgőzökre  
dermális érintkezés a vizsgálandó talajjal

A minta hígításaiból az  $LC_{20}$ -at és  $LC_{50}$ -et –  
a 20 és az 50%-os pusztulást okozó  
koncentrációt vagy dózist ( $LD_{20}$  és  $LD_{50}$ ) –  
lehet meghatározni



The Cyclodextrin Company

**A mikrobiális  
tevékenység  
hatására nő a  
szennyezőanyagok  
hozzáférhetősége  
(feltáródás) és  
megindul a  
lebomlás.  
Az előbbi a  
toxicitás  
növekedését, az  
utóbbi csökkenését  
okozza.**

Minta	LD <sub>20</sub>	LD <sub>50</sub>	Jellemzés
<i>Kiindulási</i>			
Dízel friss	0,84	1,64	<b>Nagyon toxikus</b>
Dízel régi	0,86	2,52	<b>Nagyon toxikus</b>
Pakura friss	0,28	2,93	<b>Nagyon toxikus</b>
Pakura régi	2,60	9,80	<b>Toxikus</b>
<i>Levegőztetett</i>			
Dízel friss	1,19	1,53	<b>Nagyon toxikus</b>
Dízel régi	1,27	1,77	<b>Nagyon toxikus</b>
Pakura friss	1,61	5,25	<b>Toxikus</b>
Pakura régi	4,17	13,44	<b>Toxikus</b>
<i>Zárt palack teszt</i>			
Dízel friss	1,19	1,53	<b>Nagyon toxikus</b>
Dízel régi	1,36	2,18	<b>Nagyon toxikus</b>
Pakura friss	2,44	5,42	<b>Toxikus</b>
Pakura régi	8,40	12,70	<b>Toxikus</b>



### Módszer

- ✧ Ultrahanggal segített extrakció
- ✧ Ülepítés
- ✧ Vizes oldatok esetén szilárd fázisú extrakcióval vízmentesítés, elúció hexán-aceton 2:1 eleggyel
- ✧ Gázkromatográfia

FID detektor, He vivőgáz

*Hőfokprogram:* A kolonnát 50 ° C-on tartjuk 3 percig, majd 315°C-ra fűtjük 10 °C/min-es felfűtési sebességgel, 12 percig tartjuk

*Injektor/ Detektor hőmérséklete:* 325°C/325°C

Splitless, 0,5 min

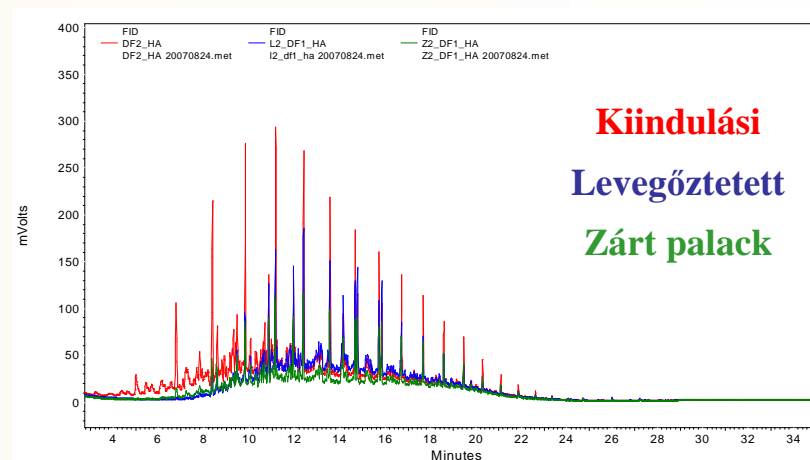




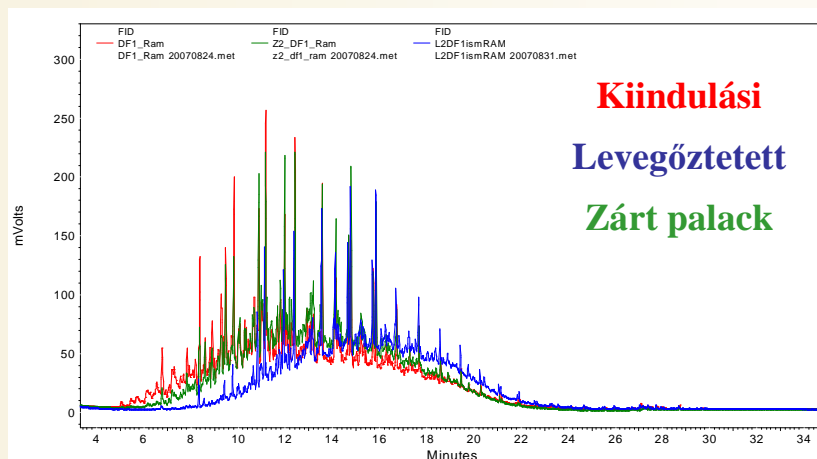
RAMEB-oldatos extraktum  
móltömegtartománya szélesebb, mint  
a HPBCD-vel készülté

HPBCD-oldat szelektívebb  
extrahálószer

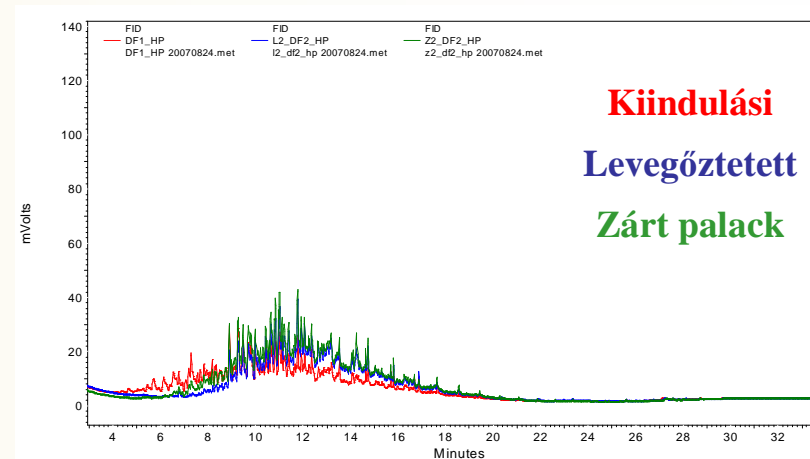
A kezelések hatására a kisebb C-  
atomszámoknál fogyás, míg a  
nagyobbaknál dúsulás figyelhető meg



Hexán-aceton 2:1 eleggyel

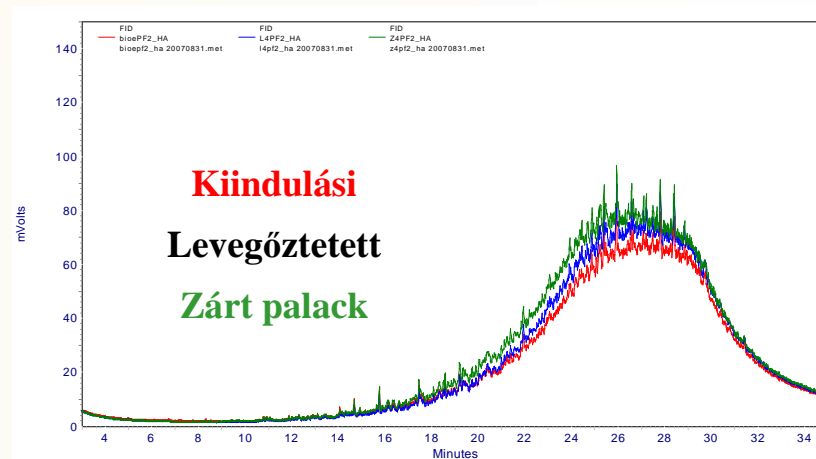


RAMEB -oldattal

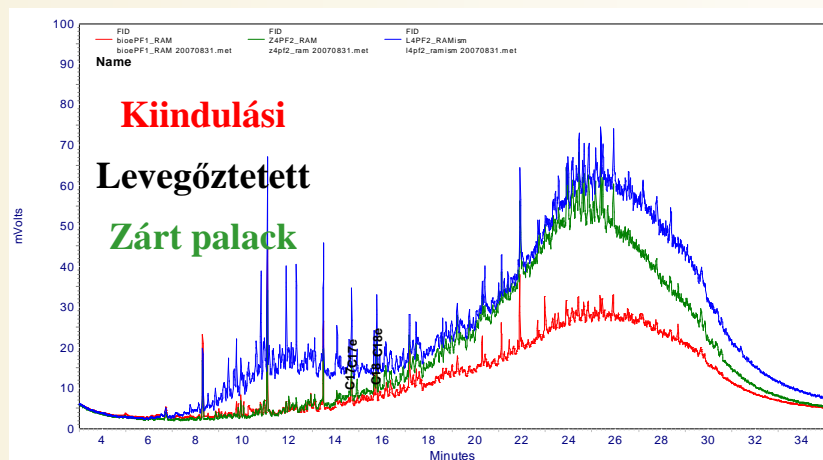


HPBCD -oldattal

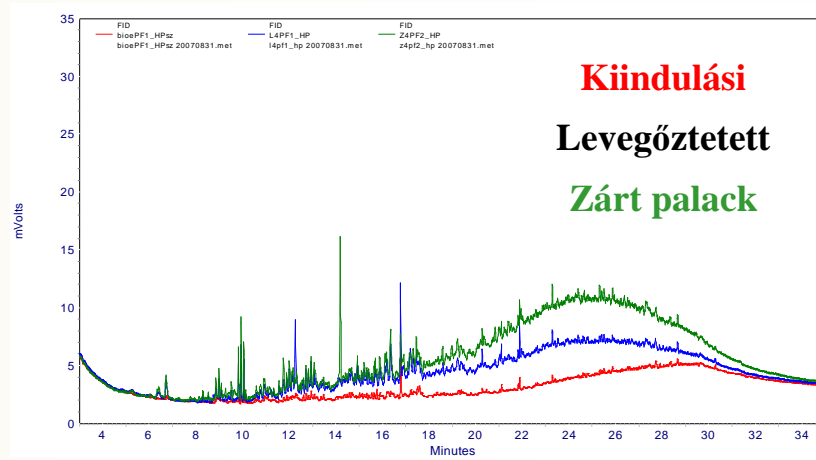
## Kromatogramok minőségi értékelése II.



Hexán-aceton 2:1 eleggyel



RAMEB -oldattal

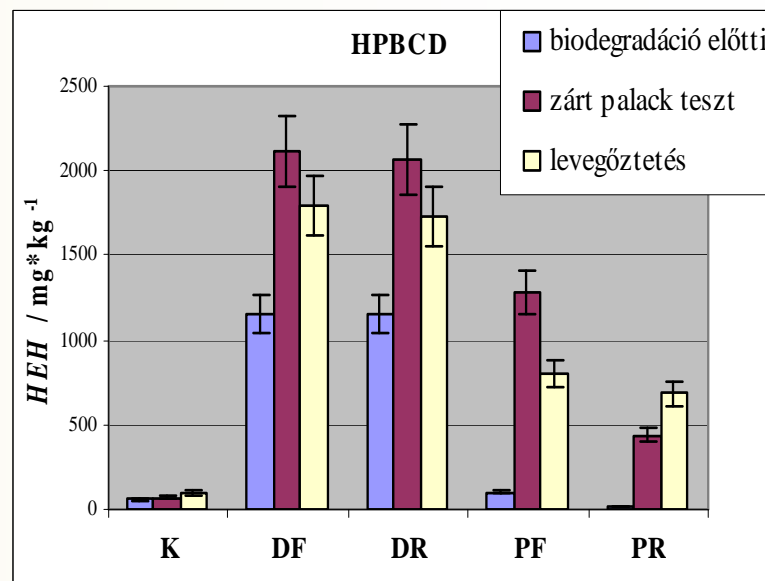
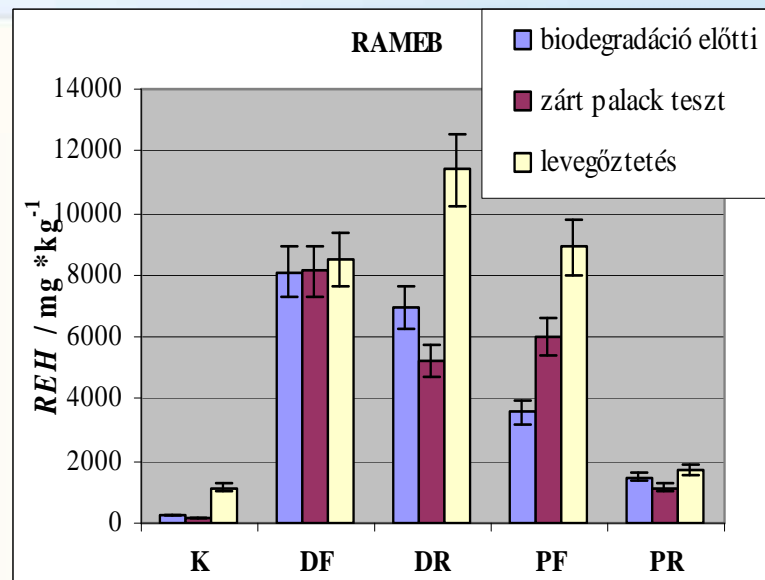
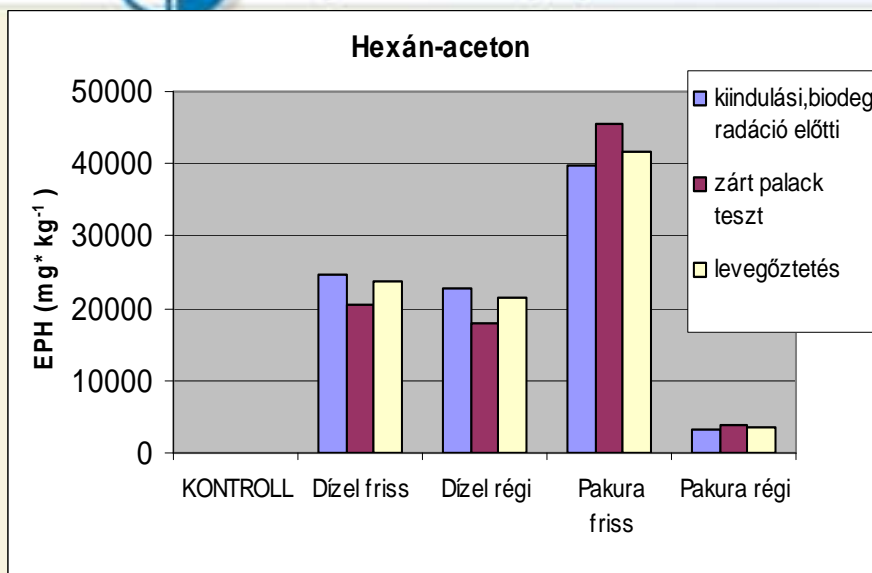


HPBCD -oldattal



The Cyclodextrin Company

# Extrakció szerves oldószerrel és vizes ciklodextrin oldatokkal



**REH: RAMEB-oldattal extrahálható szénhidrogén-tartalom**

**HEH: HPBCD-oldattal extrahálható szénhidrogén-tartalom**

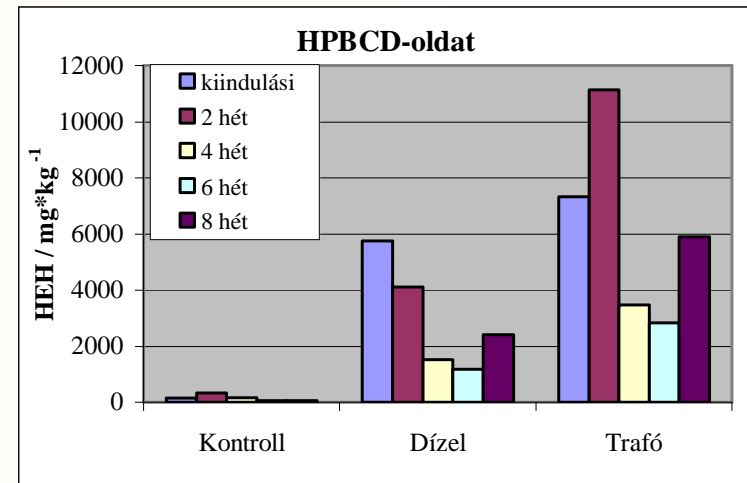
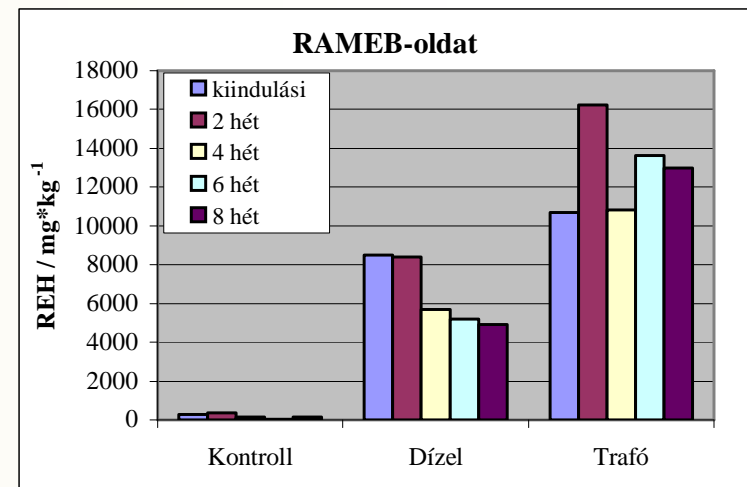
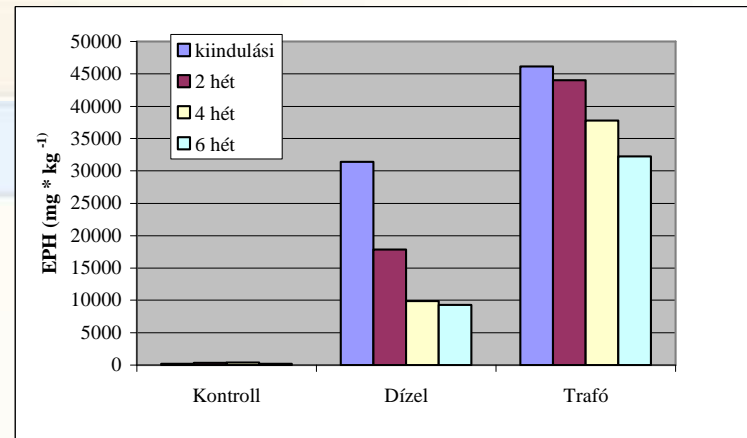


Szennyezőanyag	Aerob heterotróf sejtek	Olaj degradáló sejtek	Toxicitás by <i>Folsomia candida</i> letalitási teszt	HEH/EPH (HPBCD)	REH/EPH (RAMEB)
	CFU *10 <sup>6</sup> /g talaj	*10 <sup>4</sup> sejt/g talaj	LD <sub>50</sub> (g talaj)	(%)	(%)
Kontroll	298	0.93			
Dízel olaj friss	8831	210	1.64	5,7	33,3
Dízel olaj régi	6048	2100	2.52	5,1	31,2
Pakura friss	1263	93	2.93	0.8	9,1
Pakura régi	750	39818	9.80	0.6	4,6



The Cyclodextrin Company

# Hat hetes biodegradációs kísérlet dízelolajjal és transzformátorolajjal szennyezett talajjal





The Cyclodextrin Company

## A transzformátorolajjal szennyezett talajban

### mért kémiai és biológiai paraméterek



	<i>EPH</i>	<i>REH</i>	<i>HEH</i>	<i>SEM</i>	<i>Olajbontó sejtszám</i>	<i>Talajlégzés Zárt palack</i>	<i>Talajlégzés oszlopreaktor</i>
<i>EPH</i>	<i>1,0000</i>						
	<i>p= ---</i>						
<i>REH</i>	<i>-0,0177</i>	<i>1,0000</i>					
	<i>p=0,982</i>	<i>p= ---</i>					
<i>HEH</i>	<i>0,8617</i>	<i>0,4913</i>	<i>1,0000</i>				
	<i>p=0,138</i>	<i>p=0,509</i>	<i>p= ---</i>				
<i>SEM</i>	<i>0,9868</i>	<i>-0,0378</i>	<i>0,8354</i>	<i>1,0000</i>			
	<i>p=0,013</i>	<i>p=0,962</i>	<i>p=0,165</i>	<i>p= ---</i>			
<i>Olajbontó sejtszám</i>	<i>0,9018</i>	<i>0,3431</i>	<i>0,9659</i>	<i>0,8440</i>	<i>1,0000</i>		
	<i>p=0,098</i>	<i>p=0,657</i>	<i>p=0,034</i>	<i>p=0,156</i>	<i>p= ---</i>		
<i>Talajlégzés - zárt palack teszt</i>	<i>0,7109</i>	<i>0,6808</i>	<i>0,9606</i>	<i>0,7062</i>	<i>0,8620</i>	<i>1,0000</i>	
	<i>p=0,289</i>	<i>p=0,319</i>	<i>p=0,039</i>	<i>p=0,294</i>	<i>p=0,138</i>	<i>p= ---</i>	
<i>Talajlégzés - oszlopreaktor</i>	<i>-0,4428</i>	<i>-0,6827</i>	<i>-0,7152</i>	<i>-0,5148</i>	<i>-0,5100</i>	<i>-0,8607</i>	<i>1,0000</i>
	<i>p=0,557</i>	<i>p=0,317</i>	<i>p=0,285</i>	<i>p=0,485</i>	<i>p=0,490</i>	<i>p=0,139</i>	<i>p= ---</i>



## Összefoglalás

- ❖ *A biológiai hozzáférhetőség modellezése „nem kimerítő” extrakció vizes ciklodextrin oldatokkal*
- ❖ *Jó korreláció a biológiai tesztek eredményeivel*
- ❖ *A CD-k a kisebb C-atomszámú komponenseket extrahálják jobban, különösen a HPBCD*
- ❖ *Megállapítottam:*
  - ❖ *a HPBCD-oldatos extrakció alapján becsülhető a biológiailag elérhető szennyezőanyag-frakció a mesterségesen ill. a szennyezett területről származó régóta szennyezett talajok esetén*
  - ❖ *Alkalmas a folyamatok követésére: lehetővé teszi a hozzáférhető szennyezőanyag koncentrációja, megindult a mikrobiológiai lebontás a kezelések hatására*



***KÖSZÖNÖM  
A FIGYELMET!***