

**Magyar**

**Kémiai Folyóirat**

**Kémiai Közlemények**

124. ÉVFOLYAM, 2018

**3**

**A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata**  
**A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei**  
Magyar Kémiai folyóirat 124. évfolyam, 3. szám 89-148. oldal, 2018

## Útmutatás szerzőknek

A Magyar Kémiai Folyóirat fő feladata egyrészt a magyar kémiai szaknyelv folyamatos ápolása, s a kémiai tudomány fejlődéséhez, az aktuális tudományos újításokhoz alkalmazása, egyidejűleg a minél teljesebb körű szakmai információ-csere késedelem nélkül biztosítása, s az, hogy magas szakmai színvonalon tegye hozzáférhetővé az érdeklődők számára a hazai és külföldön élő magyar kémikusok kiemelkedő tudományos kutatási eredményeit, sikereit és mutassa be a kémiai tudományok világszerte bekövetkező fejlődését, változását, a kémia legfrissebb vívmányait, alkalmazásait, az érdeklődés gyújtópontjába kerülő területeit, másrészt, hogy segítséget nyújtson következő kémikus nemzedékeknek a kémiai tudomány anyanyelven való megismeréséhez, a kémiai ismeretek, fogalmak szakmailag helyes és pontos magyar nyelvű kifejezéseinek megtanulásához.

A Magyar Kémiai Folyóirat negyedévenként jelenik meg. Eredeti magyarnyelvű közleményeket – az alább megadott, szigorúan korlátozott terjedelemben, a nemzetközi tudományos folyóiratok átlagos színvonalát elérő munkák esetén – jelentet meg, előnybe részesítve fiatal kutatók első önálló közleményeit. Összefoglaló cikkeket közöl (felkérés alapján) hazai kiemelkedő teljesítményű kutatóműhelyek hosszabb idő alatt elért eredményeiről, hazai nemzetközi konferenciákról, a nemzetközi érdeklődés gyújtópontjába került kutatási területekről, bemutató a friss eredményeket, fejlődési irányokat, s ha van, a hazai hozzájárulást, külföldön élő, sikeres magyar származású vegyész-kutatók munkájáról, a szomszédos országokban, határainkon kívül működő magyar kémikusok közzétételre érdemes tudományos eredményeiről. Helyet kapnak a folyóiratban könyvismertetések, kémiai és rokontárgyú kiadványokról. Külön rovatként közli a korábban már a Magyar Kémiai Folyóirat-ba beolvadt Kémiai Közlemények profiljából átvéve akadémiai székfoglalók, MTA doktora címért megvédett értekezések és PhD-dolgozatok összefoglalóit és akadémiai fórumokon elhangzott egyes előadások rövidített változatát. Idegen nyelven már közzétett cikkek másod-közlését a folyóirat nem vállalja. Terjedelem túllépést csak a szerkesztőbizottság hozzájárulásával, a többlet terjedelem megváltása ellenében fogad el.

Az egyes közlemény-fajták térítésmentesen, szerkesztőbizottsági hozzájárulás nélkül kitölthető terjedelme (nyomtatott oldalak):

1. Összefoglaló közlemények a) jelentős, aktuális kutatási terület legújabb nemzetközi eredményeiről: max. 8 + 1 oldal angol nyelvű kivonat, b) kiemelkedő hazai kutatóhelyek újabb eredményeiről, ill. c) külföldön alkotó magyar származású kiemelkedő elismertségű kutatók munkásságáról: max. 6 + 1 oldal angol nyelvű kivonat.

2. Eredeti közlemények: új tudományos eredményeket bemutató, lektorált magyar nyelvű közlemények: max. 4 + 1 oldal angol nyelvű kivonat. Előnyt élveznek fiatal kutatók (pl. kiemelkedő PhD értekezések összefoglalója) és határon túli magyar kutatók munkái.

3. A "Kémiai Közlemények" rovatban a) Akadémiai székfoglaló előadások rövidítve és b) MTA Doktora védések anyagának összefoglalói: max. 4-4, továbbá c) a Szerk. Bizottság, vagy az MTA Kémiai Tud. Osztálya által kiválasztott és az Osztály szervezésében elhangzott előadás összefoglalója: max. 2 oldal + féloldalas angol nyelvű kivonat.

4. Könyvismertetés: max. fél oldal.

A megadott maximális terjedelemtől esetenként a Szerkesztő Bizottság - a költség-többlet szerző általi megtérítése ellenében - hozzájárulhat.

A papír-alakú bírálatokat a következő címre kérjük eljuttatni: 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4, BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Szerves Kémia Csoport, Huszthy Péter szerkesztő.

Az ELTE címet (ebben a formában: Magyar Kémiai Folyóirat, főszerkesztő, c/o ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1528 Budapest 112., Pf. 32.) csak akkor használják, ha kimondottan a főszerkesztőnek szóló levélről van szó (pl. reklamáció - mondjuk elfogult bírálat, plágium, etc. esetében).

Az irodalmi hivatkozásoknál a DOI számokat is kérjük feltüntetni.

A kézirat elkészítését segítő mintafájlt, valamint a részletes formai követelményeket a folyóirat honlapján találja meg:

<http://www.mkf.mke.org.hu>

**Magyar Kémiai Folyóirat**  
**HUNGARIAN JOURNAL OF CHEMISTRY**  
 és  
**MTA Kémiai Közlemények**

A Magyar Kémikusok Egyesületének lapja

Megindította Than Károly 1895-ben

**Főszerkesztő:** Sohár Pál

**A szerkesztőbizottság tagjai:**

Baranyai András, Felinger Attila, Gelencsér András,  
Keglevich György, Szilágyi László, Wölfling János

**Szerkesztő:** Huszthy Péter

**Vendégszerkesztő:** Keglevich György

**Technikai szerkesztő:** Molnár István

**TARTALOMJEGYZÉK**

*Keglevich György:* Bevezető ..... 91

**KÖZLEMÉNYEK**

*Poppe László, Nagy József, Hornyánszky Gábor:*  
A szintetikus kémiától az enzimtechnológiáig – A  
Bioorganikus Kémiai Kutatócsoport bemutatása ... 93

*Tömösközi Sándor, Németh Renáta, Roznár Petra,  
Denisse Bender, Jaksics Edina, Turóczy Fanni, Török  
Kitti, Regine Schönlechner:* A sikérfehérjéket nem  
tartalmazó (gluténmentes) termékek táplálkozási  
és technológiai minőségének fejlesztése..... 101

*Dorkó Zsanett, Szakolczai Anett, Horvai György:*  
Szelektív adszorpció molekuláris lenyomatú  
polimereken ..... 108

*Mátravölgyi Béla, Hergert Tamás, Thurner Angelika,  
Faigl Ferenc:* Az 1-aryl-1H-pirrolok kémiája: alapváz  
funkcionalizálástól az enantioszelektív  
fémorganikus katalízisig ..... 113

*Nyíri Kinga, Leveles Ibolya, Nagy Gergely Nándor,  
Vértessy G. Beáta:* Szerkezeti biológiai kutatások  
röntgenkristallográfiai alapokon a BME VBK  
ABÉT Biostruct laboratóriumban ..... 121

**CONTENTS**

*György Keglevich:* Introduction ..... 91

**PAPERS**

*László Poppe, József Nagy, Gábor Hornyánszky:*  
From synthetic chemistry to enzyme engineering –  
Introduction of the Bioorganic Chemistry Group ..... 93

*Sándor Tömösközi, Renáta Németh, Petra Roznár,  
Denisse Bender, Edina Jaksics, Fanni Turóczy,  
Kitti Török, Regine Schönlechner:* Development  
of nutritional and technological quality of gluten  
free products ..... 101

*Zsanett Dorkó, Anett Szakolczai, György Horvai:*  
Selective adsorption on molecularly imprinted  
polymers ..... 108

*Béla Mátravölgyi, Tamás Hergert, Angelika Thurner,  
Ferenc Faigl:* Chemistry of 1-Aryl-1H-Pyrroles: from  
Functionalization of 1-Arylpyrrole Backbone to  
Enantioselective Organometallic Catalysis ..... 113

*Kinga Nyíri, Ibolya Leveles, Gergely Nándor Nagy,  
G. Beáta Vértessy:* Structural biology studies at  
the BME Biostruct Laboratory by X-ray  
crystallography ..... 121

*Szilágyi Imre Miklós*: Atomi réteg leválasztás a nanotechnológiában ..... 127

*Németh Áron, Fehér Csaba, Jobbágy Andrea, Molnár Mónika*: Környezettechnológiai kutatások a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi Tanszéken ..... 135

*Kállay-Menyhárd Alfréd, Kirschweg Balázs, Hári József, Polyák Péter, László Krisztina, Hórvölgyi Zoltán, Albert Emőke, Kubinyi Miklós, Gyarmati Benjámín, Szilágyi András, Kállay Mihály*: Kutatómunka a BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszékén ..... 142

*Imre Miklós Szilágyi*: Atomic layer deposition in nanotechnology ..... 127

*Áron Németh, Csaba Fehér, Andrea Jobbágy, Mónika Molnár*: Researches on environment technologies ..... 135

*Alfréd Kállay-Menyhárd, Balázs Kirschweg, József Hári, Péter Polyák, Krisztina László, Zoltán Hórvölgyi, Emőke Albert, Miklós Kubinyi, Benjámín Gyarmati, András Szilágyi, Mihály Kállay*: Research activity at the Department of Physical Chemistry and Materials Science ..... 142

### Erratum

Sajnálatos módon csak a megjelenés után derült ki, hogy Hegedűs László és Hell Zoltán

"Folyadékfázisú, heterogén katalitikus reakciók alkalmazása szerves kémiai szintézisekben" című közleményébe a tördelés során néhány sajtó hiba került.

A kéziratba a szerzők által beírt elválasztójelek több esetben, áttördelés után is bennmaradtak, a Celsius fok és az Angström jele helyett négy-négy helyen pedig más karakter szerepel. A hibákért elnézést kérünk.

## Bevezetés a Magyar Kémiai Folyóirat Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME) Vegyészmérnöki- és Biomérnöki Kara (VBK) kutatási tevékenységét bemutató célszámaihoz

Egy évtized elteltével ismét felvetődött, hogy BME VBK számot adjon újabb fontos kutatási eredményeiről. Az öt tanszék oktatói/kutatói (köztük frissen végzett PhD-sok) önként jelentkeztek a bemutatkozásra. Végül olyan komoly volt az érdeklődés, hogy két számot megtöltenek a cikkek. Az alábbiakban a tanszéki kutatások jellemző területeit foglaljuk össze.

Az Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi tanszéken kilenc kutatócsoport működik (zárójelben a vezetők neve): Biokémia és Molekuláris Biológia Laboratórium (Szarka András), Genom-metabolizmus és DNS javítás - Biostruct Labor (Vértessy Beáta), Biofinomító Kutatócsoport (Fehér Csaba), F-Labor: fermentációs technológiák (Németh Áron), Gabonatudományi és Élelmiszermínőség Kutatócsoport (Tömösközi Sándor), Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoport (Molnár Mónika), NIR Spektroszkópia Csoport (Salgó András), Sejtciklus és Genomika (Sveiczter Ákos), Szennyvíztisztítási Biotechnológiák Kutatócsoport (Jobbágy Andrea). Jelentős kurrens technológiai eredményeink: új élelmiszeralitikai rendszerek és technológiák fejlesztése (Tömösközi S.), nagyüzemi szennyvízkezelési újítások mérnöki tervezése (Jobbágy), komplex talaj-remediációs és ökotoxikológiai tesztrendszer kialakítása (Molnár), és fermentációs technológiák fejlesztése (Fehér, Németh). A NIR sokrétű alkalmazásait vezette be Salgó csoportjával együtt a gyógyszeripari készítmény technológiába is. Szarka tanítványaival a sejthalál útvonalak és az oxidatív stressz összefüggéseit tárta fel, és fényt derített az aszkorbát specifikus rákellenes hatásában fontos szerepet játszó tényezőkre. Sveiczter az élesztő-szaporodás méreteloszlásának kvantitatív modelljét közölte. Vértessy és munkatársai felfedezték a genomi integritásban fontos dUTPáz enzim eddig ismeretlen fehérje-inhibitorát, és kvantitatív módszert dolgoztak ki a DNS-beli uracil eloszlás meghatározására.

A Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék utóbbi öt évének – gyakorlati szempontból is – legfontosabb eredményei a következők. Sikerült olyan ultravékony, kolloidszerkezetű bevonatokat fejleszteni polikarbonát hordozókon, amelyek számottevően növelik a hordozó fényáteresztését, és ezt a tulajdonságukat a felhasználás során is megőrzik. Szintetikusan előállított poliaszparaginsav származékokból változatos kémiai szerkezetű polimereket és géleket állítottak elő, melyek felhasználásával célzott hatóanyag-leadó rendszerek (transzdermális és orális adagolású készítmények) fejleszthetők. Az Institut Laue-Langevinnel szoros együttműködésben, a grafén-oxidok és szén aerogélek módosításainak, illetve azok alkalmazási lehetőségeinek (fehérjemegkötés, üzemanyagcellák oxigénredukciós reakciója) terén értek el eredményeket. Kiterjedten vizsgálták szerves festékek foto-fizikai és fotokémiai tulajdonságait, új típusú fluoreszcens jelölőanyagokat fejlesztettek ki. Tanulmányozták polimerek kristályszerkezetének és tulajdonságainak kapcsolatrendszerét, a felhasználás szempontjából előnyös tulajdonságú termékek tervezése céljából. Javították a többkomponensű polimer rendszerek tulajdonságait oly módon, hogy azonosították, majd megváltoztatták a domináns tönkremeneteli folyamatokat. Olyan nano-méretű töltőanyagot tartalmazó kompozitokat fejlesztettek, melyeknek a nano-töltőanyag változatos kémiai jellemzői és nagy fajlagos felületének következtében egyedi funkcionális tulajdonságai vannak. A kutatási témák közül különösen fontos a különböző biokompatibilis polimerből készült szövettenyésztési vázanyagok (scaffoldok) fejlesztése és vizsgálata. Szintén jelentős eredményeket értek el a természetes alapú polimerek alkalmazhatóságának területén, ahol a nanokristályos cellulóz alkalmazhatóságát tanulmányozták.

A Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék kutatócsoportjai szoros ipari együttműködésben végzik kutató-fejlesztő tevékenységüket. A *Környezet és Folyamatmérnöki Kutatócsoport* a finomkémiai ipar hulladékvizeinek értéknövelő kezelésével, a vegyipari folyamatok életciklus elemzésével, szén-dioxid leválasztási eljárásokkal, integrált folyamattervezéssel és mikroalga tenyésztéssel és feldolgozással foglalkozik. Fontosabb megoldott ipari feladatok: mosóvizek és hulladék oldószerek kémiai oxigén igény értékének csökkentése desztillációval, vákuumbepárlás és membrános eljárásokkal, hulladék alkoholok abszolútizálása és kinyerése hulladékvizekből. A *Katalitikus Eljárások Kutatócsoport* elsődlegesen a homogén katalitikus szintézisteknikák környezetközpontú fejlesztésével, valamint a biomassza és a biomassza-alapú hulladékok átalakításával foglalkozik. Aktívabb és szelektívebb katalizátorokat fejlesztenek a ligandumszerkezet finomhangolásával környezetbarát oldószerekben. A katalitikus reakciókat in situ spektroszkópiával vizsgálják. A *Nagynyomású Műveletek Kutatócsoport* szuperkritikus fluidumok különféle elválasztásokban való hasznosításával foglalkozik. A *Radiokémia és Technológia Kutatócsoport* folyékony radioaktív hulladékok <sup>137</sup>Cs tartalmának elválasztására dolgozott ki eljárást, melynek alkalmazását a Paksi Atomerőműben már bevezették. További eljárásokat dolgoztak ki a radioaktív sűrítmények stroncium és kobalt radioizotóp tartalmának szelektív elválasztására, melyek alkalmazásra már a közeljövőben sor kerül. Az atomerőműből Dunába kibocsátott vízből transzurán izotópokat (americium, plutónium, urán), valamint lágy röntgensugárzó izotópokat határoznak meg akkreditált laboratóriumukban, az általuk kidolgozott eljárással. Az *Ipari Statisztikai Kutatócsoport* számos más kutatócsoporttal és vállalattal együttműködésben vett részt a folyamatok fejlesztése és optimalizálása terén. A minőségügyi statisztika és a kísérlettervezés módszertanát alkalmazva elérték, hogy a vállalatok a fejlesztési költségek döntő részét adó kísérletek számát lényegesen csökkentsék, valamint a mérési adatokban rejlő információkat a lehető legteljesebben kinyerjék.

A Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéken a fő kutatási irányok az alábbiak:

- Szervetlen és elemorganikus molekulák célzott szintézise, szerkezetük, reaktivitásuk tanulmányozása kombinált elméleti és kísérleti módszerekkel;
- Kémiai és bioszenzorok valamint nanoszenzorok fejlesztése és alkalmazásuk analitikai problémák megoldására;
- Elektrokémiai energiatároló rendszerek kutatása;
- Anyagtudományi fejlesztések és kapcsolódó analitikai (termikus, röntgen és elektronsugaras, továbbá AFM) vizsgálatok;
- Alkalmazott analitikai módszerek kidolgozása az elválasztástechnika (GC, HPLC, MS és MS-MS detektálás), atomspektroszkópia és nagyműszeres szerkezetfelderítés (NMR spektroszkópia) területein;
- Farmakokinetikai analitika;

Az utóbbi évek eredményei közül kiemelendők a nanorészecskék és vírusok kalibráció nélküli méret- eloszlásának és koncentrációjának meghatározására alkalmas 5-20 nm átmérőjű módosított arany nanopórusokon alapuló érzékelők kifejlesztése, illetve a nanopórusok kémiai módosításával szelektív (szilárdtest) ioncsatornák előállítása. Így sikerült a biológiai ioncsatornáknál több nagyságrenddel szelektívebb mesterséges ioncsatornákat előállítani  $\text{Ag}^+$  és  $\text{Cu}^{2+}$  ionokra. A zürichi ETH kutatóival együttműködve részletesen feltárták egy kisméretű és stabil, ám korábban ismeretlen alapmolekula a NaOCP sokoldalú kémiját. A Rennes-i egyetemmel együttműködésben foszfor helyettesített PAH-ok átfogó vizsgálatát végezték el, és a megfelelően módosított vegyület felhasználható fehér OLED készítésére. Az aggregáció indukált emisszió tanulmányozására előállított szilolid anionok között sikerült az első sík szerkezetű, aromás szilolid előállítása.

A Szerves Kémia és Technológia Tanszéken öt nagyobb és több kisebb kutatócsoport működik. A főbb területek a következők (zárójelben a csoportvezetők neve):

- Biológiai aktív N-heterociklusok (Hazai László)
- Makrociklusok és szupramolekuláris kémia (Huszthy Péter)
- Optikai izomerek elválasztása/ enantioszelektív szintézisek (Fogassy Elemér és Faigl Ferenc)
- Poláris fémorganikus kémia (Faigl Ferenc)
- Foszfor-organikus kémia (Keglevich György)
- Heterogén katalitikus reakciók (Hegedűs László és Hell Zoltán)
- Biokatalitikus reakciók (Poppe László)
- Környezetbarát kémia (Keglevich György)
- Gyógyszerkészítmények technológiája (Marosi György)
- Polimer kompozitok – cellulóz/színezék (Marosi György és Víg András)

Közelmúltbeli ipari eredmények: Fogassy és kollegái a Tamsulozin és a Pregabalin reszolválását dolgozták ki. Faigl és munkatársai a Terbinafin és Ivabradin szintézisében alkalmaztak Li-organikus reagenseket. Hegedűs one-pot katalitikus hidrogénezést dolgozott ki egy nitrobenzol-származék ciklohexilaminná történő redukciójára. Hazai (néhai Szántay Csaba és Kalas György egykori kollegákkal együttműködésben) bisz-indolok ciklopropanálását fejlesztették ki. Keglevich és csoportja a Risedronsav és Zoledronsav racionális szintézisének kidolgozásában vállalt szerepet. Végül Marosi és Nagy csoportjukkal nanoszál és nanodiszperzió témában ért el jelentős eredményeket.

Keglevich György (vendég szerkesztő)  
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem  
Szerves Kémia és Technológia Tanszék

# A szintetikus kémiától az enzimmérnökségig – A Bioorganikus Kémiai Kutatócsoport bemutatása

POPPE László, NAGY József és HORNYÁNSZKY Gábor\*

*BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék, Műegyetem rkp. 3, 1111 Budapest, Magyarország*

## 1. Bevezetés

### 1.1. Történelmi áttekintés

A Szerves Kémia és Technológia Tanszék 2006-ben jött létre a Szerves Kémia Tanszék és a Szerves Kémiai Technológiai Tanszék egyesítésével. A két jogelőd tanszéket 1913-ban illetve 1938-ban alapították Zemlén Géza és Csűrös Zoltán vezetésével, akik korábban hosszú ideig dolgoztak együtt. A Szerves Kémia Tanszék munkatársa volt a nemrég elhunyt nobel díjas kémikus Oláh György is. Zemlén Géza úttörő tevékenységét jól mutatja, hogy már 1915-ben – hazánkban először - nagysikerű könyvet írt az enzimekről.

A Bioorganikus Kémia Kutatócsoport 2005-ben alakult meg Dr. Poppe László egyetemi tanár vezetésével. A csoport munkáját jelenleg kettő senior kutató, egy posztdok ösztöndíjas, 11 doktoráns és közel 30 hallgató segíti. A Csoportban az elmúlt években 3 doktori fokozat, számos szakdolgozat és diplomamunka született, valamint további 4-5 kolléga doktori védése a közeljövőben várható.

### 1.2. Kutatási háttér

A Tanszéken 220 m<sup>2</sup>-es jól felszerelt laboratórium áll a Csoport rendelkezésére, mely magában foglalja úgy a szintetikus munkák végzésére szolgáló berendezéseket, mind az enzimekkel kapcsolatos teendők ellátására alkalmas készülékeket. A Csoport munkáját 2 HPLC, 3 GC, 3 UV-VIS spektrofotométer, centrifugák és az áramlások kémia alkalmazására alkalmas eszközök segítik. Az enzimek modellezését megfelelő kapacitású számítógépeken tudjuk elvégezni a számításokhoz szükséges programcsomagok segítségével. Folyamatosan igyekszünk fejleszteni a rendelkezésre álló infrastruktúrát, különösen az enzimek testre szabásához szükséges berendezésekkel.

A Csoportunk jelenlegi tevékenységét számos korábbi kutatási projekt segítette elő. A 2008-2010 között lezajló FLOWREAC projektben a ThalesNano partnereként az áramlások technológiák és az enzimmögztítési módszerek fejlesztése állt a figyelem középpontjában (NKFP 07 A2 FLOWREAC, NKTH). A projekt eredményeként mind folytonos reakciók, mind az enzimmögztítések területén komoly „knowhow”-ra sikerült szert tenni.

Nemzetközi együttműködések is hozzájárultak az eredményességhez. A Babes-Bolyai Tudományegyetemen működő, Dr. Paizs Csaba professzor által vezetett kutatócsoporttal végzett közös kutatómunka eredményeként számos nem természetes -aminosav szintézise valósult meg szabad illetve különféleképpen rögzített fenilalanin ammónia-liáz és fenilalanin 2,3-aminomutáz enzimek (közismert nevükön MIO-enzimek) segítségével (OTKA NN-103242 2012-2015 és PN-II-ID-PCE-2011-3-0799). 2016 végén Dr. Poppe László vezetésével indult meg Kolozsvárott a négy évre elnyert „Nanoscale Enzyme Immobilization and Microfluidics for Systems Biocatalysis” projekt (NEMSyB, ID P37\_273, Cod MySMIS 103413). Dr. Poppe László professzor 2010-2012 között részt vett az EU COST (Actions „Cascade Chemoenzymatic Processes – New Synergies Between Chemistry and Biochemistry” CM 0701) projektjében, mely nagyban hozzájárult csoportunknak a biokatalízis terén meglévő tudása kiterjesztéséhez.

Az utóbbi években ipari szereplők partnereként két fontos KMR projektben is részt vettünk. Az „Új típusú, komplex kódolási eljárások alapuló biztonsági, eredet- és egyediségjelölő hamisítás elleni rendszerek kifejlesztése” című projektben (KMR 12-1-2012-0051, 2012-2015) a Pharmapress partnereként olyan anyagok kifejlesztésén dolgoztunk, melyeket folyékony vonalkódként lehet alkalmazni. Egy másik pályázat keretében a Fermentia Kft-vel közösen egy olyan berendezés kifejlesztésében vettünk részt, mely segítségével gyorsan és hatékonyan lehet rekombináns fehérjéket tisztítani. („Új hordozó család és automatizált módszerfejlesztő rendszer rekombináns fehérjék affinitás tisztítási technológiájának gyors kidolgozására”, KMR 12-1-2012-0140, 2013-2015.)

A molekulamodellezési kapacitásunk kiterjesztésében nagy segítségünkre volt a BME által elnyert TÁMOP pályázat („Új tehetséggondozó programok és kutatások a Műegyetem tudományos műhelyeiben”, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0009, 2011-2013), melynek keretében beszerzésre került egy szuperszámítógép. A nagyobb kapacitások kihasználásával lényegesen lerövidíthető a számításokra fordított gépidő.

Csoportunk szorosan együttműködik Dr. Vértessy G. Beáta tanszékvezető egyetemi tanár kutatócsoportjával (Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék) is a fehérjék kristályosítása és röntgenszerkezet-meghatározása területén.

\* Tel.: 463-2230 ; fax: 463-3297 ; e-mail: hornyanszky@mail.bme.hu

## 2. Kutatási tevékenység

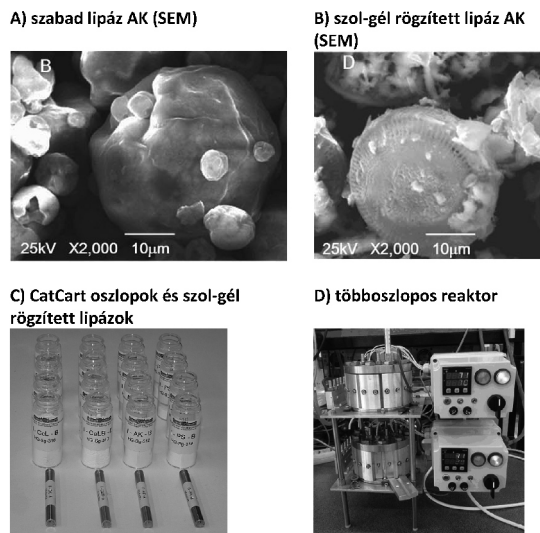
A Bioorganikus Kémiai Kutatócsoport aktivitása széles tartományt ölel át. Az új szintetikus eljárások kidolgozásától kezdve, melyek során általában biokatalízist<sup>1</sup> alkalmazunk sztereoselektív szintézisekhez,<sup>2</sup> a különböző enzimtisztítási és enzimrögzítési technikák kidolgozásán át, a szakaszos és folyamatos rendszerekben végzett enzim katalizálta reakciók vizsgálatán keresztül,<sup>3</sup> a számítástechnika segítségével végzett enzimtervezésig.<sup>4,5</sup> A csoportunk által leginkább tanulmányozott enzimek a lipázok és a MIO enzimeknek nevezett enzimcsaládok. Az utóbbi években az érdeklődésünket kiterjesztettük a ketoreduktázokra és a transzaminázokra is.

Az enzimek szerves makromolekulák, enyhe körülmények között működnek, nagy enantiomerszelektivitással rendelkeznek és könnyen lebonthatóak, ezért környezetbarát anyagok. Hatásuk megegyezik a hagyományos katalizátorokéval. Azonban van néhány nehézség a használatukkal kapcsolatban. Az enzimek általában érzékenyek a külső körülményekre (hőmérséklet, pH, oldószer, stb.), az enzimgátlást kifejtő szennyezőkre, általában kis koncentrációjú oldatokban lehet velük dolgozni (gyenge a volumetrikus hozamuk), gyakran még drágábbak a hagyományos kémiai katalizátoroknál és előfordul, hogy működésükhöz kofaktorra is szükség van. A fent említett nehézségek azonban nem leküzdhetetlenek. Megfelelő rögzítési módszerek alkalmazásával elérhető, hogy az adott enzim tág működési tartományban aktív maradjon, a folytonos technológiák alkalmazásával megnövelhető a volumetrikus hozam, a biotechnológia hihetetlen fejlődésének következtében pedig az enzimek előállításának költségei lassan vetekednek a közönséges kémiai katalizátorokéval. (Különösen, ha figyelembe vesszük az egyre szigorodó környezetvédelmi előírásokból adódó járulékos költségeket.) A rohamosan fejlődő számítástechnikai háttér segítségével egyre pontosabb képet kaphatunk az enzimek működési mechanizmusairól, lehetővé válva ezáltal akár speciális, az adott szubsztrátra tervezett enzimek létrehozása.

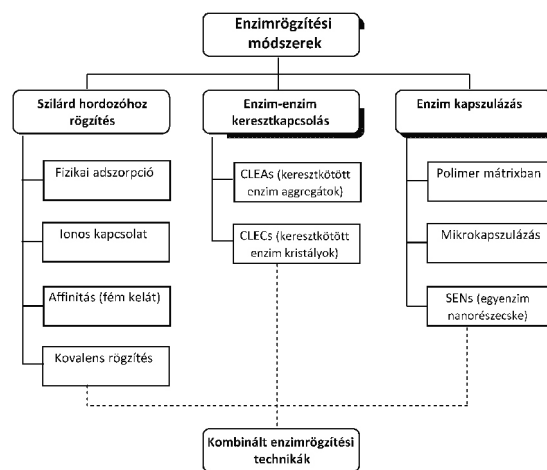
### 2.1. Enzimtisztítási és enzimrögzítési módszerek fejlesztése

A Kutatócsoport fő érdeklődési területe új enzimrögzítési technikák kifejlesztése és azok alkalmazhatóságának vizsgálata kinetikus rezolválások és enantiotóp szelektív biotranszformációk során, különösen a folyamatos átfolyós rendszerekben való alkalmazhatóság tekintetében (1. ábra). A már említett FLOWREAC projekt során rengeteg tapasztalatot szereztünk e témában, és a kutatásaink eredményeként, azóta is számos eredményt értünk el.

Az enzimek immobilizálása történhet szilárd hordozóhoz rögzítéssel, tárhálósítással illetve szerves vagy szervetlen polimer gélbe zárással. A fenti módszereken belül többfajta technikai megvalósítás létezik, illetve lehetséges az egyes módszerek kombinálása is (2. ábra).



1. Ábra. Folyamatos átfolyós reaktorokhoz használt enzimek (lipáz AK, lipáz PS, CcL, CaL B)

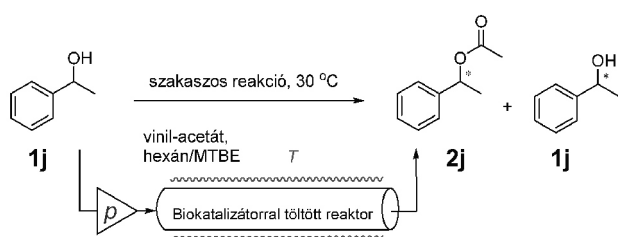


2. Ábra. Enzimrögzítési technikák bemutatása

Az enzimek szilárd hordozóhoz való rögzítése egyike azon eljárásoknak melyet az ipar is elsősorban alkalmaz. A módszer előnye, hogy a katalizátor könnyen szeparálható a termékektől és általában megnövekszik általa az enzim hő és pH stabilitása, valamint a katalizátor újrafelhasználhatóvá is válhat. A különböző szerves és szervetlen hordozók közül a csoportunk a mezopórusos szilikagél hordozók vizsgálatára fókuszált.<sup>6-8</sup> A szilikagél nagy fajlagos felülettel rendelkezik, relatív nagy pórusátmérője van (5-100 nm), ami megfelel az alkalmazott enzimek méretének. A felszín könnyen módosítható, ami lehetőséget nyújt a hordozó tulajdonságainak megváltoztatására. Lipázok esetén az adszorpciós rögzítés a leggyakrabban alkalmazott módszer, mert az eljárás nagyon egyszerű és nem igényli az enzimek módosítását. Ráadásul a felület módosításával kapott hordozók sikerrel alkalmazhatók az enzimszeparációs műveletekben is.<sup>6</sup> A fenti eljárással készült, felületmódosított szilikagél hordozót sikerrel alkalmaztuk az 1-feniletanol kinetikus rezolválása során (3. ábra). Az aminoalkil funkció csoportokat különböző biszopoxidokkal reagáltatva további variációs lehetőségek nyílnak meg.<sup>9</sup> Számos felületmódosított szilikagél hordozót vizsgáltunk



meg szisztematikusan a *Candida antartica*-ból (CaL A és CaL B),<sup>6</sup> a *Rhizomacor miehei*-ből (RmL) és a *Thermomyces lanuginosus*-ból (TIL)<sup>7</sup> származó lipázok rögzítésére hidrofób adszorpciós metodikát használva. A vizsgálatok eredményeként több új, különböző aktivitású és enantioszelektív biokatalizátor kifejlesztése történt meg. Sikeresen alkalmaztunk általunk kifejlesztett hordozókat Cal B enzim elválasztására másik lipáz enzim mellől, illetve a nyers fermentléből is. Ezen tapasztalatok megerősítették, hogy a hidrofób adszorpciós technika hatékony és olcsó eljárás enzimek elválasztására is. A módszer használhatóságát bizonyítottuk azzal is, amikor a *Pseudozyma aphidis*-ből (PaL) származó lipáz enzimet rögzítettünk közvetlenül a fermentléből hatékony biokatalizátort nyerve egylépésben.<sup>6</sup> Az a tény, hogy az egyes enzimek esetében különböző módosítások szükségesek a hatékony biokatalizátorok előállításához rámutatott, hogy a rögzítés optimális körülményei nem jósolhatóak meg előre.<sup>6,7</sup> A legjobban teljesítő oktil- és fenil-módosított szilikagélekre rögzített Cal B enzimet átfolyós rendszerekben is sikerrel alkalmaztuk.<sup>8</sup>



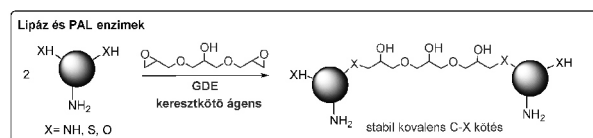
3. Ábra. 1-Feniletanol kinetikus rezolválása

Kutatócsoportunk összehasonlító vizsgálatokat végzett a hidrofób adszorpciós rögzítés és a kovalens rögzítés vonatkozásában.<sup>8</sup> Ennek során megállapítottuk, hogy a CaL B enzim esetében a mezopórusos szilikagél ideális hordozó mindkét módszer viszonylatában. Számos amin kinetikus rezolválásának vizsgálata során megállapítottuk, hogy az optimális immobilizálási módszer függ, mind a szubsztrát természetétől, mind az alkalmazott reakciókörülményektől.

Lipázok szol-gél rögzítése is egyszerű és hatékony módja, hogy megnöveljük a biokatalizátor mechanikus stabilitását és katalitikus aktivitását. A rögzítés során az enzim megőrzi a szelektivitását, azonban a hőstabilitása és az aktivitása szignifikánsan növekszik. Csoportunk különböző körülmények között tesztelt számos szol-gél rögzített enzimet.<sup>10-14</sup> A *Pseudomonas fluorescens*-ből (Lipáz AK) származó Celit hordozós lipáz enzim szol-gél rögzítését vizsgáltuk alkiltriethoxiszilánt (alkil-TEOS), feniltriethoxiszilánt (PhTEOS) és tetraethoxiszilánt (TEOS)<sup>12</sup> tartalmazó terner rendszerekben, és megállapítottuk, hogy legjobb eredményt az 1-feniletanol kinetikus rezolválásában a középhosszú láncot tartalmazó oktil-TEOS és perfluorooktil-TEOS tartalmú terner rendszerekkel érhetünk el. Dialkil-szubsztituált szilánok esetében azt találtuk, hogy a dimetildietoxiszilán (DMDEOS) használata mutatja a legjobb eredményt.<sup>14</sup> Számos enzim esetében tanulmányoztuk a „bioimprinting jelenséget”, mely során szubsztrátszerű molekulát juttatunk az enzim aktív

centrumába, melynek hatására az enzim felveszi az aktív konformációját, és ebben az állapotban végezzük el a szol-gél rögzítést. Ezt követően a segédmolekulát eltávolítjuk a rendszerből, viszont a rögzítés következtében az enzim az aktív konformációjában marad, megnövelve ezzel a kapott biokatalizátor aktivitását.<sup>13</sup> A „bioimprinting jelenséget” elektro spray technikával készített poli(vinil-alkohol) nanoszálban rögzített enzimekkel is tanulmányoztuk 8 különböző potenciális szubsztrátszerű anyagot tesztelve.<sup>15</sup>

Kutatócsoportunk elsőként mutatta be két különböző enzimes család esetében is, hogy az olcsó glicerindiglicidil-éter (GDE) előnyösen használható biszopoxid típusú keresztkötő ágensként térhálósított enzim aggregátumok (CLEAs) készítésekor.<sup>16</sup> A GDE alkalmazásával lipáz CLEAs készítésekor számos lipáz enzim (Lipáz AK, Lipáz PS, CaL B) esetében mutattuk ki, hogy az jobb eredményeket szolgáltat, mint a megszokott glutaraldehid (GA) alkalmazása. A módszert sikeresen alkalmaztuk a *Petroselinum crispum*-ból származó fenilalanin ammónia-liáz (PcPAL) esetében is (4. ábra).



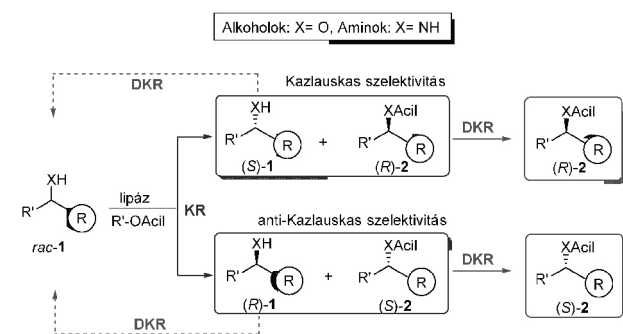
4. Ábra. Glicerindiglicidil-éter (GDE) mint jól használható keresztkötő CLEA-k létrehozásához

## 2.2. Kinetikus és dinamikus kinetikus rezolválások vizsgálata

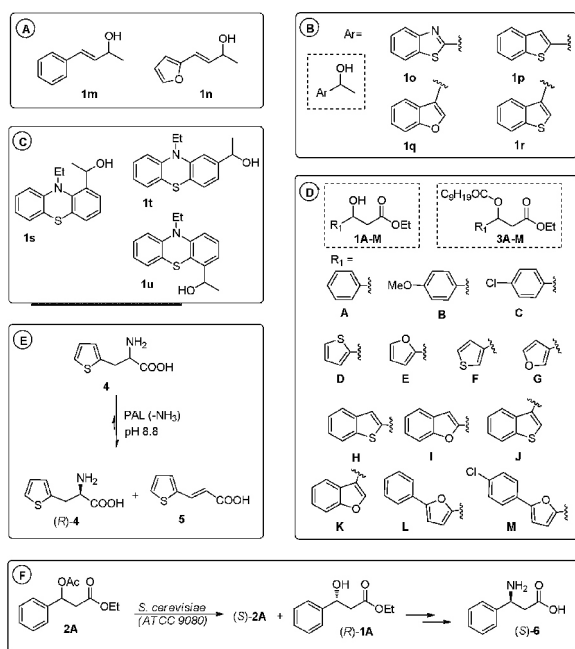
A királis intermedierek és finomvegyeszek nagyon fontos szerepet töltenek be a gyógyszeripar és a növényvédőszer gyártás folyamataiban. Számos multitonás ipari folyamat használ enzimatikus kinetikus rezolválást, a legtöbb esetben lipázokat, melyek jól tolerálják a különböző szubsztrátokat. Ebből a megfontolásból fordult kutatócsoportunk is az enzim katalizálta kinetikus rezolválások (KR) és dinamikus kinetikus rezolválások (DKR) fejlesztése felé (5. ábra). Kinetikus rezolválás során azt használjuk ki, hogy a jelenlévő két enantiomer közül csak az egyik reagál. A kialakuló termékben pedig már két különböző vegyülettípus (pl.: alkohol és észter, vagy amin és savamid) lesz jelen, aminek elválasztása lényegesen egyszerűbb. Azonban bármennyire is tökéletesen működik a módszerünk 50%-os konverzióval jobb átalakulást nem érhetünk el. Amennyiben sikerülne megoldani azt, hogy a visszamaradó enantiomer folyamatosan racemizáljon, abban az esetben akár a 100%-os konverzió is elérhető. Ez esetben beszélünk dinamikus kinetikus rezolválásról. Az enzimek nagy szelektivitásuk miatt célszerű választásnak tűnnek a KR és a DKR folyamatok katalizátorainak.

A különböző rezolválások tesztelése során elengedhetetlen, hogy gyors és hatékony elemzési módszer álljon rendelkezésre az adatok kiértékeléséhez. Ezért kutatócsoportunk kidolgozott egy enantioszelektív GC módszerrel alapuló multi-szubsztrát elemző módszert lipáz enzimek által végzett kinetikus rezolválásokhoz.<sup>17</sup>

Az elmúlt években számos alkohol, amin és aminosav kinetikus rezolválását valósítottuk meg jó termeléssel és enantiomertisztasággal. Néhány példa a 6. ábrán látható.<sup>16,18-22</sup>



5. Ábra. Aminok és alkoholok kinetikus (KR) és dinamikus kinetikus (DKR) rezolválási lehetőségeinek bemutatása



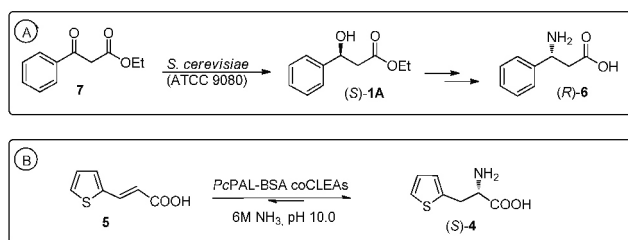
6. Ábra. Enzymekatalizált kinetikus rezolválások

Sikerrel alkalmaztuk a CaL B enzimet 1-feniletiamin kinetikus rezolválásában etil cianoacetátot használva acilezőszerként. Mindkét enantiomert sikerült nagy enantiomertisztaságban ( $ee > 98\%$ ) előállítani. (Az (S) enantiomert a visszamaradó (S) amin kémiai acilezése által nyertük.) Az enantiomerek felhasználásával tirozin kináz inhibitorokat állítottunk elő.<sup>23</sup> Különbözőképpen rögzített CaL B enzimet vizsgáltunk ecetsav, 2-metoxiecetsav és 2-etoxiecetsav izopropil észtereivel végzett amidálási reakciókban. Megállapítottuk, hogy az izopropil észterek minden mutatóban felülmúlják az etil észterek teljesítményét, mind szakaszos, mind folytonos eljárások esetében.<sup>24</sup>

### 2.3. Enantiotóp szelektív biotranszformációk

Akirális szubsztrátok enantiotóp felületére történő addíció során főként a termék egyik enantiomere keletkezik. Az etil 3-fenil-3-oxopropionát aszimmetrikus redukciója

*Saccharomyces cerevisiae* élesztőtörzs (ATCC 9080) segítségével tipikus példája ennek a biotranszformációnak (7A ábra).<sup>22</sup> A GDE alapú PAL/BSA (szarvasmarha szérumban albumin) társ-CLEA enzimszisztéma aktív biokatalizátor sztereoselektív ammónia addíciójában. E katalizátorral az (E)-3-(tiofén-2-il)akrilsavból enantiospecifikusan keletkezik az (S)-2-amino-3-tiofén-2-il)propionsav (7B ábra).<sup>16</sup> Ez utóbbi reakciót szén nanocsövekre rögzített PAL enzimmel is tanulmányoztuk mind szakaszos módban, mind folytonos átfolyós mikroreaktorban. A mikroreaktorban 60 °C felett 72 óra után sem tapasztaltuk az enzim aktivitásának csökkenését.<sup>25</sup>



7. Ábra. Enantiotópszelektív biotranszformációk

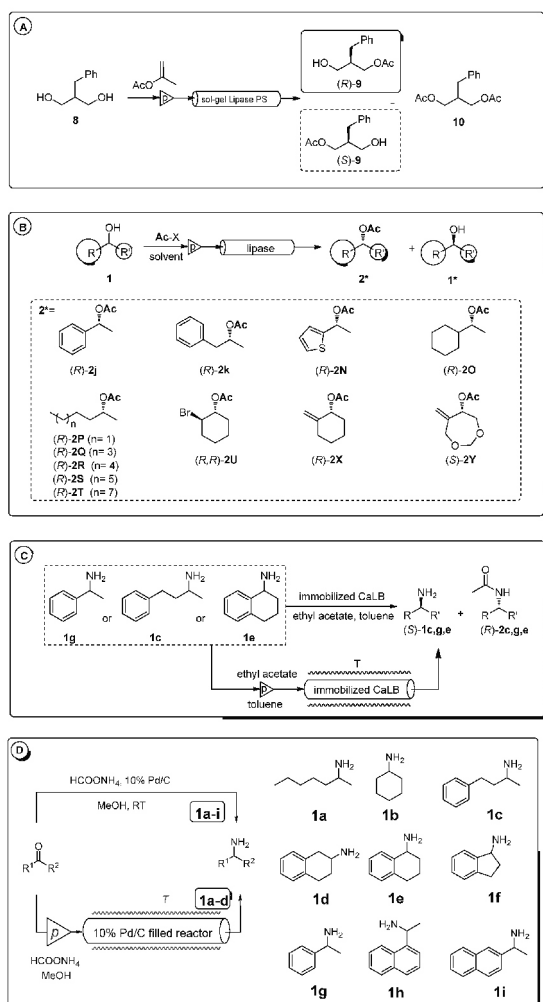
Elsőként számoltunk be *Wickerhamomyces subpelliculosus* törzs egészségjes biokatalizátorként való felhasználásáról prokirális ketonok sztereoselektív redukciójában kosubsztrátként glükózt felhasználva.<sup>26</sup>

### 2.4. Sztereoselektív biotranszformációk átfolyós reaktorokban

A folytonos átfolyós reaktorokban végzett reakciók nagy előnye, hogy egy adott időperiódusban viszonylag kis mennyiségű szubsztrát érintkezik nagy mennyiségű katalizátorral, ezáltal az átalakulás nagyon gyorsan megtörténik. A tartózkodási idő megfelelő megválasztásával a folyamat optimálható. Szerencsés esetben (100%-os konverzió) a reaktorból kizárólag a termék lép ki. Megfelelően rögzített enzimet töltve a reaktorba sztereoselektív folyamatok is végrehajthatók.

Prokirális diol aszimmetrikus acetilezését tanulmányoztuk folytonos átfolyós töltött reaktorban szolg-gél rögzített Lipáz PS katalizátor alkalmazásával (8A ábra).<sup>27</sup> Vizsgáltuk a hőmérséklet (0-60 °C) és az átfolyási sebesség 0,1-0,2 ml/perc) hatását a konverzióra és az enantiomertisztaságra. Számos racém alkohol kinetikus rezolválását vizsgáltuk folytonos átfolyós töltött reaktorban különböző lipáz katalizátorok alkalmazásával mind analitikai, mind preparatív léptékben (8B ábra).<sup>8,13,14,28,29</sup> A folytonos és a szakaszos technológiák összehasonlító elemzése alapján megállapítható, hogy a folytonos technológiák minden esetben nagyobb produktivitást eredményeztek, miközben az enantiomertisztaság hasonló volt.<sup>28</sup> Hasonló eredményekre vezettek a racém aminok körében végzett kinetikus rezolválások is (8C ábra).<sup>30,31</sup> Különböző módon rögzített CaL B enzim katalitikus hatását vizsgáltuk átfolyós reaktorban, és megállapítottuk, hogy a produktivitás és az enantiomertisztaság hőmérsékletfüggését mind a szubsztrát szerkezete, mind a rögzítés módja

befolyásolja. A vizsgálatokhoz felhasznált racém aminokat egylépéses redukív aminálással nyertük ketonokból. A reakciókat elvégeztük szakaszos és folytonos rendszerben is (8D ábra).<sup>32</sup> Megállapítottuk, hogy az olcsó cinkpor a leghatékonyabb katalizátor a benzil helyzetű karbonil vegyületek esetében és a 10%-os Pd/C katalizátor abban az esetben, ha a karbonil-csoport nincs konjugált rendszerben.



8. Ábra. Enzimkatalizált kinetikus reakciók folytonos átfolyásos reaktorban

## 2.5. Enzimek szerkezetének és hatásmechanizmusának tanulmányozása számítási kémia segítségével.

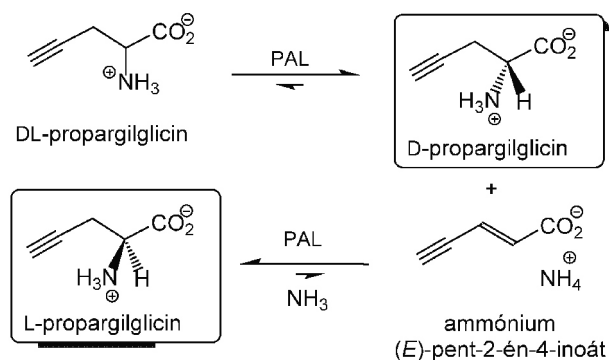
Kutatócsoportunkban a különböző enzimek kutatása során sikerrel alkalmaztuk az elméleti számításokat, úgy mint a homológia modellezést, a dokkolást, a molekuladinamikai és a QM/MM számításokat.

QM/MM módszerekkel vizsgáltuk a CaL B enzim működését heteroaromás etanolok acilezési reakciójában. A számítások segítségével sikeresen megjósolható a keletkező észter abszolút konfigurációja.<sup>19</sup>

A MIO enzimek közé tartozó PcPAL enzim röntgenszerkezetén alapuló részleges homológia modellezése során sikerült megszerkeszteni az alapvetően meghatározó tirozin tartalmú hurok katalitikusan aktív állapotú konformációját, és megállapítottuk, hogy a vizsgált röntgenszerkezetben az enzim inaktív állapotban van. Molekuladinamikai számítások segítségével felállítottunk egy hipotézist a C-terminális multihélix régióknak a tirozin-hurokra gyakorolt modulációs szerepére.<sup>33</sup> A *Rubrobacter xylanophilus* törzsből származó, extrém magas pH optimummal rendelkező RxPAL tulajdonságait alátámasztó magyarázatot adtunk homológia modellezés segítségével, lehetséges diszulfid hidak, kiterjedt sóhid formációk és megemelkedett felszíni negatív elektrosztatikus potenciál jelenlétét demonstrálva.<sup>34</sup>

A hisztidin, a fenilalanin és a tirozin ammónia-liázok (HAL, PAL és TAL) mindegyike katalizálja az ammónia eliminációját a post-transzlációs elektrofil proszteritikus csoportjuk (MIO) segítségével.<sup>35-37</sup> Két egymástól eltérő magyarázat született a reakció mechanizmusának magyarázatára az *N*-MIO illetve a Friedel-Crafts (FC) típusú intermedier feltételezve. Mindkét magyarázat közös pontja egy kovalens intermedier képződése. Ez a zárt szerkezetű aktív centrumban lehetővé tesz egy szisztematikus konformációs analízist. QM/MM módszerrel végzett összehasonlító elemzés segítségével kimutattuk, hogy a TAL enzim esetén a lehetséges kovalens intermedierek vonatkozásában az *N*-MIO intermedier energiája kb. 140 kcal/mol-lal alacsonyabb, mint a jobb FC állapoté.<sup>4,38</sup> A kapott eredmények teljesen összevágtnak a PcPAL szerkezetén végzett ligandum dokkolási és konformációs analízis számításokkal.<sup>39</sup> Kutatásaink során először mutattunk rá a Tyr300-nak protonátadással játszott kettős (a szubsztrát nukleofilicitását és a MIO elektrofilicitását növelő) szerepére. A számított reakciósema második átmeneti állapota egy összehangolt C-N kötéshasadást mutat az *N*-MIO intermedier és a Tyr60 által deprotonált *pro-S* pozíció között. Sikerült megmagyarázni az enzim bázikus centrumainak (Tyr60 és Tyr300) valamint a többi katalitikus rész (Asn203, Arg303, Asn333 és Asn435) szerepét is, melyek azonos módon megtalálhatóak az összes ismert MIO tartalmú ammónia liáz és 2,3-aminomutáz aminosav- szekvenciájában és 3D szerkezetében.

PAL enzimet mágneses nanorészecskére rögzítve, majd mikrofluidikai reaktorba töltve in-line UV detektor alkalmazásával kísérletileg sikerült alátámasztani, hogy az enzim katalizálja az ammónia eliminációját az aciklusos propargilglicin (PG) esetében az ammónium (*E*)-pent-2-én-4-inoátot eredményezve. Ez a tény kizárja az FC-típusú átmenet lehetőségét. A reakció megfordításával kizárólag az L-PG terméket nyertük, ami szintén kizárja a feltételezett nagyon exoterm egylépéses mechanizmust (9. ábra). A QM/MM számítások alátámasztották, hogy mind az L-PG-ből, mind az L-Phe-ből származó *N*-MIO intermedierek hasonló elrendezést mutatnak az aktív centrumon belül, ami egyértelműen alátámasztja az *N*-MIO mechanizmust.<sup>40</sup>



9. Ábra. Propargilglicin reakciója PAL enzimmel

A MIO enzimek szerkezetvizsgálatában szerzett számítógépes tapasztalat segítségével megterveztük a PcPAL enzim mutáns változatát. Az aromás kötőhelyért felelős F137-es aminosavat kisebb, hidrofób aminosavakra cserélve azt vélelmeztük, hogy az enzim jobban elfogadja a sztirilalanint szubsztrátjának. A megtervezett mutánsokat előállítva és tesztelve megállapítottuk, hogy a valin aminosavat tartalmazó mutáns mind a sztirilalanin, mind az *o*-Cl, *p*-Cl és *p*-NO<sub>2</sub> származéka esetében hatékonyak bizonyult. Sajnálatos módon azonban a fordított reakció (ammónia addíció) mind a vad-törzs, mind a mutánsok esetében sikertelen volt.<sup>5</sup>

#### Hivatkozások

- Poppe, L.; Novák, L.; *Selective Biocatalysis: A Synthetic Approach*, Verlag Chemie, Weinheim-New York, **1992**.
- Poppe, L.; Nagy, J.; Hornyánszky, G.; Boros, Z. *Sztereoselektív szintézisek* (in Hungarian), Typotex, Budapest, **2011**. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3824.7526>
- Poppe, L.; Nagy, J.; Hornyánszky, G.; Boros, Z. (Poppe, L.; Nográdi, M.; Eds.): *Stereochemistry and Stereoselective Synthesis – An Introduction*, Weinheim-New York: Wiley-VCH Verlag KGaA, **2016**.
- Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Nagy, J.; Poppe, L. "Stereoselective hydrolase-catalyzed processes in continuous-flow mode", in *Cascade Biocatalysis: Stereoselective and Environmentally Friendly Reactions* (Riva S, Fessner W, Eds.), Wiley-VCH, Weinheim, **2014**, 1999-230. <https://doi.org/10.1002/9783527682492.ch9>
- Pilbák, S.; Farkas, Ö.; Poppe, L. *Chem Eur J*, **2012**, *18*, 7793–7802. <https://doi.org/10.1002/chem.201103662>
- Bencze, L. C.; Filip, A.; Bánóczy, G.; Toşa, M. I.; Irimie, F.-D.; Gellért, Á.; Poppe, L.; Paizs, C. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 3717–3727. <https://doi.org/10.1039/C7OB00562H>
- Boros, Z.; Abaháziová, E.; Oláh, M.; Sátorhelyi, P.; Erdélyi, B.; Poppe, L. *Chim. Oggi*, **2012**, *30(5)*, 26–29.
- Nagy-Győr, L.; Boros, Z.; Poppe, L. *Per. Polytechn. Chem. Eng.* **2013**, *57(1–2)*, 37–40. <https://doi.org/10.3311/PPch.2168>
- Boros, Z.; Weiser, D.; Márkus, M.; Abaháziová, E.; Magyar, Á.; Tomin, A.; Koczka, B.; Kovács, P.; Poppe, L. *Proc. Biochem.*, **2013**, *48(7)*, 1039–1047. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.05.002>
- Abaházi, E.; Lestál, D.; Boros, Z.; Poppe, L. *Molecules* **2016**, *21*, 767. <https://doi.org/10.3390/molecules21060767>
- Tomin, A.; Weiser, D.; Bata, Z.; Corici, L.; Péter, F.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2009**, *54(Sp 2)*, 77–82. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/97971.pdf>
- Weiser, D.; Tomin, A.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2010**, *55(4)*, 283–288. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/103009.pdf>
- Tomin, A.; Weiser, D.; Hellner, G.; Bata, Z.; Corici, L.; Péter, F.; Koczka, B.; Poppe, L. *Proc. Biochem.*, **2011**, *46*, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.021>
- Hellner, G.; Boros, Z.; Tomin, A.; Poppe, L. *Adv. Synth. Catal.*, **2011**, *353*, 2481–2491. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100329>
- Weiser, D.; Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Tóth, A.; Poppe, L. *Proc. Biochem.* **2012**, *47*, 428–434. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.11.023>
- Weiser, D.; Solti, P. L.; Bánóczy, G.; Bódai, V.; Kiss, B.; Gellért, Á.; Nagy, Z. K.; Koczka, B.; Szilágyi, A.; Marosi, G.; Poppe, L. *Tetrahedron* **2016**, *72(46)*, 7335–7342. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.06.027>
- Weiser, D.; Varga, A.; Kovács, K.; Nagy, F.; Szilágyi, A.; Vértessy, B. G.; Paizs, C.; Poppe, L. *ChemCatChem* **2014**, *6(4)*, 1463–1469. <https://doi.org/10.1002/cctc.201300806>
- Ósze, M.; Weiser, D.; Hornyánszky, G.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2012**, *57(2)*, 129–137.
- Szigeti, M.; Töke, E. R.; Turóczy, M. C.; Nagy, V.; Szakács, G.; Poppe, L. *ARKIVOC*, **2008**, (3), 54–65. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/54061.pdf>
- Toşa, M.; Pilbák, S.; Moldovan, P.; Paizs, C.; Szatzker, G.; Szakács, G.; Novák, L.; Irimie, F.-D.; Poppe, L. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, *19*, 1844–1852. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2008.07.004>

### 3. Összegzés és kitekintés

A Bioorganikus Kémiai Kutatócsoport által kutatott területek (kemoenzimatikus módszerekkel megvalósított új sztereoselektív szintézisek, a biotranszformációk hatásának fokozása új enzim immobilizálási technikák kifejlesztésével és folytonos átfolyós rendszerek alkalmazásával, enzimek szerkezetének és hatásmechanizmusának tanulmányozása elméleti számítások és gyakorlati megvalósítások segítségével) hozzájárulnak új, hatékony és környezetbarát szintetikus módszerek kifejlesztéséhez. Ezek az összetett kutatási erőfeszítések elősegíthetik a modern, biotechnológiával integrált szintetikus módszerek fejlesztését és felhasználását akár humán területeken is. A szerkezetvizsgálatban szerzett számítógépes tapasztalat segítségével elérhetővé vált a célzott, adott szubsztrátra szabott mutáns enzimek megtervezése is.

#### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az OTKA (NN-103242), a Nemzeti Fejlesztési Ügynökség (NKFP 07 A2 FLOWREAC), az Új Magyarország Fejlesztési Terv (TÁMOP-4.2.2.B-10/1-2010-0009), A Magyar Kutatási és Innovációs Alap (KMR 12-1-2012-0051 és KMR 12-1-2012-0140), és az EU COST (Action CM0701 és CM1303) projektek támogatásáért.

20. Brem, J.; Pilbák, S.; Paizs, C.; Bánóczy, G.; Irimie, F.-D.; Toşa, M.-I.; Poppe, L. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, *22*(8), 916-923. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2011.05.009>
21. Brem, J.; Naghi, M.; Toşa, M. I.; Boros, Z.; Poppe, L.; Irimie, F. D.; Paizs, C. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, *22*, 1672-1679. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2011.09.005>
22. Varga, A.; Zaharia, V.; Nógrádi, M.; Poppe, L. *Tetrahedron: Asymmetry* **2013**, *24*, 1389-1394. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2013.09.007>
23. Csuka, P.; Boros, Z.; Örfi, L.; Dobos, J.; Poppe, L.; Hornyánszky, G. *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 644-649. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2015.04.013>
24. Oláh, M.; Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Poppe, L. *Tetrahedron* **2016**, *72*(46), 7249-7255. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2015.12.046>
25. Bartha-Vári, J. H.; Toşa, M. I.; Irimie, F.-D.; Weiser, D.; Boros, Z.; Vértessy, B. G.; Paizs, C.; Poppe, L. *ChemCatChem* **2015**, *7*(7), 1122-1128. <https://doi.org/10.1002/cctc.201402894>
26. Bódai, V.; Nagy-Győr, L.; Örkényi, R.; Molnár, Z.; Kohári, S.; Erdélyi, B.; Nagymáté, Z.; Romsics, C.; Paizs, C.; Poppe, L.; Hornyánszky, G. *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2016**, *134A*, 206-214. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.11.003>
27. Boros, Z.; Szigeti, M.; Tomin, A.; Kovács, P.; Üрге, L.; Darvas, F.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2009**, *54*(Sp 2), 69-75. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/97970.pdf>
28. Csajági, Cs.; Szatzker, G.; Töke, E. R.; Üрге, L.; Darvas, F.; Poppe, L. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, *19*, 237-246. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2008.01.002>
29. Tomin, A.; Hornyánszky, G.; Kupai, K.; Dorkó, Z.; Üрге, L.; Darvas, F.; Poppe, L. *Proc. Biochem.*, **2010**, *45*, 859-865. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.02.006>
30. Boros, Z.; Falus, P.; Márkus M.; Weiser D.; Oláh M.; Hornyánszky G.; Nagy J.; Poppe L. *J. Mol. Catal. B, Enzym.* **2013**, *85-86*, 119-125. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.09.004>
31. Falus, P.; Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Nagy, J.; Darvas, F.; Üрге, L.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2010**, *55*(4), 289-298. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/103010.pdf>
32. Falus, P.; Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Nagy, J.; Darvas, F.; Üрге, L.; Poppe, L. *Tetrahedron Lett.*, **2011**, *52*, 1310-1312. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.01.062>
33. Pilbák, S.; Tomin, A.; Rétey, J.; Poppe, L. *FEBS J.* **2006**, *273*(5), 1004-1019. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05127.x>
34. Kovács, K.; Bánóczy, G.; Varga, A.; Szabó, I.; Holczinger, A.; Hornyánszky, G.; Zagyva, I.; Paizs, C.; Vértessy, B. G.; Poppe, L. *PLoS ONE* **2014**, *9*(1), e85943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085943>
35. Poppe, L. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2001**, *5*, 512-524. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(00\)00253-2](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(00)00253-2)
36. Poppe, L.; Rétey, J. *Angew. Chem.*, **2005**, *117*, 3734-3755; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **2005**, *44*, 3668-3688. <https://doi.org/10.1002/anie.200461377>
37. Poppe, L.; Paizs, C.; Kovács, K.; Irimie, F.-D.; Vértessy, B.: "Preparation of unnatural amino acids with ammonia-lyases and 2,3-aminomutases", in *Methods in Molecular Biology*, Vol. 794 "Unnatural amino acids", Part 1; New York: Springer Science+Business Media, **2012**, pp 3-19. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-331-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-331-8_1)
38. Poppe, L.; Pilbák, S.; Paizs, C.; Rétey, J. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2008**, *53*(2), 15-19. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/66210.pdf>
39. Seff, A. L.; Pilbák, S.; Poppe, L. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2008**, *53*(2), 67-71. <http://mycite.omikk.bme.hu/doc/66209.pdf>
40. Weiser, D.; Bencze L. C.; Bánóczy, G.; Ender, F.; Kókai, E.; Szilágyi, A.; Vértessy, B. G.; Farkas, Ö.; Paizs, C.; Poppe, L. *ChemBioChem* **2015**, *16*(16), 2283-2288. <https://doi.org/10.1002/cbic.201500444>

### From synthetic chemistry to enzyme engineering – Introduction of the Bioorganic Chemistry Group

The Bioorganic Chemistry Research Group was established in 2005 at the Department of Organic Chemistry and Technology, Budapest University of Technology and Economics by Prof. László Poppe. Furthermore, two senior scientist, one postdoctoral fellow, 11 PhD students and 30-40 undergraduate students contribute to our research results. At BME about 220 m<sup>2</sup> well-equipped laboratory space is available for bioorganic chemistry research (with equipment for synthetic, biotransformation and basic protein works; 2 HPLC's, 3 GC's, 3 UV-VIS, FTIR, gel-electrophoresis, bench-top centrifuges, pumps and continuous-flow reactors). In addition, high performance PC's and molecular modeling program packages are available for protein modelling and QM/MM investigations.

The activity of Bioorganic Chemistry Group (BCG) covers a wide range of topics from development of novel synthetic methods, mostly using biocatalysis<sup>1</sup> for stereoselective synthesis<sup>2</sup> via novel enzyme immobilization methods and stereoselective hydrolase-catalyzed processes<sup>3</sup> in continuous-flow mode to sophisticated QM/MM calculations for exploring enzyme mechanisms.<sup>4,5</sup> The most studied enzymes by BCG are lipases and the so-called MIO enzymes.

One of BCG's major interest is to develop novel forms of immobilized enzymes and to perform kinetic resolutions or enantioselective biotransformations with them, preferably in continuous-flow mode (Fig. 1). The FLOWREAC project allowed us to utilize the continuous-flow technology of ThalesNano and gain expertise in enzyme-immobilization (Fig. 1B and 1C) and in development of continuous-flow biotransformations (Fig. 1C and 1D).

Enzyme immobilization on a solid support is one of the methods to use enzymes in industry because it confers easy product separation and enhanced thermal and pH stability. Ideal properties for immobilization support include chemical and mechanical stability, hydrophilicity, inertness toward enzymes, ease of derivatization, biocompatibility, resistance to microbial attack, and a large surface area. Among the many organic and inorganic supports our group focused mostly on mesoporous silica materials (MPs) for use in enzyme immobilization.<sup>6-8</sup> MPs have large surface areas with relatively large-pore diameters (5–100 nm) that match the sizes of the enzymes.

Entrapment is a useful technique of enzyme immobilization. The sol-gel encapsulation of lipases proved to be a particularly easy and effective way to enhance the mechanical and catalytic properties of biocatalysts. The sol-gel encapsulated enzymes usually retain their selectivity whereas their heat stability or specific activity may be significantly improved. BCG researchers investigated the lipase immobilization by entrapment in sol-gel matrices to study the effect of enzymes, supports, enzyme/support ratios, silane precursor composition and bioimprinting effect of additives.<sup>10-14</sup> In addition to test the resulting sol-gel lipases in kinetic resolution of 1-phenylethanol using batch mode, the reactions were studied in continuous-flow systems as well.<sup>8</sup>

BCG demonstrated for the first time that the inexpensive glycerol diglycidyl ether (GDE) could be used conveniently as a bis-epoxide type cross-linking agent in preparation of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) from two different enzyme classes (Fig. 4).<sup>16</sup>

A number of multi-ton industrial processes use enzymatic kinetic resolution, often with lipases that tolerate different substrates. This initiated the activity of BCG to develop novel kinetic resolution (KR) and dynamic kinetic resolution (DKR) processes (Fig. 5 and Fig. 6). Because efficient screening methods has increasing significance in rapid evaluation of novel biocatalysts BCG developed a multi-substrate kinetic resolution screening method for lipase biocatalysts based on enantioselective GC method.<sup>17</sup>

Stereoselective biotransformations – such as asymmetric biotransformation, kinetic resolution and dynamic kinetic resolution – developed by BCG enabling the continuous-mode hydrolase-mediated production of compounds in high enantiomeric purity are discussed (Fig 8).

Besides recombinant production and experimental biochemical studies on PAL,<sup>35,36</sup> BCG researchers performed theoretical calculations such as homology modeling, docking, molecular dynamics and QM/MM calculation on the MIO-enzymes. A detailed QM/MM study on the mechanism of the TAL reaction revealed the *N*-MIO intermediate as the most plausible for the TAL reaction.<sup>4</sup> We explored for the first time the role of Tyr300 in a tandem nucleophilic and electrophilic enhancement by a proton transfer.

The synergy and integration between various research interests of BCG involving novel stereoselective synthetic methods by chemoenzymatic techniques, intensification of biotransformations by novel immobilization methods of various enzymes and by continuous-flow reactions together with enzyme structural and mechanistic studies by experimental and computational techniques can result in novel, effective and ecofriendly synthetic methods. Thus, the complex research efforts of BCG can have positive impact on the development modern, integrated synthetic methods, or even on human applications of the biocatalysts.

# A sikérfehérjéket nem tartalmazó (gluténmentes) termékek táplálkozási és technológiai minőségének fejlesztése

TÖMÖSKÖZI Sándor<sup>1</sup>, NÉMETH Renáta<sup>1</sup>, ROZNÁR Petra<sup>1</sup>, Denisse Bender<sup>2</sup>, JAKSICS Edina<sup>1</sup>, TURÓCZI Fanni<sup>1</sup>, TÖRÖK Kitti<sup>1</sup> és Regine SCHÖNLECHNER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, 1111 Budapest, Szent Gellért tér 4.

<sup>2</sup>Institute of Food Technology, Department of Food Science and Technology, BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Muthgasse 18, 1190 Vienna, Austria

## 1. Bevezetés

A cöliákia („lisztérzékenység”, „gluténérzékenység”) autoimmun-mediált emésztőrendszeri rendellenesség, amely a bélnyálkahártya károsodása miatt felszívódási problémákat okoz. Mindez a tápanyaghasznosulás romlásához, akár súlyos alultápláltsághoz is vezethet. A megbízható tudományos háttérrel végzett nemzetközi felmérések szerint globális átlagban a népesség 1-2 %-a érintett ebben a betegségben. Földrajzi területenként, országonként ez az arány jelentősen eltérhet.<sup>1,2</sup> A betegség kialakulásáért az egyes gabonákban (búza, rozs, árpa) található tartalékfehérjék (glutén- vagy helyes magyar elnevezéssel sikérfehérjék) egyes csoportjai felelősek.<sup>3</sup> Mindebből következik, hogy a rendellenesség kezelésének egyetlen megbízható módja jelenleg a sikérfehérjéket tartalmazó élelmiszerek fogyasztásának elhagyása. A gluténmentes élelmiszer alapanyagok közül legfontosabbnak a kukoricát és a rizst tekinthetjük, de újabban az alternatív gabonák (köles, cirok, zab, stb.) és az ún. álgabonák (amaránt, hajdina, quinoa) növekvő mértékű hasznosítása is megfigyelhető. Ez utóbbiak lassú, de egyértelmű terjedése részben a különböző anyagoknál különböző mértékben jelentkező táplálkozási előnyöknek (pl. kedvezőbb aminosav, lipid, rost, ásványi anyag vagy bioaktív komponens összetétel), részben a fogyasztói igények változásának, a választékbővítésnek köszönhető.<sup>4,5,6</sup>

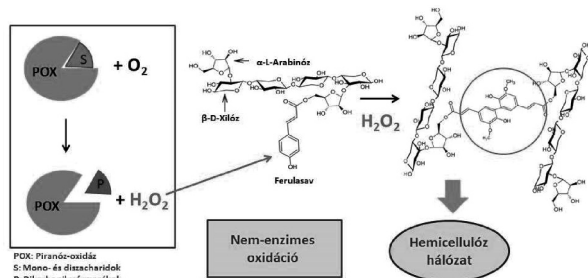
A sikérfehérjék azonban – különösen a búza esetében – alapvetően befolyásolják a gabonák, az őrleményeikből készült tészták technológiai viselkedését és meghatározzák a sikértartalmú élelmiszerek (száraztészták, sütőipari termékek, stb.) minőségének alakulását. A sikéralkotó fehérjefrakciók (glutelinek és prolaminok) és a gabonákban nagy mennyiségben jelen lévő keményítő ugyanis víz hozzáadásával és mechanikai munka befektetésével (dagasztással) jellegzetes, viszko-elasztikus tulajdonságokat mutató fehérje-keményítő mátrix kialakítására képesek. Alapvetően ezzel magyarázhatók a búzalisztből készült tészták és (kelesztést és sütést követően) a végtermékek jellegzetes, semmi máshoz nem hasonlítható bélzettulajdonságai.<sup>7</sup> A többi gabona ilyen, a tartalékfehérjéknek tulajdonítható szerkezetalakító tulajdonsággal, nem, vagy csak kis mértékben rendelkezik. A rozs pl. tartalmaz ugyan a cöliákiások számára veszélyes

gluténfehérjéket és sütőipari termékek is előállíthatók őrleményeiből, azonban a termékszerkezet alakításában a fehérjék mellett a táplálkozási szempontból egyébként kedvező hatású egyes rostkomponensek, a pentozánok szerepe is jelentős. A gluténmentes alapanyagok technológiai tulajdonságai lényegesen eltérnek, őrleményeikből víz hozzáadásával általában gyenge textúrájú, kevésbé elasztikus, ragadós tésztaszerkezet alakul ki, a hagyományos értelemben vett sütőipari tulajdonságaik rosszak.<sup>8</sup> Az eltérő technológiai viselkedés mellett, illetve részben ebből adódóan, a gluténmentes alapanyagok és termékek táplálkozási érték szempontjából is rendkívül változatos képet mutatnak. Főleg az olcsóbb élelmiszerek esetében, a homogenitás, az elfogadható technológiai tulajdonságok, a megfelelő érzékszervi jellemzők biztosítása érdekében hántolt termékek, finomított őrlemények forgalmazása és fogyasztása terjedt el. Ezen termékek jelentős részénél a fehérjék, ásványi anyagok, élelmi rostok, vitaminok, bioaktív összetevők, stb. mennyisége jelentősen elmaradhat az analóg búzaalapú termékek jellemző összetételétől.<sup>9,10</sup>

A fizikai-kémiai, reológia és állagbeli tulajdonságok javításának jelenleg általánosnak tekinthető módja a megfelelő adalék- és segédanyagok (pl. hidrokolloidok, emulgeátorok, fehérjeizolátumok, módosított keményítők stb.) és különböző eljárások (kovászos technika, enzimes vagy magasnyomású kezelések, stb.), vagy ezek kombinációjának alkalmazása.<sup>10,11</sup> A tápérték növelésének lehetséges módja az alapanyagok (pl. hüvelyesek és gabonák) komplettálása, magasabb vagy akár teljes kiőrlésű őrlemények alkalmazása, illetve a limitáló komponensekkel történő kiegészítés, adagolás. Azonban ez utóbbi megoldások jelentősen és a magasabb kiőrlésű termékek esetében kifejezetten hátrányosan befolyásolják a termékek technológiai és érzékszervi sajátosságait.<sup>11,12</sup> Éppen ezért a jelen kutatás és termékfejlesztés iránya olyan megoldások keresése, melyek segítségével a tápérték és a technológiai és érzékszervi tulajdonságok javítása egyaránt lehetséges. A teljes, vagy magasabb kiőrlésű malomipari termék egészségügyi előnyei többek között a magasabb rost, lipid, ásványi anyag, bioaktív komponensstartalomnak tulajdoníthatók. A gabonarostok általában nagyobb mennyiségben tartalmaznak nem keményítő szénhidrátokat,

\* e-mail: tomoskozi@mail.bme.hu

pentozánokat, melyek meghatározó képviselői az arabinoxilánok (AX). Az AX molekulák elágazó heteropolimerek, melyben -D-xilopiranozil monomerekből álló gerinchez kapcsolódnak -L-arabinofuranozil csoportok. A pentozán polimerek az alapanyagtól függő mértékben ferulasavat is tartalmaznak, melyek oxidációjával keresztkötések jöhetnek létre. Az AX molekulák méretét és fizikai-kémiai tulajdonságait (oldhatóság, vízfelvétel, viszkozitás, tésták elaszticitása, stb.) értelemszerűen az A/X arány, illetve a molekulák oxidációs állapota (a keresztkötések száma) alapvetően befolyásolja.<sup>13</sup> Fentiekből következik, hogy az AX polimerek oxidációs állapotának kémiai vagy enzimes úton történő megváltoztatásával a molekulák mérete és tulajdonságai célzott módon befolyásolhatók. Élelmiszerbiztonsági szempontok miatt értelemszerűen az enzimes kezelés, pl. oxidáz vagy lakkáz enzimek alkalmazása kívánatos.<sup>14</sup> Ez azzal az előnnyel is jár, hogy a megfelelően kiválasztott, illetve módosított sejtenyészet (élesztő) alkalmazásával, az enzimkatalízis segítségével lejátszódó reakciók a fermentációs folyamatokba (kelesztés, kovászos technológia) beépíthetők. A megfelelően szabályozott oxidációval, a ferulasav-keresztkötések számának növelésével elméletileg akár olyan szénhidrát polimer hálózat is kialakítható (1. ábra), amely legalább részlegesen alkalmas lehet a gluténmentes termékekből hiányzó sikkéfehérje háló helyettesítésére, és így a hidratált téstamatrix reológiai tulajdonságainak javítására.<sup>15</sup>



1. ábra Az arabinoxilán polimer hálózat kialakulásának egy lehetősége

Kutatómunkánkban –a fent vázolt gondolatmenet alapján– gluténmentes őrleményekből készült téstamatrixok viszko-elasztikus tulajdonságának módosítási lehetőségeit vizsgáltuk. Tanulmányoztuk a pentozántartalom, az enzimes kezelés és ezek kombinált alkalmazásának hatását a tésták reológiai tulajdonságának alakulására.

## 2. Anyagok és módszerek

A kísérletben gluténmentes alapanyagként piaci forrásból származó Goldhirse (Ausztria) márkanevű szemes kölesből készült finom (fehér) lisztet és teljes őrleményt használtunk. Az alapanyagot a Debreceni Egyetem Nyíregyházi Kutatóintézete bocsátotta rendelkezésünkre. Az őrlemények szénhidrátösszetételének módosításához a partner intézményünk (University of Natural Resources and Life Sciences, BOKU, Bécs, Ausztria) által előállított és közös

munkával részletesen jellemzett arabinoxilán extraktumot használtunk.<sup>16,17</sup> Az enzimes kezelést a szintén a BOKU kutatói által izolált piranoz-oxidáz enzimmel (44 U/ml) végeztük, az enzimidagolás mennyiségét (20 µl) előzetes kísérletekben optimaltunk.<sup>18</sup> A minták kémiai összetételét szabványos módszerekkel határoztuk meg. A nedvességtartalmat szárítószekrényes eljárással határoztuk meg (MSZ EN ISO 719:2009, ICC Nr. 110/1), a hamutartalom méréséhez izzítókemencés módszert alkalmaztunk (MSZ EN ISO 2171:2010). A minták nyersfehérje tartalmát Dumas módszerrel (ISO/TC34/WG 19) mértük, FP-528 (Leco, Saint-Joseph, USA) típusú nitrogén analízátor használatával. A fehérjetartalom számításához az általános 6,25-ös faktort alkalmaztuk. A lisztek zsírtartalmának mérésére az ICC Nr. 136 szabvány szerint végeztük, mely során félautomata Soxtec HT-1043/1046 (Tecator, Svédország) mérőberendezést használtunk. Ezen kívül meghatároztuk a lisztek élelmi rost tartalmát (oldható, oldhatatlan, teljes) az AOAC 991.43 és AACC 32-07 nemzetközi módszerek alapján, félautomata Fibertec 1023 (Foss-Tecator, Svédország) készülék alkalmazásával. A minták arabinoxilán tartalmát származékképzésen alapuló gázkromatográfiás eljárással határoztuk meg.<sup>19</sup> A köleslisztekhez víz hozzáadására kialakult tésták állagtulajdonságainak jellemzésére egy dagasztási elven alapuló komplex reológiai minősítésre alkalmas módszert és a Tanszékünk közreműködésével fejlesztett mérőberendezést, a micro-DoughLab-ot (Newport Scientific, Ausztrália) használtuk. Az alapmódszer hagyományosan lassan egy évszázada a búzaliszt minősítésére alkalmazott, nemzetközi szabványban rögzített eljárás. A kísérleteinkben használt méretcsökkentett változat alkalmas kis mennyiségű (4 g) őrlemény dagasztási tulajdonságainak vizsgálatára. Működése során két darab, egymással szemben forgó Z-alakú karral dagasztjuk a téstát és regisztráljuk a téstakialakulás és ezt követően a folyamatos mechanikai munkabevitel során fellépő forgatónyomaték időbeli változását.<sup>20</sup> Búzaliszt esetén a víz hozzáadásra hidratálódó sikkéfehérjék által kialakított sikkéfehérje viszko-elasztikus tulajdonságát vizsgáljuk. Gluténmentes alapanyagok esetén értelemszerűen a sikkéfehérje-hálózat által meghatározott tulajdonságú téstaszerkezet nem alakul ki. Azonban módszer- fejlesztésünk eredményei azt mutatják, hogy a dagasztásos mérés technika gluténmentes alapanyag téstáinak reológiai jellemzésére is alkalmazható. Kísérleteinkben a köleslisztekhez 1% és 3% (liszt tömegére vonatkoztatva) mennyiségben adagoltunk arabinoxilán extraktumot, 15 perces előkeverést alkalmazva. Az enzimes kezeléseket során 0,89 U piranoz-oxidázt (POX) használtunk. A méréseket 30 percig, standard keverési sebességgel, 30°C-on végeztük.

Az eredményeket a szabványos módszerek esetében minimum két, a többi vizsgálatnál három párhuzamos mérés átlagával és szórásával adtuk meg.



### 3. Eredmények és értékelés

#### 3.1. Alapanyagok összetétele

A kölesőrlemények kémiai összetétele a gabonák malomipari feldolgozásánál megszokott képet mutatja. (1. táblázat) A fehér lisztek túlnyomórészt a mag tartaléktápanyagául szolgáló magbelsőt tartalmazzák, ennek megfelelően szárazanyagában legnagyobb mennyiségben a keményítő és a fehérje van jelen. A többi összetevő (hamu, rost, lipid) részaránya viszonylag csekély. A fehér kölesliszt esetében azonban meg kell említeni, hogy a többi finomított gabonaőrleményhez képest lipidtartalma viszonylag magasnak számít. A teljes őrlemény lényegesen kedvezőbb tápanyagösszetétellel rendelkezik. Fehérjetartalma 5,7%-kal magasabb, a lipid tartalom kétszeresére, a hamutartalom háromszorosára nőtt a fehér liszt megfelelő értékeihez hasonlítva. A kutatás alaphipotézise szempontjából azonban a nem keményítő szénhidrátok mennyiségének (élelmi rostalkotók) és összetételének alakulása is fontos információt hordoz. Az eredményekből azt látjuk, hogy a táplálkozástani és technológiai funkcióknál egyaránt jelentősebb szerepet betöltő és reakcióképesebb oldható rosttartalom mindkét őrlemény esetében a meghatározási határt sem éri el. Emellett a teljes őrlemény több, mint kétszer annyi nem oldható rostot tartalmaz, mint a fehér liszt. Az is egyértelműen látszik az adatokból, hogy míg a teljes őrlemény nem keményítő szénhidrátjainak közel egyharmada arabinoxilán, addig a fehér lisztben ilyen komponens csak nagyon kis mennyiségben fordul elő.

Ezek az eredmények a szemtermés felépítésének és a malomipari feldolgozás műveleteinek ismeretében jól magyarázhatók. A teljes őrlemények tartalmazzák azokat a héjközeli és héjfrakciókat, melyek fiziológiai szerepe a magbelső (csíra és tartaléktápanyag) fizikai, kémiai és biológiai védelme. Ezért a magbelsőhöz képest lényegesen nagyobb mennyiségben tartalmaznak többek között nagy mechanikai szilárdságú rostkomponenseket, eltérő hidrofobitású (összetett) lipidmolekulákat és biokémiai védelmet biztosító bioaktív anyagokat (enzimeket, antioxidánsokat, vitaminokat, stb.) Ezeknek az összetevőknek a humán táplálkozásban betöltött egészségtámogató szerepe jól ismert. Ugyanakkor az ételkészítés során alkalmazott jellemző műveleteket és folyamatokat (pl. hidratáció, téstaképződés, sütési tulajdonságok), vagyis az alapanyagok technológiai viselkedését és érzékszervi tulajdonságait a rostkomponensek jelentősen és általában negatív irányban befolyásolják. Ráadásul egyes magvak héjfrakcióiban antinutritív faktorok is előfordulnak, melyek eltávolítása kívánatos az ételkészítés előtt. Mindezek alapján érthető, hogy a korábbi évtizedekben meghatározóan olyan malomipari technológiák terjedtek el, amelyek a hántolás/örlés/szeparálás műveleteinek kombinálásával részben vagy egészben eltávolítják a maghéj és a héjközeli, rostús frakciókat. Jelen kutatás kérdésfeltevése tehát úgy is megfogalmazható: Hogyan lehet a táplálkozási értékben jelentkező előnyöket megtartani úgy, hogy az alapanyagok technológiai viselkedése és termékek élvezeti értéke is megfelelő legyen?

1. táblázat A köles őrlemények és az arabinoxilán extraktum kémiai összetétele

|                          | Fehér kölesliszt | Teljeskiörlésű kölesliszt | Arabinoxilán izolátum |
|--------------------------|------------------|---------------------------|-----------------------|
| Nedvességtartalom (%)    | 13,25±0,27       | 11,00±0,22                | 8,13±0,16             |
| Fehérjetartalom (%)      | 8,07±0,00        | 13,73±0,20                | 10,10±0,10            |
| Zsirtartalom (%)         | 1,65±0,10        | 3,74±0,01                 | n.d.                  |
| Élelmi rost tartalom (%) | Oldható          | <LOQ                      | n.d.                  |
|                          | Oldhatatlan      | 1,71                      | 3,80                  |
|                          | Összes           | 1,71                      | 3,80                  |
| Hamutartalom (%)         | 0,43±0,11        | 1,25±0,11                 | 5,70±0,14             |
| AX tartalom (%)          | <LOQ             | 1,12±0,21                 | 35,43±3,5             |

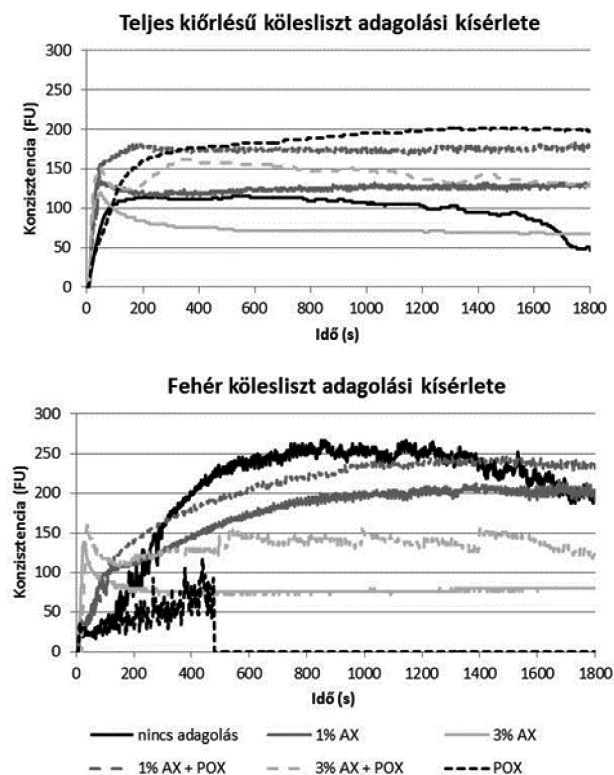
n.d. nem mértük

Visszatérve a kölesőrlemények összetételi adataira, megállapítható, hogy az összes élelmi rosttartalom jelentősen eltér az irodalomban közölt értékektől.<sup>6</sup> Sajnos a vizsgálataink során derült ki, hogy a kísérlet sorozatba beállított köles részlegesen hántolt termék. Ugyanakkor úgy ítéltük meg, hogy a fő szakmai célkitűzés megvalósítását ez kevésbé befolyásolja. Így a mérés technikák kidolgozásánál és az itt bemutatott kísérlet sorozatban ezt az alapanyagot használtuk. A munka későbbi fázisában pedig már laboratóriumban előállított kölesmintákat alkalmazunk.

Az osztrák partnerintézetünkben kifejlesztett izolálási módszerrel rozból előállított AX extraktum 35%-os tisztaságú. A pentozán-polimer mellett fehérjét, hamut és glükózt (keményítőt) tartalmaz. Az AX izolálási és tisztítási lépések fejlesztésével lényegesen magasabb AX tartalmú készítmény is előállítható. Ez a munka kutatási programunk részeként jelenleg is folyik a bécsi partnernél.

### 3.2. Alapanyagok reológiai jellemzése

A kölesőrleményekből vízadagolás és folyamatos mechanikai munkabevitel (dagasztás) következtében létrejövő tésztamatrix hidratációs folyamatát (tésztakialakulás fázisa) és stabilitásának alakulását a 2. ábrán ('nincs adagolás' jelzésű minták) követhetjük nyomon. Látható, hogy a teljes őrleményből lényegesen gyorsabban, közelítőleg két perc alatt alakul ki tészta, melynek stabilitása is elfogadható. A tészta további mechanikai megmunkálás hatására ugyanis közel tíz percig stabil marad. Ezzel szemben a fehér liszt hidratációja lassabb, a maximális konzisztenciájú tésztaszerkezet eléréséhez közel tíz perc szükséges. A tészta stabilitása itt is kedvező, az ellágyulás csak a huszadik perc után indul meg. Jelentős különbség mutatkozik a különböző alapanyagokból készített tészták konzisztenciájában is. Jól látható, hogy a fehér lisztből erősebb tésztaszerkezet képződik, ennek maximális konzisztencia értéke majd 10 FU egységgel magasabb, mint a teljes őrlemény esetében.



2. ábra. Köleslisztek dagasztási tulajdonságainak alakulása pentozán adagolás (arabinoxilán extraktum, AX), piranóz oxidázzal történő enzimzes kezelés (POX) és a két hatás kombinálásának (AX+POX) hatására

Mivel a kölesliszt a sikerhez hasonló szerkezetépítő fehérjéket nem tartalmaz, a tésztamatrix kialakulása és a lisztek között tapasztalható különbségek is másként magyarázhatók. A fehér liszt esetében elsősorban a fehérjék és a keményítő hidratációja során kialakuló viszkózus szerkezet tulajdonságait regisztráljuk. A teljes kiőrlésű mintáknál azonban mind a hidratáció dinamikáját, mind a tésztaszerkezet alakulását a nagyobb fehérjemennyiség mellett a nem keményítő szénhidrátok, pentozánok is jelentősen befolyásolják. Részben ezzel magyarázható a gyorsabb tésztakialakulás és az gyengébb szerkezet is.<sup>13</sup>

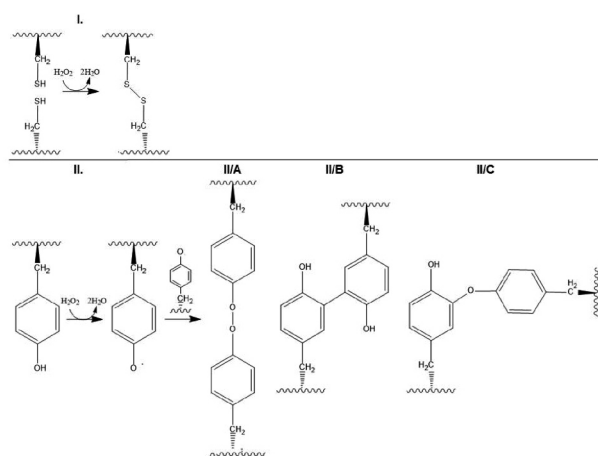
### 3.3. Alapanyagok reológiai viselkedésének változása AX adagolás és enzimzes kezelés hatására

Az AX extraktum adagolásának hatása részben függ az alapanyag jellegétől és az adagolás mértékétől. (2. ábra AX görbék). A teljes őrlemény esetében az 1%-os adagolás nem okoz kiemelkedő változást a tészta konzisztenciagörbéjének lefutásában. Ugyanakkor a tésztaképződés folyamata valamivel gyorsabb és kicsit erősebb tészta alakul ki. Nagyobb eltérés a stabilitásban mutatkozik, a kialakult tészta konzisztenciája gyakorlatilag a mérés végéig nem változik. Az AX extraktum mennyiségének növelésével gyengébb tészta jön létre, mely valószínűleg az AX viszkózus tulajdonságot befolyásoló hatásával magyarázható. A fehér liszt esetében az látható, hogy az 1%-os és a 3%-os AX adagolás egyaránt gyengíti a tésztaszerkezetet, miközben a tésztakialakulás folyamatára itt is kedvező hatással van, gyorsítja azt. A jelenség magyarázatával jelenleg még adósok vagyunk, ez irányú vizsgálatok jelenleg is folynak. Feltételezhető, hogy ennek hátterében az eltérő szénhidrátösszetétel áll. A kisebb keményítő és a nagyobb szabad AX tartalom eltérő makromolekuláris szerkezet (fehérje-keményítő-pentozán mátrix) kialakulásához vezet, mely jelentős szerepet játszik a tészta felépülésében. Az eredmények azt is sugallják, hogy létezik olyan „optimális” összetétel, mely gluténmentes alapanyagok esetében is viszonylag kedvező tésztamatrix kialakítását teszi lehetővé.

Az eredeti kutatási koncepció, a pentozánhálózat felépítés lehetőségének vizsgálata érdekében nézzük meg, hogyan alakul a tészták reológiai viselkedése az AX adagolás és a POX enzim együttes alkalmazása során. (2. ábra AX+POX). A válasz viszonylag egyértelmű: minden esetben az enzimkezelés a konzisztencia növekedését okozza a csak adagolt AX-et tartalmazó mintákhoz képest. Természetesen a változás mértéke az alapanyagtól és az AX tartalomtól is függ, azonban a pozitív hatás valamennyi ide tartozó kísérlet esetében egyértelmű. Sőt, a teljes őrleményből készült tészták esetében azt is megfigyelhetjük, hogy az AX adagolás és az enzimkezelés az alapliszténél lényegesen erősebb tésztakonzisztenciát eredményez. Úgy tűnik tehát, hogy az eddig elvégzett reológia mérések eredményei tulajdonképpen közvetett módon alátámasztják kutatási programunk alaphipotézisét. A szabad (esetünkben adagolt) AX jelenlétében, enzimkezelés hatására erősebb tésztaszerkezet alakul ki, ami jól magyarázható a pentozánhálózat kiépülésével, melynek feltételezett mechanizmusát az 1. ábrán vázoltuk.

Ugyanakkor a kísérletterv nem lenne teljes, ha egyfajta negatív kontrollként az AX adagolás nélküli enzimhatás vizsgálatát elhagynánk. Ha a lisztekhez csak POX enzimet adagolunk, a liszt típusától függően eltérő hatást regisztrálhatunk. (2. ábra, POX) A teljes őrlemény esetében a tésztaképződés folyamata a kezeléseknél nélküli alapmátrixhoz hasonló. Ugyanakkor ebben a kísérletben alakult ki a legerősebb és legstabilabb tésztaszerkezet úgy, hogy a liszt saját, a tésztaszerkezetet gyengítő, többségében kötött nem keményítő szénhidrátjai mellett adagolt, szabad pentozánok is találhatóak a rendszerben. Ezzel szemben a fehér lisztnél egy lassú kezdeti hidratációs folyamat után a tésztaszerkezet összeomlása következik be.

Az AX adagolás nélküli fehérlistát enzimes kezelésénél tapasztalt fontos kérdésre irányítja rá a figyelmet. A szabad pentozánok hiányában mérhető jelentős tézstaerősség és -stabilitás növekedés ugyanis közvetett bizonyíték arra, hogy a tézstaszerkezet alakításában más összetevők is meghatározó szerephez jutnak. Kézenfekvőnek tűnik a fehérjék funkciójának tanulmányozása. Ismeretes, hogy oxidatív enzimek, illetve az az enzimek reakció során keletkező hidrogénperoxid jelenlétében a fehérjék cisztein, triptofán és tirozin oldalláncai is reakcióképesek.<sup>21</sup> Oxidációs közegben inter- és intramolekuláris keresztkötések alakulhatnak ki, sőt más, nem fehérje komponens is részt vehet az oxidatív reakcióban. (3. ábra). A molekulán belüli szerkezetváltozás is hatással lehet a fehérjék fizikai-kémiai tulajdonságaira. A kutatás célkitűzése szempontjából azonban az intermolekuláris kötések létrejötte tűnik jelentősebbnek. A tézsta konzisztenciájának erősödése ugyanis jól magyarázható lenne nagyobb méretű fehérjepolimerek kialakulásával. Ennek igazolása többek között méretkizárásos folyadék-kromatográfiás módszer (SE-HPLC) alkalmazásával lehetséges, a méréseket jelenleg végezzük.



3. ábra Az aminosav oldalláncai oxidációja során kialakuló lehetséges keresztkötések

#### 4. Összegzés

Munkánkban a gluténmentes alapanyagok táplálkozási és technológiai tulajdonságainak javítási lehetőségeit vizsgáltuk. Célunk volt rostaltató arabinoxilánok (AX) adagolásával és oxidatív enzimkezeléssel (POX) olyan pentozánhálózat kialakítása, amely legalább részlegesen képes a sikefehérjék szerkezetalkító szerepének helyettesítésére. Az adagolások és az enzimkezelések hatását kölesörleményekből vízadagolással kialakított tézsta modellmátrixok komplex reológiai tulajdonságainak mérésével követtük. Eredményeink megerősítették, hogy lehetséges az alkalmazott kezelésekkel a tézstakonzisztencia célzott módosítása. Azonban a reológiai tulajdonságok változása csak részben magyarázható az AX molekulák között kialakuló keresztkötések létrejöttével, pentozán makropolimerek képződésével. Kísérletesen igazoltuk, hogy az enzimkezelés AX molekulák hiányában is a tézsták reológiai tulajdonságainak változásához, konzisztenciájának erősödéséhez vezet. Lehetséges magyarázat a fehérjék oxidálható oldalláncai között kialakuló keresztkötések létrejötte, ezzel a fehérjeszerkezet megváltozása. Az AX adagolás és az enzimkezelés hatása tehát összetett folyamatok eredője, függ a mátrix összetételétől, a jelenlévő makromolekulák (pentozánok, keményítő, fehérjék) jellemzőitől, illetve a szubsztrátok mennyiségétől is. A tapasztalt jelenségek megértése a gluténmentes termékfejlesztés egyik kulcskérdése. A változások okainak molekuláris szintű feltárása kutatómunkánk folytatásának legfontosabb célkitűzése.

#### Köszönetnyilvánítás

Munkánk kapcsolódik a "Gluténmentes tézsta minőségének javítása hemicellulóz hálózat kialakításával" (OTKA-ANN 114554) valamint a „Módosított szénhidrátrendszeren alapuló gluténmentes tézsta és végtermék modellek szerkezeti, reológiai és funkcionális tulajdonságainak vizsgálata" (TÉT\_15-1-2016-0066) című projektek szakmai céljainak megvalósításához.

## Hivatkozások

- Mustalahti, K.; Catassi, C.; Reunanen, A.; Fabiani, E.; Heier, M.; Mcmillan, S.; Murray, L.; Metzger, M.; Gasparin, M.; Bravi, E.; Ki, M. M. *Ann. Med.* **2010**, *42*, 587-595. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.505931>
- Catassi, C.; Kryszak, D.; Bhatti, B.; Sturgeon, C.; Helzlsouer, K.; Clipp, S. L.; Gelfond, D.; Puppa, E.; Sferruzza, A.; Fasano, A. *Ann. Med.* **2010**, *42*, 530-538. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.514285>
- Shewry, P. R. *J. Exp. Bot.* **2009**, *60* (6), 1537-1553. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>
- Tömösközi, S.; Békés, F. In *Encyclopedia of Food and Health*; Caballero, B., Finglas, P., Toldrá, F., Eds; Academic Press: Oxford, 2016; pp 490-499. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00086-6>
- Alvarez-Jubete, L.; Arendt, E. K.; Gallagher, E. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, *21* (2), 106-113. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>
- Bagdi, A.; Balázs, G.; Schmidt, J.; Szatmári, M.; Schoenlechner, R.; Berghofer, E.; Tömösközi, S. *Acta Aliment.* **2011**, *40* (1), 128-141. <https://doi.org/10.1556/AAlim.40.2011.1.15>
- Schoenlechner, R.; Wendner, M.; Siebenhandl-ehn, S.; Berghofer, E. *J. Cereal Sci.* **2010**, *52* (3), 475-479. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.001>
- Padalino, L.; Conte, A.; Del Nobile, M. *Foods* **2016**, *5* (4), 87. <https://doi.org/10.3390/foods5040087>
- Pellegrini, N.; Agostoni, C. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95*, 2380-2385. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7101>
- Haros, C. M.; Schoenlechner, R. *Pseudocereals: Chemistry and Technology*; Wiley-Blackwell, **2017**. ISBN: 978-1-118-93828-7 <https://doi.org/10.1002/9781118938256>
- Matos, M. E.; Rosell, C. M. *J. Sci. Food Agric.* **2014**, *95* (4), 653-661. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6732>
- Padalino, L.; Conte, A.; Del Nobile, M. A. *Foods* **2016**, *5* (4), 87. <https://doi.org/10.3390/foods5040087>
- Denli, E.; Ercan, R. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *212*, 374-376. <https://doi.org/10.1007/s002170000281>
- Bagdi, A.; Tömösközi, S.; Nyström, L. *Food Hydrocoll.* **2017**, *63*, 219-225. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.045>
- Sternemalm, E.; Heikkinen, S.; Tenkanen, M.; Gatenholm, P. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2042-2047. <https://doi.org/10.1021/bm800290m>
- Mansberger, A.; D'Amico, S.; Novalin, S.; Schmidt, J.; Tömösközi, S.; Berghofer, E.; Schoenlechner, R. *Food Hydrocoll.* **2014**, *35*, 606-612. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.010>
- Bender, D.; Schmatz, M.; Novalin, S.; Nemeth, R.; Chrysanthopoulou, F.; Tömösközi, S.; Török, K.; Schoenlechner, R.; Amico, S. D. *Chem. Biol. Technol. Agric.* **2017**, *4* (14), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0096-6>
- Vojta, E. Masterthesis, University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, **2015**
- Gebruers, K.; Courtin, C. M.; Delcour, J. A. In *HEALTHGRAIN Methods: Analysis of Bioactive Components in Small Grain Cereals*; Shewry, P., Ward, L. J., Eds; AACC International, Inc.: St. Paul, Minnesota, **2009**; pp 177-189. ISBN : 9781891127700 <https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-70-0.50017-0>
- Békés, F.; Lukow, O.; Uthayakumaran, S.; Mann, G. In *Wheat Gluten Protein Analysis*; Shewry P. R., Lookhart G., Eds; AACC International, Inc.: St. Paul, Minnesota, **2000**; pp 173-198. ISBN: 978-1-891127-32-8
- Mattinen, M-J.; Hellman, M.; Permi, P.; Autio, K.; Kalkkinen, N.; Buchert, J. *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54* (23), pp 8883-8890. <https://doi.org/10.1021/jf062397h>

## Development of nutritional and technological quality of gluten free products

Celiac disease is an autoimmune mediated disorder of the digestive system which affect mainly the small intestine causing malabsorption. Therefore, it can lead to decreased nutrient utilization and even serious undernourishment. According to international scientific surveys celiac disease occurs in approximately 1% of the population worldwide. This ratio can be different by geographical areas and countries.<sup>1,2</sup> Storage proteins (gluten proteins) of specific cereals (wheat, rye, barley) are responsible for the development of the disorder and it can be treated with the application of a strict gluten-free diet, only.<sup>3</sup> The most important raw materials of gluten-free food are maize and rice but nowadays the increased utilisation of other alternative cereals (millet, sorghum, oat, etc.) and pseudocereals (amaranth, buckwheat, quinoa) can be observed thanks to their higher nutritional value and the changes in consumer demands.<sup>4,5,6</sup>

Gluten proteins – especially in case of wheat – influence basically the technological behavior of dough made from cereal meals and determine the quality of the gluten containing food (pasta, bakery products, etc.). Protein

fractions of gluten (glutelins and prolamins) and starch granules are able to form a characteristic, viscoelastic protein-starch matrix due to water addition (hydration) and mechanical work (kneading). These are explaining the unique properties of the end products made from wheat flour.<sup>7</sup> The storage proteins of other cereals does not or partly dispose of structure forming properties.

Although, for example, rye contains gluten proteins and bakery products can be produced from its flours, but beside proteins, dietary fiber components, like the health promoting pentosans have also an important role in structure forming of the end product. The technological properties of gluten-free materials differ significantly and in general weak, less elastic, sticky dough structures are formed from their meals when water is added having poor baking performance.<sup>8</sup> Beside the different technological behavior the gluten-free materials and products have diverse nutritional value too. Especially in case of cheaper food products the consumption and distribution of hulled products and refined meals were spread to ensure homogeneity, acceptable technological properties and adequate sensory properties. The quantity of

proteins, minerals, dietary fibers, vitamins and bioactive compounds, etc. may be inferior to the composition of their wheat-based counterparts in most of these products.<sup>9,10</sup>

Currently the general methods of improving the physicochemical, rheological and textural properties are the use of appropriate additives and excipients (e.g. hydrocolloids, emulsifiers, protein isolates, modified starches, etc.), different techniques (sourdough fermentation, enzymatic or overpressure treatments) or their combination.<sup>10,11</sup> Possible ways of increasing nutritional value are the supplementation of the raw materials (e.g. legumes and cereals), the utilization of higher fiber content or even wholemeal meals or the addition of limiting components. However, these latter solutions influence significantly and in case of wholemeal products especially adversely the technological and sensory properties of the products.<sup>11,12</sup> Therefore the aim of this work was finding solutions for the simultaneous improvement of nutritional value and technological properties of gluten-free products. The nutritional advantages of wholemeal or higher fiber content milling fractions are the higher fiber, lipid, mineral and bioactive compound content. Cereal fibers include high amount of non-starch polysaccharides like pentosans whose main representatives are the arabinoxylans (AX). AX molecules are branching heteropolymers in which a backbone consists of -D-Xylopyranose monomers

substituted with -L-Arabinofuranosyl residues. The polymers contain ferulic acid in specific ratio depending on the origin, which can be oxidized forming cross-links. The A/X ratio and the number of cross-links determine the molecular weight and physicochemical properties of AX molecules fundamentally.<sup>13</sup> Consequently the size and the properties of AX molecules can be influenced targeted by changing the oxidation state using chemical oxidation agents or enzymes. Regarding food security aspects the application of enzyme treatment (using oxidases, laccases) is recommended.<sup>14</sup> The advantage of enzymes is that with properly selected and modified microorganism (yeast) the enzyme catalyzed reactions can be built into the fermentation process (leavening, sourdough technology). Theoretically with well-regulated oxidation and increasing the number of ferulic acid cross-links even such a carbohydrate network (Figure 1) can be formed which may be able to at least partially substitute the missing gluten network in gluten-free products and to improve the rheological properties of hydrated dough matrices.

In our work the modification options of viscoelastic properties of gluten-free dough matrices was investigated according to the train of thought expounded above. The effect of the pentosan content, the enzyme treatment and their combination on the rheological properties of gluten-free dough systems were examined.

# Szelektív adszorpció molekuláris lenyomatú polimereken

DORKÓ Zsanett,<sup>a,b</sup> SZAKOLCZAI Anett<sup>a</sup> és HORVAI György<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

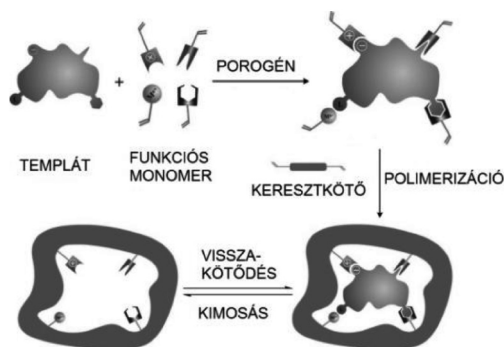
<sup>b</sup>MTA-BME Műszaki Analitikai Kémiai Kutatócsoport, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

## 1. Bevezetés

### 1.1. Molekuláris lenyomatú polimerek

A molekuláris lenyomatú polimer (molecularly imprinted polymer; MIP) olyan mesterségesen előállított adsorbens, amely esetenként - a szakirodalomban elfogadott nézetek szerint<sup>1,2</sup> - a természetes antitest-antigén kölcsönhatással összemérhető kötési erősséggel és szelektivitással képes felismerni és megkötni egy kiválasztott molekulát. A természetes, ellenanyag alapú adsorbensekkel összehasonlítva a MIP-ek előnye, hogy előállításuk jóval olcsóbb és szélsőséges körülmények között is stabilak.

Az ún. nemkovalens MIP-ek készítésekor (1. ábra) a polimerizáció során a monomereken kívül jelen van egy templát – ez általában a későbbi célvegyület. Miután a polimerizáció végbement, a templátot eltávolítjuk a rendszerből, azonban az őt körülvevő monomerek helyzete a polimer keresztkötéseinek köszönhetően nem változik. Ezáltal olyan, kémiai- és alak-specifitással rendelkező kötőhelyek maradnak vissza, ahová a célvegyület később be tud épülni, de más vegyületek kötődése várhatóan gyenge lesz. Az így készült szelektív adsorbenseket nevezzük MIP-eknek. A MIP-ek szelektivitása jól kihasználható különböző analitikai és elválasztástechnikai alkalmazásokban, például kromatográfiában vagy szenzorokban.<sup>3-5</sup>



1. Ábra A molekuláris lenyomatképzés elve

A MIP-ek előállítására használt polimerizációs elegy összetevői általában a következők:

- Templát (célvegyület vagy annak szerkezeti analógja)
- Funkciós monomer: amely tartalmaz olyan funkciós csoport(ka)t, mely(ek) képes(ek) a templát molekulával első-, vagy másodrendű kötést létesíteni; továbbá tartalmaz polimerizációra képes kettős kötést

- Keresztkötő: több kettős kötése van, így térhálós polimer kialakítását teszi lehetővé, rögzíti a funkciós monomerek helyzetét
- Porogén: a polimerizációs elegy „inert” oldószere, amely a pórusok kialakításáért is felelős
- Iniciátor: a polimerizációs reakció elindítója.

Általában a MIP-ek mellett NIP-eket (nem imprintelt polimer, kontrol polimer) is szintetizálunk, amelyek templát hozzáadása nélkül, a MIP-ekhez hasonlóan készülnek. A MIP és a NIP adszorpciós tulajdonságainak összehasonlításával képet kaphatunk arról, hogy hogyan változik meg a polimer tulajdonsága a lenyomatképzés (imprintelés) hatására.

### 1.2. Molekuláris lenyomatú polimerek jellemzésének nehézségei

A MIP-ek szelektivitása számos technikában kihasználható, mint például kromatográfiában, szenzorokban, mintaelőkészítés (szilárdfázisú extrakció, SPE) során. Kereskedelmi forgalmazásban azonban szinte csak SPE töltésként, illetve egyes ipari problémák megoldására elérhetőek. A MIP-ek elterjedését gátolja az, hogy a kötőhelyek szerkezetének közvetlen vizsgálata eddig még nem sikerült. A MIP-ek vizsgálatának eddig bevált módszerei pedig nem egységesek: a MIP-ek jellemzése (kötőkapacitás, szelektivitás) az irodalomban sokféle módon történik, és a kapott eredmények összevethetősége bonyolult lehet. A kromatográfiában a  $k$  retenciós tényezőt, szilárdfázisú extrakcióban a visszanyerés értékét, ligandum kötési assayekben az IC<sub>50</sub> értéket használják a polimerek jellemzésére, ezek egymással való összehasonlítása azonban nehézkes (nem egyensúlyi értékek valamint nagyon függenek az alkalmazott kísérleti körülményektől). Így nehéz összehasonlítani a különböző laboratóriumokban elkészített polimerek tulajdonságait és kiválasztani a legalkalmasabb polimert egy adott analitikai feladatra.

## 2. Célkitűzés

Munkánk során célunk volt a nemkovalens kölcsönhatáson alapuló molekuláris lenyomatú polimerek olyan alapvető tulajdonságainak átfogó jellemzése, mint a szelektivitás vagy kötőkapacitás. Ezen vizsgálatokhoz a már széles körben tanulmányozott propranolol MIP-et választottuk.<sup>6</sup> A vizsgált polimerek metakrilsav és etilén-glikol-dimetakrilát alapúak voltak.

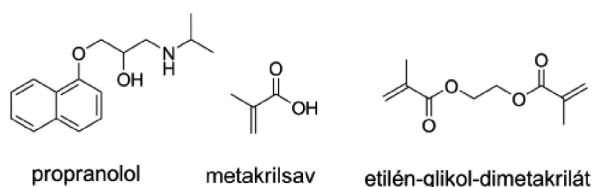
\* Tel.: +36-1-4631480 ; fax: +36-1-4633408 ; e-mail: george.horvai@mail.bme.hu

Mivel a gyakorlati szempontból releváns célvegyületek nagy része gyenge bázis (pl. triazinok, beta-blokkolók), ezért a beta-blokkoló propranolol és más bázisok adszorpciójának mechanizmusát és mértékét különböző összetételű és előállítás módú, metakrilsav alapú polimereken vizsgáltuk. Célunk volt meghatározni a polimerek kötőkapacitását, illetve azt, hogy mely tényezők befolyásolják a polimerhez kötődést.

### 3. Eredmények

#### 3.1. Polimerek kötőkapacitásának vizsgálata<sup>7</sup>

A MIP-ek a célvegyületeket a kötőhelyeiken kötik, amelyek általában valamilyen funkciós csoportot (legtöbbször karboxilcsoportot) tartalmaznak. A polimerbe beépült karboxilcsoportok mennyiségét és ezek elérhetőségét azonban nem szokták meghatározni.



2. Ábra. A templát és a monomerek szerkezete

Kísérleteinkben megmutattuk, hogy szinte valamennyi karboxilcsoport beépül a polimerbe és elreagáltatható az erős bázis NaOH-dal. Propranololból, tehát egy közepesen gyenge bázisból, a MIP viszont csak a karboxilcsoportok kb. 30%-ának megfelelő mennyiséget tud megkötni. A NaOH és a propranolol kötődése közötti különbség legfőbb oka az eltérő mértékű báziserősség lehet.

További, más bázisokkal és polimerizációs receptúrákkal végzett kísérletekből valóban arra a következtetésre jutottunk, hogy a polimer összes karboxilcsoportja felhasználható szerves bázisok adszorpciójára, ha a bázis elég erős (például: 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undek-7-én) és ha a polimer elég rugalmas (pl. dimetil-formamidban készült polimer). Ez az eredmény új a MIP-ekkel kapcsolatban, mert eddig úgy gondolták, hogy a bevitt funkciós csoportok mennyiségénél lényegesen kevesebb a szerves bázisok megkötésére alkalmas kötőhelyek mennyisége. Ez az elképzelés részben a nem megfelelő mérési módszeren alapult. Az irodalomban például egy az általunk vizsgálthoz hasonló propranolol MIP-re a kötőhelykoncentrációt a propranolol izoterma kis koncentrációkhoz tartozó szakasza alapján csupán a karboxilcsoportok 4%-ára becsülték<sup>6</sup> szemben az általunk kapott kb. 30 %-kal. Ez azt jelzi, hogy a kötőkapacitást mindig közvetlenül, azaz nagy koncentrációknál végzett méréssel érdemes meghatározni.

#### 3.2. Izoterma modellek összehasonlítása<sup>8</sup>

Úgy gondoljuk, hogy a MIP-ek jellemzésének legegyszerűbb módszere az adszorpció izoterma felvétele. Az izoterma az egyensúlyi adszorbeált koncentrációt ( $q$ ) mutatja a szilárd határfelületi fázisban, az oldatbeli koncentráció ( $c$ ) függvényében. A MIP-ek adszorpció izotermája nemlineáris. Az izoterma mérési

pontokra sokszor valamilyen modell-függvényt illesztnek. Többen tapasztalták, hogy ugyanahhoz az izoterma adatsorhoz többféle modellt is lehet hasonló sikerrel illeszteni.<sup>9,10</sup> Ez komoly probléma, ha a modell paramétereit a kötőhelyek eloszlásának és a kötés erősségének a jellemzésére, és ezen keresztül az adszorbensek fejlesztésére akarják használni.

Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a bi-Langmuir-modell mennyire jól tudja közelíteni a Freundlich-modellt, ezen izoterma egyenletek ugyanis MIP-eknél gyakran adnak hasonlóan jó illeszkedést a mérési pontokhoz. A bi-Langmuir modell írja le a lenyomatképzés jelenleg leginkább elfogadott elméletét, mely szerint a lenyomatképzés során kétféle kötőhely jön létre: az egyik a kis koncentrációjú erős és a templátra szelektív kötőhely, a másik pedig a nagy koncentrációjú gyenge és nem szelektív kötőhely. A Freundlich-izoterma:

$$q = ac^m$$

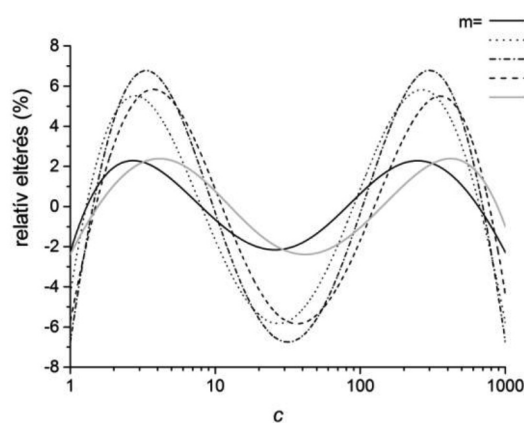
ahol  $a$  és  $m$  ( $0 < m < 1$ ) konstans.

A bi-Langmuir-izoterma:

$$q = (a_1 / (1 + b_1 c)) + (a_2 / (1 + b_2 c))$$

ahol  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $b_1$  és  $b_2$  konstansok.

Azt tapasztaltuk, hogy amennyiben egy rendszer viselkedése jól leírható a Freundlich-izotermával, a legtöbb esetben a bi-Langmuir-modell is hasonlóan jó illeszkedést ad. Ezt Monte Carlo-szimulációval, illetve a matematikai függvények összehasonlításával mutattuk be. A 3. ábra mutatja a Freundlich-modell ( $q = 1000c^m$ ) és a hozzá legjobban illeszkedő bi-Langmuir-modell relatív eltérését a  $lgc$  függvényében.



3. Ábra. Freundlich- ( $a=1000$ ) és bi-Langmuir-izoterma közötti eltérés különböző  $m$ -ek esetében

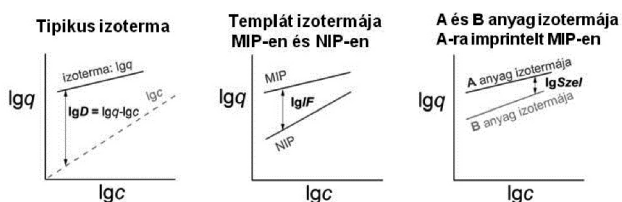
Ahogy a 3. ábra mutatja, minden Freundlich-izoterma (ahol  $a=1000$ , de ugyanez adódik más  $a$  értékekre is) maximum 7%-os eltéréssel megközelíthető egy bi-Langmuir-izotermával. A tipikus statikus (batch) mérések szórása 5% körüli. Ez azt jelenti, hogy amennyiben a mért adatok jól leírhatóak a Freundlich-izotermával, szinte lehetetlen a bi-Langmuir-modellt kizárni akkor is, ha a vizsgált koncentráció tartomány viszonylag széles.

Ebből az eredményből kiindulva felvetődik a kérdés, hogy érdemes-e a polimereket különböző adszorpciós modell-egyenletekkel jellemezni.

### 3.3. Újszerű izoterma ábrázolási módszer<sup>11</sup>

Véleményünk szerint a polimer jellemzés legjobb módszere az izotermák felvétele, azonban az előző fejezetben bemutatott problémák miatt konkrét izoterma egyenletek illesztését a mérési pontokhoz nem javasoljuk.

A problémák kiküszöbölésére egy újszerű módszerrel, kétszer logaritmusos grafikus ábrázolásmódban hasonlítottuk össze az általunk mért adszorpciós izotermákat. Ennek segítségével olyan diagramokat kaptunk, ahol a pontok széles koncentrációtartományban közel egy egyenesre illeszkednek, azonban trendvonal illesztése nélkül is következtetéseket lehet levonni például a szelektivitásra vonatkozólag. Ezzel a módszerrel vizsgáltuk meg számos saját készítésű és kereskedelmi polimer adszorpciós viselkedését. A módszer fő előnye, hogy közvetlenül leolvashatók az ábráról a polimer jellemző paraméterek, mint a megoszlási hányados ( $D=q/c$ ), az imprinting faktor ( $IF=D_{MIP}/D_{NIP}$ ) és a szelektivitás ( $Szel=D_{templát}/D_{analóg}$  vegyület), (valamint ezek koncentrációfüggése, amit sokan helytelenül nem vesznek figyelembe), ahogy a 4. ábra mutatja.



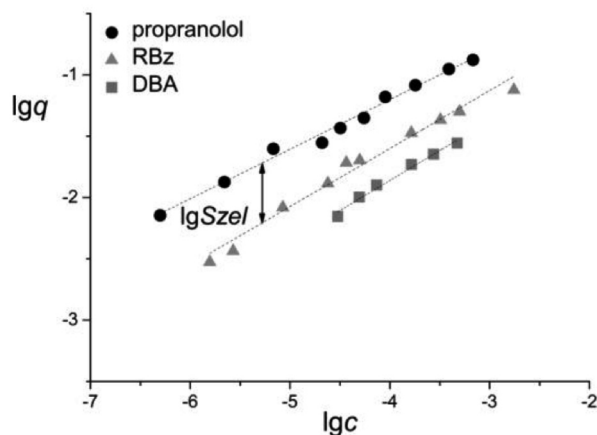
4. Ábra. A megoszlási hányados ( $D$ ), az imprinting faktor ( $IF$ ) és a szelektivitás ( $Szel$ ) leolvasása a  $lgq$ - $lgc$  ábráról

Az izotermák  $lg$ - $lg$  ábrán való összehasonlításakor elegendő:

- az izotermát a számunkra érdekes koncentrációtartományban megmérni
- logaritmusos egységenként 2-3 pontot felvenni
- a méréseknek nem kell nagyon precíznek lenniük.

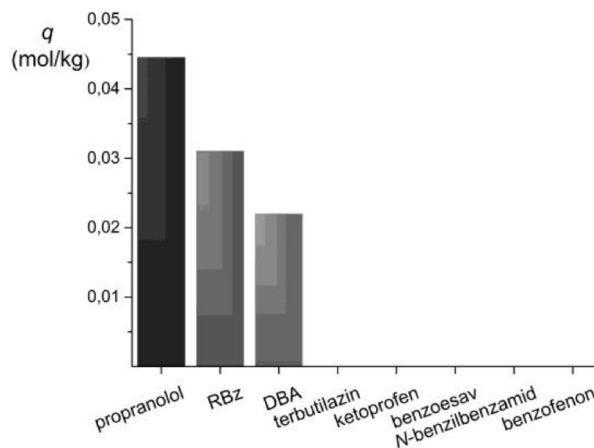
Ez a fajta ábrázolásmód grafikus úton egyszerűen összehasonlíthatóvá teszi a különböző laboratóriumokban készített polimereket, ezáltal könnyen kiválasztható az irodalomból is a megfelelő polimer egy adott feladatra.

Munkánk során a propranolol MIP szelektivitását vizsgáltuk részletesen ezzel a módszerrel: a propranolol és két szekunder amin ((*R*)-(-)-2-benzilamino-1-feniletanol (RbZ) és dibenzil-amin (DBA)) izotermáját mértük meg a propranolol MIP-en a porogénben, acetonitrilben (ACN), ld. az 5. ábrát.



5. Ábra. Propranolol MIP szelektivitása

Eredményül azt kaptuk, hogy érdekes módon az aminok izotermája a propranolol MIP-en közel párhuzamos egymással. Ez azt jelenti, hogy a propranolol MIP szelektivitása szinte nem változik a koncentrációval. A propranolol MIP szelektivitása minden koncentrációnál kisebb 10-nél (mivel az 5. ábrán  $lgSzel < 1$ ). Azonban a MIP szelektivitása szerkezetileg távoli, nem középerős bázis típusú anyagokkal szemben sokkal nagyobb 10-nél (csoportszelektivitás), ahogyan ez várható is, ld. a 6. ábrát.



6. Ábra. Propranolol MIP szelektivitása propranololtól szerkezetileg nagyon különböző anyagokra (összehasonlításul két szekunder amin, RBz-t illetve DBA-t is bemutatva) ACN-ben

A MIP izotermák nyújtotta információk segíthetnek kiválasztani a megfelelő alkalmazást. A kromatográfia a hasonló vegyületek közt tapasztalt (5. ábra) kis szelektivitás esetén is alkalmas az anyagok elválasztására. Mivel az SPE sokkal kevésbé hatékony a HPLC-hez képest, az SPE alkalmazásokban leginkább a MIP nagy csoportszelektivitását használják ki (v.ö. 6. ábra).



Az újfajta ábrázolásmóddal többféle MIP-et és NIP-et vizsgáltunk és számos új, az eddigi szemlélettel részben ellentétes eredményre jutottunk. Érdekes módon a NIP szelektívabb a propranololra a különböző szekunder aminokkal szemben, mint a propranolol MIP (A MIP-en megnő valamennyi amin kötődése a NIP-en mérhető képest, a két polimeren azonos a vizsgált vegyületek szelektivitási sorrendje. Mivel a MIP-en kisebb a kötődésbeli különbség az anyagok között mint a NIP-en, ezért azt mondhatjuk, hogy a NIP szelektívabb a propranololra, mint a propranolol MIP). A vizsgált esetekben az imprintelésért leginkább az amino csoport felelős, az amin templátok pontos szerkezetének, alakjának alárendelt szerepe van (ld. 5. és 6. ábra). Így bizonyos esetekben a célvegyülettől eltérő molekulával imprintelt, vagy nem imprintelt polimerek is a célvegyülettel imprintelt polimerhez hasonló előnyökkel rendelkezhetnek.

### 3.4 Kompetitív izoterma megadása<sup>12</sup>

A MIP-ek alkalmazásaiban gyakori feladat egy anyag egy (vagy több) zavaró anyagtól való elválasztása. Ezért a keverék izoterma (amikor legalább két adszorbeálódni képes anyag van együtt az oldatban a polimer mellett) felvétele közelebb áll sok valóságos alkalmazáshoz, mint a tiszta oldatoké. Az együtt jelenlévő anyagok többnyire csökkentik egymás kötődését, ezért a kevert oldatos izotermákat kompetitív izotermáknak hívjuk.

Kompetíciós (két bázis elegyével történő) méréseket végezve a propranolol MIP-en, arra jutottunk, hogy a bázisos megoszlási hányadosa független attól, hogy kevert vagy külön oldattal érünk el egy adott borítotttságot a polimeren. Ez azt jelenti, hogy a két tiszta anyag izotermája ebben az esetben meghatározza az elegy izotermát. Ez az eredmény jelentősen lecsökkenti a szükséges mérések számát, valamint egyszerűen megtervezhetővé teszi a MIP-es elválasztási feladatokat.

### 4. Kísérleti módszerek

A propranolol MIP-et irodalmi leírás alapján készítettük.<sup>6</sup> Valamennyi polimer tömbpolimerizációs eljárással készült. A polimerből a templátot 0,01 M-os, metanol-vizes sósav oldattal távolítottuk el. A polimerbe nem beépült metakrilsav (MAA) mennyiségét a polimer metanolban történő áztatásával vizsgáltuk. A felülúszó MAA tartalmát HPLC-vel mértük meg. A polimerek kationcserélő kapacitását potenciometrikus titrással határoztuk meg. Szerves bázisok adszorpciójának vizsgálatok adott tömegű polimert Eppendorf csövekbe mértünk, majd hozzá pipettáztuk az analát oldatát. Az oldatban maradt (nem megkötött) analát mennyiségét 30 perc inkubálási idő után határoztuk meg a minták felülúszójából HPLC-vel. Az izotermákat a fázisarány és/vagy a kiinduló analát koncentráció változtatásával vettük fel. Az izoterma illesztés a Microsoft Office Solver programjában történt.

### 5. Összefoglalás

Munkánk során részletesen vizsgáltuk a molekuláris lenyomatú polimerek gyakorlati szempontból fontos tulajdonságait, mint a kötőkapacitás és a szelektivitás.

A polimerek tulajdonságait nagy kötődési szint ( $q$  érték) mellett sokszor nem vizsgálják meg, csak az alacsonyabb koncentrációknál mért izoterma pontokból következtetnek a maximális kötőképessegre. Ez a gyakorlat azonban helytelen, a ténylegesen mért kötőkapacitások ennél az értéknél jóval nagyobbak. A kötőkapacitás vizsgálatok elért eredményeink hozzájárulhatnak nagy kapacitású polimerek előállításához, illetve a polimerek kötőhelyeinek jobb megértéséhez.

Megmutattuk, hogy félrevezető lehet az izoterma adatpontokhoz modell függvényeket illeszteni. Az izoterma kiértékelési problémák kiküszöbölésére az izotermákat  $lgq$ - $lgc$  ábrán javasoltuk megjeleníteni. Ezen az ábrán többnyire egyenesek vagy enyhén hajló görbék illeszthetők a mérési pontokra egy széles koncentrációtartományban, így az izotermák vizuálisan is könnyen összehasonlíthatóak egymással. Ez az új módszer egyszerű és robusztus, és segít kiválasztani a megfelelő polimert egy adott analitikai feladatra. Jól követhető vele az imprintelés hatása, az imprintelt polimerek szelektivitása. Megmutattuk, hogy a vizsgált propranolol MIP szelektivitása más gyenge bázisokkal szemben nem túl nagy, a nem imprintelt polimerekéhez hasonló. Nem bázikus vegyületekkel szemben viszont nagy szelektivitást kaptunk.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk a NKFIH-nak (OTKA) (K120075).

### Hivatkozások

- Lavignac, N.; Allender, C. J.; Brain, K. R. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *510*, 139-145. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.12.066>
- Andersson, L. I., Muller, R., Vlatakis, G., Mosbach, K., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92*, 4788-4792. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.11.4788>
- Molecularly Imprinted Polymers. Man-Made Mimics of Antibodies and Their Application in Analytical Chemistry; Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, Sellergren, B. Ed.; Elsevier Science: Amsterdam, **2001**.
- Handbook of Molecularly Imprinted Polymers*, Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A., Eds.; Smithers Rapra, Shrewsbury, **2013**.
- Molecular Imprinting*, Haupt, K., Ed.; Springer, Heidelberg, **2013**.
- Andersson, L. I. *Anal. Chem.*, **1996**, *68*, 111-117. <https://doi.org/10.1021/ac950668>
- Dorkó, Z.; Szokolczai, A.; Verbić, T.; Horvai, G. *J. Sep. Sci.*, **2015**, *38*, 4240-4247. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500874>
- Dorkó, Z.; Szokolczai, A.; Tóth, B.; Horvai, G. *Period. Polytech-Chem.*, **2017**, *61*, 10-14. <https://doi.org/10.3311/PPch.10103>
- Sajonz, P.; Kele, M.; Zhong, G. M.; Sellergren B.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A*, **1998**, *810*, 1-17. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00247-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00247-7)
- Gritti, F.; Guiochon, G. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1144*, 208-220. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.057>
- Dorkó, Z.; Tamás, B.; Horvai, G. *Talanta*, **2017**, *162*, 167-173. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.027>
- Dorkó, Z.; Tamás, B.; Horvai, G. *Period. Polytech-Chem.*, **2017**, *61*, 33-38. <https://doi.org/10.3311/PPch.9726>

### Selective adsorption on molecularly imprinted polymers

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are selective sorbents. Molecular imprinting involves self-arrangement of polymerizable functional monomers around a template molecule, followed by polymerization and template removal. Therefore, complementary size, shape, and functionalities toward the template in the polymer can be obtained. Consequently, MIPs are expected to rebind the template molecule and possibly also its structurally similar compounds selectively. A control polymer is often made in the absence of the template (NIP: nonimprinted polymer).

MIPs have been used for the development of various analytical and technological methods such as liquid chromatography, capillary electrochromatography, solid-phase extraction (SPE), membrane separations, binding assays and sensors. One reason for the slower than expected progress with MIPs may be the use of difficult to compare characterization methods. Our aim was to develop better methods for the determination of the binding capacity and selectivity of molecularly imprinted polymers. Furthermore, a simple graphical tool has been proposed, which allows to select the most suited adsorbent (MIP or other material) for solving an actual practical problem.

MIPs bind their target compounds at binding sites. Despite many efforts, the exact chemical structure of these binding sites could not yet be revealed. The binding sites are typically based on some type of functional groups, like carboxylic groups. The total amount of such functional groups and their distribution into available and unavailable groups is not well known. The total binding capacity is usually indirectly determined by extrapolation from adsorption isotherms, which are measured much below the real binding capacity. Such an indirect measurement published in the literature had found that the binding capacity of a propranolol imprinted polymer was only 4% of its COOH content. We have found by

direct measurement at high propranolol concentration that a similar polymer binds propranolol equivalent to 30% of the COOH groups. This actually measured value still lags behind the capacity for binding the OH groups of NaOH, which is close to 100%. The difference may be due to the difference in the strength of the two bases. Indeed, we have found that an organic superbases can be bound almost like NaOH.

The most suitable method of MIP characterization is by the use of binding isotherms. These are equilibrium data and thus easily comparable between polymers and adsorptives, independently from the laboratory. Typically some model equation is fitted to the measured isotherm data, and the parameters of the model are further used. We have shown that given the imprecision of isotherm data, neither the selection of the isotherm type, nor the physical interpretation of the obtained constants is on a safe ground. Our suggested method for isotherm presentation ( $\log q$ - $\log c$  plot) is a simple method for MIP testing, and the precision of the measured data is also less critical than in equation fitting. Important properties of polymers can be read from these log-log plots, like the logarithm of the imprinting factor ( $IF$ ), the selectivity ( $Sel$ ) and the distribution ratio ( $D$ ). The  $\log q$ - $\log c$  graphs show very transparently the selectivity of the polymers. It has been shown for example, that the selectivity of the propranolol MIP is low against other organic bases of comparable base strength, but excellent against many other compounds. It has also been found that under specific conditions NIPs may have interesting practical properties, not much different from the MIP.

Based on our results with competitive isotherms, batch separation experiments can be easily designed and the selectivity of the MIPs is also easily determined without the tedious measurement of the full competitive isotherm.

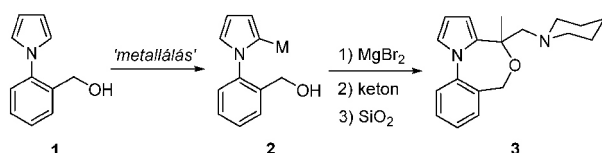
# Az 1-aryl-1*H*-pirrolok kémiája: alapváz funkcionálizálástól az enantioszelektív fémorganikus katalízisig

MÁTRAVÖLGYI Béla\*, HERGERT Tamás, THURNER Angelika és FAIGL Ferenc

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szerves Kémia és Technológia Tanszék  
Budafoki út 8. 1111 Budapest, Magyarország

## 1. Bevezetés

A többszörösen szubsztituált 1-arylpirrolok gyakorlati szempontból fontos vegyületek építőkövei. Számos 1-arylpirrol-származék mutat antibiotikus,<sup>1</sup> citosztatikus,<sup>2</sup> gomba-<sup>3</sup> és vírusellenes<sup>4</sup> hatást, specifikus kötődést az 5-HT<sub>3</sub>,<sup>5</sup> vagy az 5-HT<sub>7</sub> szerotonin receptorokon.<sup>6</sup> Ismertek 1-arylpirrol részletet tartalmazó Ca-csatorna blokkoló,<sup>7</sup> gyulladáscsökkentő (Clopirac),<sup>8</sup> calmodulin inhibitor,<sup>9</sup> mineralkortikoid-,<sup>10</sup> valamint benzodiazepin receptoron ható<sup>11</sup> vegyületek is. A hagyományos szintetikus eljárások azonban gyakran közepes, vagy alacsony termeléssel eredményezik ezeket a célmolekulákat. A pirrol igen könnyen reagál az elektrofilek széles körével, főként C2 szubsztituált terméket eredményezve, azonban az ilyen reakciók során alkalmazott erős savak a vegyület részleges degradációjához, polimerizációjához is vezetnek. Másfelől a helyettesítők (és az elektrofilek) szterikus hatásait szintén számításba kell venni, ami a szubsztitúció helyzetét erősen befolyásolja. Nitrogénezen nagy térkitöltésű csoportot tartalmazó származékok esetében a C3 szubsztitúció aránya jelentősen előtérbe kerülhet. Például 1-aryl-1*H*-pirrol-2-karboxaldehid és 1-aryl-1*H*-pirrol-3-karboxaldehid keverékének képződése figyelhető meg a megfelelő 1-aryl-1*H*-pirrolok Vilsmeier-formilezése során.<sup>6</sup> A 4*H*,6*H* pirrolo-[1,2 a][4,1]benzoxazepin gyűrűrendszert tartalmazó vegyület eredeti szintézise aktivált karbonilvegyületek, például etil-piruvát 1-[2-(hidroximetil)fenil]-1*H*-pirrolra történő savkatalizált C2 helyzetű addícióján és az azt követő, ugyancsak savkatalizált gyűrűzárásán alapszik.<sup>9</sup> A vegyület ilyen módon történő előállításának össztermelése alacsony (< 30%). Kutatócsoportunk 1-arylpirrolok kémiáját feltáró programja a triciklus (3) fémorganikus úton (2 intermedieren keresztül) történő kialakításának vizsgálatával kezdődött.<sup>12</sup>

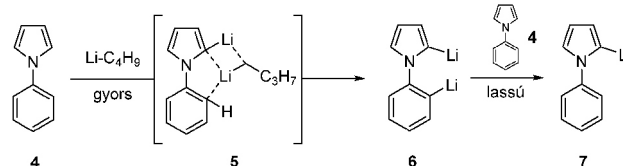


1. Ábra. Benzoxazepin gyűrűrendszer kialakítása fémorganikus úton (keton: 1-piperidinopropán-2-on)

## 2. Eredmények és értékelésük

### 2.1. Az alapváz fémorganikus funkcionálizálása

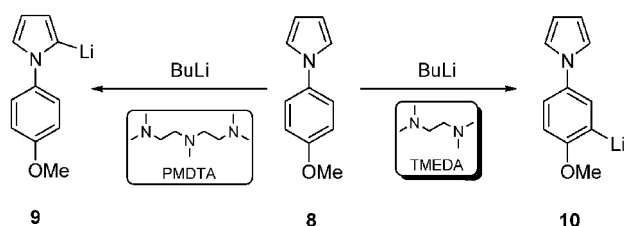
Az kutatómunka kezdeti időszakban a benzolgyűrűn különböző helyettesítőket tartalmazó 1-arylpirrolok szelektív metallálási lehetőségeit kutattuk, szisztematikusan tanulmányozva az oldószer, a metallálószer és az alkalmazott komplexáns hatását a reakcióra. A vizsgálatok a metallálás mechanizmusának felderítésével indultak (2. ábra).



2. Ábra. Az 1-fenil-1*H*-pirrol (4) lítiálásának mechanizmusa

Időfüggő kísérletsorozatot végezve bizonyítottuk, hogy 4 dimetallálása kinetikusan kontrollált folyamat. Kiindulási anyag jelenlétében a gyors reakcióban képződő 6 folyamatos transzmetallálódás útján a stabilabb 2-lítio-1-fenil-1*H*-pirrollá (7) alakul. Az 2-lítio termék (7) képződéséhez optimális reagensnek a kálium-terc-butoxiddal aktivált *n*-butil-lítiumot (LIC KOR szuperbázis) találtuk (THF, -75°C, 30 perc, 98% szelektivitás), mely a BuLi/TMEDA reagensnél rövidebb reakcióidő alatt szelektíven eredményezte a célterméket (DEE/hexán, 0°C, 5 óra, 45% szelektivitás). Jól szolváló oldószer (például tetrahydrofuran dietil-éter helyett) szintén a termodinamikusan kontrollált (7) termék képződésének kedvez. Az 1-(szubsztituált-fenil)-1*H*-pirrolok fém-organikus reagensekkel való reakciójában a heteroatomot tartalmazó aromás gyűrű és a benzolgyűrűn elhelyezkedő szubsztituens irányító hatásának együttes tanulmányozására nyílt mód. Modellvegyületeink a hidroximetil-,<sup>12</sup> metoxi,<sup>13,14</sup> trifluormetil-,<sup>15,16</sup> bróm- és klór-,<sup>14</sup> fluor-,<sup>17</sup> metil-,<sup>18,19</sup> etil-,<sup>19,20</sup> valamint fenil-csoportokat<sup>21</sup> különböző helyzetekben tartalmazó 1-fenil-1*H*-pirrolok voltak. A csoportunk végzett először szisztematikusan kísérleteket a két, illetve három heteroatomot tartalmazó TMEDA és PMDTA aktiváló és regioszelektivitást befolyásoló hatásának összehasonlítására.<sup>13</sup> Az 1-(4-metoxifenil)-1*H*-pirrol lítiálása igen jól szemlélteti, hogy megfelelő ligandummal az egyéb körülmények tekintetében (oldószer, hőmérséklet, koncentráció, reakcióidő) azonosan kivitelezett metallálások regioszelektivitása megváltoztatható (3. ábra).

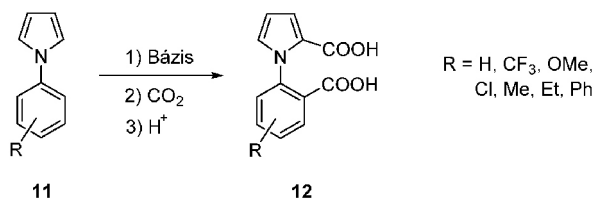
\* Tel.: 4635889 ; fax: 4633658 ; e-mail: bmatravolgyi@mail.bme.hu



3. Ábra. TMEDA és PMDTA regioselektivitást befolyásoló hatása

TMEDA jelenlétében a metoxi-csoport melletti *orto* helyzetben történik lítiálás (10), mivel az átmeneti komplex létrehozásában részt vesz a metoxi-csoport heteroatomja. A három heteroatomot tartalmazó PMDTA-val kialakuló LIC–PMDTA komplexben viszont a lítiumatom, telített koordinációs szférája miatt nem koordinálódik a metoxi-csoporttal, így az 1-(4-metoxifenil)-1*H*-pirrol (8) legsavasabb (C2) hidrogénjének cseréje valósul meg (9).

A metallálási vizsgálatok egy speciális esete volt a kettős funkcionalizálás lehetőségének megvalósítása. A körülmények megfelelő megválasztásával sikerült több származék esetében is mind a pirrolgyűrű C2, mind a benzolgyűrű *orto* helyzetű szénatomjának együttes lítiálását szelektíven véghezvinni, így például dikarbonsav- származékokat közel kvantitatív termeléssel előállítani (4. ábra).<sup>14-16,18-22</sup>



4. Ábra. 1-Fenil-1*H*-pirrol alapvázú dikarbonsavak előállítása (bázis: 2 ekvivalens BuLi-TMEDA / BuLi-PMDTA vagy LIC-KOR)

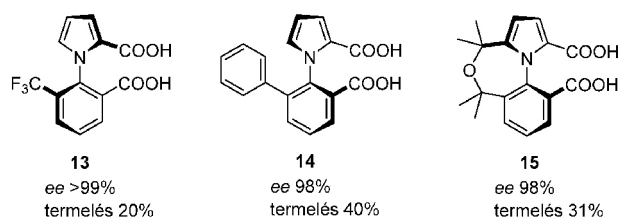
## 2.2. Atropizomerek és sóképzéses rezolválásuk

A benzolgyűrűn 2-szubsztituált 1-aryl-1*H*-pirrolok metallálásával kapott dikarbonsavak a kiralitás egy speciális formáját mutatták. Szerkezetükből adódóan a két aromás gyűrű közötti C-N kötés körüli rotáció a szubsztituensek – benzol-gyűrű C2 és C6 helyzetében, valamint a pirrolgyűrű C2-szénatomján – ütközése révén gátolt. Molekulamodellezési számítások alapján, majd később kísérleti úton is (hőmérsékletfüggő NMR vizsgálatok királis shift-reagens jelenlétében) bizonyítottuk, hogy például **13** dikarbonsav (5. ábra) enantiomerjeinek izomerizációs aktiválási szabadentalpiája (31,6 kcal/mol) elég nagy ahhoz, hogy a forgási izomerek optikai aktivitásukat normál körülmények között megőrizzék,<sup>22</sup> így e dikarbonsav-származékok az atropizomer vegyületek új képviselőit alkotják.

Az enantiomerkeverékek elválasztásának (rezolválás) kutatása több évtizedes hagyományokra tekint vissza Tanszékünkön.<sup>23</sup> A megjelent összefoglaló közlemények részletesen tárgyalják a rezolválási technikákat,<sup>24-26</sup> valamint a nem-racém enantiomerkeverékek elválasztási lehetőségeit is.<sup>27</sup> Az elmúlt években enantiomertiszta vegyületek előállítására igen nagyszámban megvalósított sztereoselektív szintézisek és királis kromatográfiás

eljárások ellenére a racém vegyületek optikai izomerjeinek rezolválás útján történő elválasztása és tisztítása ma is sokszor a legolcsóbb és nagy méretekben a legegyszerűbben kivitelezhető módszer. Az eljárás nem igényel extrém körülményeket, vagy drága reagenseket és az alkalmazott rezolváló ágensek a folyamat végén legtöbbször visszanyerhetők. A diasztereomerek kristályosításán alapuló rezolválások kidolgozását ma már számos felismert törvényszerűség és tapasztalati szabály segíti. Mégis a mai napig egy rezolválás kidolgozása rengeteg kísérleti munkát igényel, míg a megfelelő hatékonyságú elválasztást sikerül megvalósítani. Egy új racém vegyület rezolválásakor több tényező ideális összhangját kell megvalósítanunk. Ezek a megfelelő rezolvószer és oldószer megválasztása, valamint az optimális körülmények (mólarány, akirális segédanyagok, hőfok, kristályosítási idő) megteremtése.

A kutatócsoportban előállított atropizomer dikarbonsavak tükörképi izomerjeinek tiszta formában történő előállítására általánosan alkalmazhatónak találtuk a diasztereomerek képzéses rezolválást. A vizsgált racém atropizomerek körében (*S*)-1-fenil-etil-ammal (FEA) minden esetben sikerült bizonyos fokú enantiomer-megkülönböztetést elérnünk, de a módszerek körülményei, hatásokuk és preferált csavarodottságú izomerei az egyes esetekben eltérők voltak. Az első hatékony rezolválást az 1-[2-karboxi-6-(trifluorometil)fenil]-1*H*-pirrol-2-karbonsav (**13**) esetében valósítottuk meg (5. ábra).<sup>15</sup> A legjobb eredményt fél ekvivalens (*S*)-FEA-nal kaptuk, azonban az etanolban végrehajtott enantiomerelválasztás csak a primer termék átkristályosítását követően adott megfelelő optikai tisztaságú terméket. Az enantiomertiszta **13** dikarbonsavhoz így csak alacsony termeléssel és hatékonysággal jutottunk (*S* = 0,2).

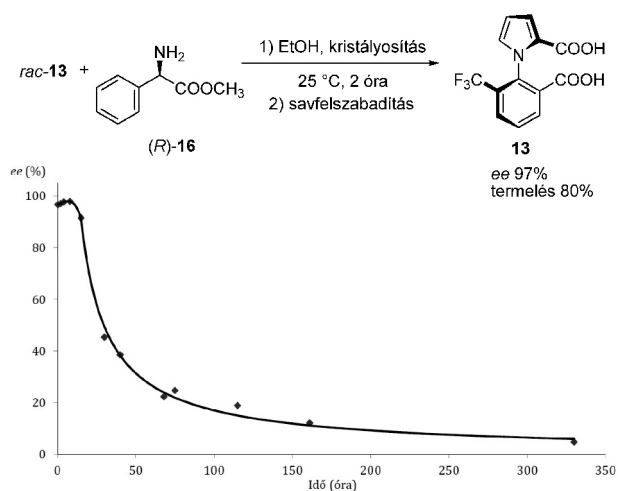


5. Ábra. (*S*)-FEA rezolválószerrel enantiomertiszta előállított 1-fenil-1*H*-pirrol alapvázú atropizomer dikarbonsavak

A racém **14** és **15** dikarbonsavak rezolválása szintén etanolban végezhető el eredményesen ekvivalens mennyiségű rezolválószerrel (5. ábra).<sup>21,22</sup> Tiszta enantiomerek az első kristályosítás során nyert sók elbontását követő újbóli rezolválással nyerhetők. Az eljárás közepes hatékonysággal (*S* = 0,39 illetve 0,3) eredményezi a megfelelő forgási izomereket, azonban érdekes jelenség, hogy ugyanazon konfigurációjú 1-fenil-etil-amin az ellenkező csavarodottságú dikarbonsav enantiomerekkel képez jól kristályosodó sókat, mint a trifluorometil-helyettesítőt tartalmazó **13** esetében. A tiszta enantiomerek abszolút konfigurációját egykristály- röntgendiffrakciós, illetve cirkuláris dikroizmus mérésekkel határoztuk meg.

A kutatómunka e stádiumában további célunk az előállított enantiomertiszta atropizomerek hasznosítása volt, részben önmagukban, illetve karboxil-csoportjaiknak átalakításával kétfogú ligandumokként vagy organokatalizátorokként. Az eredmények alapján az optikailag aktív vegyület többlépes szintetikus módosítása racemizáció bekövetkezése nélkül megvalósítható (magas rotációs energiagát), azonban a kidolgozott enantiomer-elválasztások alacsony hatékonysága ezt nem tette multigrammos méretben kivitelezhetővé.

Szintetikus szempontból igen nagy jelentőségű a **13** trifluorometil-helyettesített származék, mivel karboxil-csoportjainak reaktivitása merőben eltérő. Ez két tényező eredője: egyik a benzolgyűrűn lévő trifluorometil-csoport elektronszívó hatása, amely növeli az elektronhiányos állapotot a hozzá képest *meta* helyzetű karbonil szénatomon, másik a pirrolgyűrű elektronküldő tulajdonsága, mely csökkenti a heterocikluszhoz kapcsolódó karbonil szénatom parciális pozitív töltését, ezáltal szelektív átalakításokat lehetővé téve az azonos funkciók között. Ezeket figyelembe véve célunk egy hatékony sóképzéses rezolválás kidolgozása volt az optikailag aktív **13** előállítására. A körülmények (rezolválószer, oldószer, idő) részletes vizsgálata eredményeképp sikerült (*R*)-2-fenilglicin-metil-észter rezolválószerrel (FGMe) egy kimagasló hatékonyságú eljáráshoz jutnunk.<sup>28</sup> Alig két órás kristályosítást követően közel enantiomertiszta dikarbonsavat tartalmazó só (*ee* 97%) szűrhető ki az elegyből 80%-os termeléssel. Érdekesség, hogy a kristályosítás idejének növelése az optikai tisztaság drasztikus csökkenéséhez vezetett. Az optimális kristályosítási idő és az enantiomertisztaság csökkenés folyamatának meghatározása érdekében kísérletsorozatot végeztünk, mely alapján megállapítható hogy 2 hét után gyakorlatilag racém termék izolálható (330 óra után az *ee* mindössze 5%, 6. ábra).



**6. Ábra.** A **13** hatékony rezolválása (*R*)-FGMe-rel; a diagramon a diasztereomersóból nyerhető dikarbonsav enantiomertisztaságának időbeni alakulása látható (független kísérleti pontok, *ee* meghatározása királis AD-H oszlopon HPLC módszerrel)

A jelenség háttérében a rezolválószer adott körülmények között bekövetkező racemizációja áll. Ez az első ránézésre igen negatív jelenség, azonban előnyösen kihasználható, ha a 'fordított' rezolválás esetében gondolkodunk. Az új rezolváló ágensek kutatása igen nagy jelentőséggel bíró kutatási terület az atropizomer vegyületek körében is. E kutatási irány és vegyületeink hasznosíthatósági vizsgálatának célja eredményeképp **13** dikarbonsav rezolválószerként való alkalmazását is vizsgáltuk.

A klasszikus rezolválási módszerekkel elméletileg is csak a racém anyag fele nyerhető ki, a rossz izomer veszendőbe megy. Vannak azonban olyan kombinált módszerek, amikor a nem hasznos izomer racemizálása és a számunkra szükséges enantiomer kinyerése egy edényben megvalósítható akár kinetikus (dinamikus kinetikus rezolválás), akár termodinamikai kontroll (másodrendű aszimmetrikus transzformáció) érvényesülése mellett. Ezekkel a módszerekkel tehát elvileg a racém anyag teljes mennyisége a számunkra szükséges enantiomerré alakítható. A másodrendű aszimmetrikus transzformáció egy spontán epimerizációval egybekötött kristályosítás. A körülmények helyes megválasztásával elérhető, hogy a diasztereomer viszonyú izomerek egymásba alakulása közben az egyik diasztereomer folyamatosan kiválik az oldatból. Ennek a változatnak nagy előnye, hogy nem a két diasztereomer oldatbeli stabilitáskülönbsége határozza meg az egyensúlyi helyzetet, hanem a kristályosuló diasztereomer oldhatósága. Így, ha kis oldékonyságú diasztereomert sikerül előállítani, akkor gyakorlatilag a racém kiindulási anyagunk közel teljes mennyisége a hasznos izomert tartalmazó diasztereomerré alakítható. Ez már olyan határfok, amely miatt sok ipari kutató-fejlesztő vizsgálja a másodrendű aszimmetrikus transzformáció lehetőségét a legkülönbözőbb optikailag aktív anyagok előállítására céljából. Rezolválásunk körülményei között végbemenő FGMe racemizációja ilyen eljárás hatékony kidolgozására kínált lehetőséget.

**1. Táblázat.** Racém **16** rezolválásának és másodrendű aszimmetrikus transzformációjának eredményei<sup>a</sup>

|                | Oldószer    | Termelés (%) <sup>b</sup> | <i>ee</i> (%; <b>16</b> ) <sup>c</sup> | Idő (h) | S    |
|----------------|-------------|---------------------------|--|---------|------|
| 1 <sup>d</sup> | MeOH        | 20                        | 83                                     | 2,5     | 0,17 |
| 2 <sup>d</sup> | MeOH        | 63                        | 99                                     | 360     | 0,62 |
| 3              | Tol/Ac 10/3 | 95                        | 50                                     | 3       | 0,48 |
| 4              | Tol/Ac 10/3 | 95                        | 90                                     | 20      | 0,86 |
| 5              | Tol/Ac 10/3 | 96                        | 90                                     | 40      | 0,86 |
| 6              | Tol/Ac 10/4 | 86                        | 93                                     | 20      | 0,82 |
| 7              | Tol/Ac 10/5 | 82                        | 95                                     | 20      | 0,78 |
| 8 <sup>c</sup> | Tol/Ac 10/5 | 92                        | 95                                     | 20      | 0,87 |

<sup>a</sup> A reakciókat 0,34 M oldatban, 40 °C hőmérsékleten végeztük.

<sup>b</sup> A diasztereomersó termelés a racém **16** egészére számolva

<sup>c</sup> Az *ee* meghatározása HPLC mérésekkel történt királis állófázisú kolonna használatával (Kromasil 5-AmyCoat).

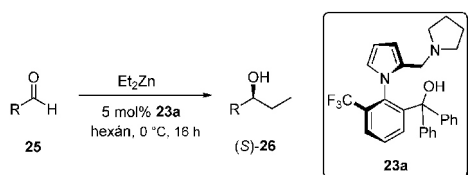
<sup>d</sup> 25 °C.

<sup>e</sup> A reakciót 10% víz hozzáadásával valósítottuk meg.



1-fenil-etil-amin helyettesített származékok.<sup>32-35</sup> A tercier alkohol funkciók aromás helyettesítői fenil-,<sup>32-34</sup> illetve trifluorometil-szubsztituált<sup>35</sup> fenilcsoportok. Célunk e származékok tesztelésével a ligandumokban lévő különböző helyettesítők szterikus és elektronikus hatásainak tanulmányozása volt. Tercier alkohol funkciók ligandumok igen jelentős aszimmetrikus indukciót kiváltó katalizátorokat alkottak, de igen meghatározó szerepet mutattak az atropizomer szerkezetnek amin helyettesítői.<sup>32-34</sup> A **23** típusú aminoalkoholok első hatékony képviselőjének a pirrolidincsoportot tartalmazó **23a** bizonyult.<sup>34</sup> A modellkísérletek mindegyikében, függetlenül a benzaldehid-származék (**25**) szubsztituensének helyzetétől és elektronküldő, illetve szívó hatásától, kiváló termelésekkel és jó, esetenként kimagasló enantiomerfelesleggel (*ee* 63-95%) kaptuk a megfelelő királis alkoholokat ((*S*)-**26**, 2. táblázat).<sup>34</sup>

**2. Táblázat.** A **23a** ligandummal elért eredmények különböző aldehidek és dietil-cink reakciójában



| R   | Termelés <sup>b</sup> (%) | <i>ee</i> <sup>c</sup> (%) | Konf. <sup>d</sup> |
|---|---------------------------|----------------------------|--------------------|
| 1 Ph  | 92                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 2 2-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 93                        | 94                         | ( <i>S</i> )       |
| 3 3-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 94                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 4 4-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 96                        | 92                         | ( <i>S</i> )       |
| 5 2-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 93                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 6 3-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 92                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 7 4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 88                        | 92                         | ( <i>S</i> )       |
| 8 3-BnO-4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> | 94                        | 95 <sup>e</sup>            | ( <i>S</i> )       |
| 9 2-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 91                        | 88                         | ( <i>S</i> )       |
| 10 2-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 92                        | 90                         | ( <i>S</i> )       |
| 11 2-I-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 90                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 12 3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 95                        | 92                         | ( <i>S</i> )       |
| 13 4-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 91                        | 93                         | ( <i>S</i> )       |
| 14 1-Naph                                   | 93                        | 90                         | ( <i>S</i> )       |
| 15 2-Naph                                   | 92                        | 90                         | ( <i>S</i> )       |
| 16 Ph-CH=CH                                 | 91                        | 63 <sup>e</sup>            | ( <i>S</i> )       |

<sup>a</sup> A reakciókban 3 mol ekvivalens ZnEt<sub>2</sub> reagenst használtunk.

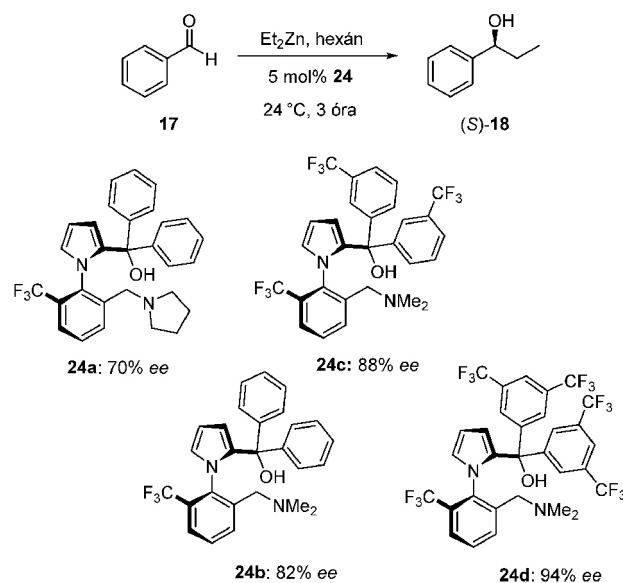
<sup>b</sup> Izolált termelések.

<sup>c</sup> Meghatározása GC analízissel történt (Supelco β-DEX 120).

<sup>d</sup> Az alkoholok abszolút konfigurációját specifikus forgatóképességük irányára alapján, ismert irodalmi adatokkal összevetve határoztuk meg.

<sup>e</sup> Meghatározása HPLC analízissel történt (Phenomenex Cellulose-1), reakció toluolban lett végezve.

A regioizomer **24** szerkezetű aminoalkoholokkal elért eredmények alapján jelentős szerkezeti hatások voltak kimutathatók. Míg például dietil- és dibutil-amin szubsztituált **23**-as ligandumok igen jó enantioszelektív hatást mutattak (> 90% *ee*) a modellreakcióban, addig a dietil- és dibutil-amin helyettesített **24**-es ligandumok gyakorlatilag racém terméket eredményeztek.<sup>33</sup> Kisebb térkitöltésű amin helyettesítőkkel – mint a pirrolidin és dimetil-amin – már a **24** képletű ligandumtípus jó aszimmetrikus hatása is megmutatkozott (10. ábra).<sup>33</sup>



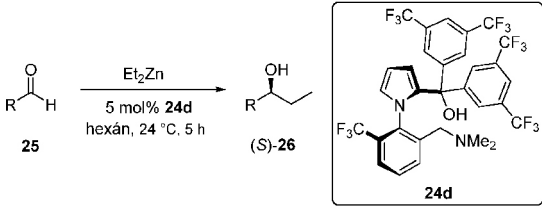
**10. Ábra.** A **24** szerkezetű ligandumokkal elért eredmények benzaldehid és dietil-cink reakciójában; vegyületszámokat követően a katalízisben előállítható **18** alkohol enantiomertisztasága látható.

Érdekes következtetések állapíthatók meg a 10. ábrán feltüntetett eredményekből. Annak ellenére, hogy a feltüntetett négy **24** szerkezetű ligandummal közel kvantitatív átalakítást értünk el, a királis indukciós hatásokban jelentős eltérés mutatkozott. Megállapítható, hogy e szerkezet esetében a nagy térkitöltésű nitrogén szubsztituensek jelentősen gátolják a megfelelő királis környezet kialakulását, csökkentve ezzel a kapható termék enantiomertisztaságát. Másfelől a tercier-alkohol funkció elektronikus hatásának is döntő szerepe van a megfelelő katalizátorszerkezet kialakulásában. Elektronszívó trifluorometil-csoportokkal szubsztituált ligandumok használatával jobb eredményt értünk el, **24d** esetében az izolált termék enantiomertisztasága már 94% volt (10. ábra).<sup>35</sup> A regioizomer vegyületcsalád legjobbnak talált **24d** ligandumát az aldehidek szélesebb körében is teszteltük (3. táblázat), mely vizsgálatok során ugyancsak kimagasló enantioszelektivitásokat értünk el a legtöbb esetben.<sup>35</sup>

### 3. Összefoglalás

Az 1-aryl-1*H*-pirrolok kémiájának kutatása során elért eredményeink a kezdeti fémorganikus funkcionálizálási vizsgálatokból kiindulva egészen addig vezette munkánkat és érdeklődésünket, hogy vegyületeinkből enantioszelektív fémorganikus átalakításokhoz használható hatékony katalizátorligandumot állítottunk elő. A kutatások döntő felismerése volt, hogy az alapvázak speciális fémorganikus reakciójával gátolt rotációjú bifunkciós atropizomerek kaphatók. A trifluorometil-helyettesített vegyület (**13**) funkcióinak szelektív átalakításával mindkét regioizomer aminoalkohol típusú vegyületcsaládból több képviselőt is sikeresen előállítottunk, és eredményesen alkalmaztunk dietil-cink és aldehidek széles körének aszimmetrikus addíciójában ligandumként, példákat mutatva az általunk kifejlesztett új ligandumcsalád tagjainak hasznosíthatóságára is.

**3. Táblázat.** A **24d** ligandummal elért eredmények különböző aldehidek és dietil-cink reakciójában



| R  | Termelés <sup>b</sup> (%)                 | ee <sup>c</sup> (%) | Konf. <sup>d</sup> |     |
|----|---|---------------------|--------------------|-----|
| 1  | Ph  | 97                  | 94                 | (S) |
| 2  | 2-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 91                  | 83                 | (S) |
| 3  | 3-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 89                  | 92                 | (S) |
| 4  | 4-Me-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 93                  | 94                 | (S) |
| 5  | 2-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 93                  | 77                 | (S) |
| 6  | 3-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 90                  | 93                 | (S) |
| 7  | 4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>       | 94                  | 91                 | (S) |
| 8  | 3-BnO-4-MeO-C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> | 90                  | 93 <sup>e</sup>    | (S) |
| 9  | 2-Br-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 89                  | 94                 | (S) |
| 10 | 2-Cl-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>        | 90                  | 93                 | (S) |
| 11 | 2-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>         | 92                  | 94                 | (S) |
| 12 | 3-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>         | 95                  | 94                 | (S) |
| 13 | 4-F-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>         | 95                  | 96                 | (S) |
| 14 | 1-Naph                                    | 92                  | 93                 | (S) |
| 15 | 2-Naph                                    | 89                  | 93                 | (S) |
| 16 | Ph-CH=CH                                  | 87                  | 58 <sup>e</sup>    | (S) |

<sup>a</sup> A reakciókban 3 mol ekvivalens ZnEt<sub>2</sub> reagenst használtunk.

<sup>b</sup> Izolált termelések.

<sup>c</sup> Meghatározása GC analízissel történt (Supelco β-DEX 120).

<sup>d</sup> Az alkoholok abszolút konfigurációját specifikus forgatóképességük iránya alapján, ismert irodalmi adatokkal összevetve határoztuk meg.

<sup>e</sup> Meghatározása HPLC analízissel történt (Phenomonex Cellulose-1), reakció toluolban lett végzve.

### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak a kutatások anyagi támogatásáért a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatalnak (K 104528 és PD 121217).

### Hivatkozások

- Tatsuta, K.; Itoh, M. *J. Antibiotics* **1994**, *47*, 602–605. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.47.602>
- Kakadiya, R.; Dong, H.; Lee, P.-C.; Kapuriya, N.; Zhang, X.; Chou, T.-C.; Lee, T.-C.; Kapuriya, K.; Shah, A.; Su, T.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 5614–5626. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.06.018>
- Di Santo, R.; Tafi, A.; Costi, R.; Botta, M.; Artico, M.; Corelli, F.; Forte, M.; Caporuscio, F.; Angiolella, L.; Palamara, A. T. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5140–5153. <https://doi.org/10.1021/jm048997u>
- Butini, S.; Brindisi, M.; Cosconati, S.; Marinelli, L.; Borrelli, G.; Coccone, S. S.; Ramunno, A.; Campiani, G.; Novellino, E.; Zanolì, S.; Samuele, A.; Giorgi, G.; Bergamini, A.; Mattia, M. D.; Lalli, S.; Galletti, B.; Gemma, S.; Maga, G. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1224–1228. <https://doi.org/10.1021/jm801395v>
- Butini, S.; Budriesi, R.; Hamon, M.; Morelli, E.; Gemma, S.; Brindisi, M.; Borrelli, G.; Novellino, E.; Fiorini, I.; Ioan, P.; Chiarini, A.; Cagnotto, A.; Mennini, T.; Fracasso, C.; Caccia, S.; Campiani, G. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6946–6950. <https://doi.org/10.1021/jm901126m>
- Paillet-Loilier, M.; Fabis, F.; Lepailleur, A.; Bureau, R.; Butt-Gueulle, S.; Dauphin, F.; Delarue, C.; Vaudry, H.; Rault, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3753–3757. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.05.059>
- Campiani, G.; Garofalo, A.; Fiorini, I.; Botta, M.; Nacci, V.; Tafi, A.; Chiarini, A.; Budriesi, R.; Bruni, G.; Romeo, M. R. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4393–4410. <https://doi.org/10.1021/jm00022a005>
- Lambelin, G.; Roba, J.; C., G.; Buu-Hoi, N. P. *German Patent 1973*, 2261965; *Chem. Abstr.* **1973**, *79*, 78604a.
- Boyer, S.; Blazier, E.; Barabi, M.; Long, G.; Zaubius, G.; Wasley, J. W. F.; Hamdan, A. *J. Heterocyclic Chem.* **1988**, *25*, 1003–1005.
- Nuss, J.; Williams, M.; Mohan, R.; Martin, R.; Wang, T.-L.; Tsuruoka, H.; Aoki, K.; Honzumi, M.; Asoh, Y.; Saito, K.; Homma, T. **2010**, WO 2010/042626.
- Campiani, G.; Nacci, V.; Fiorini, I.; De Filippis, M. P.; Garofalo, A.; Greco, G.; Novellino, E.; Williams, D. C.; Zisterer, D. M.; Woods, M. J.; Mihai, C.; Manzoni, C.; Mennini, T. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3435–3450. <https://doi.org/10.1021/jm960251b>
- Schlooser, M.; Faigl, F. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2071–2076. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)85069-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)85069-9)
- Faigl, F.; Fogassy, K.; Thurner, A.; Töke, L. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 4883–4888. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(97\)00183-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(97)00183-X)
- Fogassy, K.; Kovács, K.; Keserű, G. M.; Töke, L.; Faigl, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 1039–1043. <https://doi.org/10.1039/b100008j>
- Fogassy, K.; Harmat, V.; Böcskei, Z.; Tárkányi, G.; Töke, L.; Faigl, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4771–4780. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(00\)00449-3](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(00)00449-3)
- Faigl, F.; Fogassy, K.; Szűcs, E.; Kovács, K.; Keserű, G. M.; Harmat, V.; Böcskei, Z.; Töke, L. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 7881–7892. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(99\)00398-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(99)00398-1)
- Faigl, F.; Fogassy, K.; Szántó, Z.; Lopata, A.; Töke, L. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4367–4374. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)00150-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)00150-1)
- Faigl, F.; Thurner, A.; Vass, B. *J. Chem. Res. (Synopses)* **2003**, *3*, 132–133. <https://doi.org/10.3184/030823403103173228>
- Faigl, F.; Vas-Feldhoffer, B.; Kubinyi, M.; Pál, K.; Tárkányi, G.; Czugler, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2009.01.010>
- Faigl, F.; Vas-Feldhoffer, B.; Thurner, A. *Synthetic Commun.* **2006**, *36*, 2841–2849. <https://doi.org/10.1080/00397910600770672>
- Faigl, F.; Vas-Feldhoffer, B.; Kudar, V.; Czugler, M.; Pál, K.; Kubinyi, M. *Chirality* **2009**, *21*, 905–910. <https://doi.org/10.1002/chir.20686>
- Faigl, F.; Mátravölgyi, B.; Erdélyi, Zs.; Pál, K.; Hessz, D.; Kubinyi, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2920–2925. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.12.005>
- Optikai izomerek előállításá; Fogassy, E.; Ács, M.; Töke, L., Akadémiai Kiadó: Budapest, A kémia legújabb eredményei, 1987; Vol. 65.*



24. Fogassy, E.; Nogradi, M.; Kozma, D.; Egri, G.; Palovics, E.; Kiss, V. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 3011–3030. <https://doi.org/10.1039/B603058K>
25. Faigl, F.; Fogassy, E.; Nógrádi, M.; Pálovics, E.; Schindler, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 519–536. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.11.058>
26. Pálovics, E.; Schindler, J.; Faigl, F.; Fogassy, E. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 2429–2434. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.09.005>
27. Faigl, F.; Fogassy, E.; Nogradi, M.; Palovics, E.; Schindler, J. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 947–959. <https://doi.org/10.1039/b917564d>
28. Faigl, F.; Mátravölgyi, B.; Holczbauer, T.; Czugler, M.; Madarász, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1879–1884. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2011.10.021>
29. Shibasaki, M.; Matsunaga, S. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 269–279. <https://doi.org/10.1039/b506346a>
30. Arshad, N.; Kappe, C. O. *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Alan, R. K., Ed.; Academic Press: 2010; Vol. 99, p 33. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(10\)09902-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(10)09902-2)
31. Kitamura, M.; Okada, S.; Suga, S.; Noyori, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 4028–4036. <https://doi.org/10.1021/ja00193a040>
32. Faigl, F.; Mátravölgyi, B.; Szöllösy, Á.; Czugler, M.; Tárkányi, G.; Vékey, K.; Kubinyi, M. *Chirality* **2012**, *24*, 532–542. <https://doi.org/10.1002/chir.22049>
33. Faigl, F.; Deák, Sz.; Erdélyi, Zs.; Holczbauer, T.; Czugler, M.; Nyerges, M.; Mátravölgyi, B. *Chirality* **2015**, *27*, 216–222. <https://doi.org/10.1002/chir.22415>
34. Faigl, F.; Erdélyi, Zs.; Deák, Sz.; Nyerges, M.; Mátravölgyi, B. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 6891–6894. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.10.101>
35. Deák, Sz.; Mátravölgyi, B.; Feczku, Gy.; Erdélyi, Zs.; Nyerges, M.; Faigl, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 593–599. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2015.04.002>

### Chemistry of 1-Aryl-1*H*-Pyrroles: from Functionalization of 1-Arylpyrrole Backbone to Enantioselective Organometallic Catalysis

Steric arrangement of compounds has crucial role in the formation of molecular interactions. Receptor-drug interactions are illustrative examples of that fact, because the most part of the biological targets are chiral. In these cases, the different stereoisomers of a compound may cause diverse biological responses. That observation has initiated numerous research programs in order to find efficient synthetic methods for preparation of the useful pure enantiomer of a target compound. Such expectation resulted in the development of the basic methods of asymmetric synthesis. In the last 50 years dozens of chiral organometallic complexes and organocatalysts (chiral organic molecules without coordinated metal atom) have been developed and applied successfully. The phrase „enantioselective catalysis” denote chemical syntheses in the presence of substoichiometric amount of chiral additives. One can classify these types of chemical transformations from different points of view. Depending on the fashion of asymmetric induction, asymmetric catalysis starting from prochiral compounds, kinetic resolution and dynamic kinetic resolution can be mentioned. Asymmetric catalytic reactions are usually categorized according to the type of the catalyst. It can be an enzyme, organometallic compound or metal free organocatalyst. Chiral amino alcohol type compounds (e.g. DAIB) may be used in enantioselective addition reactions of aromatic aldehydes and diethylzinc to produce optically active 1-arylpropanols.<sup>31</sup> In these reactions the in situ formed aminozincalkoxide catalyst governs the highly enantioselective addition reaction (8. ábra).

Functionalization of *N*-substituted pyrroles can easily be accomplished with different electrophile reagents but the usually applied acidic conditions may cause partial degradation of the pyrrole ring. On the other hand, the electronic and steric effects of the pyrrole substituents strongly influence the position of the next substitution. Application of organolithium reagents may be a convenient solution of these problems providing efficient and regioselective routes to the target compounds. In the last 20 years, the most achievements in the metalation of substituted

1-phenyl-1*H*-pyrroles was achieved and published by the research group of our department. Mechanism of the lithiation of 1-phenyl-1*H*-pyrrole (**4**) was investigated and on the basis of our experimental data we postulated that dilithiation of **4** is a kinetically controlled process.<sup>12</sup>

The first efficient formation of C2,C2'-dilithio-1-phenyl-1*H*-pyrroles was accomplished by our group. Numerous new dicarboxylic acids were prepared during investigation of the metalation possibilities of 1-(substituted-phenyl)-1*H*-pyrroles (**11**, R = CF<sub>3</sub>, OMe, Cl, Me, Et, Ph).<sup>14-16,18-21</sup> One among them the most promising model compound was **13** which was prepared by consecutive superbase (LIC-KOR) metalation carboxylation reaction sequence and existed in racemic form due to its atropisomeric behaviour (4. ábra). Development of new resolution methods has been a permanent project at our department for several decades.<sup>23-27</sup> Due to the special knowledge and experience of the group, several atropisomeric dicarboxylic acids were resolved via diastereoisomeric salt formation using optically active 1-phenyl-ethylamine resolving agent under different conditions (5. ábra).<sup>15,21,22</sup> The first optically active member of our model compounds was prepared by the optical resolution of racemic 1-[2-carboxy-6-(trifluoromethyl)phenyl]-1*H*-pyrrole-2-carboxylic acid (**13**).<sup>15</sup> A new resolution process was developed for **13** dicarboxylic acid using (R)-**16** as new resolving agent and the optimum parameters of the diastereoisomeric salt crystallization was experimentally determined.<sup>28</sup> It was found that the salt contains the practically pure diacid enantiomer after short (2–4 hours) crystallization time (6. ábra), but the enantiomer content of the salt gradually decreases during longer crystallization. Consequently, the efficiency of the resolution falls down during longer period of time and the salt contained only a small excess (ee 5%) of **13** after 2 weeks crystallization (6. ábra). Series of experiments were carried out to find application possibilities of **13** as resolving agent. Good results were obtained during the reverse resolution of

racemic **16**. Furthermore, highly efficient thermodynamically controlled second order asymmetric transformation of **16** was developed with **13**. This new asymmetric transformation was accomplished in a toluene/acetone/water mixture in which practically the whole amount (92%) of racemic **16** was transformed into (*R*)-**16** enantiomer (*ee* 95%, 6. ábra).<sup>28</sup>

New, efficient methods were developed for the synthesis of asymmetrically substituted derivatives via selective monoesterification of the carboxylic groups of **13**,<sup>32</sup> and by the selective hydrolysis of the diester **20**,<sup>33</sup> producing the two regioisomeric monoester derivatives in a facile way (9. ábra). Starting from **21** and **22**, new amino alcohol type products were prepared with primary- and tertiary-alcohol moieties (compounds **23** and **24**, 9. ábra). The new optically active **23** and **24** amino alcohols were tested as catalyst ligands in the addition reaction of diethylzinc and benzaldehyde, first. The effect of the structural differences

of the amino alcohols on the rate of the enantioselectivity of the reaction was investigated, then preparation of (*S*)-1-phenyl-1-propanol ((*S*)-**18**) was optimized. The best results were achieved in the presence of **23a**<sup>34</sup> (2. táblázat) and the regioisomeric trifluoromethyl substituted **24d**<sup>35</sup> (10. ábra) The highly enantioselective methods were extended to the addition reactions of aldehydes and diethylzinc (*ee* 58–96%, 2. and 3. táblázat).

These reactions demonstrate the efficiencies of the new ligands **23a** and **24d**: 5 mol% of this compound was enough for practically complete conversion of the aldehydes and for production of the 1-arylpropanol derivatives in high enantiomeric purities (up to 96%). Consequently, the first, efficient members of a new, atropisomeric, 1-aryl-1*H*-pyrrole type family of chiral catalyst precursors were synthesised and tested in highly enantioselective addition reactions.

# Szerkezeti biológiai kutatások röntgenkristallográfiai alapokon a BME VBK ABÉT Biostruct laboratóriumban

NYÍRI Kinga<sup>a,b</sup>, LEVELES Ibolya<sup>a,b</sup>, NAGY Gergely Nándor<sup>a,§</sup> és VÉRTESSY G. Beáta<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup>BME, VBK Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi tanszék, Szt Gellért tér 4, 1111, Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>MTA TTK Enzimológiai Intézet, Magyar Tudósok krt 2, 1117, Budapest, Magyarország

## 1. Integrált szerkezeti biológia

Az életjelenségek kémiai, biokémiai alapokon való feltárása régi vágya a biológia és kémia határmezsgyéjén dolgozó kutatóknak. A más kifejezéssel molekuláris élettudományok néven illetett tudományterület első nagy eredményei olyan makromolekulákhoz kötődtek, melyek háromdimenziós térszerkezetét régóta ismerjük (kiemelt példa itt a DNS kettős spirál, vagy az első fehérjeszerkezetek). Ezekről az eredményektől elindulva mára odáig jutottunk, hogy szinte futószalagon történik a rendkívül felgyorsult adatgyűjtés a makromolekulák és komplexeik térszerkezetéről és dinamikus tulajdonságairól. Emellett a rendszerszintű biológiai és kémiai kutatások óriási adathalmazokat generálnak sejtek, szervezetek teljes genomjáról, proteomjáról, metabolomjáról (azaz a sejt, illetve szervezet összes génjének, fehérjéjének, anyagcsere intermedierjeinek összességéről, ezek pontos szerkezete mellett). Az egyre gyorsuló adatgyűjtést a módszerek elképesztő arányú fejlődése teszi lehetővé, ezen belül kiemelendő a molekuláris biológia restriktív enzimekre és polimeráz láncreakcióra támaszkodó eszköztára, mely mára már a genommérnökséget is lehetővé tévő nagyhatékonyságú kromoszóma-szerkesztést is biztosítani tudja (ZFN, TALEN; CRISPR/Cas9 rendszerek).

Molekuláris ismereteink ilyen örömteli robbanásszerű gyarapodása véleményünk szerint most azt az igazi kihívást rejti magában, hogy a rendszerszintű adatgyűjtésekkel generált információtömeget értelmezni tudjuk, és ezt az értelmezést okosan fel tudjuk használni életminőségünk javítására. Az ezredfordulón a molekuláris biológiai kutatások egyik legnagyobb horderejű projektje a humán genom feltérképezése volt. Azonban a nukleotidszekvencia megismerése bár elengedhetetlen, még sem elégséges ahhoz, hogy megértsük az összes szervezetben lejátszódó folyamatot és azok szabályozását, melyek a géntermékeken keresztül valósulnak meg. Több ezer olyan gént azonosítottak, melyek ismeretlen funkcióval rendelkező fehérjét kódolnak. Az aminosav-szekvencia (elsődleges fehérjeszerkezet) ismert ezen esetekben, de ez gyakran nem elegendő az ismeretlen funkciók és ezen fehérjék élettani szerepének feltérképezésére. A fehérjék térszerkezetének ismerete alapján azonban megalapozott módon következtetni lehet a lehetséges funkciókra. A fehérjék térszerkezete, azaz a fehérjét alkotó atomok térbeli helyzetének ismerete, a tudomány jelenlegi állása szerint

csak mérések alapján határozható meg megbízható módon, jóllehet a szerkezeti bioinformatika egyre hatékonyabb módszerekkel dolgozik. Napjaink kutatásában ezért kiemelkedő szerepet töltenek be fehérje térszerkezet vizsgálatát lehetővé tevő módszerek: a röntgenkristallográfia, a mágneses magrezonancia (NMR) és a krioelektron mikroszkópia, melyek egymással részben átfedő, részben kiegészítő technikák. A kutatócsoportunk által alkalmazott röntgenkristallográfiás módszer legnagyobb előnye, hogy nem limitáló tényező a vizsgálni kívánt objektum mérete, kisméretű peptid hormonok, fehérje komplexek sőt egész vírusok atomi felbontású 3D szerkezete is meghatározható. Emellett gyakran alkalmazzák ezt a módszert gyógyszerjelöltek vizsgálatára mivel a kristályosítható gyógyszercélpont fehérjék esetében a többi módszerhez viszonyítva viszonylag könnyen kapható szerkezeti információ a különböző jelöltek kötődéséről. A fehérjeröntgenkristallográfia módszerének széles körű elterjedéséhez nagyban hozzájárul, hogy jelenleg az ezen a területen érdekelt kutatók számára elérhető nagy intenzitású szinkrotron sugárforrások. Továbbá az egyre inkább automatizálható számítógépes szerkezetmeghatározó szoftverek fejlesztése folyamatosan könnyíti az adatok értelmezését.

A több fehérjéből álló, nagyobb komplexek esetében ezeket gyakran kiegészítik kisszögű röntgenszórás (SAXS), hidrogén-deutérium cserén alapuló tömegspektrometriás (HDX-MS), kémia keresztkötésen illetve fluoreszcencia alapú távolság meghatározási módszerekkel. Továbbá a különböző spektroszkópiák (fluoreszcencia, CD, UV-VIS, NIR, Raman) és termodinamikai (ITC) technikák is fontos hozzáadott értéket képviselő információt tudnak szolgáltatni a fehérjék szerkezeti változásairól, és ezeknek a fehérjeműködésre gyakorolt hatásairól. A fentiekben felsorolt technikák együttes alkalmazására való törekvést nevezzük összefoglaló néven integrált szerkezeti biológiai megközelítésnek.

## 2. A Biostruct laboratórium infrastruktúrája

A Biostruct laboratórium, amely 2011 óta a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszékén működik, lehetővé teszi a legmodernebb eszközök alkalmazását röntgenkristallográfiai kutatások területén. Jól diffraktáló fehérjekristályok előállítására mind a mai napig

\* Tel.: 463-3854 ; fax: 463-3854; e-mail: vertessy@mail.bme.hu

§ Jelenlegi munkahely: University of Oxford, Division of Structural Biology, Roosevelt Drive, Oxford OX3 7BN, UK

sok erőfeszítést igényel a kutatók részéről. A fehérje-kristallográfiai kutatómunka első lépése minden esetben, olyan megfelelő oldatkörülmeny megtalálása, amelyben kristályképződés lehetséges. Az ehhez szükséges nagy áteresztőképességű szűrővizsgálatok költség és időhatékony módon történő elvégzését a Biostruct laboratóriumban található Mosquito folyadékkezelő robot (TTP Labtech) teszi lehetővé számunkra, mely 50-2000 nanoliteres térfogatok pontos pipettázására alkalmas (1. ábra).

### Automatizált

-nagy áteresztőképességű robotok:

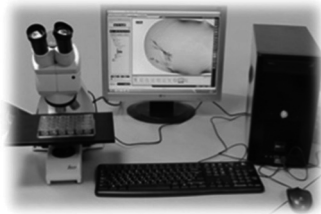


Mosquito (TTP Labtech)  
kis térfogatokat kimérő  
pipettázó robot

RockImager  
(Formulatrix)  
Kristálymonitorozó  
termosztált robot,  
UV /VIS mikroszkópokkal



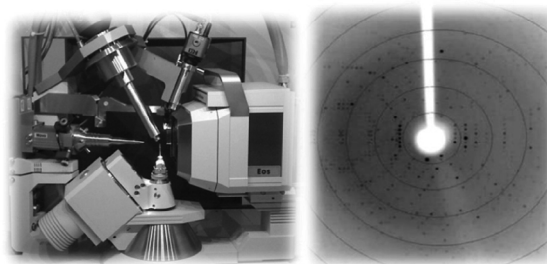
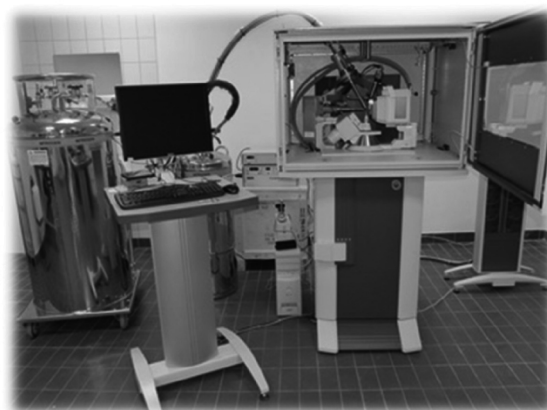
### Manuális



1. ábra. Kristályosítás a Biostruct laborban

A szűrővizsgálatok során 96-lyukú tálcákon vizsgáljuk a fehérje viselkedését olyan különböző oldószerkörülmények között, melyek oldószer-szetteként kereskedelmi forgalomban kaphatók. A kapott eredmények áttekintését és a kristálynövekedés követését a Rock Imager automatizált képalkotó rendszer (Formulatrix) segíti (1. ábra). A készülék a termosztátjában tartott tálcákról programozott időközönként képet készít, mellyel lényegesen megkönnyíti az ígértes oldatkörülmények megtalálását, emellett az UV-indukálást követő fluoreszcens fény detektálására is alkalmas, amely emisszió a fehérjékre jellemző. Az így kapott képek lehetővé teszik a találatok validálását is mivel azokon a fehérje és só kristályok általában jól megkülönböztethetők. Azonban a tesztek során kapott legnagyobb kristályok is jellemzően olyan kis méretűek, hogy még nem alkalmasak közvetlen diffrakciós mérésre. A nagyobb méretű kristályok előállításához elsőként a szűrővizsgálatok során kiválasztott oldatkörülmények finomhangolása (pH, összetétel) és ezzel párhuzamosan

méretnövelés szükséges. A mérésre alkalmas kristályok előállításához szükséges nagyobb oldatmennyiségek könnyen és pontosan kezelhetők manuálisan, ezért az optimálási kísérleteket kézi pipetta segítségével állítjuk össze 24-lyukú tálcán. Az így kapott nagyobb méretű kristályokat a Biostruct laboratóriumban található - SuperNova (Agilent Oxford Diffraction) egykristály röntgendiffraktométer segítségével teszteljük (2. ábra). A rézanódos katódsugárcsőes készülék által előállított mikrofókuszált röntgensugár, a beépített négykörös kappa goniométer és kristályok hűtését szolgáló nitrogén hűtésű krio-egység a tesztelésen kívül fehérjeszerkezetek meghatározására alkalmas teljes adatkészletek felvételét is lehetővé teszi, akár 1.9L felbontásban, ha sikerül megfelelő fehérjekristályt növesztetni (2. ábra).



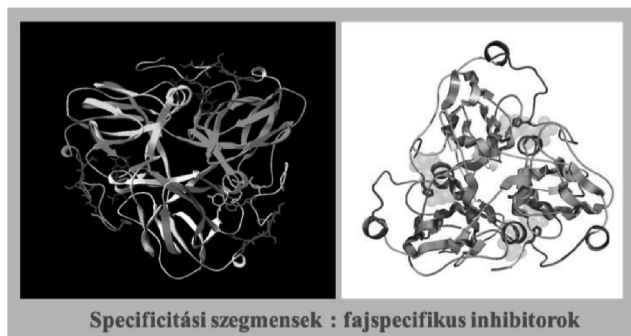
2. ábra. SuperNova röntgen diffrakciós készülék a Biostruct laborban

**3. Kurrens kutatások és néhány kiemelt eredmény<sup>1-13</sup>:  
Enzimesaládok a foszfát-csoport átvitelében: nukleofil  
támadás az alfa-foszfór atomon, mint közös nevező a  
genom integritásában illetve a lipidanyagcserében  
szereplő enzimeknél.**

A foszfátcsoporthoz a biológiában kiemelt jelentősége van. Ezen egyszerű kémiai csoport kismolekulájú metabolitok és fehérje aminosav oldalláncok között való ide-oda adogatása, cseréje, a foszfátészterek és foszforsav anhidridek reakciói meghatározó jelentőségűek számos életfolyamatban (sejtosztódás, egyedfejlődés, jelátvitel, mozgás, biológiai energia, anyagcsere intermedierek aktiválása, nukleinsavak szintézise, másolása, lebontása, stb.). A mi kutatócsoportunk két kitüntetett enzimesaláddal foglalkozik, melyek a nukleotid anyagcserében (dUTPázok) és a lipid anyagcserében (CTP:foszfokolin-citidililtranszferázok, CCT) játszanak fontos szerepet. Ez a két élettani feladat nagyban különbözik, mégis kémiai szemmel nézve érdekes

módon összekapcsolja őket az enzimatisz katalízis reakciómechanizmusának lényegi hasonlósága. Nevezetesen, az enzimkatalizált reakció kezdeti lépése a szubsztát nukleozid-trifoszfátok (dUTP, ill CTP) alfa-foszfatomján történő nukleofil támadás (egy aktivált vízmolekula oxigénje, illetve a foszfokolin foszfát-csoportjának egyik oxigénje által). Ezen kémiai részlet jelentőségét az adja, hogy a nukleozid-trifoszfátok foszfát-transzfer reakcióiban az alfa-P atom reaktivitása kisebb, így az ilyen reakciót katalizáló enzimeknek szükségszerűen nagyobb katalitikus hatékonysággal kell rendelkezniük.

Az elmúlt évek során a dUTPáz enzimcsalád számos képviselőjét (humán, ecetmuslica, retrovirális, fág-eredetű, mikobakteriális, enterobakteriális) vizsgáltuk. A katalizált reakció (dUTP → dUMP + pirofoszfát) általánosan hasonló jellegű a szerkezeti biológia és az enzimológia módszereivel jellemeztük. Csoportunk röntgendiffrakciós szerkezet-meghatározáson alapuló eredményei révén ezidáig összesen 48 szerkezetet tettünk közzé a PDB fehérjeszerkezeti adatbázisban, melyek alapján a dUTPázok működési mechanizmusának alapvető jellegzetességeit tártuk fel<sup>3,11,13</sup>. Ezen tevékenységünkben 2011 óta, a Biostruct laboratórium működésbe lépését követően nagy segítséget nyújt számunkra, hogy előállított fehérjekristályainkat helyben tesztelhetjük. Megállapítottuk, hogy a katalitikus reakciómechanizmus a különböző eredetű dUTPázok között jelentős hasonlóságokat mutat, de ugyanakkor vannak olyan fajspecifikus jellemzők, melyek alapján fajspecifikus inhibitorok fejlesztése javasolható<sup>14</sup>. Különösen érdekes felfedezést tettünk a *Mycobacterium tuberculosis* (a tüdőbaj kórokozója) dUTPáz enzime esetében. Kimutattuk ugyanis, hogy a mikobakteriális dUTPáz fehérje egyik fajspecifikus szegmense esszenciális az élőlény túléléséhez<sup>15</sup>. Ez a fajspecifikus szegmens az aktív centrum közelében található, de mégsem vesz részt magában a katalitikus reakcióban (3.ábra). eltávolítása után a csonkolt enzim továbbra is megőrzi dUTP hidrolizáló hatékonyságát. Ugyanakkor viszont ez a csonkolás a *Mycobacterium tuberculosis* sejteket halálra ítéli. Ezzel tehát lehetővé vált egy olyan fajspecifikus szegmens azonosítása, amely kismolekulájú gyógyszerjelölt vegyületekkel támadható. Elő is állítottunk számos ilyen gyógyszerjelölt kismolekulát, melyek vizsgálata jelenleg is folyik<sup>16,17</sup>.



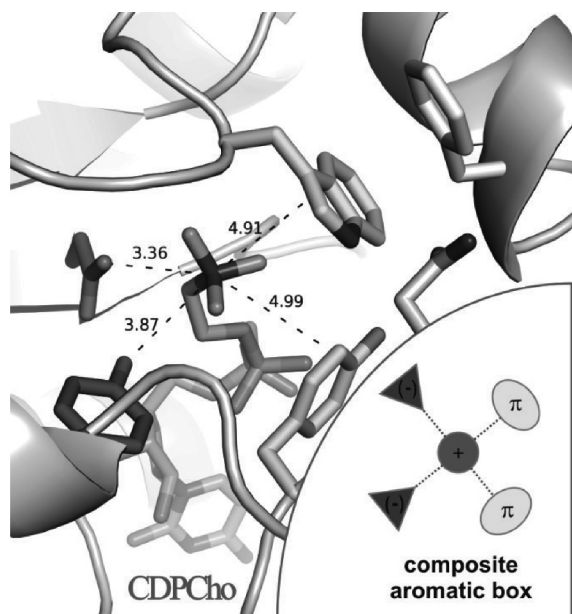
3. ábra. *Mycobacterium tuberculosis* dUTPáz szerkezete a mikobaktérium-specifikus szegmensek feltüntetésével.

A CTP:foszfokolin citidililtranszferáz enzim (CCT) (EC-szám: 2.7.7.15) a *de novo* foszfatidilkolin bioszintézis kulcsfontosságú enzime. Az enzim a bioszintetikus útvonal második, sebességmeghatározó lépését katalizálja. Ennek során a kolin-foszfát (ChoP) és CTP reakciójából CDP-kolin (CDPCho) nagyenergiájú metabolikus köztitermék állít elő, pirofoszfát melléktermék keletkezése mellett. A CCT enzim kolin-fejcsoport szubsztát-specifitást mutatott, az etanolamin-foszfáttól pa kolin-foszfátig a szubsztát ammónium csoport fokozatos metilációja az enzim ligand kötő képességének és katalitikus hatékonyságának növekedését eredményezte. Az enzim kolin-kötő zsebe nem mutat szekvenciális és szerkezeti hasonlóságot az evolúciósan rokon CTP:glicerol-3-foszfát citidilil-transzferáz (GCT) és CTP:etanolamin-foszfát citidilil-transzferáz (ECT) enzimekkel, melyek eltérő szubsztátokat alakítanak át.

A CDPCho köztiterméken keresztül végbemenő *de novo* foszfatidilkolin bioszintézis kulcsfontosságú a malária kórokozóját jelentő, a *Plasmodium* fajokban (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium berghei*). A bioszintézis útvonalon belül a CCT egy sebességmeghatározó lépést katalizál. A CCT fehérje a *Plasmodium* paraziták minden életszakaszában termelődik. Az eddigi kutatások alapján a kolin analóg szerkezetű maláriaellenes hatóanyagcsalád egyik lehetséges gyógyszer-célpontját a *Plasmodium* paraziták CCT enzime jelentheti. Az enzim gyógyszer-kölcsönhatásának jellemzéséhez ismernünk kell az enzim szerkezeti felépítését és működésének jellegzetességeit. A malária napjainkban is az egyik legsúlyosabb fertőző betegség. A világon 3,2 milliárd embert veszélyeztet malária fertőzés, közülük 1,2 milliárdan fokozottan veszélyeztetett területen élnek. A malária jellemzően trópusi betegség, a halálesetek 90 %-a Afrikában történik. A terhes nők valamint az 5 év alatti gyermekek kiemelten veszélyeztetettek, utóbbiak teszik ki a malária áldozatainak mintegy háromnegyedét. Az Egészségügyi Világszervezet erőfeszítéseinek köszönhetően a malária által okozott halálozások száma 47 %-kal csökkent 2000 és 2013 között. 2013-ban azonban így is mintegy 200 millió új malária fertőzést és 584 000 halálesetet észleltek. Ezzel a malária több emberéletet követel, mint az összes többi eukarióta eredetű fertőzés együttesen. Kutatócsoportunk egyik kiemelt projektje a *Plasmodium falciparum* CCT (PfCCT) enzimének tanulmányozása, mind alapkutatási kérdések, mint gyógyszerfejlesztési célok szempontjából.

Kutatásaink során megállapítottuk, hogy a PfCCT aktív hely kolin kötő zsebébenél a ligand kötődés elektrosztatikus valamint kation- kölcsönhatások révén valósul meg. Megvizsgáltuk a kölcsönhatásokért felelős oldalláncok egyedi hozzájárulását a megfelelő konzervatív pontmutációik létrehozásával, mely során szerkezetileg hasonló, de eltérő kölcsönhatást biztosító aminosavakra cseréltük őket. Az így létrehozott fehérje konstruktok katalitikus hatékonyságának valamint ligand kötődésének vizsgálata során azonosítani tudtuk az egyes oldalláncok ligand kölcsönhatásának meghatározó elektrosztatikus, illetve kation- jellegét. Megmutattuk, hogy mindkét típusú

kölcsönhatás elengedhetetlen a PfcCT hatékony kvaterner-ammonium ligand kötéséhez, valamint enzim aktivitásához (4. ábra). Eredményeink hozzájárulhatnak a lipid metabolizmus útvonalon ható maláriaellenes hatóanyagok szerkezet alapú fejlesztéséhez.



**4. ábra.** A CDP-kolin ligandum koordinálása a CCT enzim aktív centrumában – közelkép az aktív centrumról. A kiemelt kölcsönhatásokban résztvevő atomok távolságát szaggatott vonalakra írt számok jelölik, melyek angstromben értendők. Az ábrán a következő színekkel jelöltük a nem-kovalens kölcsönhatásokban résztvevő csoportokat: apoláros kontaktusokban résztvevő oldalláncok C-atomjai sárga színnel, míg a poláros vagy töltött kölcsönhatást biztosító oldalláncok C-atomjai kék színnel, a CDP-kolin ligandum C-atomjai zöld színnel láthatóak, a többi atom a szokásos atomi színeknek megfelelően vannak színezve (O: piros, N: kék, P: narancssárga). A CCT fehérje többi feltüntetett C-atomja szürke, továbbá az aktív centrum közeli fehérje-főláncot (peptidvázat) szintén szürke szalagmodell mutatja<sup>10</sup>. A kutatásainkban felderített „composite aromatic box” általános karakterét a jobb alsó betétábra szemlélteti<sup>10</sup>.

### Hivatkozások

1. Kenesi, E., Carbonell, A., Lozsa, R., Vertessy, B. & Lakatos, L. A viral suppressor of RNA silencing inhibits ARGONAUTE 1 function by precluding target RNA binding to pre-assembled RISC. *Nucleic Acids Res.* (2017). <https://doi.org/10.1093/nar/gkx379>
2. Szabo, J. E., Takacs, E., Merenyi, G., Vertessy, B. G. & Toth, J. Trading in cooperativity for specificity to maintain uracil-free DNA. *Sci Rep* **6**, 24219, (2016). <https://doi.org/10.1038/srep24219>
3. Nagy, G. N., Suardiaz, R., Lopata, A., Ozohanic, O., Vekey, K., Brooks, B. R., Leveles, I., Toth, J., Vertessy, B. G. & Rosta, E. Structural Characterization of Arginine Fingers: Identification of an Arginine Finger for the Pyrophosphatase dUTPases. *Journal of the American Chemical Society* **138**, 15035-15045, (2016). <https://doi.org/10.1021/jacs.6b09012>
4. Lopata, A., Leveles, I., Bendes, A. A., Viskolcz, B., Vertessy, B. G., Jojart, B. & Toth, J. A Hidden Active Site in the Potential Drug Target Mycobacterium tuberculosis dUTPase Is Accessible through Small Amplitude Protein Conformational Changes. *The Journal of biological chemistry* **291**, 26320-26331, (2016). <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.734012>

A CCT enzim kapcsán felderített ligandum-kötő zseb sajátosságai általános jelentőségű felfedezéshez is elvezettek. Nevezetesen, a PDB (Protein Data Bank) adatbázisban megtalálható makromolekuláris szerkezetek összehasonlító elemzésével rámutattunk, hogy a pozitív töltésű kvaterner ammonium csoportot számos további enzimszerű hasonló aktív centrumban alakítja át. Ezen fehérjék kötőzsebe ún. „összetett aromás dobozként” (composite aromatic box) írható le, melyet aromás és negatív töltéssel rendelkező oldalláncok alkotnak. Ezzel szemben a korábban felismert „aromatic box” rigidebb struktúrája elsősorban a receptor (nem enzim) funkcióval rendelkező fehérjékre jellemző<sup>10</sup>.

A Biostruct laboratórium a magyar szerkezeti biológiai kutatás fontos „bástyája”, vezető szerepet játszik a hazai röntgendiffrakción alapuló makromolekuláris szerkezeti kutatásokban. A cikkben bemutatott tanulmányok mellett kollaborációs projekteken (többek közt szoros együttműködésben az ELTE Kémiai Intézetében működő röntgendiffrakciós laboratóriummal) számos makromolekulás és kismolekulás szerkezet megoldásához járultunk hozzá. A továbbiakban is nyitottak vagyunk hasonló együttműködések kialakítására.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondunk az alábbi pályázati forrásoknak: NKFIH OTKA NK 84008, K109486, K119493, K111024, Új Magyarország Fejlesztési program - Baross program 3DSTRUCT, OMFB-00266/2010 REG-KM-09-1-2009-0050, Magyar Tudományos Akadémia TTK IF-28/2012, Varga József Alapítvány, European Commission FP6 STREP 012127, FP7 SPINE2c LSHG-CT-2006-031220 and FP7 Biostruct-X projekt (#283570), Howard Hughes Medical Institutes ((#55005628 és #55000342), USA.

5. Christie, M., Chang, C.-W., Rona, G., Smith, K. M., Stewart, A. G., Takeda, A. A. S., Fontes, M. R. M., Stewart, M., Vertessy, B. G., Forwood, J. K. & Kobe, B. Structural Biology and Regulation of Protein Import into the Nucleus. *J Mol Biol* **428**, 2060-2090, (2016). <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.10.023>
6. Nyiri, K., Kohegyi, B., Micsonai, A., Kardos, J. & Vertessy, B. G. Evidence-Based Structural Model of the Staphylococcal Repressor Protein: Separation of Functions into Different Domains. *PLoS one* **10**, e0139086, (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139086>
7. Hirmondo, R., Szabo, J. E., Nyiri, K., Tarjanyi, S., Dobrotka, P., Toth, J. & Vertessy, B. G. Cross-species inhibition of dUTPase via the Staphylococcal Stl protein perturbs dNTP pool and colony formation in Mycobacterium. *DNA Repair (Amst)* **30**, 21-27, (2015). <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2015.03.005>
8. Szabo, J. E., Nemeth, V., Papp-Kadar, V., Nyiri, K., Leveles, I., Bendes, A. A., Zagyva, I., Rona, G., Palinkas, H. L., Besztercei, B., Ozohanic, O., Vekey, K., Liliom, K., Toth, J. & Vertessy, B. G. Highly potent dUTPase inhibition by a bacterial repressor protein reveals a novel mechanism for gene expression control. *Nucleic Acids Res* **42**, 11912-11920, (2014). <https://doi.org/10.1093/nar/gku882>

9. Rona, G., Borsos, M., Ellis, J. J., Mehdi, A. M., Christie, M., Kornyei, Z., Neubrandt, M., Toth, J., Bozoky, Z., Buday, L., Madarasz, E., Boden, M., Kobe, B. & Vertessy, B. G. Dynamics of re-constitution of the human nuclear proteome after cell division is regulated by NLS-adjacent phosphorylation. *Cell cycle* **13**, 3551-3564, (2014). <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.960740>
10. Nagy, G. N., Marton, L., Contet, A., Ozohanics, O., Ardelean, L.-M., Revesz, A., Vekey, K., Irimie, F. D., Vial, H., Cerdan, R. & Vertessy, B. G. Composite aromatic boxes for enzymatic transformations of quaternary ammonium substrates. *Angewandte Chemie* **53**, 13471-13476, (2014). <https://doi.org/10.1002/anie.201408246>
11. Rona, G., Marfori, M., Borsos, M., Scheer, I., Takacs, E., Toth, J., Babos, F., Magyar, A., Erdei, A., Bozoky, Z., Buday, L., Kobe, B. & Vertessy, B. G. Phosphorylation adjacent to the nuclear localization signal of human dUTPase abolishes nuclear import: structural and mechanistic insights. *Acta Crystallographica Section D* **D69**, 2495-2505 (2013). <https://doi.org/10.1107/S0907444913023354>
12. Leveles, I., Nemeth, V., Szabo, J. E., Harmat, V., Nyiri, K., Bendes, A. A., Papp-Kadar, V., Zagyva, I., Rona, G., Ozohanics, O., Vekey, K., Toth, J. & Vertessy, B.G. Structure and enzymatic mechanism of a moonlighting dUTPase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **69**, 2298-2308, (2013). <https://doi.org/10.1107/S0907444913021136>
13. Barabas, O., Németh, V., Bodor, A., Perczel, A., Rosta, E., Kele, Z., Zagyva, I., Szabadka, Z., Grolmusz, V., Wilmanns, M. & Vertessy, B. G. Catalytic mechanism of alpha-phosphate attack in dUTPase is revealed by X-ray crystallographic snapshots of distinct intermediates, 31P-NMR spectroscopy and reaction path modelling. *Nucleic Acids Res.* (2013). <https://doi.org/10.1093/nar/gkt756>
14. Nyiri, K. & Vertessy, B. G. Perturbation of genome integrity to fight pathogenic microorganisms. *Biochimica et biophysica acta* **1861**, 3593-3612, (2017). <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.05.024>
15. Pecsí, I., Hirmondo, R., Brown, A.C., Lopata, A., Parish, T., Vertessy, B.G. & Toth, J. The dUTPase enzyme is essential in *Mycobacterium smegmatis*. *PLoS one* **7**, e37461, (2012). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037461>
16. Horvati, K., Bacsá, B., Szabo, N., Fodor, K., Balka, G., Rusvai, M., Kiss, E., Mezo, G., Grolmusz, V., Vertessy, B., Hudecz, F. & Bosze, S. Antimycobacterial activity of peptide conjugate of pyridopyrimidine derivative against *Mycobacterium tuberculosis* in a series of in vitro and in vivo models. *Tuberculosis* **95 Suppl 1**, S207-211, (2015). <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.026>
17. Horvati, K., Bacsá, B., Szabo, N., David, S., Mezo, G., Grolmusz, V., Vertessy, B. G., Hudecz, F. & Bosze, S. Enhanced Cellular Uptake of a New, in Silico Identified Antitubercular Candidate by Peptide Conjugation. *Bioconjug Chem* **23**, 900-907, (2012). <https://doi.org/10.1021/bc200221t>
18. Varga, B., Barabas, O., Takacs, E., Nagy, N., Nagy, P. & Vertessy, B.G. Active site of mycobacterial dUTPase: structural characteristics and a built-in sensor. *Biochem Biophys Res Commun* **373**, 8-13, (2008). [pii] <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.05.130>
19. Marton, L., Nagy, G. N., Ozohanics, O., Labas, A., Kramos, B., Olah, J., Vekey, K. & Vertessy, B.G. Molecular Mechanism for the Thermo-Sensitive Phenotype of CHO-MT58 Cell Line Harboring a Mutant CTP:Phosphocholine Cytidylyltransferase. *PLoS one* **10**, e0129632, (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129632>
20. Nagy, G. N., Marton, L., Kramos, B., Olah, J., Revesz, A., Vekey, K., Delsuc, F., Hunyadi-Gulyas, E., Medzihradzsky, K.F., Lavigne, M., Vial, H., Cerdan, R. & Vertessy, B. G. Evolutionary and mechanistic insights into substrate and product accommodation of CTP:phosphocholine cytidylyltransferase from *Plasmodium falciparum*. *FEBS J* **280**, 3132-3148, (2013). <https://doi.org/10.1111/febs.12282>

### Structural biology studies at the BME Biostruct Laboratory by X-ray crystallography

Investigation of the biochemical basis of life is a long standing challenge for scientists. The field of molecular biology was established based on the pioneering studies of macromolecular structures, including the structural characterization of the DNA double helix and the description of the first protein structures. These early achievements along with the technical development, e.g. automatic data collection and computer-assisted data analysis enables extremely efficient and fast determination of structure and dynamic properties of proteins. The sequencing of the human genome revealed the genetic code of life, however there is still much to explore about structure and function of vital macromolecules. Although computer-based, *in silico* structure prediction methods are rapidly developing, reliable determination of protein structure is yet only possible based on additional analysis of experimental data. Towards this end, integrated structural biology allows us to obtain insights into structure-function relationships of macromolecules and their complexes with hitherto unprecedented details. The core of such studies relies on three dimensional structural

(3D) determination by X-ray crystallography or multidimensional nuclear magnetic resonance (NMR), as well as cryo-electron microscopy (cryo-EM). An increasingly widespread approach additionally includes the additional employment of small angle X-ray scattering (SAXS), hydrogen deuterium exchange mass spectrometry (HDX-MS), chemical crosslinking and fluorescent spectroscopic techniques to provide complementary information to the aforementioned techniques. Further biophysical techniques including isothermal titration calorimetry (ITC) or microscale thermophoresis (MST) and spectroscopic analysis (fluorimetry, CD, UV-VIS, NIR, Raman) also contribute to a more in-depth understanding of protein form and function. Last but not least, emergent new hypotheses additionally provided by the dynamically expanding field of computational methods including quantum mechanics and molecular dynamics calculations. This approach is collectively referred as integrated structural biology, which is perhaps one of the most dynamically expanding field of life sciences.

The X-ray crystallography technique employed by our group is a key element of the methods' repertoire since it has the great advantage that the size of the target is theoretically not limited. Structural insights can be acquired by X-ray diffraction from molecules that encompasses the complete size range starting from ions, small peptide hormones, large protein complexes up to that of entire viruses. This method provides high, sometimes atomic level resolution structural information about the sample depending on the X-ray source and crystal quality. The widespread access of the X-ray crystallographer community to high brilliance synchrotron X-ray photon sources as well as to the wide range of automatized or easy-to-use computational structure determination methods promotes the popularity of this experimental technique and enables its application to large-scale screening and structure based development of drug candidates.

Here we describe the infrastructure available at the Biostruct macromolecular crystallography laboratory founded in 2011 at the Budapest University of Technology and Economics. The first step of macromolecular crystallography is to find the conditions which result in crystal formation from the supersaturated solution of the protein. We benefit from the assistance of a high throughput liquid-handling robot (Mosquito, TTP Labtech) to set up 96-well plates with 50-100 nl drops of protein mixed with the crystallization solution. The crystal formation in the drops is followed by the Rock Imager automated imaging system (Formulatrix). The initial hits can be assessed based on UV-fluorescence emission, which provides fast and efficient way to discriminate protein and salt crystals. Optimization and fine tuning of conditions to gain 3D crystals with  $\mu\text{m}$  dimensions for diffraction experiments are performed on 24-well trays, where crystallization is set up manually. The X-ray diffraction pattern of the crystals are recorded by a SuperNova (Agilent Oxford Diffraction) microfocuss X-ray diffractometer equipped with a CCD detector applying cryo conditions.

Relying on crystallography and structural biology (cf. a total of 48 structures have been deposited by our research group to the Protein Data Bank), our research topics at the Biostruct laboratory focus on enzymes involved in phosphate transfer reactions either in nucleotide metabolism / DNA repair or in lipid biosynthesis. Within the past two decades we provided essential contribution to the characterization of the deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase (dUTPase, enzyme commission (EC) number: 3.6.1.23) enzyme family by characterizing its multiple orthologues including human, drosophila, retroviral, phage-like, mycobacterial and enterobacterial variants. Structural analysis of dUTPase enabled us to provide insights into the

conserved catalytic mechanism of these enzymes as well as to discover species-specific segments that could provide a selective target in fighting deadly human pathogens. One of the most interesting piece of evidence results was obtained for the dUTPase of *Mycobacterium tuberculosis*, the bacterium responsible for tuberculosis. We have shown that the mycobacterial dUTPase has a species specific segment close to its active site that is dispensable for its catalytic mechanism. Nevertheless, this segment was found to be essential *in vivo* based on cellular studies performed using the closely related *Mycobacterium smegmatis* model organism. Subsequent ongoing studies are in progress in our laboratory to characterize the yet unknown function of this drug target species specific segment and to develop novel inhibitors against Mycobacteria.

An additional research area in our laboratory focuses on the structure-based characterization of a key lipid biosynthesis enzyme of the Plasmodium malaria causative agents. The *Plasmodium falciparum* CTP:phosphocholine cytidyltransferase (PfCCT, EC: 2.7.7.15) catalyzes a rate-limiting step in *de novo* phosphatidylcholine biosynthesis of the parasite and has been validated as a potential antimalarial drug target. Beyond the enzymatic characterization of a construct encompassing the catalytic domain of PfCCT, our research focuses on deciphering of ligand recognition at the choline binding subpocket of the active site, which is a probable interaction surface of choline-mimicking antimalarial drugs. We engineered point mutants for choline interacting residues at the active site of PfCCT to test their contribution to ligand binding and catalytic efficiency. Our results indicate that electrostatic and cation- $\pi$  interactions from charged and aromatic residues are both essential for efficient ligand recognition and conversion at this enzyme subsite. We additionally observed through a comprehensive analysis of deposited protein structures that such a combination of aromatic and charged ligand recognition pattern termed as composite aromatic box has been emerged as a widespread structural solution for coordination of quaternary ammonium ligands by enzymes. Notably, this binding motif is clearly distinct from the well-known aromatic box or aromatic cage architecture found abundantly at receptor proteins without enzymatic function. The presented ligand recognition patterns are critical for the mechanism of action for enzymes and receptors from neurotransmission, lipid biosynthesis, cellular defense and epigenetics.

In addition to these exemplary studies shown here as snapshots, several other research projects on small molecular and macromolecular structure determination are running at the Biostruct laboratory many of which is realized within a collaborative framework.



# Atomi réteg leválasztás a nanotechnológiában

SZILÁGYI Imre Miklós\*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék,  
1111 Budapest, Műegyetem rakpart 3. Magyarország

## 1. Az atomi réteg leválasztás története

Az atomi réteg leválasztás (atomic layer deposition - ALD) elméletének alapjait Aleskovski már az 1950-es években lefektette a Szovjetunióban, Leningrádban (Szentpéterváron). Ezt követően ő és Koltsov az 1960-as években végezték az első kísérleteket az általuk molekuláris rétegzésnek (molecular layering - ML) nevezett módszerrel. Tőlük függetlenül Suntola és munkatársai is kifejlesztették az ALD alapelveit Finnországban, Helsinkiben az 1970-es években, és egyben ők voltak azok, akik lehetővé tették az ALD ipari alkalmazását. Először a rétegeket epitaxián növesztették, és emiatt a módszert atomi réteg epitaxián (atomic layer epitaxy - ALE) hívták [1-4].

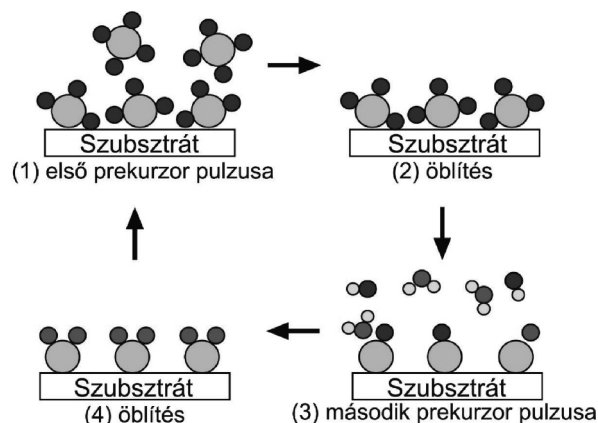
Az ALD első ipari felhasználására vékonyfilm elektrolumineszcens (thin film electroluminescent - TFEL) lapos kijelzők gyártásánál került sor. Bár már szinte a kezdetektől fogva az ALD alkalmazását számos más területen (pl. katalízis) is kutatták, a többi módszerhez képest az ALD hátránya a nagyon lassú filmnövekedési sebessége volt. A széleskörű elterjedésével meg kellett várni, amíg a növesztendő rétegek elvárt méretei annyira lecsökkentek, hogy az ALD alkalmazásával is megfelelő gyártási kapacitást lehessen elérni.

Így az igazi nemzetközi érdeklődés az ALD iránt csak az 1990-es években jött el, amikor eldöntötték, hogy a félvezető ipar jövőjében kulcsszerepet szánanak az ALD-nek. Ahogyan a szilícium alapú mikroelektronikai eszközökben a méretek zsugorodtak, az addig használt vékonyfilm növesztési módszereknek és maguknak a vékonyfilmeket alkotó anyagoknak komoly problémákkal kellett szembenézniük. Egyrészt az addigi módszerekkel bizonyos méreten alul már nem tudtak egyenletes és homogén filmeket növesztetni, másrészt a vékonyfilmeket alkotó anyagok tulajdonságai túl kis méret esetén már nem voltak megfelelőek, pl. a  $\text{SiO}_2$  már nem szigetelt kellően. Ezért az ALD-t jelölték ki, hogy ez legyen a fő rétegnövesztési módszer számos anyag esetén, melyek különböző eszközökben szerepelnek, pl. félvezető-oxid tranzisztorok (metal oxide semiconductor field effect transistors - MOSFETs) nagy dielektromos állandójú kapu oxidjai, réz diffúziós gátjai egyes csatlakozóknál, nagy mélység/szélesség arányú struktúrák memória kapacitásoknál, stb. Ennek köszönhetően a 2000-es években a vezető félvezető ipari vállalatok az ALD-t már széleskörűen alkalmazták egyes gyártási folyamataikban. Ezzel párhuzamosan az ALD a nanotechnológiában is egyre inkább az érdeklődés középpontjába került, ahol számos

területen kezdték el alkalmazni, pl. szenzorok, tüzelőanyag cellák, napelemek, katalízis, nanobevonatok, kijelzők, LED-fényforrások, nanokompozitok, különféle nano-eszközök, stb. [5-9].

## 2. Az ALD jellemzői

Egy ALD-reakció négy egymást követő lépésből áll (1. ábra): (i) az első prekuzort pulzusszerűen bejuttatjuk egy általában vákuumozott reaktorba, ahol a szubsztrátum felületén kemisorbealódik; (ii) a prekuzor feleslegét vagy a felületi reakció gáznemű termékeit eltávolítjuk inert gázzal való öblítéssel és/vagy vákuumozással; (iii) a második prekuzor bejuttatása (pulzusa) következik, ami kizárólag a felületen elreagál az első prekuzorral; (iv) a második prekuzor feleslegét és a reakció melléktermékeket eltávolítjuk a gáztérből [10-13].



1. Ábra. Az ALD egy ciklusának vázlatja, mely során  $\text{TiCl}_4$  és  $\text{H}_2\text{O}$  prekuzorok reakciójával  $\text{TiO}_2$ -réteg jön létre a felületen (szürke: Ti, kék: Cl, piros: O, sárga: H) [14]

Az ALD-nek és a kémiai réteg leválasztásnak (chemical vapor deposition - CVD) számos hasonlósága van, de több ponton alapvetően különböznek, és ez teszi az ALD-t egyedivé. Az ALD-ben a reaktánsok adszorpciója a felületen önkorlátozott, és a különböző prekuzorok csak a hordozó felületén találkoznak és reagálnak el egymással, a gáztérben nem [15,16].

Az ALD önkorlátozó növekedése eredményezi a módszer számos kiemelkedő előnyét. Az ALD-vel a filmvastagságot atomi szinten lehet szabályozni, mivel azt az ALD-ciklusok számával könnyen és pontosan lehet beállítani. Emellett az összetétel pontos szabályozására is lehetőség nyílik, és az ALD-vel könnyen megvalósítható a vékonyfilmek pontos

\* Tel.: +36-1-463-4212; fax: +36-1-4633408; e-mail: imre.szilagyi@mail.bme.hu

adalékolása (dópolása), és nanorétegződések (nanolaminált szerkezetek) előállítására. Az ALD rendkívül egyenletes rétegek növesztését teszi lehetővé, és az illékony prekursorok valamint az önkorlátozó növekedés miatt nagyon nagy mélység/szélesség arányú szerkezetek is egyenletesen bevonhatók. Az ALD esetén nem kell árnyék-hatással számolni, ami számos más fizikai vagy kémiai gázfázisú rétegnövesztési módszer hátránya, amelyeknél ha egy tárgy van a forrás és a célhordozó között, akkor ez jelentősen lecsökkentheti a tárgy mögött a filmnövekedés sebességét [17-21].

Az elmúlt évtizedekben az ALD-prekursorok kémia nagyon gyorsan fejlődött. Az ALD-reakciók során szilárd, folyadék vagy gáznemű prekursorokat is lehet használni. Ha a szilárd vagy folyadék prekursor parciális nyomása túl kicsi szobahőmérsékleten, hevíteni is lehet őket, hogy megfelelőek legyenek a szublimációs vagy párolgási körülmények. A prekursorok lehetnek elemek, molekulák, gyökök. Mára már nagyon nagyszámú anyagot lehet ALD-vel növesztetni. ALD-vel lehetséges leválasztani elemeket (Au, Ag, Pt, Ru, Fe, stb.), binér vegyületeket (pl. oxidok, nitridek, karbidok, szulfidok, fluoridok, mint  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ , ZnO,  $\text{HfO}_2$ , GaN, TaC, CaS,  $\text{SrF}_2$ , stb.), terner anyagokat (pl.  $\text{MgAl}_2\text{O}_4$ , TiAlN). Polimerek és szerves anyagok növesztése is elérhető ALD-vel. A molekuláris réteg leválasztással (molecular layer deposition - MLD), ami az ALD egy friss változata és ahol nem atomok, hanem molekula részletek kerülnek a filmbe rétegeként, az ALD-vel előállítható anyagok száma szinte korlátlanul növelhető szerves és szerves/szervetlen (pl. cinkonok, alukonok, stb.) anyagokkal [22-29].

Az ALD jellemző reakcióhőmérséklet tartománya 100-400 °C között van, és az ideális hőmérsékletzónát gyakran az úgynevezett ALD-ablakkal jellemzik. A magasabb hőmérséklet hasznos a prekursorok és a szubsztátum reaktivitása növelésének szempontjából, és a szorpciós folyamatok sebességét is növeli. Ugyanakkor túl magas hőmérséklet esetén a prekursorok és a növesztett film bomlása következhet be. Alacsony hőmérsékleten a reaktivitás és a reakciók sebessége nem mindig kielégítő, és szennyezők is könnyebben maradnak a filmben. Mindent összevetve az ALD-reakciókat alacsonyabb és magasabb hőmérsékleten is el lehet végezni, mindig az adott alkalmazás számára kell optimalizálni a paramétereket. A hőmérséklet a film morfológiáját, kristályszerkezetét is alapvetően befolyásolja. Az alacsony hőmérsékletű (akár szobahőmérsékletű) ALD-reakciók lehetővé teszik hőérzékeny szubsztátumok (pl. polimerek, bioanyagok) bevonását [30-32].

Komoly erőfeszítések történnek, hogy a hagyományos termikus ALD lehetőségeit bővítsék és kiterjesszék az ipari alkalmazások számára. A plazma ALD során az egyik (általában nemfémes) prekursor gyökös formában van jelen, és ezzel lehetővé vált Ag és Au filmek növesztése is. Az ALD-reakciók alapvetően vákuumban történnek, de kifejlesztették az atmoszférikus nyomású ALD-t is, ami nagyban megkönnyíti az ALD hozzáillesztését más ipari technológiai folyamatokhoz. Különösen a félvezető iparban fontos lehet, hogy a filmnövekedés ne a teljes

szubsztátumon, hanem csak egyes részein történjen, amit a területathatárolt (area selective) ALD-vel lehet elérni. Ugyancsak a félvezető iparban az ALD fordítottja, az atomi rétegtű marás (atomic layer etching – ALE) is egyre fontosabb, aminek a reakciósémája megegyezik az ALD-vel, de ez esetben a rétegeket nem atomonként építik, hanem visszabontják [33]. Az ALD lassú reakciósebességét ellensúlyozni lehet nagyszámú hordozó egyszerre történő bevonásával, valamint a görgőszalagszerű (roll-to-roll) vagy térben elválasztott (spatial) ALD technológiákkal [34-37]. Egyre fontosabbá válik porok bevonása is ALD-vel, amit fluidizációs vagy forgatott ALD reaktorokban lehet megtenni, illetve speciális (pl. porózus falú) mintatartók segítségével [38].

### 3. Az ALD alkalmazása a nanotechnológiában

Az ALD lehetővé teszi egyenletes filmek növesztését háromdimenziós (3D) hordozókon úgy, hogy a filmvastagságot nanométersnél is precízebben lehet szabályozni. Ezzel az ALD új stratégiákat nyújt nanoméretű anyagok tulajdonságainak módosításához, és új szintézis utakat nyit meg nanoszerkezetű anyagok előállításához.

Mára kiemelkedő eredmények születtek az ALD nanotechnológiai alkalmazása kapcsán, többek között nanoszemcsék, nanocsövek, nanoszálak, nanolaminátumok, pórusos nanoszerkezetű anyagok, inverz opál szerkezetek, nanokompozitok, bionanoanyagok előállítása és bevonása terén. [39-43]. Az ALD nanotechnológiai alkalmazásával kapcsolatos tanulmányok száma exponenciális nő. Ezt jól mutatja, hogy az ALD-vel előállított addigi összes nanoszerkezetet bemutató összefoglaló közlemény utoljára 2009-ben jelent meg [44]. Azóta viszont olyan mértékű volt a kutatás a területen, hogy lehetetlen volt az eredményeket egy cikkben összefoglalni. Így ezt követően az ALD nanotechnológiai felhasználásáról már elsősorban az egyes részterületeken születtek összefoglaló cikkek, pl. katalízis [45], energiátároló rendszerek [46,47], gá szenzorok [48], fotovoltaiikus [49] és fotokatalitikus [50] alkalmazások stb. témakörben.

### 4. ALD-vel előállított nanoszerkezetű anyagok a BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéken

A ma világszinten használt ALD-technológia alapja Finnországból, Helsinkiből származik. A Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME), Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéknek több évtizedes együttműködése van a Helsinkiben lévő Aalto University-vel (korábban Helsinki University of Technology – TKK) és a University of Helsinkivel. Az első intézményben dr. Lauri Niinistö vezette hosszú ideig a Szervetlen Kémiai Laboratóriumot, a University of Helsinkin pedig dr. Markku Leskelä az ugyancsak Szervetlen Kémiai Laboratórium vezetője évtizedek óta. Mindkét laboratórium világszinten is vezető az ALD kutatás területén. A BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék részéről előbb dr. Liptay György, majd dr. Pokol György és dr. Madarász János, végül dr. Szilágyi Imre Miklós vettek részt a közös munkában.

Kezdetben az együttműködés szervesen és fémorganikus anyagok előállítására, jellemzésére, termoanalitikai mérésére koncentrált, ahol külön figyelmet kaptak az ALD-reakciók során használt prekursorok vizsgálatai. Később már közvetlenül ALD-reakciók terén is több közös munka született, pl. alacsony oxidációs állapotú volfrámt tartalmazó volfrám-oxid filmek ALD-reakciójának kidolgozása [51].

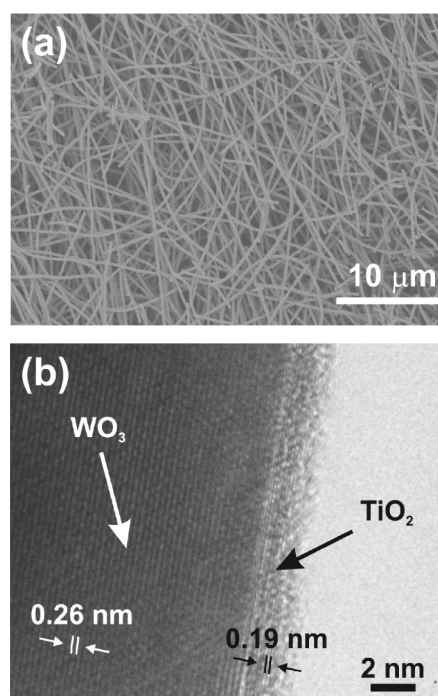
Az együttműködés során intenzív kutatócsere folyt a finn és magyar intézmények között. Az együttműködés mélységét jelzi, hogy dr. Lauri Niinistö a BME díszdoktora lett, valamint a Magyar Kémikusok Egyesülete (MTA) Fabinyi Rudolf díját is megkapta. 2010-2012 között dr. Szilágyi Imre Miklós a University of Helsinkin komplex nanostrukturákat állított elő ALD-vel, és onnan visszatérve kezdett egy új kutatócsoport kialakításába a BME Szervesen és Analitikai Kémia Tanszéken és az MTA-BME Műszaki Analitikai Kémiai Kutatócsoportban.

A BME Szervesen és Analitikai Kémia Tanszéken az ALD-vel kapcsolatos kutatómunka fő fókuszja funkcionális nanoszerkezetű anyagok előállítása. Szubsztrátumként oxid (pl.  $\text{WO}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ , stb.) nanoszemcséket, nanoszálakat, nanolemezeket, polimer (pl. poli(vinil-pirrolidon) - PVP, poli(vinil-alkohol) - PVA, poli(metil-metakrilát) - PMMA) nanoszálakat és nanoszemcséket, valamint szén nanoszerkezetű anyagokat (pl. fullerén, grafén-oxid, szén nanocső, szén aerogél, szén nanogömb) használnak. Ezeket változatos módszerekkel állítják elő, pl. termikus bontás, szol-gél, hidrotermális és elektrosztatikus szálhúzás eljárásokkal. A hordozókra döntően oxid ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) filmeket visznek fel ALD-vel, és így mag/héj nanoszemcséket és nanoszálakat, porózus nanoszerkezetű anyagokat, nanocsöveket, nanokompozitokat stb. nyernek.

A kutatás célja az, hogy felderítsék a szubsztrátum és az ALD-film kölcsönhatását, és tanulmányozzák, hogyan lehet optimalizálni a nanorendszerek tulajdonságait (szubsztrátum összetétele, kristályszerkezete, morfológiája, valamint az ALD-film összetétele, vastagsága, szerkezete) az egyes alkalmazások számára. Eddig a nanokompozitok fotokatalitikus és gázszensor alkalmazása terén született a legtöbb eredmény, de számos további területen is aktívák (pl. öntisztító bevonatok, katalízis, elektrokróm filmek, fotovoltaiikus rendszerek, stb.).

Az alábbiakban a teljesség igénye nélkül néhány fontosabb eredményüket soroljuk fel. Ezek egy része már megjelent cikkekben, más része publikálás alatt van. Először az általuk előállított fotokatalitikus nanoszerkezetű anyagok közül ismertetünk néhány példát. Egy új, teljesen vizes alapú eljárást dolgoztak ki monoklin (m-)  $\text{WO}_3$  nanoszálak előállítására elektrosztatikus szálhúzással, és  $\text{TiO}_2$  nanofilmekkel vonták be őket ALD-vel (2. ábra). A mag/héj  $\text{WO}_3/\text{TiO}_2$  kompozit nanoszálak látható fényben aktív fotokatalizátorok voltak, és a  $\text{TiO}_2$  filmvastagság változtatásával szabályozni lehetett a fotokatalitikus teljesítményt [52-53]. Elektrosztatikus szálhúzással  $\text{ZnO}$  és  $\text{TiO}_2$  nanoszálakat is előállítottak, amelyeket ALD  $\text{TiO}_2$  és  $\text{ZnO}$  rétegekkel vontak be. A mag/héj  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$  és  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  kompozit nanoszálakat fotokatalízis

alkalmazásokban vizsgálták [54]. Fontos eredmény volt, hogy kimutatták, hogy nem minden esetben javít az ALD-filmmel való bevonás a hordozó tulajdonságain. Az elektrosztatikus szálhúzással előállított oxid nanoszálak jellemzően kis oxid nanoszemcsékből állnak össze. Ha a szálra növesztett ALD-film túl vastag, akkor eltömi a szemcsék közötti réseket, csökkenti a fajlagos felületet, és ezzel romolhat a kompozit teljesítménye az adott alkalmazásban. Ez fontos információ, mert az ALD-filmek esetleges hátrányát kevesen vizsgálták. A fentiek mellett  $\text{TiO}_2$  és  $\text{ZnO}$  nanocsöveket is készítettek úgy, hogy elektrosztatikus szálhúzással előállított PVA és PVP szálakat oxid ALD-filmmel vontak be, majd eltávolították a polimer magot hevítéssel vagy oldással. Az így kapott oxid nanocsövek fotokatalitikus hatékonysága elérte a fotokatalízisben általában referenciaként használt P25  $\text{TiO}_2$ -ét.



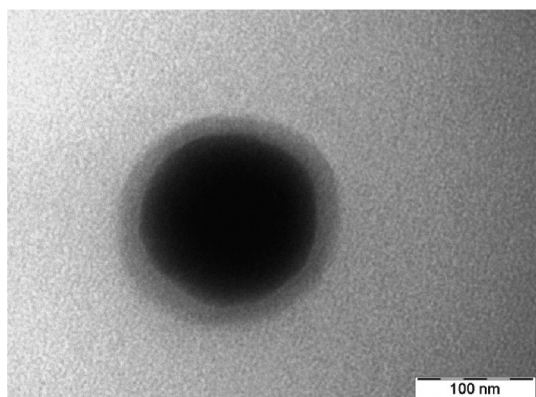
2. Ábra. (a) Elektrosztatikus szálhúzással előállított  $\text{WO}_3$  nanoszálak SEM felvétele; (b)  $\text{WO}_3/1.5 \text{ nm TiO}_2$  mag/héj kompozit nanoszálak HRTEM felvétele [53]. (Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Reproduced with permission.)

Mikrohullámú hidrotermális szintézissel hexagonális (h-)  $\text{WO}_3$  nanoszálakat készítettek, amikre  $\text{TiO}_2$ -ot növesztettek ALD-vel, és a kompozitot fotokatalizátorként használták. Kimutatták, hogy míg az ALD-vel növesztett  $\text{TiO}_2$  nanoszemcséket képez a h- $\text{WO}_3$  nanoszálakon, az m- $\text{WO}_3$  felületén egyenletes film formájában nő [55]. Ez azt jelenti, hogy a  $\text{WO}_3$  eltérő módosulatain máshogy történik az ALD-nukleáció, ami úttörő eredmény. A  $\text{WO}_3$  két módosulatának eltérő az összetétele. Míg az m- $\text{WO}_3$  teljesen oxidált, addig a h- $\text{WO}_3$  kis mennyiségű szennyező kationokat tartalmaz a csatornás szerkezetében, amik a metastabil hexagonális szerkezet stabilizálásához szükségesek. Emiatt a h- $\text{WO}_3$ -ban a volfrám atomok egy része részlegesen redukált. Ez kihat arra is, hogy a felszínén kisebb az -OH csoportok sűrűsége, mint az m- $\text{WO}_3$  esetében [56-57], ami kevesebb nukleációs helyet jelent az ALD-reakció során, és emiatt a  $\text{TiO}_2$  csak szemcsékként növekszik, és nem egyenletes filmként.

Elsőként növesztettek ALD-filmet ( $\text{TiO}_2$ ) lágy biológiai szövetre (a lótuszlevél nanostrukturált felületére), és így egy szuperhidrofób és fotokatalitikus bionanokompozitot kaptak [58]. Az ALD-reakciót alacsony hőmérsékleten ( $65^\circ\text{C}$ ) végezték, és ekkor a lótusz víztaszító hatását okozó mikroméretű dombokat és a rajtuk lévő 50-100 nm átmérőjű nanocsöveket is sikerült megőrizni. A  $\text{TiO}_2$  vastagságának változtatásával szabályozni tudták a nedvesítési és fotokatalitikus tulajdonságokat. Az alacsony ALD-reakció-hőmérséklet miatt a  $\text{TiO}_2$  amorf formában nőtt, de újdonságként mégis tapasztaltak fotokatalitikus hatást.

Az ALD-vel növesztett amorf  $\text{TiO}_2$  fotokatalitikus hatását további hordozókon is vizsgálták. A  $\text{TiO}_2$  szerkezetét (amorf vagy kristályos) az ALD-reakcióhőmérsékletével lehet szabályozni. Kb.  $200^\circ\text{C}$  alatt amorf formában nő a  $\text{TiO}_2$ , felette pedig anatózsként (még magasabb hőmérsékleten rutil és brookit  $\text{TiO}_2$  előállításáról is beszámoltak korábban mások) [22]. Ennek megfelelően amorf és anatóz  $\text{TiO}_2$ -t növesztettek  $\text{SiO}_2$  (3. ábra) és PMMA nanoszemcsékre, és bár az ALD-vel előállított amorf  $\text{TiO}_2$ -nak jóval kisebb volt a fotokatalitikus hatása, mint a kristályosnak, de egyértelműen kimutatható volt. Ez meglepő eredmény, mivel korábban széleskörűen a  $\text{TiO}_2$ -t csak kristályos formában tartották fotokatalitikusan aktívnak, amorf formában nem [59]. Azonban a kísérletek azt mutatják, hogy az ALD-vel növesztett amorf  $\text{TiO}_2$ -nak van fotokatalitikus hatása, aminek pontos forrása egyelőre még nem tisztázott; szóba jöhetnek pl. a  $\text{TiO}_2$ -ban lévő szennyezők (pl. C), kristályos nanodomének a makroszkopikusan amorf  $\text{TiO}_2$ -ben, a szubsztrátum és az amorf  $\text{TiO}_2$  kölcsönhatása.

3. Ábra. Szol-gél  $\text{SiO}_2$  szemcse TEM felvétele, melyre 20-30 nm amorf  $\text{TiO}_2$ -réteg lett ALD-vel növesztve

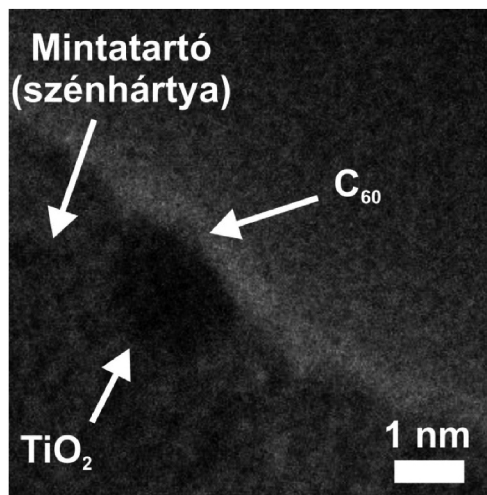


Amorf  $\text{TiO}_2$ -t számos szén nanoszerkezetre is leválasztottak ALD-vel, és ezek a kompozitok is mutattak fotokatalitikus hatást. Többek között  $-\text{OH}$  csoportokkal funkcionalizált fullerénre (fullerol) 1-2 nm  $\text{TiO}_2$  szemcséket növesztettek (4. ábra). Ez volt az első tanulmány, ahol sikerült egyedi fullerén molekulára bármilyen ALD réteget növesztetni [60]. Grafén-oxidra és szén aerogélre is leválasztottak amorf  $\text{TiO}_2$ -ot, valamint szén nanogömbökre. Ez utóbbi esetben a szén mag hevítéssel történő eltávolítása után üreges  $\text{TiO}_2$  nanogömböket kaptak [61,62]. A fenti  $\text{SiO}_2$  és szén nanoszerkezet rendszerek esetén a  $\text{TiO}_2$  mellett referenciaként fotokatalitikusan aktív ZnO és nem aktív  $\text{Al}_2\text{O}_3$  rétegeket is növesztettek.

Fotokatalízis mellett gázszenzor alkalmazásban is vizsgáltak ALD-vel előállított nanoszerkezetű anyagokat. Felderítették a korábban említett, elektrosztatikus szálhúzással és ALD-vel szintetizált mag/héj  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  [54] valamint  $\text{WO}_3/\text{TiO}_2$  kompozit nanoszálak gázérzékelő tulajdonságait is. Hevítéssel m- és h- $\text{WO}_3$  nanoszemcséket készítettek, és ezekre ZnO és  $\text{Al}_2\text{O}_3$  rétegeket választottak le, majd gázszenzorként tesztelték a kompozitokat. Szén nanocsövekre (carbon nanotube - CNT)  $\text{TiO}_2$  és ZnO rétegeket növesztettek több rétegben, és megmérték, hogyan befolyásolja a gázérzékelést az oxid rétegek fajtája és sorrendje a CNT/ $\text{TiO}_2$ , CNT/ZnO, CNT/ $\text{TiO}_2$ /ZnO, CNT/ZnO/ $\text{TiO}_2$  mag/héj nanocsövek esetén.

Azt is tanulmányozták, hogy ultravékony oxid filmeknek önmagukban van-e gázérzékelő tulajdonsága. Kimutatták, hogy már nagyon vékony (10-20 nm) ALD-vel növesztett ZnO és  $\text{TiO}_2$  oxid rétegeknek is jó érzékenysége van kvarc kristály mikromérleg (quartz crystal microbalance - QCM) gázszenzorokban [63,64].

Az ALD mellett referenciaként más módszerekkel is, pl. CVD, MAPLE (matrix assisted pulsed laser evaporation), PLD (pulsed laser deposition) és ún. forgótárcsás eljárás (spin coating) készítettek oxid nanofilmeket, amiket elsősorban gázszenzorként és elektrokróm alkalmazásban vizsgáltak [65-69].



4. Ábra. OH-funkcionalizált  $\text{C}_{60}$  molekulára ALD-vel növesztett  $\text{TiO}_2$  nanoszemcse TEM felvétele [60] (doi: 10.1088/0957-4484/24/24/245701. © IOP Publishing. Reproduced with permission. All rights reserved.)

További alkalmazásokban is használtak ALD-vel előállított nanoszerkezetű anyagokat. Például egy pórusos, ion marmat polimer Kapton membránra  $\text{TiO}_2$  és ZnO réteget növesztettek ALD-vel, és a kompozit membránt rugalmas MCP (microchannel plate) elektron detektorként tesztelték [70]. ALD réteg növesztésével kimutatták, hogy a madártollak felszínén lévő nanostrukturák szerkezeti szint okozhatnak; szajkó kék tollán fedeztek fel 100-200 nm hosszanti nanobarázdákat, amik hozzájárulnak a toll színéhez.

Az ALD nanotechnológiai alkalmazását az adott eredményeket leíró szakcikk mellett két összefoglaló közleményben is tárgyalták [71,72].

## Összefoglalás

Az atomi réteg leválasztás egy gázfázisú vékonyfilm növesztési módszer, mely egyediségét az adja, hogy vele atomi szinten szabályozott vastagsággal és összetétellel lehet egyenletes rétegeket növeszteni erősen strukturált 3D hordozókra is. Az ALD-t már több mint egy évtizede széleskörűen alkalmazzák a félvezető iparban, de mellette számos más területen is egyre inkább előtérbe kerül.

A BME Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszéken az ALD-vel kapcsolatos kutatás komplex, funkcionális nanoszerkezetű anyagok programozott előállítására irányul. Elsősorban oxid nanofilmeket és nanoszemcséket növesztenek ALD-vel oxid, polimer és szén nanoszerkezetekre. A céljuk az, hogy a hordozó és különösen az ALD réteg paramétereinek pontos beállításával a nanorendszerek tulajdonságait az adott alkalmazás (pl. fotokatalízis, gázérzékelés) számára tervszerűen szabályozzák és optimalizálják, valamint teljesen új, egyedi, kiemelkedő tulajdonságú nanorendszereket állítsanak elő.

## Hivatkozások

- Ritala, M.; Leskelä, M. *In Handbook of Thin Films* Chapter 2 - Atomic layer deposition, Academic Press, **2002**  
<https://doi.org/10.1016/B978-012512908-4/50005-9>
- Ahvenniemi, E.; et al, *J. Vac. Sci. Technol. A* **2017**, *35*, 010801. <https://doi.org/10.1116/1.4971389>
- Johnson, R. W.; Hultqvist, A.; Bent, S. F. *Mater. Today* **2014**, *17*, 236.  
<https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.04.026>
- Parsons, G. N.; George, S. M.; Knez, M. *MRS Bull.* **2011**, *36*, 865. <https://doi.org/10.1557/mrs.2011.238>
- Niinisto, L.; Paivasaari, J.; Niinisto, J.; Putkonen, M.; Nieminen, M. *Phys. Status Solidi A* **2004**, *201*, 1443.  
<https://doi.org/10.1002/pssa.200406798>
- Hwang, C. S. *Atomic Layer Deposition for Semiconductor*: Springer: New York, Heidelberg, Dordrecht, London, **2014**.  
<https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8054-9>
- Pinna, N.; Knez, M. *Atomic Layer Deposition of Nanostructured Materials* Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA: Weinheim, Germany, **2011**.  
<https://doi.org/10.1002/9783527639915>
- Robertson, J. *Eur. Phys. J.-Appl. Phys.* **2004**, *28*, 265.  
<https://doi.org/10.1051/epjap:2004206>
- Leskelä, M.; Ritala, M. J. *Solid State Chem.* **2003**, *171*, 170.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-4596\(02\)00204-9](https://doi.org/10.1016/S0022-4596(02)00204-9)
- George, S. M. *Chem. Rev.* **2009**, *110*, 111.  
<https://doi.org/10.1021/cr900056b>
- Puurunen, R. L. *J. Appl. Phys.* **2005**, *97*, 121301.  
<https://doi.org/10.1063/1.1940727>
- Zaera, F. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3177.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.04.006>
- Putkonen, M.; Sajavaara, T.; Niinisto, L.; Keinonen, J. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 1791.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-005-3365-3>
- Barron, Andrew. R. *Atomic Layer Deposition*. OpenStax-CNX module: m25737,  
[http://cnx.org/contents/rimBK1xx@2/Atomic-Layer-Deposition\(21 June 2017\)](http://cnx.org/contents/rimBK1xx@2/Atomic-Layer-Deposition(21%20June%202017))
- Devi, A. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3332.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.07.025>
- Emslie, D. J. H.; Chadha, P.; Price, J. S. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3282.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.07.010>
- Suntola, T. *Appl. Surf. Sci.* **1996**, *100*, 391.  
[https://doi.org/10.1016/0169-4332\(96\)00306-6](https://doi.org/10.1016/0169-4332(96)00306-6)
- Niinisto, L.; Ritala, M.; Leskela, M.; *Mat. Sci. Eng. B* **1996**, *41*, 23. [https://doi.org/10.1016/S0921-5107\(96\)01617-0](https://doi.org/10.1016/S0921-5107(96)01617-0)
- Elers, K. E.; Blomberg, T.; Peussa, M.; Aitchison, B.; Haukka, S.; Marcus, S. *Chem. Vapor. Dep.* **2006**, *12*, 13.  
<https://doi.org/10.1002/cvde.200500024>
- Ritala, M. *Appl. Surf. Sci.* **1997**, *112*, 223.  
[https://doi.org/10.1016/S0169-4332\(96\)01004-5](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(96)01004-5)
- Ritala, M.; Leskelä, M. *Nanotechnology* **1999**, *10*, 19.  
<https://doi.org/10.1088/0957-4484/10/1/005>
- Miikkulainen, V.; Leskela, M.; Ritala, M.; Puurunen, R. L. *J. Appl. Phys.* **2013**, *113*, 021301.  
<https://doi.org/10.1063/1.4757907>
- Lee, S. W.; Choi, B. J.; Eom, T.; Han, J. H.; Kim, S. K.; Song, S. J.; Lee, W.; Hwang, C. S. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3154. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.04.010>
- Sundberg, P.; Karppinen, M. *Beilstein. J. Nanotechn.* **2014**, *5*, 1104. <https://doi.org/10.3762/bjnano.5.123>
- Hatanpää, T.; Ritala, M.; Leskelä, M. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3297. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.07.002>
- Knisley, T. J.; Kalutarage, L. C.; Winter, C. H. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3222.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.03.019>
- Ramos, K. B.; Saly, M. J.; Chabal, Y. J. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3271.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.03.028>
- Tynell, T.; Karppinen, M. *Semicond. Sci. Tech.* **2014**, *29*, 043001. <https://doi.org/10.1088/0268-1242/29/4/043001>
- Putkonen, M.; Niinistö, L. *Organometallic Precursors for Atomic Layer Deposition in Precursor Chemistry of Advanced Materials* Springer: Berlin Heidelberg, 125 p. **2005**. <https://doi.org/10.1007/b136145>
- Parsons, G. N.; Atanasov, S. E.; Dandley, E. C.; Devine, C. K.; Gong, B.; Jur, J. S.; Lee, K.; Oldham, C. J.; Peng, Q.; Spagnola, J. C.; Williams, P. S. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3323. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.07.001>

31. Ponraj, J. S.; Attolini, G.; Bosi, M. *Crit. Rev. Solid State* **2013**, *38*, 203. <https://doi.org/10.1080/10408436.2012.736886>
32. Kim, H. *J. Vac. Sci. Technol. B* **2003**, *21*, 2231. <https://doi.org/10.1116/1.1622676>
33. Kanarik, K. J.; L.Thorsten.; Hudson, E. A.; Sriraman, S.; Tan, S.; Marks, J.; Vahedi, V.; Gottscho, R. A. *J. Vac. Sci. Technol. A* **2015**, *33*, 020802. <https://doi.org/10.1116/1.4913379>
34. Knoops, H. C. M.; Langereis, E.; van de Sanden, M. C. M.; Kessels, W. M. M. *J. Electrochem. Soc.* **2010**, *157*, G241. <https://doi.org/10.1149/1.3491381>
35. Potts, S. E.; Kessels, W. M. M. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3254. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.06.015>
36. Mackus, A. J. M.; Bol, A. A.; Kessels, W. M. M. *Nanoscale* **2014**, *6*, 10941. <https://doi.org/10.1039/C4NR01954G>
37. Leskelä, M.; Ritala, M. *Thin Solid Films* **2002**, *409*, 138. [https://doi.org/10.1016/S0040-6090\(02\)00117-7](https://doi.org/10.1016/S0040-6090(02)00117-7)
38. Longrie, D.; Deduytsche, D.; Detavernier, C. *J. Vac. Sci. Technol. A* **2015**, *32*, 010802. <https://doi.org/10.1116/1.4851676>
39. Knez, M.; Nielsch, K.; Niinistö, L. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3425. <https://doi.org/10.1002/adma.200700079>
40. Detavernier, C.; Dendooven, J.; Sree, S. P.; Ludwig, K. F.; Martens, J. A.; *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5242. <https://doi.org/10.1039/c1cs15091j>
41. Liu, M. N.; Li, X. L.; Karuturi, S. K.; Tok, A. I. Y.; Fan, H. *J. Nanoscale* **2012**, *4*, 1522. <https://doi.org/10.1039/c2nr11875k>
42. Bakke, J. R.; Pickrahn, K. L.; Brennan, T. P.; Bent, S. F.; *Nanoscale* **2011**, *3*, 3482. <https://doi.org/10.1039/c1nr10349k>
43. Marichy, C.; Pinna, N. *Coordin. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 3232. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.08.007>
44. Kim, H.; Lee, H. B. R.; Maeng, W. J. *Thin Solid Films* **2009**, *517*, 2563. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2008.09.007>
45. O'Neill, B. J.; Jackson, D. H. K.; Lee, J.; Canlas, C.; Stair, P. C.; Marshall, C. L.; Elam, J. W.; Kuech, T. F.; Dumesic, J. A.; Huber, G. W. *ACS Catal.* **2015**, *5*, 1804. <https://doi.org/10.1021/cs501862h>
46. Meng, X. *J. Mater. Chem. A* **2017**, *5*, 10127. <https://doi.org/10.1039/C7TA02742G>
47. Ahmed, B.; Xia, C.; Alshareef, H. N. *Nano Today* **2016**, *11*, 250. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.04.004>
48. Marichy, C.; Pinna, N. *Adv. Mater. Interfac.* **2017**, *4*, 1600758. <https://doi.org/10.1002/admi.201600335>
49. Deng, K.; Li, L. *Adv. Mater. Interfac.* **2016**, *3*, 1600505. <https://doi.org/10.1002/admi.201600505>
50. Wang, T.; Luo, Z.; Li C.; Gong, J. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 7469. <https://doi.org/10.1039/C3CS60370A>
51. Dezelah IV, C. L.; El-Kadri, O. M.; Szilágyi, I. M.; Campbell, J.M.; Arstila, K.; Niinistö, L.; Winter, C.H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9638. <https://doi.org/10.1021/ja063272w>
52. Szilágyi, I. M.; Santala, E.; Heikkilä, M.; Kemell, M.; Nikitin, T.; Khriachtchev, L.; Räsänen, M.; Ritala, M.; Leskelä, M. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2011**, *105*, 73. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1631-5>
53. Szilágyi, I. M.; Teucher, G.; Firkala, T.; Santala, E.; Pore, V.; Nikitin, T.; Khriachtchev, L.; Räsänen, M.; Ritala, M.; Leskelä, M. *Chem. Vapor Dep.* **2013**, *19*, 149. <https://doi.org/10.1002/cvde.201207037>
54. Boyadjiev, S. I.; Kéri, O.; Bárdos, P.; Firkala, T.; Gáber, F.; Nagy, Z. K.; Baji, Z.; Takács, M.; Szilágyi, I. M. *Appl. Sur. Sci.* **2017**, in press, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.030>
55. Nagy, D.; Firkala, T.; Drotár, E.; Szegedi, Á.; László, K.; Szilágyi, I. M. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 95369. <https://doi.org/10.1039/C6RA18899K>
56. Szilágyi, I. M.; Madarász, J.; Pokol, G.; Király, P.; Tárkányi, G.; Saukko, S.; Mizsei, J.; Tóth, A. L.; Szabó, A.; Varga-Josepovits, K. *Chem. Mater.* **2008**, *20*, 4116. <https://doi.org/10.1021/cm800668x>
57. Szilágyi, I. M.; Főrizs, B.; Rosseler, O.; Szegedi, Á.; Németh, P.; Király, P.; Tárkányi, G.; Vajna, B.; Varga-Josepovits, K.; László, K.; Tóth, A. L.; Baranyai, P.; Leskelä, M. *J. Catal.* **2012**, *294*, 119. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2012.07.013>
58. Szilágyi, I. M.; Teucher, G.; Härkönen, E.; Färm, E.; Hatanpää, T.; Nikitin, T.; Khriachtchev, L.; Räsänen, M.; Ritala, M.; Leskelä, M. *Nanotechnology* **2013**, *24*, 245701. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/24/245701>
59. Huang, J.; Liu, Y.; Lu, L.; Li, L. *Res. Chem. Intermed.* **2011**, *38*, 487. <https://doi.org/10.1007/s11164-011-0365-0>
60. Justh, N.; Firkala, T.; László, K.; Lábár, J.; Szilágyi, I. M. *Appl. Surf. Sci.* **2017**, *419*, 497. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.04.243>
61. Bakos, L. P.; Justh, N.; Hernádi, K.; Kiss, G.; Réti, B.; Erdélyi, Z.; Párditka, B.; Szilágyi, I.M.; *J. Phys. Conf. Ser.* **2016**, *764*, 012005. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/764/1/012005>
62. Justh, N. Bakos, L. P.; Hernádi, K.; Kiss, G.; Réti, B.; Erdélyi, Z.; Párditka, B.; Szilágyi, I. M. *Sci. Rep.* **2017**, in press, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04090-0>
63. Boyadjiev, S.; Georgieva, V.; Vergov, L.; Baji, Z.; Gáber, F.; Szilágyi, I. M. *J. Phys. Conf. Ser.* **2014**, *559*, 012013. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/559/1/012013>
64. Boyadjiev, S.; Georgieva, V.; Yordanov, R.; Raicheva, Z.; Szilágyi, I. M. *Appl. Surf. Sci.* **2016**, *387*, 1230. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.06.007>
65. Gesheva, K.; Arvizu, M.; Bodurov, G.; Ivanova, T.; Niklasson, G.; Iliev, M.; Vlahkov, T.; Terzijska, P.; Popkirov, G.; Boyadjiev, S.; Jágerszki, G.; Szilágyi, I. M.; Marinov, Y. *J. Phys. Conf. Ser.* **2016**, *764*, 012010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/764/1/012010>
66. Boyadjiev, S. I.; Stefan, N.; Szilágyi, I. M.; Mihailescu, N.; Visan, A.; Mihailescu, I. N.; Stan, G. E.; Besleaga, C.; Iliev, M. T.; Gesheva, K. A.; *J. Phys. Conf. Ser.* **2017**, *780*, 012013. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/780/1/012013>
67. Boyadjiev, S. I.; Georgieva, V.; Stefan, N.; Stan, G. E.; Miroiu, F. M.; Mihailescu, N.; Visan, A.; Mihailescu, I. N.; Besleaga, C.; Szilágyi, I. M. *Appl. Surf. Sci.* **2017**, *417*, 218. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.212>
68. Boyadjiev, S.; Manduca, B.; Szűcs, J.; Szilágyi, I. M. *J. Phys. Conf. Ser.* **2016**, *700*, 012019. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/700/1/012019>
69. Boyadjiev, S.; dos Lopes Santos, G.; Szűcs, J.; Szilágyi, I. M. *J. Phys. Conf. Ser.* **2016**, *1722*, 140004. <https://doi.org/10.1063/1.4944194>
70. Mättö, L.; Szilágyi, I. M.; Laitinen, M.; Ritala, M.; Leskelä, M. *Nucl. Instr. Method. Phys. Res. A* **2016**, *832*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.nima.2016.06.132>
71. Gesheva, K.; Ivanova, T.; Bodurov, G.; Szilágyi, I. M.; Justh, N.; Kéri, O.; Bojadjev, S.; Nagy, D.; Aleksandrova. M. *J. Phys. Conf. Ser.* **2016**, *682*, 012011. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/682/1/012011>
72. Szilágyi, I. M.; Nagy, D. *J. Phys. Conf. Ser.* **2014**, *559*, 012010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/559/1/012010>

## Atomic layer deposition in nanotechnology

Atomic layer deposition (ALD) is a thin film deposition technique, based on successive, alternative surface controlled reactions from the gas phase. ALD was already invented in St. Petersburg, Russia in the 1950-1960s and in the 1970s in Helsinki, Finland, independent of each other. However, the real international interest about ALD has arrived only in the 1990s, when ALD was considered to be a key future method in the semiconductor industry.

A general ALD reaction has four consecutive steps (Fig. 1): (i) the first precursor is pulsed into the reactor, which chemisorbs on the surface of the substrate; (ii) the unreacted precursor or reaction byproducts are removed by an inert gas purge and/or by evacuation; (iii) the second precursor is pulsed, which reacts with the first precursor solely on the surface; (iv) the unused second precursor and the reaction byproducts are removed.

The uniqueness of ALD is based on that in ALD the adsorption of reactants is self-limited and the various precursors meet only on the surface of the substrate. The self-limiting growth leads to the many advantages of ALD. ALD can provide thickness control at an atomic level, as the film thickness can be programmed easily by the number of the ALD cycles. Not only the thickness, but also the composition of the film can be controlled precisely.

ALD can use solid, liquid or gaseous precursors. The precursors can be elements, molecules, radicals. ALD can be used to deposit elements, binary and ternary compounds, as well as polymers and organic materials. Molecular layer deposition (MLD), a recent version of ALD, where a molecular fragment is deposited during each ALD cycle, can increase the number of ALD prepared materials even further with organic or organic/inorganic (e.g. zircones, alucones) polymers. The usual reaction temperature is between 100-400 °C, and the ideal reaction temperature zone is often described by the so-called ALD window. However, ALD reactions can be performed at both higher and lower temperatures as well.

Considerable efforts have been made to extend the possibilities of traditional ALD to meet the industrial requirements. Plasma or radical enhanced ALD made it possible to deposit Ag or Au, which were not possible by thermal ALD. Usually ALD reactions take place in vacuum, but it is also possible to grow thin films by atmospheric pressure ALD, which makes it much easier to adapt the ALD reaction to other industrial processes. Especially in the semiconductor industry, it might be vital not to grow thin films on the complete substrate but only on parts of it, and this can be achieved by area selective ALD. Atomic layer etching (ALE), the reversed version of ALD is also becoming more and more important in the semiconductor industry. The slow growth rate of ALD can be overcome by coating a large numbers of substrates at the same time, or by using roll-to-roll or spatial ALD technology. The coating of powders is also getting increased interest, and it can be done in fluidized bed or rotary ALD reactors.

As ALD allows deposition of uniform thin films on three dimensional (3D) objects with thickness control of sub-nanometer precision, ALD provides new strategies in modifying the properties of nanoscaled materials and new synthetic routes to novel nanostructures. By now, outstanding results have been achieved by ALD in nanotechnology: preparing or coating nanodots, nanotubes, nanowires, nanolaminates, nanoporous materials, inverse opal structures, various nanocomposites, bionanomaterials, etc.

At the Budapest University of Technology, Department of Inorganic and Analytical Chemistry the ALD research is supported by a several decade long collaboration with the Aalto University (formerly Technical University of Helsinki) and the University of Helsinki, Finland. Both institutes are worldwide leaders in ALD.

At BME the ALD activity now is focused on the programmed preparation of complex, functional nanostructures. As substrates, oxide (e.g.  $\text{WO}_3$ ,  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ , stb.) nanoparticles, nanofibers, nanosheets, polymer (e.g. PVP, PVA, PMMA) nanofibers and nanoparticles, as well as carbon nanostructures (e.g. fullerene, graphene oxide, carbon nanotubes, carbon aerogels, carbon nanospheres) are used. These are synthesized by various techniques, e.g. thermal decomposition, sol-gel, hydrothermal and electrospinning methods. On the substrates mostly oxide ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) films are deposited, and core/shell nanoparticles and nanofibers, porous nanostructures, nanotubes, nanocomposites etc. are prepared.

The aim of the group is to explore the interaction between the substrates and the ALD films, and to study how the nanostructure properties (e.g. substrate morphology, structure, composition and ALD film composition, thickness, structure) can be optimized in a planned way for the applications. Up to now, the largest number of results were achieved in photocatalysis and gas sensing; but the group is also active in various other fields (e.g. self-cleaning coating, catalysis, electrochromic films, photovoltaic systems).

Below some examples from the ALD results of the group at BME are listed. At first the photocatalytic nanostructures are mentioned. By combining electrospinning and ALD,  $\text{WO}_3/\text{TiO}_2$  (Fig. 1) as well as  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$  as  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$  core/shell nanofiber composites, and also  $\text{TiO}_2$  and  $\text{ZnO}$  nanotubes were obtained. It was an important result that the group also explored the limitations of using ALD for coating electrospun oxide fibers, i.e. if the coating was too thick it could block the pores of the fibers, reduce the specific surface area and the photocatalytic activity. They explored that ALD nucleation happened in a different way on different 1D  $\text{WO}_3$  polymorphs. They were the first to coat a soft biological substrate (i.e. the nanopatterned surface of lotus leaf) by ALD, and this way they obtained a photocatalytic and superhydrophobic lotus/ $\text{TiO}_2$  bionanocomposite. The  $\text{TiO}_2$  layer was grown by low temperature ALD, and thus it was amorphous; however, it still had photocatalytic activity. The photocatalytic property was verified further by growing

amorphous but still photocatalytic ALD  $\text{TiO}_2$  layers on  $\text{SiO}_2$  nanoparticles (Fig. 3), PMMA nanoparticles, fullerene molecule (Fig. 4), graphene oxide, carbon aerogel and carbon nanoparticles.

The gas sensitivity of various ALD prepared oxide nanostructures was also tested, e.g. that of  $\text{ZnO}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{TiO}_2/\text{ZnO}$ , and  $\text{WO}_3/\text{TiO}_2$  nanofibers,  $\text{WO}_3/\text{ZnO}$  and  $\text{WO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$  nanoparticles, as well as  $\text{CNT}/\text{TiO}_2$ ,  $\text{CNT}/\text{ZnO}$ ,  $\text{CNT}/\text{TiO}_2/\text{ZnO}$ , and  $\text{CNT}/\text{ZnO}/\text{TiO}_2$  nanotubes. The gas sensing ability of ultrathin 10-20 nm  $\text{ZnO}$  and  $\text{TiO}_2$  layers

grown by ALD was verified by quartz crystal microbalance gas sensors.

As further application, porous and flexible polymer/oxide, i.e. Kapton/ $\text{ZnO}$  and Kapton/ $\text{Al}_2\text{O}_3$ , micro-channel plate electron detectors were produced by ALD. ALD was used also to discover the surface nanostructures on the surface of birds feathers contributing to structural coloring.

The group has co-authored two ALD review papers.



# Környezettechnológiai kutatások a BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszéken

NÉMETH Áron\*, FEHÉR Csaba, JOBBÁGY Andrea, MOLNÁR Mónika

BME Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék,  
Szent Gellért tér 4., H-1111 Budapest, Magyarország

## 1. Bevezetés

A BME-n kialakított biomérnök képzésnek egyik oszlopa a környezetvédelmi szemlélet. Az itt tanuló hallgatók valódi problémák megoldásának kutatásába is bekapcsolódhatnak BSc-től MSc-n át PhD-ig minden szinten.

Az Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék (ABÉT) 2007. január 1-én jött létre a Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék (BÉT) és a Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék (MGKT) egyesítésével. A megalakult új tanszék tudatosan törekszik alaptevékenységeinek - az oktatás, a kutatás-fejlesztés-innováció, valamint a szolgáltatások - korszerű, szakmailag hiteles, összehangolt és egymást erősítő művelésére. Szakmai tevékenységük meghatározó területei a biokémia, molekuláris biológia, az élelmiszertudomány, az ipari, mezőgazdasági és környezetvédelmi biotechnológia valamint a kapcsolódó határterületek. A tanszék 4 kutatócsoportja mutatkozik be ebben a közleményben, amelyek közös vonása az alkalmazott kutatás végzése, és azon belül is a környezetvédelem számára különböző eljárások és technológiák kifejlesztése.

## 2. A Fermentációs Félüzemben (F-Labor) zajló kutatások

A biotechnológia és azon belül az alkalmazott mikrobiológia szinte minden fontosabb kurrens területén végzünk kutatásokat, most a környezetvédelmi vonatkozású témákat a **Zöld Kémia 12 pontja**<sup>1</sup> mentén próbáljuk meg bemutatni.

### 2.1. Megelőzés

technológiák olyan kialakítása a legkiemeltebb cél, ahol nem keletkezik hulladék, mivel a hulladékok utólagos kezelése komoly erőfeszítéseket igényel a társadalom valamennyi résztvevőjétől, és a hatékonyság még így is viszonylag alacsony. Ilyen zéró landfill technológia kialakításáról már részben beszámoltunk a tejsav biofinomító kutatása során is<sup>2,3</sup>, ezért most egy másik egyszerű szerves sav a propionsav előállításával kapcsolatos eredményeinket mutatjuk be röviden a hulladék megelőzés szem előtt tartva.

A propionsavas kutatás motivációja az volt, hogy magyar tejgyárakkal együttműködésekről egyeztetve kiderült, hogy bár évtizedek óta több 100.000 cikk jelent meg a tejsavó

hasznosításáról, a magyar termelés fele még mindig hasznosítás nélküli. A tejsavó a tejipari termékek előállítás után visszamaradó híg vizes oldat, melyben max 5% tejcukor, és 1-2% tejsav található egy kevés maradék kazein mellett. Ezen értékek ahhoz magasak, hogy szennyvízkezelésre bocsássák, ahhoz pedig elég alacsonyak, hogy költséghatékonyan ki lehessen nyerni. Az első elgondolásunk olyan komplex tejsavó hasznosítást képzelt el<sup>4</sup>, amelyben a tejcukorból élesztő segítségével nagy hozzáadott értékű ergosterolt állítunk elő, a visszamaradt tejsavból pedig propionsavat. Az idézett publikációnkban ezen új folyamat-szimulációja azzal zárult, hogy a propionsavas út voltaképpen ráfizetéses, és csak annyit tesz hozzá a folyamathoz, hogy tovább csökkenti a KOI értéket. Ezért a legújabb tanulmányunk<sup>5</sup> során már mind a laktóz, mind a tejsav tartalmat propionsavvá alakítottuk úgy, hogy a laktózt 95-98%-os hozammal tejsavvá fermentáltuk *Lactobacillus casei* segítségével, majd a teljes (induló + előállított) tejsav tartalmat propionsavvá fermentáltuk. Bár a *Propionibacterium* fajok a tejsavat jobban tudják hasznosítani a tejcukornál, a tejsavbaktériumok a tápközeg nitrogén tartalmát kissé kimerítették, ezért csak 32%-os propionsav hozamot tudtunk elérni, amelynek fejlesztése jelenleg is folyik. Mivel azonban mind a LAB mind a PAB mikrobák a tejiparban használatosak, az eljárás várhatóan házon belül megoldja a hulladéktejsavó keletkezését.

### 2.2. Atom hatékonyság

Akár a korábbi publikációink, akár az előző bekezdés alapján jól látható, hogy a tejsav előállítás kimagasló hozammal rendelkezik, ami a bevitt szubsztrát közel teljes terméké alakítását teszi lehetővé azaz jó az atomhatékonysága. Korábban végeztünk már tejsav fermentációkat glükózból, cukorcirokléből, jelenlegi kutatásaink pedig a glicerín és a melasz<sup>6</sup> hasznosításra irányulnak, mivel ezek elérhető, megújuló és hozzáférhető ipari alapanyagok. A jelenleg vizsgált mikrobák estében a *Bacillus coagulans* képes a szacharózt hasznosítani és tejsavvá alakítani, azonban a *Lactobacillus sp.*-ek (pl. saját izolátumaink MKT878 és HMF) egy sterilizéssel kapcsolt invertálást követően magasabb hozamot és produktivitást értek el, mint spórás rokonaik. Szintén korábban sokat foglalkoztunk a költséges kiegészítő tápkomponensek (elsődlegesen élesztő kivonat) kiváltásával, illetve mennyiségének csökkentésével. Legújabb eredményeink szerint a kukorica csíra liszt is alkalmas nitrogénforrás, így

\* e-mail: naron@f-labor.mkt.bme.hu; Tel.: +36-1-463-2595

az élesztőt csak nyomelem forrásként szükséges alkalmazni. Bár korábban is foglalkoztak már a melasz felhasználásával tejsav fermentációban, az előkezelések során keletkező melléktermékek (pl. HMF) akadályozták a fermentációt, míg nem hatékony enzimes illetve enyhe hőkezeléssel megtaláltuk a megfelelő melasz előkezelést. Így végül is kiterjesztettük az atomgazdaságosságot glükóz, cukorcirokszőrpőről melaszra is.

### 2.3. Kevésbé veszélyes szintézis

A négy szénatomos cukoralkohol eritrit fermentációs előállítása ozmofil élesztőkkel lényegesen veszélytelenebb a drága eritroz alapanyag nagynyomású (tehát robbanás-veszélyes) katalitikus hidrogénezésénél. Az eritrit fermentáció nehézsége a mikroba (esetünkben *Moniliella pollinis*) morfológiai viselkedésében rejlik. Dimorf gombáról lévén szó, hajlamos fonalas és élesztős morfológiában is növekedni, de az eritrit termelésnek az utóbbi kedvez. Megfelelő ozmolaritás és levegőztetés mellett sikerült 44%-os hozammal 150g/L fölötti eritrit koncentrációt elérni 350g/L cukorból<sup>7</sup>.

### 2.4. Biztonságosabb kemikáliák tervezése

A kemikáliák használatának egyik legvitatottabb módja a peszticidek alkalmazása a mezőgazdaságban. Az F-laborban a biopeszticidek közül az entomopatogén *Metarhizium anisopliae* alapú kukoricabogár illetve kullancsölő szerek fejlesztése történik közel 6 éve<sup>8</sup>. Jelen kutatás során számos nehézséggel kell megküzdeni: a) ez a fonalas gomba inkább szilárdfázisú fermentációkban tenyésztendő szemben a hatékonyabb szubmerz eljárással; b) a gombán kívül a célrovarokat is fent kell tartani a laborban, c) célszerű vizsgálni a gomba specifitását, nehogy más fajokat (pl: háziméh) is megtámadjon, d) ez is polimorf gomba azaz számos megjelenési formája van. Kutató csoportunknak sikerült már kis léptékben élesztő morfológiát fenntartva koncentrált tenyészetet előállítani, amellyel (egyelőre csak elpusztult) kukorica bogarak sikeresen fertőzhetőek voltak.

### 2.5. Biztonságosabb oldószerek és segédanyagok

Bár oldószerek fermentációjára is van példa (acetón, butánol stb.) most egy olyan biztonságos segédanyagot mutatunk be, amelyet sikeresen alkalmaztunk bioszorbensként és több mint 3 éve vizsgáljuk a hatékony előállítását és használatát. Célunk, hogy a bányászati meddőkről elszivárgó csurgalékvíz molibdén tartalmát határérték alá csökkenthessük. Az általunk előállított bioszorbens használata kockázat nélküli, mivel a természetben is gyakori nitrogénfixáló mikroorganizmus az *Azotobacter vinelandii* az alapja. A választást az indokolta, hogy a nitrogénkötés kulcsenzimének kofaktora éppen a molibdén, amelyből ezek a mikrobák a szükségesnél jóval többet tudnak raktározni egy speciális molibdén-kötő raktárfehérje segítségével, így elég szelektíven sok molibdént tudnak eltávolítani a tápanyagokkal kiegészített csurgalékvízből.

### 2.6. Energia hatékonyság

A cellulóz egy igen értékes anyag, amelyet jellemzően az olcsó mezőgazdasági hulladékokból állítanak elő. A növényekben azonban a cellulóz a ligninnel és ötszénatomos cukrokkal komplex rendszert alkot, amelynek megbontásához hőkezelésre és savas vagy lúgos hidrolízisre van szükség. Kutásaink során *Komagaeibacter xilynus* baktériummal állítottunk elő mikrokristályos cellulózt, jelenleg az előállítás fejlesztése, optimalása zajlik. Mivel a termelés szobahőmérsékleten zajlik, és a kinyerés szűréssel vagy centrifugálással megvalósítható, jelentős energiamegtakarítás érhető el a növényi cellulóz kiperparálásához képest. A termék pedig vékonyabb szálú, de nagyobb szakítószilárdságú és nagyobb tisztaságú a bakteriális cellulóz esetében. A kutatás nehézségét itt is az analitikai problémák okozzák, mivel a terméket és a mikrobákat nehéz külön-külön meghatározni, valamint a terméket és a szubsztrátot is nehéz egymás mellett mérni, mivel a termék cellulózt is (kiperparálva tömeg alapon vagy elhidrolizálva) glükóz ekvivalensben szokás kifejezni. Ezen fermentáció reológiai nehézségeket is rejt (begélesedik a fermentlé), ami a keverést és a reprezentatív mintavételt nehezíti meg. Jelenleg folyó vizsgálataink során ezért forgókémcsöves tenyésztést alkalmazunk.

### 2.7. Megújuló nyersanyagok használata

Egy fiatal kutatás a csoportunk munkájában a légylárvá alapú biofinomító, amely során elhullott állati tetemekből előbb légylárvák keletkeznek, majd abból lipideket és fehérjéket valamint kitint lehet extrahálni. A kutatás korai státusza és az ipari partner érdekeinek védelme okán egyelőre erről többet nem publikálhatunk.

### 2.8. Származékképzés csökkentése

Iparban is használatos eljárás a szteránvázas molekulák komplikált totál szintézise helyett a kész (pl. növényi) szteránvázak módosítása. Hasonlóképpen indítottuk 4 éve ergosterol (pre-D2 vitamin) fermentáció kutatásunkat, melyet tavaly kiegészítettünk 25-hidroxyzéssel az aktív D2 vitamin előállítása céljából. Így a P450 citokrómokkal rendelkező mikrobák egy lépésben védőcsoportok és származékok nélkül közvetlenül el tudják végezni a szintézist. A biokonverziós hatékonyságról még nem tudunk beszámolni, első lépésben a megfelelő citokróm hatékony előállítása a kitűzött cél.

### 2.9. Katalitikus mennyiségű (és nagyon szelektív) reagensek

Kutató csoportunk 16 éve foglalkozik az 1,3-propándiol koenzimregenerációs enzimes biokonverzióján. A módszer lényegesen szelektívebb a fermentációs megoldásnál és a kémiai szintézisnél is, azonban számos kihívással jár, mivel a szükséges enzimek kereskedelmi forgalomban nem lévő, nehezen előállítható fehérjék. A legtisztább technológia az enzimes, mivel sem sejt, sem idegen metabolit nem

keletkezik, tehát a kismennyiségű enzimek igen szelektívnek bizonyultak ebben az esetben. Az eljárást részletesen már e folyóiratban is bemutattuk, amelynek lényege, hogy glicerin diszproporciójával 3 kulcsenzim segítségével 1,3-propándiol és 1,3-dihydroxiaceton állítható elő a NAD/NADH<sub>2</sub> koenzimregenerálás közben. A fejlesztés legnagyobb problémája az első vízkilépési folyamat az 1,3-propándiol úton, amelyhez általában B12 vagy SAM koenzimet igénylő enzimet szokás használni. Sajnos ez öninaktiválódást szenved, ezért ennek megfelelő alternatíváját kerestük, lehetőleg fakultatív anaerob mikrobában. Egy újonnan leírt mikroba a *Shimwellia blattae*, amely az *Escherichia coli* rokona, így nem zavarja a légköri oxigén, viszont szemben az *E. coli*-val képes *de novo* B<sub>12</sub> szintézisre. Érdekes módon a *S. blattae* DSM4481 (=ATCC29907) nem termelte a kulcsenzimeket szinte semmilyen körülmény mellett sem (egyedül az irodalmak szerint egy vírus fertőzés következtében a kódoló génbe egy *Mu* fág génszakasz került), míg a *S. blattae* ATCC33430 jó propándiol és enzim termelő. Bár egy ilyen mikroba használata sokat lendít az enzimek előállításán, a B<sub>12</sub> mediált inaktiválódást nem oldja meg, így az ideális enzimmegtermelés megtalálása továbbra is egyik fő feladatunk.

## 2.10. Lebomlásra tervezve

Egy tipikus példa a biodegradálható műanyagokra a politejsav, amely műanyag alapanyag, monomerének fermentációs kutatásait már bemutattuk.

Hasonlóan nagy jelentőségű a szintén több mint 3 éve elkezdett biodetergens fermentációs előállításának kutatása. Ezen molekulák fizikai-kémiai paramétereikben is versenyképesebbek a kémiai társaiknál, továbbá legfőbb előnyük a biodegradálhatóság. Mint már számos esetben, itt is a termék analitikája okozta az első kihívásokat, mivel a biodetergens elég változatos szerkezetű molekulák (pl.: fehérje alapú vagy cukor alapú detergens), így számunkra legcélszerűbbnek a detergens hatás nyomkövetése tűnt. Erre kapilláris módszert adaptálva megvizsgáltuk a termék-előállítás hőmérséklet függését, amely alapján megállapítottuk, hogy a mikroba növekedés optimuma alacsonyabb (30°C) mint a termékképzésé (40°C), ezért a jövőben a kétszakaszú biodetergens fermentáció vizsgálatra az egyik kitűzött célunk.

## 2.11. Real-time analízis a szennyezés megelőzéséért

Egyik legújabb kutatásunk az évek óta kis és nagy léptékben tenyésztett mikroalgák mellett a diatómák (=kovamoszatok) fermentációja. Mint ismeretes, a kovamoszatok egyes fajai igen érzékenyen reagálnak a környezeti paraméterek legenyhébb változásaira is, ezért környezeti monitoring során is használják őket. Amennyire előnyös az érzékenységük a környezeti monitoring szempontjából, annyira hátrányos az izolálásuk és tenyésztésük szempontjából. A legszelektívebb tápközegen is gyakorta előbb jelennek meg a zöldalgák, mint a diatómák, az amerikai törzsgyűjteményből Magyarországra utazást pedig 2 féle diatóma sem élte túl. Végül sikerült diatómában dús tenyészetet előállítanunk, amely azonban még nem volt

monokultúra, mert a leggyakoribb törzs (*Naviculata*) is csak 50% körül volt benne megtalálható izolálási helytől függetlenül. Ugyanakkor az izolátum preparálással párhuzamosan online mérőrendszer fejlesztése is megkezdődött holografikus mikroszkópizálás segítségével. Ez az új technika egy kis cellatér fogatot fényképez le digitálisan egy fókuszponton, így az ettől eltérő síkban lévő sejtek kissé életlenek lesznek, de szoftveresen kiélesíthetők. Ezt az eszközt bioreaktorokhoz kapcsolva folyamatosan és kontamináció nélkül lehet információt nyerni a tenyészetéről, illetve a fejlesztett adatbázis segítségével a lefényképezett mikrobák automatikusan azonosíthatóak. E rendszer fejlesztéséhez egyelőre jelenleg még nagyobb méretű sejtek szükségesek, amely célnak a tenyésztett diatómák jól megfelelnek.

## 2.12. Eredendően biztonságosabb anyagok tervezése a balesetek elkerülésére

A legbiztonságosabb kémia a biokémia. Így tehát bármely bioszintézis alapú kutatásunk idesorolható, mint például: tejsav, propionsav, borostyánkősav fermentációs kutatása. A bio-biztonsághoz legszorosabban azonban az impedimetriás mikroba kimutatás és kvantifikálás területén végzett kutatásaink kapcsolódnak.

Számos biotechnológiailag előállított termék esetében szigorú mikrobiológiai tisztasági illetve stabilitási előírásnak kell megfelelni. Például mind az élelmiszerekben mind a kozmetikumokban nem megengedett a *Staphylococcus aureus* és a *Pseudomonas aeruginosa* gennykeltő baktériumok jelenléte, de további mikrobákra is vizsgálni kell a termékeket (gomba szám, coliform mikrobák stb.). A tisztaság vizsgálatok esetében a mintákból hígítási sorok készítenek, amelynek minden tagját min. 3 petricsészére kiszélezzik, így 1-1 mikroba jelenlétének és mennyiségének meghatározásához is 15-20 petri csésze szükséges, mivel általában 5 mikrobára kell vizsgálni ez a szám akár 100 tenyésztés is lehet, ami nagy manuális munkavégzést és jelentős anyagfelhasználást eredményez. Ezek kiváltására és csökkentésére a Sy-Lab (Ausztria) BacTrac készülékét adaptáljuk, amely 40 mérőcellát tud egyszerre kezelni, és ahol a tenyésztéseket impedimetriás módon lehet nyomon követni. Ezen módszer egyik előnye, hogy igen érzékeny, ezért nem kell 72h-n át várni a tenyésztési eredményre mint a klasszikus agarlemezekenél, mivel már 8-24h alatt is általában jól elkülöníthető jelet ad a háttértől. Mivel a mért relatív impedancia változás kirajzolja a klasszikus sejtnövekedési görbét, egy előre definiált impedancia küszöb eléréséhez tartozó idő a detektációs idő, ami a minta csíra számával fordítottan korrelál, ezért alkalmas a minták fertőzöttségének megállapítására. Ezt a készüléket a mikrobiológiai stabilitás vizsgálatra is adaptáltuk, ahol a vizsgálat kezdetén különböző mikrobák ismert mennyiségével kell a mintákat megfertőzni, majd hetente a készülék segítségével megmérni az egyes mikrobák csíraszámát detektációs idő vs telepszám (CFU) kalibráció alapján. Ideális esetben gyors csökkenés tapasztalható a mikrobaszámokban, amelynek mértékéből az eltarthatóság is jósolható. Ezen méréseket termékfejlesztéseinkhez is felhasználjuk, hogy biztonságos termékeket fejlesszünk és gyártsunk (pl. tartósítószer vizsgálata).

### 3. A Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Csoport kutatásai

A BME ABÉT Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutatócsoportja több mint 25 éve foglalkozik a környezeti kockázatmenedzsment két fő problémakörét - a környezeti kockázatelemzést valamint a kockázatsökkentést - támogató eszköztár fejlesztésével, bővítésével, ezen módszerek és eljárások alkalmazásával környezetvédelmi technológiákban, valamint a kapcsolódó tudás és ismeretanyag elérhetővé tételével.

#### 3.1. Környezeti kockázatelemzés

Csoportunk tagjai sokrétű tapasztalattal rendelkeznek a vegyi anyagok és szennyezett területek kvantitatív környezeti kockázatelemzése, valamint az ehhez kapcsolódó talaj és víz tesztelésére alkalmazható környezettoxikológiai teszt-módszerek fejlesztése terén. Partnereinkkel együttműködve komplex környezeti kockázatelemzést végeztünk szénhidrogénekkel szennyezett területeken, továbbá a gyöngyösorszi ércbánya és az ajkai vörösiszap katasztrófa területén is. A környezeti kockázatelemzéshez integrált monitoring módszeregyütteseket dolgozunk ki; ezeknek részeként kiemelt hangsúlyt kapnak a talajmikrobiológiai és környezettoxikológiai módszerek, melyekkel a szennyezőanyagok valós kockázata jellemezhető.

A kutatócsoport nevéhez fűződik a szennyezett környezet monitorozásában szerepet játszó „direkt toxicitás mérés” kiterjedt alkalmazása<sup>9</sup>, több direkt kontakt talajteszt és szubletális végpontot alkalmazó víztoxikológiai teszt fejlesztése, egyrészt bakteriális (pl. *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt, *Salmonella typhimurium* mutagenitási teszt), valamint növényi (pl. *Lemna minor*, *Sinapis alba*, *Triticum aestivum*), továbbá egysejtű (pl. *Tetrahymena pyriformis*) és többsejtű (pl. *Daphnia magna*, *Heterocypris incongruens*, *Folsomia candida*) állati testtổrganizmusokkal.

Vízkeszleteink világszerte növekvő szennyeződése vegyi anyagokkal, köztük számos újonnan felismert káros hatású mikro-szennyezőanyaggal, napjaink környezetvédelmének egyik legégetőbb problémája. Így az utóbbi években a csoport kutatásaiban is fontos szerepet kap a környezettoxikológiai módszerek alkalmazhatóságának tesztelése és problémáspecifikus továbbfejlesztése ezen kis koncentrációban jelenlévő, biológiailag aktív mikro-szennyezőanyagok, köztük nanoanyagok, mint környezeti stressztényezők hatásának vizsgálatára, illetve korai jelzésére<sup>10</sup>. A csoport kiemelt hangsúlyt fektet a mérési eredmények értékelésére és a környezetirányítási döntések meghozatalában való hasznosítására is.

#### 3.2. Környezeti kockázatsökkentés

##### 3.2.1. Talaj- és talajvíz remediáció

A szennyezett területek kockázatsökkentéséhez kapcsolódva innovatív környezetbarát remediációs technológiák fejlesztése áll kutatás-fejlesztési tevékenységünk középpontjában. Munkáinkban kiemelt szerepet kapnak egyrészt a természetes folyamatok intenzifikálását célzó mérnöki megoldások a

szerves szennyezőanyagokkal szennyezett területek esetén, továbbá toxikus fémekkel szennyezett talajok esetén a hulladékokkal történő kockázatsökkentés.

Referencia munkáink között szerepel különböző partnerekkel együttműködve több szénhidrogénnel szennyezett terület bioremediációja, például ciklodextrinnel intenzifikált bioremediációval<sup>11</sup>, a gyöngyösorszi ércbánya területére kémiai stabilizálással kombinált fitoremediációs technológia kidolgozása<sup>12</sup>, valamint mikro-szennyezőanyagok eltávolítását célzó ciklodextrin alapú víztisztítási technológiák megalapozása<sup>13</sup>.

##### 3.2.2. Talajjavítás hulladékokkal

Csoportunk egyik legújabb kutatási területe a hulladékok felhasználásával történő talajjavítás. A vegyi anyagok használatát, a bányászati tevékenységeket és ezek környezeti kockázatait jól ismerve fordult érdeklődésünk a szennyezett területek felé, majd abból kiindulva a talajromlás irányába. Talajaink védelme, a termőtalajok, mint természeti erőforrások jó minőségének fenntartása, biztosítása; a leromlott szerkezetű talajok szerkezetének és fizikai-kémiai, valamint biológiai tulajdonságainak javítása, melyek révén elérhetővé válik a termőképesség fokozása, mind hazai, mind nemzetközi viszonylatban kiemelt jelentőségű. A jó hulladékgazdálkodás kulcsa pedig a kockázatközpontú koncepció és gondolkodás, a hosszútávú és dinamikus szemlélet. Ezen két problémakörhöz kapcsolódva – a mérnöki tudományok modern eszköztárának felhasználásával újrahasznosítható melléktermékek és hulladékok segítségével – alapoztunk meg és alkalmaztunk innovatív talajjavítási technológiákat leromlott talajokra, például vörösiszap valamint hulladékokból pirolízissel előállított bioszén alkalmazásával<sup>14, 15, 16</sup>.

Kutatás-fejlesztési munkánk innovatív koncepciója, hogy ismerjük egyrészt a talaj hiányállapotát jellemző értékeket, másrészt a hulladékokban rendelkezésre álló hasznos anyagokat, értékeket.

A két oldal összehangolásával pedig hatékonyabban mehet végbe mind a leromlott talaj minőségének javítása, mind a szennyezett talajok remediációja.

#### 3.3. Online Környezetvédelmi Tudásbázis KÖRINFO

Kutatócsoportunk hozta létre a dinamikus bővülő – lexikont, E-tanfolyamokat, térképes és képtáras adatbázist magában foglaló – KÖRINFO környezetvédelmi tudásbázist és döntéstámogató rendszert<sup>17</sup>, melynek célja, hogy az évek során felhalmozott tudás mindenki számára könnyen elérhetővé váljon, szélesítse a környezetirányításban, a kapcsolódó döntéshozatalban és a mindennapi gyakorlatban szerepet vállaló szakemberek látókörét. A helyes szakmai megoldásokhoz tudás és információ kell, ehhez a tudásbázis modern tudást közvetít, könnyen érthető formában. Felhasználói megismerhetik a modern környezetmérnöki munka tudományos és gyakorlati alapjait, a hagyományos és új környezetvédelmi technológiákat, szemléletes információt kaphatnak a innovatív tudományos és mérnöki eszközökről.

#### 4. A Biofinomító csoport kutatásai

A lignocellulóz hulladékok és melléktermékek rendkívüli jelentőséggel bírnak, mint olcsó, széles körben elérhető, megújuló szénforrások, melyekből a fosszilis nyersanyagok kiváltására üzemanyagok és értékes kémiai komponensek állíthatók elő. A biomassza nyersanyagok fenntartható módon történő, teljes körű feldolgozásának igénye hívta életre a biofinomítás fogalmát, mely fogalmat az olajfinomítók analógiájára alkottak meg. Biofinomítás során nyersanyagként biomasszát használunk fel, melyet különböző, integrált feldolgozási lépéseken keresztül számos értéknövelt terméké és energiává alakítunk. Biofinomítás során a biomassza minden komponense felhasználásra kerül. Különös jelentőséggel bír azonban a lignocellulóz nyersanyagok szénhidrát tartalma. A szénhidrátok hidrolízisével nyert monoszacharidokból számos értéknövelt komponens állítható elő mind kémiai szintézis, mind pedig fermentációs eljárások segítségével.

Biofinomító Kutatócsoportunk célja a biomassza melléktermékek biofinomító szemléletben történő, értéknövelt feldolgozásának kutatása. Kutatócsoportunkban főként mezőgazdasági, agro-ipari és egyéb bio-ipari, lignocellulóz tartalmú melléktermékek feldolgozásának lehetőségeit vizsgáljuk. Az utóbbi évek kutatásai során foglalkoztunk kukoricarost, kukoricacsutka, kukoricaszár, búzaszalma, búzakorpa, hulladékpapír, olajbogyó mag, cukorcirok bagasz nyersanyagok biotechnológiai feldolgozásának vizsgálatával, különös tekintettel a következő termékek előállítására: bioetanol, biogáz, xilit, arabinóz, xilooligoszacharidok, itakonsav, celluláz enzimek.

Kutatásaink során laboratóriumi és félüzemi kísérleteket, valamint folyamatmodellezést és technológiai-gazdaságossági számításokat végzünk. Vizsgáljuk a biomassza hidrotermális és kémiai (savas, lúgos) előkezelését, frakcionálását, a szénhidrát frakciók enzim bontását, valamint a kinyert frakciók fermentációs úton történő továbbalakítását. A kapott kísérleti eredményeket és irodalmi adatokat felhasználva pedig teljes biofinomító folyamatok számítógépes modellezését, különböző konfigurációk technológiai-gazdaságossági összehasonlítását tudjuk elvégezni.

#### 5. A Szennyvíztisztítási biotechnológiák csoport kutatásai

A Szennyvíztisztítási Biotechnológiák Kutatócsoport a kommunális és ipari szennyvizek költséghatékony biológiai tisztításának feladathoz igazított kidolgozásával foglalkozik. Fontos alapkoncepciónk az, hogy napjainkban az ún. lakosegyenérték (LE) alapján történő tervezés, ami abból indul ki, hogy a szennyvíztisztító telepre beküldött szennyvíz minősége kiszámolható a lakosok által legalábbis átlagosan megadható kibocsájtott szennyezőanyag mennyiségek és vízmennyiségek lakosok számával való beszorzásával, hazánkban és nemzetközi viszonylatban sem tartható. A különböző csatornarendszerekbe különböző körülmények között és szokásokkal élő lakosok által bebocsájtott szennyvíz mennyisége és minősége is igen jelentősen különbözhet, minden konkrét esetben alapos vizsgálattal meghatározandó. Számos széleskörű felmérésünk azt mutatja, hogy a kiterjedő csatornarendszerekben a szennyvíz egyre hosszabb ideig

tartózkodik, ami alatt, különösen a nyári melegben a jól biodegradálódó szerves szénforrás mennyisége csökken, a takarékos céljából és egyes ipari üzemek bezárásával csökkenő szennyvíz mennyiségben pedig betöményedik az ammónia<sup>18</sup>. Ilyenformán a biológiai nitrogén eltávolítás befejező lépéséhez, a nitrifikáció nyomán keletkező nitrát nitrogén gázt képező denitrifikálásához kevés lesz a felvehető szénforrás, amit nemzetközi viszonylatban egyre gyakrabban pótolnak vegyszereken, ún. pótszénforrással.

Kutatócsoportunk a csatornarendszerbeli hosszú tartózkodási idő következtében előálló problémák költségkímélő, biotechnológiai megoldásával több szempontból is foglalkozott. Kimutattuk azt, hogy a csatornarendszerek anaerob csőreaktorokként üzemelnek, és így a falon meglepedett biofilm baktériumai a biodegradációs termékeket egymásnak átadva, az anaerobitást elmélyülésével egyre inkább bűzös és korrozív anyagokat állítanak elő<sup>19</sup>. Laboratóriumi modellkísérletek alapján a Dunántúli Regionális Vízmű Zrt-vel közösen olyan, nemzetközi viszonylatban is kiemelkedő hatékonyságú, automatizált biotechnológiai eljárást dolgoztunk ki, mellyel biztonságosan és hatékonyan előzhető meg a bűzképződés és a műtárgyakban súlyos károkat okozó korrózió az azokért döntően felelős mikroorganizmusokat elnyomó, denitrifikáló mikroorganizmusok visszafogott elszaporításával.

Hasonló koncepció alapján, kutatásaink oda vezettek el, hogy a biológiai N- és P-eltávolításban valamint a világszerte leginkább elterjedt, ún. eleveniszapos szennyvíztisztításban döntő fontosságú biomassza szerkezet kialakításában használt, nem levegőztetett reaktorokból a lecsökkent szerves szénforrás mellett teljesen ki kell zárni az oxigén bejutását. Az oxigén felhasználása ugyanis minden további reakcióval szemben ún. metabolikus előnyt élvez és emellett jelenlétében kinetikai gátlás is előállhat. A Karsai Műanyagtechnika Holding Zrt-vel együttműködve, a Fővárosi Csatornázási Művek Zrt. által támogatott közös kutatásban nemzetközi viszonylatban elsőként fejlesztettük ki az un. úszó fedlapot a nem-levegőztetett reaktorok mindaddig fedetlen felszínének lezárására<sup>20,21</sup>. Ez a technológiai fejlesztés elnyerte a Pro Progresszió alapítvány 2016 évi Innovációs Díját.

Hazai és széleskörű nemzetközi együttműködésben több tekintetben is foglalkoztunk az optimalizált bioreaktor elrendezés által nyújtott hatékonyságnövelés lehetőségeivel. Nemzetközi viszonylatban is elsőként alakítottunk ki fonalas baktériumok túlszorodását gátló, a biomassza ülepedését elősegítő szelektorokat az Északpesti Szennyvíztisztító Telepen kommunális szennyvizek tisztítására, éppen ellenkező irányban pedig fonalas baktériumok növekedésének serkentésére, a tisztított szennyvíz „szűrésére” dolgoztunk ki a bioreaktorokbeli szubsztrátgradiens csökkentésén alapuló eljárást biológiailag bontható, mérgező anyagok eliminációjában a baseli Sandoz – később Novartis - cég gyógyszer- és vegyszergyártó részlegének szennyvíztisztító telepén<sup>22</sup>. Anaerob szelektorok alkalmazásával serkentettük N- és/vagy P-hiányos szennyvizek tisztítása során a szerves szénforrás többletét a sejtekben felhalmozó, ún. glikogénakkumuláló mikroorganizmusok növekedését, ezáltal szükségtelessé téve a pótló N- és/vagy P-adagolást<sup>23</sup>.

Az optimalizált bioreaktor elrendezésű eleveniszapos szennyvíztisztítást a hatékonyságnövelés érdekében kötöttgázas bioreaktorokkal kombinálva, együttműködésben a BME Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszékkel pedig fizikai-kémiai elő, ill. utókezeléssel kiegészítve is alkalmaztuk. Ezek elsősorban biológiailag bontható, mérgező szennyezőanyagok eltávolításában nedves oxidációt, desztillációs eljárásokat és membránszűrést jelentettek<sup>24</sup>. A különböző határterületek együttműködését az előrelépés fontos lehetőségének tartjuk, ennek szellemében a BME Víziközmű és Környezetmérnöki Tanszékével folytatunk egymást kiegészítő kutatást. Kutatási módszereink laboratóriumi szakaszos és folytonos üzemű modellkísérleteket, matematikai szimulációs számításokat és üzemi rendszerek mintázását, az egyes egységekben lejátszódó folyamatok ún. profilmérésekkel való követését egyaránt magukban foglalják.

### Hivatkozások

- Anastas, P. T.; Warner, J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30.
- Hetényi Kata, Németh Áron, Sevela Béla: Fehér Biotechnológiai Kutatások, *MAGYAR KÉMIAI FOLYÓIRAT - KÉMIAI KÖZLEMÉNYEK* (1997-), **2008**, 114, 102-106.
- Hetényi K.: Biofinomító technológiáinak optimalizálása, PhD értekezés (BME), **2010**
- Németh Á., Kaleta Z. Complex utilization of dairy waste (whey) in Biorefinery, *WSEAS TRANSACTIONS ON ENVIRONMENT AND DEVELOPMENT*, **2015**, 11, 80-88.
- Vidra A., Németh Á., Whey utilization in a two-stage fermentation process, *LIQUID WASTE RECOVERY*, **2017**, 2 (1) <https://doi.org/10.1515/lwr-2017-0004>
- Vidra A., Tóth A. J., Németh Á. Lactic acid production from cane molasses *LIQUID WASTE RECOVERY*, **2017**, 2(2) pp. 5-11.
- Németh Á., Eritrit fermentációs előállítása, *362. KÉKI Tudományos Kollokvium*, Budapest, Magyarország, **2016**.02.19
- Tapasztó A., Németh Á., Sevela B. Examination of entomopathogenic fungi on western corn rootworms *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica: Abstracts of the Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology*, Keszthely, Magyarország, **2012**, p. 31.
- Gruiz, K., Fekete-Kertész, I., Kunglné Nagy, Zs., Hajdu, Cs., Feigl, V., Vaszita, E., Molnár, M. Direct toxicity assessment – methods, evaluation, interpretation, *Science of The Total Environment*, **2016**, 563–564, 803–812
- Fekete-Kertész, I., Piszman, D., Molnár, M. Particle size and concentration dependent ecotoxicity of nano- and microscale TiO<sub>2</sub> -comparative study by different aquatic test organisms of different trophic levels, *Water Air & Soil Pollution*, **2017**, 228–245 <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3394-5>
- Molnár, M., Leitgib, L., Gruiz, K., Fenyvesi, É., Szaniszló, N., Szejtli, J., Fava, F. Enhanced biodegradation of transformer oil in soils with cyclodextrin – from the laboratory to the field – *Biodegradation*, **2005**, 16, 159–168. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10532-004-4873-0>
- Feigl, V., Gruiz, K., Anton, A. Remediation of metal ore mine waste using combined chemical- and phytostabilisation, *Periodica Polytechnica*, **2010**, 54 (2), 71–80. <https://doi.org/10.3311/pp.ch.2010-2.03>
- Nagy, Z.M., Molnár, M., Fekete-Kertész, I., Molnár-Perl, I., Fenyvesi, E., Gruiz, K. Removal of emerging micropollutants from water using cyclodextrin, *Science of the Total Environment*, **2014**, 485–486, 711–719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.003>
- Ujaczki, É., Feigl, V., Farkas, É., Vaszita, E., Gruiz, K., Molnár, M. (2016) Red mud as acidic sandy soil ameliorant: a microcosm incubation study, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **2016**, 91 (6), 1596–1606. doi: 10.1002/jctb.4898 <https://doi.org/10.1002/jctb.4898>
- Ujaczki, É., Feigl V., Molnár, M., Vaszita E., Uzinger, N., Erdélyi A., Gruiz, K. The potential application of red mud and soil mixture as additive to the surface layer of a landfill cover system: field-study, *Journal of Environmental Sciences*, **2016**, 44, 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2015.12.014>
- Molnár, M., Vaszita, E., Farkas, É., Ujaczki, É., Fekete-Kertész, I., Tolner, M., Klebercz, O., Kirckeszner, Cs., Gruiz, K., Uzinger, N., Feigl, V. Acidic sandy soil improvement with biochar – a microcosm study, *Science of the Total Environment*, **2016**, 563–564, 855–865. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.091>
- KÖRINFO Online Tudásbázis és Döntéstámogató Rendszer - Dinamikus információs rendszer a környezethatékony és környezettudatos döntéshozatal szolgálatában. [www.korinfo.hu](http://www.korinfo.hu) / [www.enfo.hu](http://www.enfo.hu)
- Tardy, G.M., Bakos V. and Jobbágy, A. Conditions and technologies of biological wastewater treatment in Hungary. *Water Science and Technology*, **2012**, 65(9), 1676-1683, <https://doi.org/10.2166/wst.2012.062>
- Jobbágy, A., Szántó, I., Varga, Gy. I., Simon, J. Sewer system odour control in the Lake Balaton area, *Water Science and Technology*, **1994**, 30(1), 195-204. <https://doi.org/10.2166/wst.1994.0021>
- Wanner, J. and Jobbágy, A. Activated sludge solids separations. Jenkins, D. and Wanner, J. [Eds.] in *Activated sludge – 100 years and counting*, **2014**, IWA Publishing, Glasgow, UK:171-193.
- Jobbágy, A., Weinpel, T., Bakos, V., Vánkos, Zs. Factors potentially converting non-aerated selectors into „low-S – low-DO basins”, effects of seal-covering. *12<sup>th</sup> IWA Specialised Conference on LWWTPs*, 6-9 Sept., **2015**, Prague, Czech Republic. Proc. 149-155.
- Jobbágy, A., Németh, N., Altermatt, R.H., Samhaber, W.M. Encouraging filament growth at an activated sludge treatment plant of the chemical industry, *Water Research*, **2000**, 34(2), 699-703. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00149-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00149-9)

23. Kiss, B., Bakos, V., Liu, W-T, Jobbágy, A. Full-Scale Use of Glycogen-Accumulating Organisms for Excess Biological Carbon Removal, *Water Environment Research*, **2011**,83(9), 855-864, <https://doi.org/10.2175/106143010X12851009156844>
24. Szabados, E., Jobbágy, A., Tóth, A.J., Mizsey, P., Tardy, G., Pulgarin, C., Giannakis, S., Takács, E., Wojnárovits, L., Makó, M. and Trócsányi, Z. Complex Treatment for the Disposal and Utilization of Process Wastewaters of the Pharmaceutical Industry, *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, **2017**, online available: <https://pp.bme.hu/ch/article/view/10543> <https://doi.org/10.3311/PPch.10543>
25. Tardy, G.M., Lóránt, B. and Lóka, M. Substrate concentration dependence of voltage and power production characteristics in two-chambered mediator-less microbial fuel cells with acetate and peptone substrates, *Biotechnology Letters*, **2017**, 39(3), 383-389 <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2256-3>

### Researches on environment technologies

In this report we summarized the broad range of researches on environmental technologies carried out by four individual research groups of the Department of Applied Biotechnology and Food Science.

First Fermentation Pilot Plant Research Group was introduced along the 12 principles of Green Chemistry: 1) Under prevention of waste forming we shortly mentioned our researches on whey (dairy waste) conversion into propionic acid in two stage fermentation (LAB+PAB); 2) For Atom Economy we introduced our recent results on lactic acid fermentation, since it provides high yields over 95% from several substrates including appropriate pretreated molasses; 3) Under Less Hazardous Chemical Syntheses we showed, how erythritol can be produced via osmophilic yeast fermentation in place of catalytic hydrogenation; 4) For Designing Safer Chemicals we reported manufacturing a bioinsecticide on entomopathogen fungi basis against corn root worm; 5) Under Safer Solvents and Auxiliaries we showed a solution for removing molybdenate from mining drain water with the help of a biosorbent, which can be used for soil enhancement as well; 6) For Energy Efficiency we introduced our researches on fermentative bacterial cellulose production, which is more simple and energy efficient versus physico-chemical pre-treatments of plant biomass. 7) Under Use of Renewable Feedstocks we shortly mentioned an industrial research on fly grub utilization in a biorefinery via fractionation of the raw material; 8) For Reduce Derivatives, we presented a recently started research on 25-hydroxylation of ergosterol with the help of a bacterial cytochrome for production of vitamin D2. 9) For Catalytic and very selective reagents we showed the enzymatic bioconversion of glycerol into 1,3-propanediol, because we have already verified, that 3 appropriate enzyme of the anaerobic glycerol metabolism are able to produce 1,3-propanediol, but the best enzyme source is still under searching. 10) Under the term Design for degradation despite mentioning the PLA (poly-lactic acid) of which monomer can be fermented resulting biodegradability, we focused on the bacterial production of biodegradents, which are certainly also biodegradable, and for which we successfully adapted a surface tension measurement method. With the application of this measurement, we compared the effect of different fermentation-temperatures on biodegradent activity. 11) For Real-time analysis for Pollution Prevention we introduced our diatom fermentation, since these microorganism are very sensitive against environmental change, therefore they can indicate the occurrence of pollutions. Finally 12), under this

topic, we presented our new method for detecting and quantifying product contaminating microorganism through an impedimetric measurement called BacTrac.

The next research group introducing here is the Research group for Environmental Microbiology and Biotechnology focusing on two major fields of environment protection: risk assessment and risk reduction. For risk assessment, this research group elaborate different tests since 25 years, including such environment monitoring methods like application of *Alivibrio fischerii*, *Lemna minor*, *Tetrahymena pyriformis* *Daphnia magna* etc. A recent direction is to adapt, develop and improve tests for microcontaminant materials occurring and having effects even in very low concentrations. Researches for risk reductions have several directions: 1) soil and groundwater remediation with the help of cyclodextrins or phytoremediation 2) soil improvements with application of wastes (like bio-carbon) 3) development of the ENFO environmental and engineering database.

The Biorefinery Research Group focuses on the complex utilization of agricultural and agro-industrial by-products according to the concept of biorefinery. Over the past decades the research group has investigated different lignocellulosic materials, e. g. sweet sorghum bagasse, corn fibre, corn stover, wheat straw, wheat bran, waste paper, and olive stone to produce bioethanol, biogas, xylitol, arabinose, xylo-oligosaccharides, itaconic acid, cellulase enzymes. Generally, the experiments are carried out on a laboratory scale, and the obtained results are also used in process simulations to assess the techno-economic performance of the investigated process.

Finally, the Biotechnologies in Wastewater Treatment research group presented main research activities connectable to increasing retention times in sewer systems and resulting odour and corrosion problems as well as decreasing carbon source availability and their solutions, including the pioneer technology of excluding oxygen penetration from non-aerated activated sludge reactors. Research for optimization of bioreactor arrangement as well as application of combined activated sludge- biofilm systems aim to have high-rate removal of nutrients as N and P and obtain optimal activated sludge floc structure. Combining pre- and post- physico-chemical treatment has also been applied for removing toxic organics. Investigation of microbial fuel cells for kinetic studies and increasing efficiency has also been fit into the wide-range topics.

## Kutatómunka a BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszékén

KÁLLAY-MENYHÁRD Alfréd, KIRSCHWENG Balázs, HÁRI József, POLYÁK Péter, LÁSZLÓ Krisztina, HÓRVÖLGYI Zoltán, ALBERT Emőke, KUBINYI Miklós, GYARMATI Benjámín, SZILÁGYI András, KÁLLAY Mihály\*

*BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék, Műegyetem rkp. 3., 1111 Budapest*

### 1. Bevezetés

A BME Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszéke (FKAT) 2007. január 1-én jött létre az 1951 óta működő Fizikai Kémia és az 1953-ban alapított Műanyag- és Gumiipari Tanszék egyesítésével. A Tanszék munkatársai a felületkémia, a kolloidika, a polimerkémia, az anyagtudomány, a spektroszkópia és az elméleti kémia területein végeznek kutatásokat. Ebben a közleményben áttekintjük a Tanszék csoportjainak kutatási irányait és az elmúlt évek főbb eredményeit.

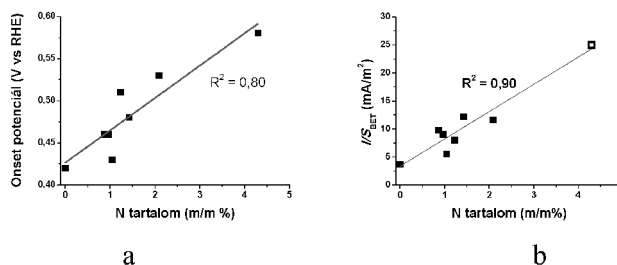
### 2. Felületkémiai Csoport

A csoport kutatási tevékenységének középpontjában hagyományosan a nagyfelületű szilárd anyagok adszorpcióhoz köthető viselkedése áll. Maga a jelenség régóta ismert, számtalan gáz és folyadékfázisok elválasztására, tisztítására alkalmazott eljárás alapja. Jelentősége pl. az analitikában, az élelmiszeriparban vagy a környezet- védelemben önmagáért beszél. Innovatív, anyagtudományi kutatásaink célja kiemelkedő szorpciós tulajdonságú új anyagok előállítása és alkalmazási területeik feltárása, ill. a szorpció és más, a felhasználás szempontjából releváns tulajdonságok kombinálása, akár társított rendszerekben is<sup>1</sup>. Az adszorpció az anyagok felületéhez kapcsolódó tulajdonság. Fajlagosan nagy felületű anyagok a nanorészecskék és a pórusosrendszerek. A Felületkémiai Csoportban kristályos szén nanorészecskékkkel (nanocső<sup>2</sup>, grafén<sup>3,4</sup> és származékaik) és pórusos szénegéllekk<sup>5</sup> egyaránt foglalkozunk, nemzetközi együttműködésben is. Az utóbbi időben fordultunk a fémorganikus térhálók felé, melyeket jelenleg az adszorpció gáztárolás legígéretesebb anyagaiként tartanak számon<sup>6</sup>.

A mezopórusos szén aerogélek a pórusos szenek különleges tulajdonságokkal bíró családját alkotják, pl. egyszerre hőszigetelők és elektromos vezetők. Nagy fajlagos felületük tág, könnyen átjárható pórusokkal párosul, ami áramló közegben és biológiai alkalmazásokban is előnyös. Az első szénegél prekurzort 1989-ben Pekala állította elő rezorcinnól és formaldehidből<sup>7</sup>. A szénegél nagy előnye abban rejlik, hogy morfológiájuk és felületkémiajuk az alkalmazási területnek megfelelően tervezhető. Az előállításuk során gyakran alkalmazott szol-gél technika további előnye, hogy a szintézis bármely pontján vagy utókezeléssel könnyen építhetők be heteroatomok (pl. átmeneti fémek<sup>8</sup>, kén<sup>9</sup>, nitrogén<sup>10</sup>, stb.).

A szénmátrixba juttatott nitrogén az elektrontöbblet révén már kis mennyiségben is kedvezően befolyásolja a szenek tulajdonságait. A rezorcinnal mellett felhasznált melaminko-monomer sztöchiometrikus beépülése révén hangolható módon, 1-4 % nitrogén tartalmú szénegél tudunk előállítani, mely a nitrogént döntően piridines, ún. N6 (2) formában tartalmazza.

Vizgőzadszorpciós vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy a heteroatom (O és N) tartalom javítja a szénfelület hidrofilitását. A módosított felületkémiajú szénegélek egyik legintenzívebben kutatott alkalmazási területe az energiatárolás<sup>11</sup> és konverzió, a nitrogén ugyanis növeli a szenek aktivitását pl. a protoncsere-membrános üzemanyag-cellák katódján lejátszódó oxigén redukciós reakcióban (ORR). Ciklikus voltammetriás vizsgálataink megerősítették, hogy a szenek nitrogén tartalma szignifikánsan növeli azok ORR aktivitását (1. ábra).



**1. ábra:** A ciklikus voltammetriás görbék ún. on-set potenciálja (a) és a szén elektród látszólagos felületére normált katódos csereáramsűrűsége (b) a tömbfázisbeli nitrogéntartalom függvényében<sup>10</sup>

A 1.b ábrán látható közel lineáris kapcsolat azt mutatja, hogy a nitrogén hozzáférhetőségének, azaz a szén fajlagos felületének fontos szerepe van a vizsgált elektrokémiai folyamatban. Hasonló módon szintetizált, de grafén-oxidot is tartalmazó szén aerogélből készült elektródunkat eredményesen alkalmaztuk mikrobiológiai üzemanyag-cellában is<sup>12</sup>.

### 3. Kolloidkémia Csoport

A Kolloidkémiai Csoport érdeklődési körében kiemelt szerepet kap a különböző típusú vékonyrétegek fejlesztése és jellemzése.

\* Kállay Mihály. Tel. (+36)-1-463-4076; fax: (+36)-1-463-3474; e-mail: kallay@mail.bme.hu



Különböző módokon előállított, ezüsttartalmú mezopórusos  $\text{TiO}_2$  szol-gél bevonatok antibakteriális hatását hasonlítottuk össze. A vizsgálatokhoz *Escherichia coli* baktériumtörzset használtunk. Emellett vizsgáltuk az ezüstadalék jellegének és mennyiségének, valamint a kompozit bevonat szerkezeti jellemzőinek az antibakteriális tulajdonság időtállóságára kifejtett hatását. Megállapítottuk, hogy a bevonatok látható fényben és sötétben egyaránt hatásosak. Kimutattuk, hogy a minták jelentős antibakteriális hatását a bevonatból kilépő ezüst mennyisége határozza meg, a  $\text{TiO}_2$ -bevonatok fotokatalitikus aktivitásának hatása a baktériumokra emellett elhanyagolható. Kimutattuk, hogy a mezopórusos bevonatok impregnálásával megfelelő mennyiségű ezüst juttatható a pórusok belsejébe az antibakteriális hatás biztosításához.<sup>12,13,14</sup>

Mezopórusos, félvezető anyagú ( $\text{TiO}_2$ , ZnO) bevonatok összetételét, kristályosságát, pórusszerkezetét szabályozva vizsgáltuk a fotoaktív tulajdonságok változását, melyhez modellszínezék fotodegradációját követtük nyomon optikai spektroszkópiai módszerekkel. Különböző módszerekkel állítottunk elő nemesfémekkel (arany, ezüst) adalékolt  $\text{TiO}_2$ -bevonatokat, melyek megnövekedett fotoaktivitást mutattak. Különböző színezékeket adszorbeálva a bevonatok pórusrendszerében, majd a színezékek fotodegradációját a szilárd-levegő határfelületen tanulmányozva UV és látható fényű megvilágítás mellett, információkat szereztünk a színezék-félvezető kölcsönhatásokról (színezék-érzékenyítés), a színezékek bomlási folyamatairól (sebesség, kinetika), valamint fotostabilitásáról. Kimutattuk, hogy a bevonatok pórusrendszerében adszorbeált színezékek mennyisége, ill. az asszociált formák-monomerek mennyiségének aránya szabályozható a bevonatok impregnálása során alkalmazott színezékoldat pH-jának, koncentrációjának, az alkalmazott oldószernek megválasztásával.

Különböző típusú, kompakt és mezopórusos  $\text{SiO}_2$ -bevonatok esetén az előállítási paramétereknek a bevonatok permeabilitására gyakorolt hatását tanulmányoztuk. A 130 – 350 nm vastagságú bevonatokat Zn-felületeken alakítottuk ki. A korróziógátló hatás növelésére a bevonatok felületét monofunkciós vagy bifunkciós szililezőszerekkel hidrofobizáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy a mezopórusos bevonatok szigetelő hatása eléri a kompakt szilika bevonatokét, mely számottevő korróziót gátló hatásban is megmutatkozik. Kimutattuk, hogy a felületi hidrofobizálás eredményeképpen a korróziós áramsűrűségértékek egy, vagy két nagyságrenddel csökkentek a nem hidrofobizált rétegeknél mért értékekhez képest. Kidolgoztunk egy új eljárást, mely lehetővé teszi különböző korróziós inhibitoranyagok tárolását mezopórusos  $\text{SiO}_2$ -bevonatokban. Ennek során a pórusrendszerbe impregnálással bejuttatott modellinhibitort a bevonat felületi hidrofobizálásával zártuk el a külvilágtól, ezáltal biztosítva, hogy a bevonatokból vizes közegben csak a bevonatok sérülése esetén áramolhasson ki a hatóanyag, mely így módon öngyógyító hatást eredményezhet.<sup>12,13,15,16</sup>

Fényáteresztést növelő bevonatok fejlesztése céljából mezopórusos  $\text{SiO}_2$  szol-gél vékonyrétegeket képeztünk üveg- és polikarbonát-hordozókon. Spektroszkópiai ellipszometria, illetve ellipszometriai porozimetria

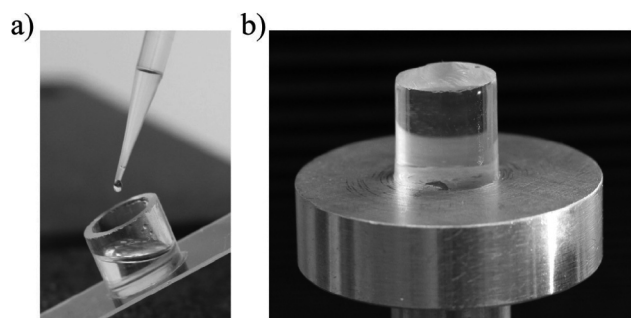
vizsgálatokkal a bevonatok vastagságát 85 - 135 nm, porozitásukat pedig 18 – 37%-nak találtuk. A bevonatok pórusrendszere zsugorodásának megakadályozása céljából sav-, vagy báziskatalizált vázerősítési eljárást alkalmaztunk. A minták időbeli, optikai stabilitását UV-Vis spektrometriával tanulmányozva megállapítottuk, hogy a minták előnyös optikai tulajdonságaikat ( $T_{\text{max}} = 98\% - 99\%$ ) akár 1 év tárolási idő után is megőrizték.<sup>17</sup>

Szabályozott hatóanyagleadás modelljeként kitozán és kétrétegű – Rodamin 6G színezéssel impregnált mezopórusos  $\text{SiO}_2$ -kitozán (300 – 3000 nm vastagságú) vékonyrétegeket alakítottunk ki üveghordozók felületén. A natív, illetve ionosan és kovalensen térhálósított kitozánbevonatok tulajdonságait 7,3-as pH-jú vizes közegben tanulmányoztuk. Spektroszkópiai ellipszometriával kimutattuk, hogy a kitozánréteg natív állapotához képest a kovalens térhálósítás kisebb, míg az ionos térhálósítás nagyobb duzzadási fokot eredményezett. A térhálósított kitozánbevonatok – a duzzadási viselkedéstől függetlenül – jelentős színezékleadást gátló hatást mutattak a vizsgált rendszerekben.<sup>18</sup>

#### 4. Lágú Anyagok Kutatócsoport

A csoport fő tevékenységi köre lágú anyagok szintézisére, jellemzésére és ezek lehetséges alkalmazására irányul. Nagy tapasztalattal rendelkezünk intelligens polimerek és polimer gélek fejlesztésében, különös tekintettel a biokompatibilis, szabályozott hatóanyag-leadásra képes rendszerekre, amelyek a környezeti paraméterek (hőmérséklet, pH, fény, mágneses tér stb.) változására érzékenyen és egyértelmű válaszreakcióval reagálnak. Az előállított polimerek és gélek termikus, mechanikai és reológiai tulajdonságainak jellemzésére magas színvonalú műszerpark és szakértelem áll rendelkezésre.

A Lágú Anyagok Kutatócsoport által intenzíven vizsgált polimer család különlegessége, hogy a polimer láncok szintetikus előállított poliaminosavból - poliaszparaginsav - vagy származékaiból épülnek fel, amely várhatóan biztosítja a biokompatibilitást és biológiai lebonthatóságot. Ezen kedvező tulajdonságok lehetővé teszik a rendszerek humánbiológiai alkalmazását, elsősorban a hatóanyag-leadás területén. A csoport által előállított változatos kémiai szerkezetű polimerek és gélek minden esetben a szervezetben előforduló egy vagy több fiziológias paraméter megváltozására képesek reagálni (pl.: pH-gradiens a gasztrointesztinális rendszerben,<sup>19</sup> redox környezet változása az extra- és intracelluláris tér között<sup>20</sup>), amely szelektív hatóanyag-leadást tesz lehetővé, növelve ezzel a terápiás hatékonyságot. A biohasznosulást elnyújtott hatóanyag-leadást biztosító, bioadhezív készítményekkel tervezzük elérni. Számos különböző gyógyszerformát állítunk elő az alkalmazási területnek megfelelően, így vízben duzzadó hidrogéleket,<sup>21</sup> *in situ* gélesedő polimer oldatokat (2. ábra),<sup>22</sup> vízben oldódó polimer filmeket. Elektrosztatikus szálképzéssel, többek között, nagy fajlagos felületű, gyorsan oldódó mátrixokat hozunk létre. Vizsgáljuk a 3D nyomtatás alkalmazási lehetőségeit is fotopolimerizációval előállítható térhálós rendszerek és hidrogélek szintézisében.



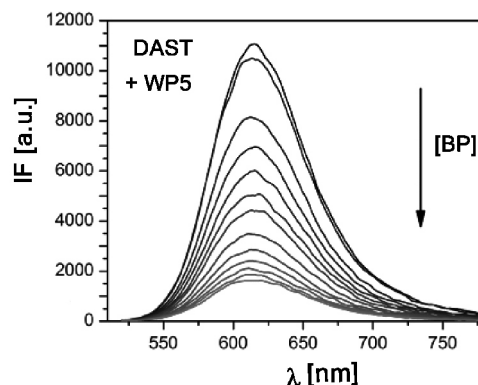
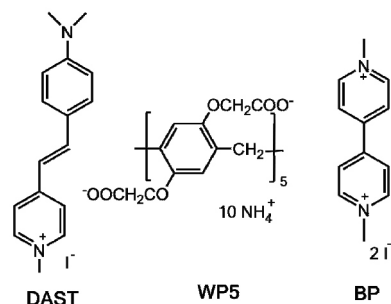
2. ábra: Oxidációra érzékeny poliaminosav-származék (a) kis viszkozitású vizes oldata és az abból (b) *in situ* előállítható hidrogél<sup>22</sup>

### 5. Spektroszkópia Csoport

A fluoreszcenciás képalkotó módszerek napjainkban gyorsan fejlődnek, s ennek részeként az új fluoreszcens jelzőanyagok fejlesztése ma a kémiai kutatásnak fontos területe. Az FKAT Spektroszkópia Csoportjában az 1990-es évek elején indult el a fluoreszcens jelzőanyagok kutatása. Vizsgálataink során stacionárius és időfelbontásos (időkorrelált egy-foton számlálás, lézeres villanófény fotolízis) spektroszkópai kísérleteket végzünk. Az új anyagok tervezéséhez és a kísérleti eredmények értékeléséhez elméleti kémiai számításokat végzünk.

Kutatásaink során protikus oldószerekben tanulmányoztuk „charge transfer” típusú fluoreszcens indikátorok tulajdonságait. Protikus közegben, a gerjesztett indikátorban megváltozó lokális töltések miatt változnak az indikátor és az oldószer közötti hidrogénhidak, előfordul, hogy a gerjesztett állapotú festék protonálódik, vagy protont disszociál. Az 5–ciano-N-metilindolin esetében igazoltuk, hogy a cianocsoport és a protikus oldószerek között hidrogénkötés alakul ki, amely gerjesztett állapotban is stabil.<sup>23</sup> A jelenség kioltást okoz, ami a lokális víztartalom fluoreszcenciás kimutatására ad lehetőséget. A níluskék, az oxazin 720 és a kumarin 102 esetében a sav-bázis tulajdonságok változását vizsgáltuk gerjesztett állapotban.<sup>24,25</sup> Meghatároztuk a gerjesztett állapotú  $pK_a$  értéket, és a gerjesztett festék és az oldószer közötti protontranszfer sebességét.

Az alkalmazások során figyelembe kell vennünk a jelzőanyagok aggregációját, ami többek között felületeken és pórusokban fordul elő, nagy lokális töltéssűrűség hatására. Az ilyen speciális környezeteket modellezhetjük ionos makrociklusokkal, amelyek a jelzőanyaggal szupramolekuláris komplexet képeznek. Mi a kationos festékanyagoknak (oxazin 1, metilénkék) szulfo-kalixarénnel alkotott komplexeit vizsgáltuk.<sup>26,27</sup>



3. ábra: Bipiridinium (BP) fluoreszcenciás kimutatása DAST-WP5 komplexszel. Koncentrációk:  $[DAST]_0 = 5$  M,  $[WP5]_0 = 15$  M,  $[BP]_0 = 0-30$  M.  $\lambda_{ex} = 506$  nm.

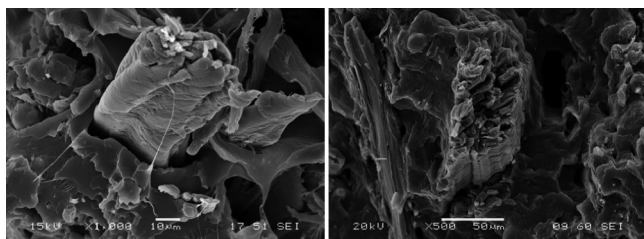
A festékmolekulák makrociklussal képzett komplexeit alkalmazzák az analitikai kémiában, nem-fluoreszcens anyagok fluoreszcenciás kimutatására. Az ilyen fluoreszcens szenzorok hasonlóan működnek, mint a bioanalitikában elterjedt kompetíciós assay-k: a makrociklussal, mint receptorral a festék és az analit is komplexet képez. A fluoreszcenciaszínképéből megállapítható a szabad és a receptorhoz kötött festék aránya, amiből az analit koncentrációjára következtethetünk. Az utóbbi időben pillérarének – új típusú makrociklusok – komplexképzését tanulmányozzuk többféle fluoreszcens jelzőanyaggal, kitérve a képződő komplexek analitikai alkalmazásaira. Stilbazólium festék – pillérarén komplexeinkkel bipiridil vegyületet (3. ábra),<sup>28</sup> aminokat és bázikus aminosavakat<sup>29</sup> detektáltunk. A DSS anionos dapoxil festéknek az ammónium pillér[6]arénnel alkotott komplexével ATP-t sikerült kimutatni, a hatás más nukleotiddal szemben szelektívnek bizonyult.<sup>30</sup>

Szintetikus kémikus együttműködő partnereink számos olyan kémiai szenzort is előállítanak, amelyekben a fluoreszcens jelzőcsoport kovalensen kapcsolódik az analitot felismerő makrociklushoz. Közülük itt az enantiomereket megkülönböztető királis receptorokat említjük meg. Kutatásaink során királis kalixarének,<sup>31</sup> ciklohexil-tiokarbamid<sup>32</sup> és koronaéterek<sup>33</sup> kölcsönhatását vizsgáltuk királis aminokkal és aminosavakkal.

## 6. Műanyag- és Gumiipari Laboratórium

A Fizikai Kémia és Anyagtudományi Tanszék részét képező Műanyag- és Gumiipari Laboratórium (MGL, korábban önálló tanszék) 1953-ban alakult azzal a céllal, hogy a műanyagok előállításában, feldolgozásában és alkalmazásában jártas szakembereket képezzen és ezek a célok a mai napig változatlanok. A kutatócsoport sok változáson esett át és jelen formájában az MGL a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpontjának (MTA TTK) Polimer Fizikai Osztályával képez egy professzionális kutatócsoportot (továbbiakban Laboratórium).

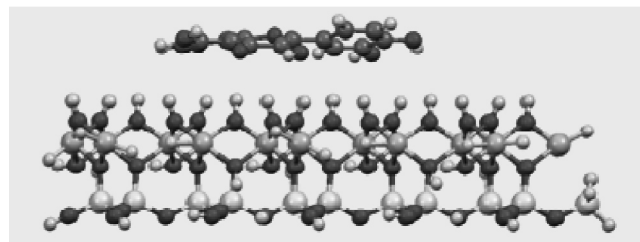
A jelenlegi kutatásaink során többkomponensű rendszerek tulajdonságait javítjuk oly módon, hogy azonosítjuk, majd megváltoztatjuk a domináns tönkremeneteli folyamatot. Jó példa erre a faliszt töltésű polipropilén kompozitok merevségének növelése, ahol a határfelületek elválásának megakadályozásával jelentős merevség növekedést lehet elérni.<sup>34,35</sup> A vizsgálataink ugyanakkor rámutattak arra a tényre is, hogy a megváltozott határfelületi kölcsönhatások következtében a tönkremenetel mechanizmusa is megváltozik és a szálak szakadása, tördelődése kerül előtérbe. Következésképpen a tulajdonságok csak bizonyos határok között javíthatók. Ilyen összetett mikromechanikai folyamatok jellemző szerkezeteit mutatjuk be az 4. ábrán.



4. ábra: 30 V/V % töltőanyagot és (a) 20 m/m % elastomer alapú, illetve (b) 10 m/m% elastomer nélküli funkcionált kapcsolóanyagot tartalmazó kompozit szakított felületéről készített pásztázó elektronmikroszkópos felvétellel ((a) – határfelületi elválás és kihúzóadás; (b) – száltörés)

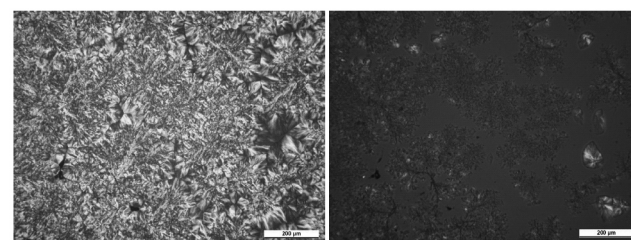
Szintén hosszú múltra tekint vissza Laboratóriumunkban a polimer nanokompozitok szerkezet-tulajdonság összefüggéseinek vizsgálata is. A kezdeti ígéretes eredmények ellenére azonban csak kevés esetben valósult meg a nanokompozitok ipari léptékű alkalmazása, esősorban a nanoméretű töltőanyagok nehéz eloszthatósága miatt. Ennek eredményeképpen az elmúlt években nagyobb hangsúly helyeződött olyan polimer nanokompozitok fejlesztésére, melyek szerkezeti anyagként betöltött szerepükön túl, más egyedi funkcióval is rendelkeznek. Laboratóriumunkban esősorban hallyosittel (HNT), mely egy természetben előforduló, bányászható, csőszerű morfológiával rendelkező ásvány, folynak intenzív kutatások. A csövek hossza néhány száz nanométertől néhány mikrométerig terjed, míg a belső átmérőjük néhány tíz nanométer, ami lehetővé teszi, hogy a cső belsejébe nagyobb méretű molekulák is bejussanak és adszorbeálódhassanak. Kutatásink homlokterében olyan kompozit rendszerek állnak, melyek időben elnyújtva képesek aktív hatóanyag leadására. Ennek fényében tehát olyan HNT/polimer kompozitokat tanulmányoztunk,

melyekben különböző stabilizátorokat juttatunk be a HNT csövek belső felületére (5. ábra), hogy időben hosszán elnyújtott stabilizáló hatást érjünk el például poliolefinekben.<sup>36,37</sup> A töltőanyag jellemzése során, az irodalomban egyedülálló módon, inverz gázkromatográfiával határoztuk meg az ásvány felületi energiáját, aminek döntő szerepe van a kölcsönhatások erősségében. Részletes vizsgálatainkkal bizonyítottuk, hogy az antioxidáns molekulái preferáltan kötődnek meg a nanocsövek belső felületén és az összetétel helyes megválasztása mellett, elnyújtott stabilizáló hatás is biztosítható a módosított nanocsövekkel.



5. ábra: A kvercetin, természetes antioxidáns molekulájának adszorpciója HNT ásvány modellfelületén

Szemikristályos polimerek esetén a tulajdonságok módosíthatók a kristályszerkezet megváltoztatásával is. Erre az ipari gyakorlatban nagy hatékonyságú göcképzőket használnak, melyekkel a felhasználás szempontjából előnyös tulajdonságok, mint a jó átlátszóság, illetve nagy merevség biztosíthatók. A kristályszerkezet célzott módosításával és a polimer molekulaszervezetének együttes tervezésével tehát olyan tulajdonság kombinációk is elérhetők, melyek egymásnak ellentmondóak. A polipropilén polimorf szerkezetének módosításával olyan rendszert hoztunk létre, ahol a nagy ütésállóságú  $\alpha$ -módosulatba kisméretű merev  $\beta$ -módosulatú kristályok képződését idéztük elő önszerveződő módon (6. ábra), így az ütésállóságot duplájára növeltük a merevség csökkenése nélkül.<sup>38</sup> A göcképző és a polimer molekulaszervezetének összehangolásával random etilén-propilén kopolimerek ütésállóságát, merevségét és átlátszóságát is nagymértékben növeltük.<sup>39</sup>



(a) (b)

6. ábra: Polipropilén kristályszerkezete 5000 ppm göcképző jelenlétében: a) végállapot 135 °C-on; b) a  $\beta$ -módosulat részleges kiolvasztását követően 157 °C-on.

A szerkezet-tulajdonság összefüggések mennyiségi leírása és modellezése pedig lehetővé teszi, hogy egyedi tulajdonságok elérhetőségét, illetve az elérésükhöz szükséges szerkezeteket előre tudjuk jósolni.<sup>40</sup> Természetesen a kőolajszármazék alapú tömegműanyagok mellett a természetes polimerek kutatása is intenzíven folyik

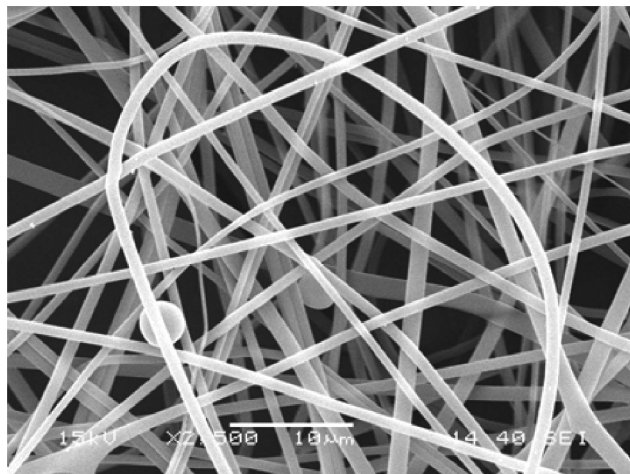
Laboratóriumunkban. Keményítő alapú polimerek feldolgozhatóságának javítása napjaink egyik nagy kihívása. A keményítő lágyításával jól feldolgozható faliszt tartalmú biokompozitot állítottunk elő.<sup>41</sup> A keményítő mellett még cellulóz alapú polimerekkel elsősorban cellulóz nanokristályok funkcionális tulajdonságaival foglalkozunk és a nanocellulóz szuszpenziók egyedi jellegzetességeit tanulmányozzuk.<sup>42</sup>

A hosszú évtizedek óta folytatott témák tapasztalatait természetesen újabb területeken is alkalmazzuk, hiszen a polimerek egyre inkább tért hódítanak az orvosi és biológiai alkalmazások területén is. A hagyományos transzplantációs eljárások hátrányaira például a jövőben a mesterséges szövettényésztés nyújthat megoldást. A technika három pilléren alapul:

- a regenerálandó szövetet felépíteni képes differenciálatlan sejtek kinyerésén,
- az ezek működését és szaporodását elősegítő anyagok létrehozásán,
- illetve a kialakítandó szövet támasztását szolgáló vázanyagok elkészítésén.

Ez a váz, vagy más néven scaffold, egy nyitott, összefüggő pórusszerkezettel rendelkező anyag, ami biztosítja, hogy a kialakítandó szövet három dimenzióban növekedhessen. Kulcsfontosságú, hogy a vázon a szövetet kialakító sejtek képesek legyenek megtapadni és elszaporodni, valamint, hogy a vázanyag és bomlástermékei ne legyenek toxikusak a szervezet számára. Pórusos vázanyagok többféle módszerrel is előállíthatók. Laboratóriumunkban a részecske kioldáson és habosításon alapuló módszerek mellett különböző szállhúzási technikákkal állítunk elő vázanyagokat mesterséges szövettényésztési célokra. Kutatásaink homlokterében természetes polimerek és szintetikus biopolimerek kombinációjából felépülő vázanyagok szintézise és gyártása áll, ötvözve a kétféle alapanyag típus előnyeit. Sikeresen állítottunk elő mikron- és szubmikron átmérőjű szálakból álló vázanyagokat politejsav (PLA), poli- $\epsilon$ -kaprolakton (PCL) és poli-3-hidroxi-butirát (PHB), valamint zselatin és kitozán kombinációból.<sup>43</sup> Zselatin tartalmú PLA szálak pásztázó elektronmikroszkópos felvétele látható a 7. ábrán.

Az elektromos szálképzéssel előállított szálak hatóanyag hordozóként is kiválóan alkalmazhatók: gyulladáscsökkentő, és antibakteriális vegyületeket tartalmazó szálakat állítottunk elő dentál-higiéniai felhasználásra, de *Candida antarctica*, illetve *Candida rugosa* baktériumokból származó lipáz enzimeket is sikeresen juttattunk politejsav szálakba, amik aztán felgyorsították a polimer bomlási sebességét az emberi szervezetet szimuláló környezetben.



7. ábra: PLA/zselatin alapú elektromos szálképzéssel előállított vázanyag (scaffold)

Laboratóriumunk nem utolsó sorban kiemelt hangsúlyt fektet azokra a polimerekre is, melyek alkalmazási lehetőségei elsősorban a biológiai úton történő lebonthatóságukból fakad. A biológiai úton történő lebonthatóság nem csak a polimer hulladékok komposztálásának, illetve a bioszféra körforgásába történő visszajuttathatóságának szempontjából fontos, hanem számos egészségügyi alkalmazási lehetőség szempontjából is, mert a kívánt polimer az élő szervezetben (In Vivo) kell, hogy lebomoljon. A folyamat modellezése igen összetett probléma, annak ellenére, hogy In Vivo körülmények között a metabolizist katalizáló közeg paramétereinek intervalluma közel állandó (37°C, és semleges, vagy ahhoz közeli pH). A modellezés célja, hogy meghatározzuk a lebomlás időbeni lefutását, annak érdekében, hogy egy scaffold, vagy egy hatóanyag-hordozó mátrix teljes metaboliziséhez szükséges időt becsülhessük megfelelően megválasztott biokatalizátorok, illetve enzim-molekulák jelenlétében. Laboratóriumunkban több olyan kutatási projekt is folyik, melyek célja az orvosi biológiában ma már elterjedten alkalmazott mikrobiális poliészterek (például poli(3-hidroxi-butirát), PHB) enzimkatalizált metabolizisének jellemzése, illetve az enzimreakció kinetikájának mennyiségi leírása. Az utóbbi években sikerrel fejlesztettünk ki és alkalmazunk olyan kinetikai modelleket, melyekkel nem csak a mikrobiális poliészterek lebomlásának leírása, de egyben a reakció lefutásának illetve időfüggésének becslésére, jóslására is lehetőség nyílik.<sup>44</sup>

## Hivatkozások

- Manek, E.; Berke, B.; Miklósi, N.; Sajbán, M.; Domán, A.; Fukuda, T.; Czakkell, O.; László, K. *Express Polymer Letters* **2016**, *10*, 710–720.  
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2016.64>
- Tóth, A.; Voitko, K.V.; Bakalinska, O.; Prykhod'ko, G.P.; Bertóti, I.; Gun'ko, V.M.; László, K. *Carbon* **2012**, *50*, 577–585. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.09.016>
- Wang, S.; Ábrahám, D.; Vallejos-Burgos, F.; Geissler, E.; László, K.; Takeuchi, K.; Endo, M.; Kaneko, K. *Langmuir* **2016**, *32*, 5617–5622.  
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b00483>
- Czakkell, O.; Marthi, K.; Geissler, E.; László, K. *Micropor. Mesopor. Mater.* **2005**, *86*, 124–133.  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2005.07.021>
- Domán, A.; Madarász, J.; László, K. *Thermochim. Acta* **2017**, *647*, 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2016.11.013>
- Pekala, R.W. *J Mater Sci.* **1989**, *24*, 3221–3227.  
<https://doi.org/10.1007/BF01139044>
- Nagy, B.; Ábrahám, D.; Dobos, G.; Madarász, J.; Onyestyák, Gy.; Sáfrán, Gy.; Geissler, E.; László, K. *Carbon* **2014**, *66*, 210–218.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2013.08.060>
- Seredych, M.; László, K.; Bandosz, T.J. *Chem Cat Chem* **2015**, *7* (Special Issue: SI) 2924–2931.  
<https://doi.org/10.1002/cctc.201500192>
- Nagy, B.; Villar-Rodil, S.; Tascón, J.M.D.; Bakos, I.; László, K. *Micropor. Mesopor. Mater.* **2016**, *230*, 135–144.  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2016.05.009>
- Bahn, E.; Czakkell, O.; Nagy, B.; László, K.; Villar-Rodil, S.; Tascón, J.M.D.; Demmel, F.; Telling, M.T.F.; Fouquet, P. *Carbon* **2016**, *98*, 572–581.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.11.034>
- Tardy, G.M.; Lóránt, B.; Lóka, M.; Nagy, B.; László, K. *Biotechnol. Lett.* **2017**, *39*, 993–999.  
<https://doi.org/10.1007/s10529-017-2338-x>
- Albert, E. *Mezopórusos szol-gél bevonatok: előállítás, jellemzés, alkalmazás*, PhD értekezés, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, **2015**.
- Albert, E.; Hörvölgyi, Z. *Mezopórusos szol-gél bevonatok: előállítás, jellemzés (PhD összefoglaló), alkalmazás Magyar Kémiai Folyóirat* **2017**, *közlésre elfogadva*
- Albert, E.; Albouy, P. A.; Ayrál, A.; Basa, P.; Csík, G.; Nagy, N.; Roualdés, S.; Rouessac, V.; Sáfrán, Gy.; Suhajda, Á.; Zolnai, Zs.; Hörvölgyi, Z. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 59070–59081. <https://doi.org/10.1039/C5RA05990A>
- Albert, E.; Cotolan, N.; Nagy, N.; Sáfrán, Gy.; Szabó, G.; Mureşan, L. M.; Hörvölgyi, Z. *Micropor. Mesopor. Mat.* **2015**, *206*, 102–113.  
<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2014.12.021>
- Volentiru, E.; Nyári, M.; Szabó, G.; Hörvölgyi, Z.; Mureşan, L. M. *Period. Polytech. Chem.* **2014**, *58*, 61–66.  
<https://doi.org/10.3311/PPCh.7302>
- Kócs, L.; Albert, E.; Tegze, B.; Kabai-Faix, M.; Major, Cs.; Szalai, A.; Basa, P.; Hörvölgyi, Z. *Period. Polytech. Chem.* **2017**, *közlésre elfogadva*  
DOI: 10.3311/PPCh.10550 <https://doi.org/10.3311/PPCh.10550>
- Dabóczy, M.; Albert, E.; Agócs, E.; Kabai-Faix, M.; Hörvölgyi, Z. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *136*, 137–145.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.025>
- Németh, C.; Szabó, D.; Gyarmati, B.; Gerasimov, A.; Varfolomeev, M.; Abdullin, T.; László, K.; Szilágyi A. *Eur. Polym. J.* **2017**, *93*, 805–814.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.02.024>
- Krisch, E.; Messenger, L.; Gyarmati, B.; Ravaine, V.; Szilágyi, A. *Macromol. Mater. Eng.* **2016**, *301*, 260–266.  
<https://doi.org/10.1002/mame.201500119>
- Gyarmati, B.; Mészár, E.Z.; Kiss, L.; Deli, M.A.; László, K.; Szilágyi, A. *Acta Biomater.* **2015**, *22*, 32–38.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.04.033>
- Gyarmati, B.; Vajna, B.; Némethy, Á.; László, K.; Szilágyi A. *Macromol. Biosci.* **2013**, *13*, 633–640.  
<https://doi.org/10.1002/mabi.201200420>
- Pál, K.; Kállay, M.; Köhler, G.; Zhang, H.; Bitter, I., Kubinyi, M., Vidóczy, T., Grabner, G., *ChemPhysChem*, **2007**, *8*, 2627 – 2635.  
<https://doi.org/10.1002/cphc.200700479>
- Grofcsik, A., Kubinyi, M., Jones, W. J., *Chem. Phys. Lett.*, **1996**, *250*, 261–265.  
[https://doi.org/10.1016/0009-2614\(96\)00003-6](https://doi.org/10.1016/0009-2614(96)00003-6)
- Hessz, D., Hégyel, B., Kaëllay, M., Vidoőczy, T., Kubinyi, M., *J. Phys. Chem. A*, **2014**, *114*, 5238–5247.  
<https://doi.org/10.1021/jp504496k>
- Kubinyi, M., Vidóczy, T., Varga, O., Nagy, K., Bitter, I., *Appl. Spectrosc.*, **2005**, *59*, 134–138.  
<https://doi.org/10.1366/0003702052940477>
- Varga, O., Kubinyi, M., Vidóczy, T., Baranyai, P., Bitter, I., Kállay, M., *J. Photochem. Photobiol. A*, **2009**, *207*, 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2009.07.001>
- Bojtár, M., Szakács, Z., Hessz, D., Kubinyi, M., Bitter, I., *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 26504–26508.  
<https://doi.org/10.1039/C4RA14809F>
- Bojtár, M., Paudics, A., Hessz, D., Kubinyi, M., Bitter, I., *RSC Adv.* **2016**, *6*, 86269–86275.  
<https://doi.org/10.1039/C6RA15003A>
- Bojtár, M., Kozma, J., Szakács, Z., Hessz, D., Kubinyi, M., Bitter, I., *Sens. Actuat. B*, **2017**, *248*, 305–310.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.03.163>
- Kubinyi, M., Pál, K., Baranyai, P., Grofcsik, A., Bitter, I., Grün, A., *Chirality*, **2004**, *16*, 174–179.  
<https://doi.org/10.1002/chir.20003>
- Costero, A. M., Colera, M., Gavia, G., Gil, S., Kubinyi, M., Pál, K., Kállay, M., *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 3217–3224.  
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.01.085>
- Rapi, Z., Bakó, P., Keglevich, G., Baranyai, P., Kubinyi, M., Varga, O., *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **2014**, *80*, 253–261. <https://doi.org/10.1007/s10847-014-0384-8>
- Sudár, A., Renner, K., Móczó, J., Lummerstorfer, T., Burgstaller, C., Jerabek, M., Gahleitner, M., Doshev, P., Pukánszky, B. *Compos. Struct.*, **2017**, *141*, 146–154.  
<https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2016.01.031>
- Sudár, A., Burgstaller, C., Renner, K., Móczó, J., Pukánszky, B. *Compos. Sci. Technol.*, **2014**, *103*, 106–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2014.08.018>
- Hári, J., Gyürki, Á., Sárközi, M., Földes, E., Pukánszky, B. *J. Colloid Interface Sci.*, **2016**, *462*, 123–129.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.09.054>
- Hári, J., Polyák, P., Mester, D., Mičušik, M., Omastová, M., Kállay, M., Pukánszky, B. *Appl. Clay Sci.*, **2016**, *132*, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2016.06.001>
- Horváth, F., Gombár, T., Varga, J., Menyhárd, A. *J. Therm. Anal. Calorim.*, **2017**, *128*, 925–935.  
<https://doi.org/10.1007/s10973-016-6057-7>
- Horváth, Z., Menyhárd, A., Doshev, P., Gahleitner, M., Friel, D., Varga, J., Pukánszky, B. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2016**, *133*, 43823. <https://doi.org/10.1002/app.43823>
- Menyhárd, A., Suba, P., László, Z., Fekete, H. M., Mester, Á. O., Horváth, Z., Vörös, G., Varga, J., Móczó, J. *Express Polym. Lett.*, **2015**, *9*, 308–320.  
<https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2015.28>

41. Müller, P., Renner, K., Móczó, J., Fekete, E., Pukánszky, B. *Carbohydr. Polym.*, **2014**, *102*, 821-829.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.083>
42. Csiszár, E., Kalic, P., Köböl, Á., Ferreira, E. D. *Ultrason. Sonochem.*, **2016**, *31*, 473-480.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.028>
43. Nagy, O.; Kirschweng, B.; Imre, B.; Pukánszky, B. *Műanyag és Gumiipari Évkönyv*, **2016**, *14*, 46-53.
44. Kirschweng, B.; Polyák, P.; Pukánszky, B.; Vörös, G. *Polimerek*, **2015**, *1*, 136-140.

### Research activity at the Department of Physical Chemistry and Materials Science

The R&I activity of the Surface Chemistry Group has been focusing on interactions with high surface area solid materials, spanning from the various forms of crystalline nanocarbons (nanotubes, graphene and their derivatives) to the new generation of porous materials like carbon aerogels or metal-organic frameworks (MOFs). The tunability of the morphology as well as the surface chemistry of these materials, important factors in their practical performance, are studied in the group. Tailor-made novel materials and their composites have been synthesized, characterized and tested for biomedical, gas and energy storage applications.

In the Colloid Chemistry Group different types of sol-gel and biopolymer thin coatings with various functional properties were deposited by dip-coating onto solid substrates. Semiconductor (TiO<sub>2</sub>, ZnO) coatings with antibacterial and photoactive properties, mesoporous SiO<sub>2</sub> coatings with improved light transmittance and anticorrosive properties, biopolymer and biopolymer mesoporous SiO<sub>2</sub> sol-gel composite coatings for modelling controlled drug release systems were developed and characterized thoroughly.

The research activity of Soft Matters Group focuses on the synthesis, characterization and application of responsive polymers and hydrogels. These smart materials are prepared in various forms such as water-swelling gels, *in situ* gellable, bioadhesive polymer solutions or polymer films and they are designed for pharmaceutical applications, primarily in controlled and targeted drug delivery. Recently, our research work has been extended with such cutting-edge technologies as electrospinning and 3D printing to develop responsive materials with tailor-made morphology.

The target of our research in the Spectroscopy Group is to develop novel molecular sensors, applicable in fluorescence imaging techniques. In a co-operation with the synthetic chemists of our university, novel fluorescent chemosensors have been developed for the detection of amino acids, biogen amines and nucleotides. The sensing mechanisms of the fluorescent probes have been explored on the basis of time-resolved optical spectroscopic experiments and theoretical calculations.

The Laboratory of Plastics and Rubber Technology (LPRT, former an individual department) as a part of the Department Physical Chemistry and Materials Science was established in 1953. Its primary goal is to educate professionals, who are experienced in the synthesis and processing of polymeric materials and these goals are constant even nowadays. LPRT forms a professional research group together with the Polymer Physics Group at the Research Centre for Natural Sciences at Hungarian Academy of Sciences. Intensive research has been carrying out on the field of multicomponent polymer systems in the past three decades. Most of these studies are dealing with the interfacial interactions as well as the mechanism of the failure of composite materials. A special technique called acoustic emission is used for identification of failure mechanism in order to find possible ways to improve strength and impact resistance mainly. The study of crystalline polymer has large tradition at our Laboratory as well. Recently the development of quantitative correlation between the crystalline structure and the mechanical or optical properties is in the focus of these works. Our goal is to build empirical or semi-empirical models to describe the dependency of tensile modulus or haze on the key parameters of crystalline structure. After the careful validation of these models they are used to predict desired properties in order to define possible directions during industrial development projects. Although, these researches are focused mainly on commodity polymers the results obtained from them could be applied on other areas as well. An intensive research is focused on the preparation of scaffold materials as possible templates for ectogenesis, which is a hot topic in the medial application of polymeric materials. Beside medical application the bio based polymers are also important candidates for biocompatible and biodegradable materials. These topics are also a highlighted areas at our Laboratory. The kinetics and detailed characteristics of microbial synthesis and biodegradation process (even *In Vivo*) of poly-3-hydroxybutyrate is studied thoroughly for example in this field.

**A kiadvány a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült**

Főszerkesztő: Sohár Pál

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Molnár István

A szerkesztőség címe:

ELTE Kémiai Intézet, Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány sétány 1A;  
telefon: 372-2911, fax: 372-2592; e-mail: [mkf@chem.elte.hu](mailto:mkf@chem.elte.hu)

Kiadó:

Magyar Kémikusok Egyesülete, 1015 Budapest, Hattyú u. 16. II/8.; Felelős kiadó: Androsits Beáta  
telefon: 201-6883; e-mail: [androsits@mke.org.hu](mailto:androsits@mke.org.hu)

URL: <http://www.mke.org.hu>

Internetes változat: <http://www.mkf.mke.org.hu>

Nyomda:

Europrinting Kft., 1201 Budapest, Vágóhíd u. 55.; telefon: 287-8495, 96; fax: 287-8497

Felelős vezető: Endzsel Ernő

Terjeszti a Magyar Kémikusok Egyesülete

Előfizetési díj egy évre MKE tagoknak 1400,- forint, közületeknek 5000,- forint.

Közleményeink kivonatossan is csak a lapunkra való hivatkozással vehetők át.

Egyes cikkek teljes egészben való átvételéhez a szerkesztőség külön engedélye szükséges.

A folyóiratot az MTMT indexeli, és a REAL archiválja.

**Index: 25.540**

**HU ISSN 1418-9933**

