

**Magyar**

**Kémiai Folyóirat**

---

**Kémiai Közlemények**

---

120. ÉVFOLYAM, 2014

**1**

**A Magyar Kémikusok Egyesülete tudományos folyóirata**  
**A Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Osztályának közleményei**  
Magyar Kémiai Folyóirat 120. évfolyam, 1. szám 1-40. oldal, 2014

## Útmutatás szerzőknek

A Magyar Kémiai Folyóirat fő feladata egyrészt a magyar kémiai szaknyelv folyamatos ápolása, s a kémiai tudomány fejlődéséhez, az aktuális tudományos újdonságokhoz 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, bemutatta 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 beolvasztott 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 terjedelem túllépéséhez esetenként a Szerkesztő Bizottság – a költség-többlet szerző általi megtérítése ellenében – hozzájárulhat.

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

**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

**Technikai szerkesztő:** Nagy Tibor Zsigmond

**TARTALOMJEGYZÉK**

A főszerkesztő előszava ..... 3

**ELŐADÁSOK**

*Dorkó Zsanett, Tóth Blanka, Horváth Viola,  
 Jedlovszky Pál, Horvai György:* Szelektivitás az  
 analitikai kémiában ..... 4

*Hollóczki Oldamur:* A szén-dioxid oldódása ionos  
 folyadékokban: kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások, és  
 jelentőségük ..... 10

*Kégl Tamás:* A szén-dioxid sajátos elektronszerkezete  
 ..... 14

*Mizsey Péter, Nagy Tibor:* A szén-dioxid megkötése  
 ipari gázokból ..... 17

*Székeley Edit, Simándi Béla:* A szuperkritikus szén-  
 dioxid alkalmazásai ..... 23

**KÖZLEMÉNYEK**

*Schönstein László, Forró Enikő, Fülöp Ferenc:*  
 Tetrahydroizokinolin-vázis vegyületek enzimés  
 rezolválása szakaszos és áramlásos kémiai módszerrel  
 ..... 26

**PhD ÖSSZEFOGALÓK**

*Lautner Gergely, Gyurcsányi E. Róbert:* Szelektív  
 szintetikus receptorok fejlesztése és alkalmazása  
 fehérjék meghatározására ..... 32

**CONTENTS**

Foreword of the editor-in-chief ..... 3

**LECTURES**

*Zsanett Dorkó, Blanka Tóth, Viola Horváth, Pál  
 Jedlovszky, György Horvai:* Selectivity in analytical  
 chemistry ..... 4

*Oldamur Hollóczki:* Carbon dioxide in ionic liquids:  
 cation-CO<sub>2</sub> interactions, and their relevance ..... 10

*Tamás Kégl:* The peculiar electronic structure of CO<sub>2</sub>  
 ..... 14

*Péter Mizsey, Tibor Nagy:* The capture of carbon-  
 dioxide from industrial gases ..... 17

*Edit Székeley, Béla Simándi:* Applications of  
 supercritical carbon dioxide ..... 23

**PAPERS**

*László Schönstein, Enikő Forró, Ferenc Fülöp:*  
 Enzymatic resolution of tetrahydroisoquinoline  
 derivatives in batch and continuous-flow systems... 26

**PhD SUMMARIES**

*Gergely Lautner, E. Róbert Gyurcsányi:* Development  
 and Application of Selective Synthetic Receptors for  
 Protein Detection ..... 32

*A KÖZELMŰLT KIEMELKEDŐ MAGYAR  
KÉMIKUSAI**EMINENT HUNGARIAN CHEMISTS IN THE  
RECENT PAST**Baranyai András: Ruff Imre (1938-1990)..... 38**András Baranyai: Imre Ruff (1938-1990)..... 38*

## Tisztelt Előfizetők és Olvasók!

A Magyar Kémiai Folyóirat százhuszadik évfolyamának első számával nemcsak a lap történetének egy kerek évfordulójához, de megújult, negyedévenként megjelenő formájának 10 éves jubileumához érkezünk. Tekintve a kiadvány életben tartása ellen meg-megújuló és nem minden alapot nélkülöző támadásokat, talán nem szerénytelenség, ha nem csak örömmel, de némi elégtétellel tölti el ez a tény a lap főszerkesztőjét. Igaza van ugyanis a fenntartása ellen érvelőknek abban, hogy egyfelől a magyar nyelvű közzététellel nem szabad a fontos és kiemelkedő eredményeket elrejtteni a nemzetközi tudományos közélet előtt, másfelől vétek tudományosan értéktelen anyagok publikálására papírt pocsékolni. Nagyon keskeny tehát az a mezsgye, ami ezek után megmarad a közölhető és közlésre érdemes anyagokat illetően. Különösen, mivel másodközlésre, idegen nyelven már megjelent kéziratok megjelentetésére nem vállalkozunk.

Ugyanakkor fő céljaink a magyar kémiai szaknyelv ápolása, folyamatos korszerűsítése és tovább adása a szakmai utánpótlás számára, továbbá, hogy a magyar nyelven is publikáló, előadó vegyész kollégáink számára, akik a környező országokban más nyelven tanulták a kémiát, más nyelvet használnak a mindennapi szakmai tevékenységükhöz, illetve más nyelven olvassák a szakirodalmat, eligazítást adjunk a ma használt magyar szaknyelvről, szakkifejezésekről és nem kevésbé a több, mint százéves hagyomány megőrzése köteleznek bennünket, hogy mindent megtegyünk a Magyar Kémiai Folyóirat tovább éléséért!

Mivel eredeti közleményekre – fentiekre fényében – csak ritkán, csekély számban számíthatunk, olyan másfajta tematikákat kerestünk, amelyek nyilvánosságra hozatala a hazai kémiai tudományos közösség számára fontos és hasznos.

Folytattuk a hazai jelentős kémiai iskolák, egyetemek, kutatóintézetek bemutatását, egy-egy kutatóműhely néhány éves működésére visszatekintő, összefoglaló cikkeket speciális különszámokba összegyűjtve. A 119. kötet 2. – 3. kettős számában a Pécsi Tudomány-egyetemen folyó kémiai kutatómunkáról nyolc közlemény adott számot.

Az akadémiai székfoglalók sorában, ebben az évben Perczel András levelező tag előadását tettük közzé.

Megjelent új rovatumk négy írása, amelyekben doktoranduszok ismertetik a PhD fokozat elnyeréséért végzett munkájuk eredményeit.

A 119. évfolyam első számában közreadtuk a Kémiai Tudományok Osztálya 2012. évi MTA-közgyűléshez kapcsolódó, s a műszeres módszerek gyógyszer-kutatásokbeli hazai alkalmazásairól szóló tudományos ülés előadásait és megemlékeztünk elhunyt kollégánkról, Inczédy János akadémikusról, a hazai műszeres analitika kimagasló, nemzetközileg is igen nagyra becsült szaktekintélyéről. Inczédy professzor úr nagyon sokat tett a Magyar Kémiai Folyóirat fennmaradásáért, élharcosa volt az ezért folyó küzdelemnek. Szerzőként, lektorként, recenzensként, felszólalásaival, a legkülönbözőbb módon támogatta a lapot és oroszlánrésze volt abban, hogy tíz éve a megszűnés veszélyét elháríthassuk az új formában való kiadás megvalósításával, s a megújuló szerkesztőség létrehozásával.

Ugyancsak folytattuk a közelmúlt kiemelkedő magyar kémikusainak életpályáját ismertető cikksorozatunkat. A 2013/1 számban az iskolateremtő kvantumkémikus Török Ferenc és az ugyancsak szakterületén meghatározó szerepet betöltő, számos kiváló utódot nevelő atomabszorpciós és emissziós spektroszkópiával foglalkozó Török Tibor professzorok pályafutását, kutatási eredményeiket áttekintő írások jelentek meg. A 2013/4 lapszám írása Gegus Ernő professzor, a politikai üldözött, hosszú időn át mellőzött kitűnő szakember előtt tiszteleg.

A lap szerkesztősége és a magam nevében szeretném megköszönni a 2. - 3. szám vendégszerkesztőjének, Deli József professzornak a pécsi különszám szerkesztésében való közreműködését.

Ezúttal is szeretnék köszönetet mondani a benyújtott kéziratokat elbíráló valamennyi kollégánknak önzetlen és felelősségteljes munkájáért, felsorolva itt a 119. évfolyamban közzétett dolgozatok lektorait:

*Baranyai András, Csámpai Antal, Dévay Attila, Erős István, Faigl Ferenc, Fogarasi Géza, Fogassy Elemér, Gelencsér Éva, Hajós György, Hazai László, Horvölgyi Zoltán, Huszthy Péter, Jedlovsky Pál, Keglevich György, Kele Péter, Keszei Ernő, Kollár László, Kuzmann János, Láng Győző, Lengyel Béla, Mező Gábor, Nagyné László Krisztina, Novák Zoltán, Nyulászi László, Pasinszki Tibor, Szalay Roland, Szente Lajos, Szigeti Tamás, Szilágyi László, Tarczay György, Tombácz Etelka, Wölfling János.*

Az egész magyar kémikus társadalom nevében köszönöm a Magyar Tudományos Akadémia Kémiai Tudományok Osztályának az anyagi támogatást, amellyel a folyóirat megjelentetéséhez hozzájárult, a közlemények szerzőinek és olvasóinknak, a lap előfizetőinek a Magyar Kémiai Folyóirat iránti bizalmukat és elkötelezettségüket. Külön nyomatékkal köszönöm a külföldi magyar pályatársaink számára kettős előfizetést vállaló kollégáinknak áldozatkészségüket.

Sohár Pál főszerkesztő

# Szelektivitás az analitikai kémiában

DORKÓ Zsanett,<sup>a</sup> TÓTH Blanka,<sup>a</sup> HORVÁTH Viola,<sup>b</sup> JEDLOVSZKY Pál,<sup>b,c,d</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

<sup>c</sup>ELTE Kémiai Intézet, Pázmány Péter stny. 1/a, 1117 Budapest, Magyarország

<sup>d</sup>EKF Kémia Tanszék, Leányka utca 6., 3300 Eger, Magyarország

## 1. Bevezetés

A szelektivitás a mennyiségi analitikai módszerek egyik legfontosabb tulajdonsága. Szelektivitás nélkül nem tudnánk a vizsgált minták egyes komponenseinek koncentrációját meghatározni, hiszen módszereink nem tudnának a minta összetevői között különbséget tenni.

Meglepő módon a szelektivitás fogalma a természettudományok között elsősorban a kémiában és néhány vele rokon területen, például a gyógyszerhatástanban használatos. A kémián belül pedig legnagyobb súllyal az analitikai kémia szerepel.

## 2. A szelektivitás irodalma

Látva a szelektivitás fontosságát az analitikában, úgy gondolhatnánk, hogy a szelektivitás fogalma pontosan definiált és a mértékét is pontosan meg lehet adni. Ez azonban nincs így. Közkeletű angol nyelvű analitikai tankönyvek csak érintőleg említik a szelektivitás általános fogalmát és akkor is csak vagy egy IUPAC ajánlásból (ld. később) vesznek át egy megfogalmazást vagy elnagyolva definiálják ezt a fogalmat.

Érdemes tehát megvizsgálnunk, hogy az analitikai alapfogalmak definiálására hivatott testületek hogyan definiálják a szelektivitást. A legfőbb ilyen testület a IUPAC. Ez a szervezet két ajánlást is kidolgozott a szelektivitás fogalmáról, az elsőt 1983-ban, a másodikat 2001-ben.

Az 1983-as IUPAC ajánlás<sup>1</sup> mindenekelőtt leszögezi, hogy nem egyes analitikai eszközök szelektivitásával kíván foglalkozni, hanem teljes mérési eljárásokéval („completely described methods of analysis, including sampling and data handling”). Ez a megközelítés általában jellemző a szakmai szervezetek ajánlásaira, amikor az analitikai szelektivitásról általában írnak. Természetesen létezhetnek ugyanannak a szervezetnek külön ajánlásai is az egyes szűken értelmezett módszerek illetve eszközök szelektivitására is. Az 1983-as IUPAC ajánlás nem definiálja pontosan a szelektivitás fogalmát és ellenzi a szelektivitás pontos mennyiségi értelmezését. Inkább azt javasolja, hogy a szelektivitáson csak egy minőségi jellemzőt értsünk, ami arra utal, hogy az adott módszerrel történő mérés mennyire van kitéve zavarásoknak.

Az itt leírt szemléletet alkalmazza számos későbbi, más szervezetek által kiadott dokumentum<sup>2-4</sup>. Ezek tehát általában csak akkor tekintenek egy módszert szelektívnek,

ha a mérendő anyag mennyiségének meghatározásában a zavarások nem okoznak szignifikáns hibát.

Érdekes módon a IUPAC 2001-es definíciója<sup>5</sup> az, amely a leginkább eltér a IUPAC 1983-as definíciójától. „Selectivity refers to the extent to which the method can be used to determine particular analytes in mixtures or matrices without interferences from other components of similar behavior.” Ehhez később hozzáteszi: „...practical ways of calculating or quantifying selectivity will be dealt with in a future project.” Ez az ajánlás tehát a szelektivitást mérhetőnek gondolja. Meg kell azonban jegyezni, hogy a megígért jövődéli projekt elmaradt és a mennyiségi értelmezést mindeddig nem oldották meg. Érdekes azt is észrevenni, hogy itt a zavaró anyagok körét a mérendőhöz hasonlóan viselkedő anyagokra korlátozzák.

A kemometriában létezik ugyan az analitikai szelektivitásnak mérőszáma, de más értelemben mint az analitika egyéb területein.

Az eddig tárgyalt általános szelektivitás fogalmon túl az analitika egyes részterületein is születtek definíciók a szelektivitásra. Ezek közül az irodalomban talán legtöbbször a potenciometriás szelektivitás szerepel. Szemben az általános esettel, az egyes mérés technikák esetében a szelektivitásnak gyakran sikerül mérőszámot találni. Az alábbiakban megvizsgálunk néhány ilyen esetet és megvilágítjuk, hogy miért nem jutunk ezekből egy általános szelektivitási mérőszámhoz.

## 3. A szelektivitás speciális esetei

### 3.1. A válaszfelület

Amint fentebb utaltunk rá, vannak olyan mérés technikák, ahol a szelektivitást mennyiségileg is lehet jellemezni. Ilyenek például azok a technikák, ahol a mért (skaláris) jelet a minta különböző komponenseinek koncentrációi lineáris additív függvény szerint befolyásolják. Erre jó példa az abszorpciós spektroszkópiának minden olyan esete, ahol a Lambert-Beer törvény szigorúan érvényes.

Először tekintsük azonban általánosabban a helyzetet. Vegyünk egy olyan mérést, ahol a mért jelet két anyag, a mérendő és a zavaró anyag koncentrációja befolyásolja. Elvi alapon vagy kalibrációs mérésekkel a jelnek a két

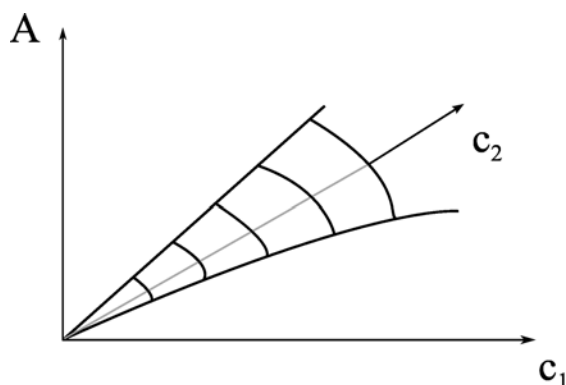
\* Tel.: +36-1-4631480 ; fax: +36-1-4633408 ; e-mail: george.horvai@mail.bme.hu

A dolgozat Horvai György az MTA rendes tagja 2013. október 15.-én tartott akadémiai székfoglaló előadásának szerkesztett változata.

koncentrációtól való függése meghatározható. Ez egy háromdimenziós derékszögű koordináta-rendszerben ábrázolható (ld. 1. Ábra), ahol a vízszintes tengelyeken a két koncentrációt, a függőlegesen a mért jelet tüntetjük fel. A jel az első térnyolcadban egy felületet ad. Feltesszük, hogy a jel nulla, amikor mindkét koncentráció nulla. Ha éppen a Lambert-Beer esetet nézzük, akkor a jel az abszorbancia, és a függvény a következő alakú:

$$A = \varepsilon_1 l c_1 + \varepsilon_2 l c_2 \quad (1)$$

ahol  $\varepsilon$  moláris abszorbanciát,  $c$  pedig koncentrációt jelöl,  $l$  a fényút hossza a mintában és az 1 alsó index a mérendő anyagot, a 2 alsó index a zavaró anyagot jelöli.



1. Ábra. A mért jel a koncentrációk függvényében ( $c_1$  és  $c_2$  koncentrációk,  $A$  a mért jel.)

### 3.2. Szelektivitás lineáris válaszfelület esetén

Amikor szelektivitásról akarunk beszélni, arra vagyunk kíváncsiak, hogy a zavaró anyag jelenléte mekkora hibát okoz a mérendő anyag koncentrációjának meghatározásában. Nézzük meg tehát a  $c_1$  koncentráció mérésének hibáját, amit a  $c_2$  koncentrációjú zavaró anyag okoz, abban az esetben, ha a válaszfelület lineáris. Az analitikában szokásos módon a relatív hibát fogjuk kiszámítani.

A válaszjelet  $y$ -nal jelölve, a válaszfüggvény tehát a következő:

$$y = a_1 c_1 + a_2 c_2 \quad (2)$$

ahol az  $a$ -k konstansok. Zavaró anyag távollétében  $c_1$ -et úgy kapnánk meg, hogy  $y$ -t osztjuk  $a_1$ -gyel. De a zavaró anyag jelenlétében is kénytelenek vagyunk így számolni, ha annak koncentrációját nem ismerjük:

$$\hat{c}_1 = \frac{y}{a_1} = c_1 + \frac{a_2}{a_1} c_2 \quad (3)$$

ahol a baloldalon a sapka a  $c_1$  fölött azt jelenti, hogy a jel mérése alapján becsült  $c_1$  koncentrációról van szó. Innen a relatív hiba:

$$\frac{\hat{c}_1 - c_1}{c_1} = \frac{a_2 c_2}{a_1 c_1} = K_{12} \frac{c_2}{c_1} = \frac{1}{k_{12}} \frac{c_2}{c_1} \quad (4)$$

ahol  $K_{12}$  illetve  $k_{12}$  konstansok az  $a_2/a_1$  hányados illetve

reciprokának jelölésére szolgálnak. Amint látjuk a relatív hiba, ami egyben módszeres hiba, egyenesen arányos a két komponens koncentrációjának hányadosával. Ha a  $k_{12}$  konstans nagy, akkor  $c_1$ -hez képest  $c_2$  viszonylag nagy is lehet, a relatív hiba mégsem lesz nagy. Ha pedig a relatív hiba maximális megengedett értéke adott, akkor  $k_{12}$  segítségével kiszámíthatjuk a zavaró és a mérendő anyag maximálisan megengedhető koncentrációarányát, vagyis behatárolhatjuk a módszer alkalmazási körét. A  $k_{12}$  konstans tehát elég jól jellemzi a szelektivitást. Ezért nevezhető szelektivitási tényezőnek vagy röviden szelektivitásnak is. Természetesen  $K_{12}$  is használható lenne, csak nem elég intuitív.

Lineáris módszereket szoktak olyankor is szelektívnek tekinteni, ha  $a_1$  értéke nagyobb mint  $a_2$ , azaz ha  $k_{12}$  nagyobb mint 1. Ez a feltétel sokatmondó, hiszen azt mutatja, hogy a két anyag közül melyik befolyásolja a jelet nagyobb mértékben, ha azonos koncentrációkról vagy azonos koncentrációváltozásokról van szó. Így lineáris módszerek esetében elég természetes, hogy aszerint nevezzenek egy módszert az egyik vagy a másik anyagra szelektívnek, hogy  $k_{12}$  1-nél nagyobb vagy kisebb.

### 3.3. Szelektivitás nem lineáris válaszfelület esetén

A fenti gondolatsor alapján lineáris jelfüggvény esetén a szelektivitási tényezőre vagy szelektivitásra elég természetesen adódik egy mérőszám. Kérdés, hogy ki lehet-e terjeszteni a szelektivitási tényezőnek ezt a fogalmát nemlineáris jelfüggvények esetére is? Azaz mikor lesz a zavaró anyag által okozott relatív hiba egyenesen arányos a  $c_2/c_1$  hányadossal? Egy rövid levezetéssel belátható, hogy ez akkor és csak akkor lehetséges, ha a mért jelet leíró válaszfüggvényben a  $c_1$  és  $c_2$  koncentrációk mindig csak ugyanabban a lineáris kombinációban szerepelnek. Maga a függvény azonban lehet akármilyen bonyolult is.

Példaként vehetjük a potenciometriás Nikolsky egyenletet (5. egyenlet):

$$E = E_1^0 + \frac{RT}{z_1 F} \ln(c_1 + K_{12} c_2^{\frac{z_1}{z_2}}) \quad (5)$$

Itt a szokásos jelöléseket alkalmaztuk, csak aktivitások helyett koncentrációkat szerepeltettünk a tárgyalás egységessége érdekében. Az 1 index itt is a mérendő, a 2 a zavaró komponenszt jelöli.

Ha  $z_1 = z_2$ , azaz a két ion töltésszáma azonos, akkor a Nikolsky egyenlet kielégíti az előbb megfogalmazott feltételt, hiszen a válaszjel csak a  $c_1 + K_{12} c_2$  lineáris kombinációtól függ. Ha viszont  $z_1$  és  $z_2$  nem egyenlők, akkor a feltétel nem teljesül. Ezek szerint a szelektivitási tényező megszokott fogalma a Nikolsky egyenlettel leírható potenciometriás méréseknél csak akkor alkalmazható ha  $z_1 = z_2$ .

Nézzük meg, hogy mit jelent ez a furcsa eredmény a gyakorlatban. Alább numerikus példákat mutatunk be két táblázatban. Mindkét esetben  $K_{12}$  értéke 0,01, de míg az első esetben mindkét ion töltése 1, addig a második esetben  $z_1 = 1$  és  $z_2 = 2$ .

**1. Táblázat.** A Nikolsky egyenlettel számolt mérési hiba ha  $z_1=1$ ,  $z_2=1$ . A koncentrációk mértékegysége M.

$c_1$	$c_2$	$K_{12}c_2^{1/2}$	%-os hiba
$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-4}$	1
$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-6}$	1
$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-8}$	1

**2. Táblázat.** A Nikolsky egyenlettel számolt mérési hiba ha  $z_1=1$ ,  $z_2=2$ . A koncentrációk mértékegysége M.

$c_1$	$c_2$	$K_{12}c_2^{1/2}$	%-os hiba
$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	10
$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	100
$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	1000

Mindkét táblázatban olyan oldatok esetét mutatjuk be, melyekben a két komponens koncentrációja egyenlő, tehát  $c_2/c_1$  mindig 1. A közös koncentrációszint azonban  $10^{-2}$  és  $10^{-6}$  M között változik. Az 1. Táblázat esetében, vagyis ha  $z_1=z_2$ , a relatív mérési hiba mindhárom sorban azonos, összhangban avval, hogy  $c_2/c_1$  mindenütt azonos. Értéke pedig 1%, összhangban avval, hogy  $K_{12}=0,01$ . A 2. Táblázat esetén viszont egészen más a helyzet. Bár  $c_2/c_1$  itt is azonos a három sorban, a relatív hiba 10%-ról 100%-ra, majd 1000%-ra változik. Valóban teljesül tehát amit fentebb állítottunk, hogy míg  $z_1=z_2$  esetén a relatív hiba csak a két koncentráció arányától függ, addig ha  $z_1$  és  $z_2$  különböznek, már nincs így.

A 2. Táblázat rávilágít arra is, hogy amikor a szokványos, vagyis a lineáris függvényeknél megszokott szelektivitás fogalom nem használható, akkor furcsa helyzetek állhatnak elő. A 2. Táblázat adatai szerint azt se lehet megmondani, hogy az elektród – a lineáris fogalmaink szerint - melyik komponensre szelektív. Természetesen lehet a szelektivitást másképp is értelmezni, például a Nikolsky egyenlet szerint működő szenzorok esetén mondhatjuk azt, hogy a szenzor akkor szelektív az 1 anyagra ha  $K_{12}$  kisebb mint 1. Csak ekkor az intuitív elvárásainknak ellentmondó mérési eredményeket kaphatunk, amint a 2. Táblázat mutatja.

A bemutatott példából tehát azt a következtetést is levonhatjuk, hogy lehet ugyan a különféle analitikai módszereknél a szelektivitást más-más módon definiálni, de ekkor előfordulhat, hogy különböző módszereknél ugyanakkora szelektivitás, ugyanabban a mintában egészen más mérési hibát eredményez. Ez pedig rendkívül zavaró lehet azok számára, akik a mérési eredményeket használni akarják.

#### 4. Molekuláris lenyomatú polimerek és szelektivitásuk

A molekuláris lenyomatú polimerek (angolul „molecularly imprinted polymer”, röviden MIP) szelektív szorbensek, amelyek adszorpciós szelektivitásukat annak köszönhetik, hogy a polimer előállítás a majdan megköthető molekulaféleség (a „templát”) jelenlétében történik, és erre a polimer később „emlékszik”, jóllehet magát az illető molekulát a polimer elkészítése után eltávolítjuk a

polimerből. A molekuláris lenyomatú polimerekkel elérhető szelektivitás egyik bizonyítéka, hogy királis vegülettel történő lenyomatképzés esetén számos esetben sikerült királis felismerést biztosító polimert kapni. Ha a molekuláris lenyomatú polimer szemcséit folyadékkromatográfiás oszlopba töltjük és mintaként racém elegyet fecskendezünk be, akkor – egyes esetekben – alapvonalválasztás is elérhető.

A szelektivitás mennyiségi jellemzésével azonban itt is sok gond van. Ennek okait részben a fentebb már általánosságban ismertetett problémák okozzák, részben pedig a mérési eredmények, különösen a kromatográfiás mérési eredmények nem megfelelő interpretálása.

Ha szelektív adszorpcióról akarunk beszélni, akkor legalább két anyag adszorpcióját kell vizsgálnunk olyan oldatokból, amelyek mindkét anyagot tartalmazzák. A vizsgálat legtermészetesebb módja, hogy az egyensúly beállása után meghatározzuk a két anyag koncentrációját az oldatban és a szilárd fázison. Az így adódó izotermák kimérése és egyenleteik meghatározása nagyon munkaigényes és elméletileg is nehéz feladat. A MIP-ekkel kapcsolatos irodalom szinte egyáltalán nem foglalkozik vele. A MIP-ek esetén ugyanis még az egyes komponensek külön izotermáinak mérésével és az eredmények interpretálásával is sok gond van, amire az alábbiakban mutatunk rá.

#### 4.1. A templát izotermája a MIP-eken

A templát izotermáját sokféle MIP-re és sokféle közegben mérték már. Ezek a mérések részben az igen pontos frontális kromatográfiás módszerrel, de legtöbbször más, kevésbé pontos módszerekkel történtek. Meg kell itt jegyezni azonban, hogy a frontális kromatográfiás módszer alkalmazása nem mindig praktikus.

A sok eddigi kísérleti vizsgálat nem adott támpontot arra, hogy bármelyik izoterma modellt a többihez (és esetleges egyéb modellekhez) képest előnyben részesítsük. Nekünk ráadásul sikerült megmutatni, hogy a kevésbé precíz (pár százalékos mérési hibával jellemezhető) mérések esetén a modellek közt nem is nagyon lehet dönteni. Be tudtuk bizonyítani, hogy a Freundlich izotermára több koncentrációnagyságrenden át tökéletesen illeszkedő pontok pár százalékos hibahatáron belül bilangmuir izotermával is leírhatók. Ráadásul nem is csak egyetlen bilangmuir izotermával, hanem a jól illeszkedő bilangmuir izotermák sorával, melyeknek paraméterei egész távol eshetnek egymástól. Mindez azt jelenti, hogy a szokványos pontosságú mérési módszerek esetén megbízhatatlan a kapott izoterma típusa és megbízhatatlanok a bilangmuir paraméterek is. Ez azért különösen fontos a témánk szempontjából, mert a MIP-ek szelektivitását a bilangmuir izotermáik konstansainak összehasonlításával is szokták jellemezni.

#### 4.2. A MIP-ek szelektivitásának mérése elúciós kromatográfiás módszerrel

A MIP-ek szelektivitásának mérésére talán leggyakrabban használt módszer az, hogy a MIP szemcsékkel megtöltötenek egy folyadékkromatográfiás oszlopot és ide injektálják be a templát vagy más vizsgálni kívánt anyag oldatát. Az elúciós kromatográfiával való szelektivitás mérés



alapjául arra a feltételezésre támaszkodnak, hogy az egyes anyagok redukált retenciós ideje az álló és mozgó fázis közti megoszlási hányadosukkal egyenesen arányos. Ez a megállapítás azonban csak akkor igaz, ha a vizsgált megoszló anyag adszorpciós izotermája lineáris. Azonban a MIP-ek izotermája szinte soha nem lineáris. Ezért a csúcsmaximum helyzetéből nem lehet egy a megoszlás termodinamikájára jellemző adatot leolvasni.

Az itt vázolt nehézségekre és következményeikre több közleményben<sup>6-8</sup> és előadásban is felhívtuk a figyelmet. Megmutattuk, hogy a templát és más anyagok retenciós ideje változik a beinjektált minta koncentrációjával és hogy a retenciós időkből számított szelektivitások függnek a koncentrációtól, sőt az oszlop geometriai méreteitől is. Ez utóbbi jelenség a lineáris kromatográfiában gondolkodók számára teljesen váratlan, és avval a következménnyel jár, hogy ha ugyanazt a MIP-et két laboratóriumban is megvizsgálják az elució módszerrel, de nem azonos hosszúságú és belső átmérőjű oszlopokat használnak, akkor a szelektivitásra eltérő értékeket kapnak.

Mindez nem jelenti azt, hogy az elució kromatográfia teljesen alkalmatlan lenne a MIP-ek szelektivitásának vizsgálatára. Kvantitatív következtetésekre ugyan nem használható, de kvalitatív vizsgálatra alkalmas lehet.

Az eddigiekben elsősorban arról szövegtünk, hogy két anyagot külön injektálnak a MIP oszlopra. Kérdés hogy mi van együttes injektálás esetén? Ez a kérdés a legtöbbször fel sem vetődött, mert a jól megszokott lineáris kromatográfiában ennek nincs szerepe. A nemlineáris kromatográfiában viszont jól ismert a komponensek adszorpciója közti kölcsönhatásnak a létezése és a kromatográfiás csúcsok alakjára és helyzetére való hatása. Ez a hatás azon alapul, hogy a két anyag a kötőhelyekért verseng egymással. Márpedig ilyen versengési jelenség a MIP-eknél is van és jól ismert, pl. a MIP-ek u.n. binding assay alkalmazásainál, vagy MIP szenzorok alkalmazásánál. Jogosan vetődik fel tehát a kérdés, hogy miért nem vették észre ezt a jelenséget a MIP-ekkel végzett kromatográfiás méréseknél. Számítógépes szimulációkkal majd ezek alapján végzett mérésekkel kimutattuk, hogy pont azoknál a körülményeknél, ahol a MIP-ekkel legtöbbször dolgozni szoktak a jelenség hatása kicsi. Ugyanakkor viszont tudtunk a MIP-ekkel olyan kromatográfiás méréseket is végezni, amelyek csak ezen az alapon magyarázhatók.

#### 4.3. A MIP-ek előállítása és a szelektivitás

A molekuláris lenyomatképzés bonyolult folyamat és hatása a szelektivitásra kevéssé ismert. A jobb megértés céljából a lenyomatképzési polimerizációs folyamat kinetikáját vizsgáltuk<sup>9</sup>. A reakcióidő változtatásával különböző mértékben polimerizált mintákat állítottunk elő. A polimer kémiai irodalom alapján várt módon a templáttal kölcsönható u.n. funkcionális monomer és a keresztkötő monomer nem egyforma sebességgel fogyott a reakció során. Ebből az adódott, hogy az éppen képződő polimer összetétele az előállítás folyamán állandóan változott. Ez a jelenség megmagyarázhatná, hogy miért van a MIP-eken többféle kötőhely, amit az irodalomban gyakran feltételeznek. Érdekes módon mégis azt tapasztaltuk, hogy a polimerizációs idő függvényében a MIP-ek u.n. imprintelési

tényezője nem változik jelentősen az azonos ideig polimerizált kontroll polimerrel szemben. Ez értelmezhető úgy is, hogy a változó összetételű polimer kötőhelyeloszlása változatlan.

#### 5. Szelektív adszorpció folyadékok határfelületén

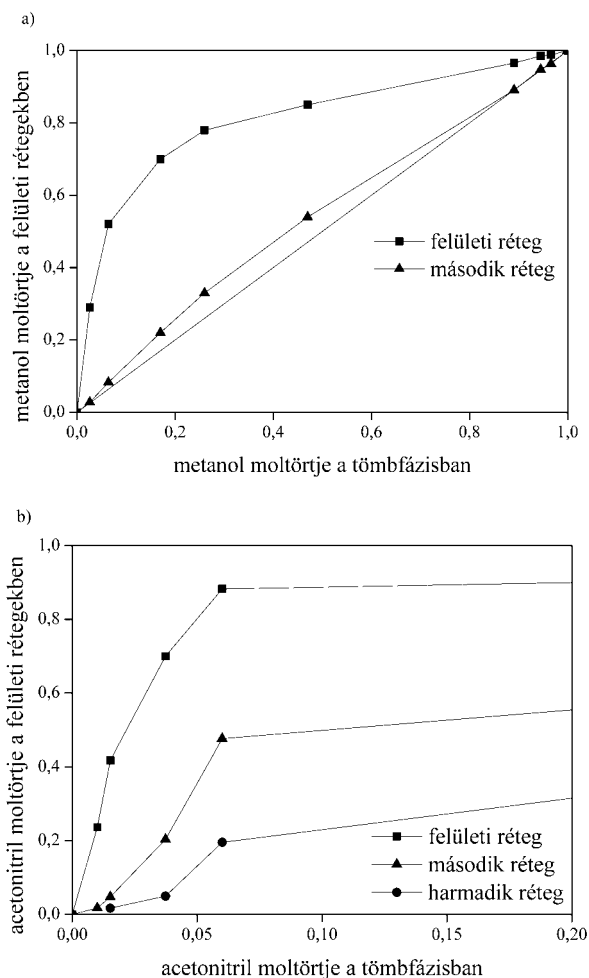
Korábban aktívan kutattuk a lágy PVC-ből készült ionszelektív membránok felületi összetételét, a felületen bekövetkező adszorpciós jelenségeket. A lágy PVC membránok felületi rétege viszonylag egyszerű folyadéknak tekinthető. Ez indított arra, hogy számítógépes modellezési módszerekkel is vizsgáljuk folyadékok határfelületi viselkedését és az ott bekövetkező szelektív adszorpciót.

Folyadékelegyek és oldatok (határ)felületeinek egyik fontos sajátága, hogy ott más az összetétel mint a folyadék belsejében. Ezt az adszorpciós jelenséget a számítógépes modellezés módszereivel is lehet vizsgálni. Nem egyszerű kérdés azonban annak eldöntése, hogy mit tekintünk a folyadék határfelületi rétegének, ha a rendszer molekuláris felbontásban látjuk. A probléma abból ered, hogy a folyadékok felülete az ún. kapilláris hullámok miatt molekulárisan érdes. A jelenség figyelmen kívül hagyása (azaz a valódi, hullámos felület helyett a Gibbs-féle elválasztó felület használata) szimulációkban a számított tulajdonságok nagy, rendszeres hibájához vezet. E probléma megoldására csoportunkban nemrégiben kifejlesztettünk egy módszert, melynek segítségével meg tudjuk határozni az ellenkező fázissal kontaktusban lévő (onnan „látható”), azaz valóban határfelületi molekulák pontos listáját<sup>10</sup>. A módszer lényege az, hogy a felületre a molekulákhoz hasonló méretű gömböket ejtünk rá képeletben, és amelyik molekula megállítja valamelyik gömböt, azt felületinek tekintjük. Így előáll a felületinek tekinthető molekulák listája. Ha az eljárást a határfelületiként azonosított molekulák figyelmen kívül hagyásával megismételjük, a felület alatti második (harmadik, stb.) réteget alkotó molekulákat is azonosíthatjuk. Módszerünk pontosság és időigény tekintetében hatékonyabbnak bizonyult az irodalomban újabban megjelent hasonló módszerekkel<sup>11</sup>.

Az adszorpció vizsgálata a rétegek előbbi módon történő meghatározása alapján azt jelenti, hogy megvizsgáljuk az egyes rétegek összetételét, és azt egymáshoz illetve a folyadék belsejének összetételéhez hasonlítjuk. A 2. Ábra mutatja metanol-víz és acetonitril-víz elegyek adszorpciós viselkedését. Az ábra szerint az első rétegben a metanol szelektíven feldúsul az oldat belsejéhez képest. A második réteg összetétele viszont már alig tér el az oldat belsejétől<sup>12</sup>. Ez és más hasonló eredményeink azt mutatják, hogy a folyadékok határfelületén bekövetkező adszorpció egyes esetekben szinte teljesen az első rétegre korlátozódik. Érdekes kivételnek bizonyult ebből a szempontból az acetonitril vizes oldata, ahol az adszorpció legalább az első három molekuláris rétegre kiterjed<sup>13</sup>.

#### 6. Összefoglalás

Az analitikai kémiában alapvető szerepe van a szelektivitásnak. Ennek ellenére a szelektivitás fogalma meglehetősen tisztázatlan, különösen ha a szelektivitást



2. Ábra. Metanol (a) és acetonitril (b) moltipörjtje vizes oldatok felületi rétegekben a tömbfázisbeli moltipört függvényében.

mennyiségileg is megpróbáljuk jellemezni. Az elmúlt néhány évben többféle szelektív jelenséggel foglalkoztunk és e munka kapcsán feltűnt a szelektivitás fogalmának tisztázatlansága, illetve az, hogy az egyes általunk művelt részterületeken mennyire eltérően definiálják a szelektivitást. Munkánkban elemeztük ezeket az ellentmondásokat és felderítettük a szelektivitás egységes mennyiségi jellemzésének korlátait. Megmutattuk, hogy a molekuláris lenyomatú polimerek legfőbb sajátosságának, a szelektivitásuknak a jellemzése mennyire megoldatlan. Jelenleg aktívan foglalkozunk olyan módszer keresésével, amelyik alkalmas lehet a MIP-ek szelektivitásának jellemzésére. Ehhez az elegyadszorpciós izotermák valamilyen általános alakját kell meghatároznunk.

Az adszorpció szelektivitása viszonylag egyszerű körülmények közt volt vizsgálható folyadékelegyek számítógépes szimulációjával. Ezt a munkát felületaktív anyagok adszorpciójának tanulmányozásával egészítjük ki, ami segíthet a bonyolultabb jelenségek megértésében is.

### Köszönetnyilvánítás

J. P. publikációt megalapozó kutatása a TÁMOP 4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság

Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése országos program című kiemelt projekt keretében zajlott (projektszám: A2-SZJÓ-TOK-13-0030). A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg. Köszönettel tartozunk az OTKA Irodának (K104724).

### Hivatkozások

- den Boef, G.; Hulanicki, A. *Pure Appl. Chem.* **1983**, *55*, 553-556.
- EURACHEM/WELAC Chemistry, *WELAC Guidance Document No. WG D2*, 1<sup>st</sup> edn., Teddington, **1993**.
- U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), *Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation*, Rockville, **2001**, pp. 4-5.
- European Medicines Agency, *EMA/CHMP/EWP/192217/2009, Guideline on bioanalytical method validation*, London, **2011**, p. 5.
- Vessman, J.; Stefan, R. I.; Van Staden, J. F.; Danzer, K.; Lindner, W.; Burns, D. T.; Fajgelj, A.; Muller, H. *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 1381-1386.
- Toth, B.; Pap, T.; Horvath, V.; Horvai, G. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1119*, 29-33.
- Toth, B.; Pap, T.; Horvath, V.; Horvai, G. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *591*, 17-21.
- Toth, B.; Horvai, G. *Top. Curr. Chem.*, **2012**, *325*, 267-306.
- Zsebi, Z.; Horvath, V.; Safrany, A.; Horvai, G. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *608*, 197-203.
- Partay, L. B.; Hantal, G.; Jedlovszky, P.; Vincze, A.; Horvai, G. *J. Comput. Chem.* **2008**, *29*, 945-956.
- Jorge, M.; Jedlovszky, P.; Cordeiro, M. N. D. S. *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 11169-11179.
- Partay, L. B.; Jedlovszky, P.; Vincze, A.; Horvai, G. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 5428-5438.
- Partay, L. B.; Jedlovszky, P.; Horvai, G. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 18173-18183.

### Selectivity in analytical chemistry

Selectivity is a fundamental property of analytical methods. Without selective methods we could not measure the concentration of individual analytes in mixtures. Despite of its importance good general definitions of selectivity are not available. Textbooks generally neglect this question. Official documents require typically that the effect of interferents on the analytical results should be negligible. But testing such a requirement in every possible sample is virtually impossible. Since selectivity is only qualitatively defined there is no generally valid measure of analytical selectivity, either. On the other hand there exist selectivity measures for individual measurement techniques and devices (e.g. ion selective electrodes). However, the meaning of these selectivity measures is also varying.

This paper summarizes the authors' recent findings in relation to different problems with selectivity. In the first part linear methods are discussed where Eq. 2 holds with  $y$  being the measured signal and the  $c$ -s being concentrations of the analyte (1) and an interferent (2). With such methods the ratio of the sensitivities, i.e.,  $a_1/a_2$  is a reasonable measure of selectivity. According to Eq. 4 this ratio can tell us the relative error of measurement for any given concentration ratio  $c_1/c_2$ . Alternatively, if there is a tolerance limit for the relative error we can establish the maximum allowable concentration ratio from the selectivity.

We could show that for nonlinear methods equation 4 and the definition of selectivity measure derived from it remain applicable if and only if the concentration dependence of the measured signal is quasi linear. By this we mean that the concentrations of the analyte and the interferent are always found in the same linear combination in the response function. As an example the Nicolsky equation from potentiometry (Eq. 5) has been considered. For equal charges of the two ions the mentioned condition is met but for different charges not. Tables 1 and 2 show what follows from this difference. At constant concentration ratio of 1 but at varying concentration levels the relative measurement error is constant in Table 1 but changes enormously in Table 2.

Molecularly imprinted polymers (MIP) are another problem field with selectivity. There are no generally accepted methods to characterize the selectivity of these selective sorbents. Due to the wide range of applications of these polymers as HPLC or SPE stationary phases, as sensors, as binding assay materials, etc. the selectivity of the same material may be characterized in each field by different way, yielding different values. The most common method for measuring MIP selectivity occurs on MIP filled HPLC columns by measuring retention times of peaks. The comparison of the retention times of different compounds occurs, however, by methods of linear chromatography despite the known nonlinearity of the respective adsorption isotherms. This leads to such problems

that the measured selectivity values depend on column length and column diameter.

The selectivity of MIPs might be derived from their competitive adsorption isotherms but this is a hard and apparently unbroken way. Isotherms of individual compounds have been often measured and may be used for giving estimates about selective behavior. Yet it could be shown that the type and the parameters of the isotherms are very poorly defined by measurements of typical precision.

Surprisingly the known and existing competition between coinjected compounds in MIP chromatography has not been observed and reported. One could show by simulations that under the usual experimental conditions this effect is so small that it is not obvious unless one is very carefully looking for it.

An interesting aspect of selectivity is the selective adsorption on the surfaces of liquid mixtures. Our computer simulations have shown that in some cases, like methanol-water mixtures, adsorption is essentially limited to a single top layer of molecules (Fig. 2/a) . This behavior is quite typical for a number of mixtures but there are exceptions like the acetonitrile-water system (Fig. 2/b). To arrive at this result a new method had to be developed for defining the first layer of molecules on the molecularly rough liquid surface. This method has been termed the ITIM method from „identification of truly interfacial molecules”.

# A szén-dioxid oldódása ionos folyadékokban: kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások, és jelentőségük

HOLLÓCZKI Oldamur<sup>a,\*</sup>

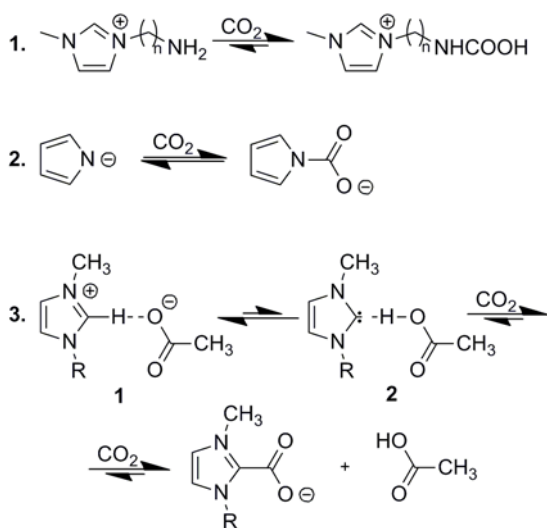
<sup>a</sup>Universität Bonn, Mulliken Center for Theoretical Chemistry, Beringstr. 4+6, D-53115 Bonn, Németország

## 1. Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben igen nagy népszerűségnek örvendő ionos folyadékok (IF-ok)<sup>1</sup> sokoldalú tulajdonságai és ennek köszönhető számos felhasználási módjai között a szén-dioxiddal képzett rendszereik, illetve azok fizikai-kémiai sajátosságai külön figyelemet érdemelnek. A szén-dioxid (fizikai) oldhatósága ionos folyadékokban általában nagyobb, mint más szerves oldószerekben, illetve mint más gázoké ugyanezen vegyületekben.<sup>2</sup> Ezek a tulajdonságok az ionos folyadékokat szén-dioxid más gázoktól való elválasztására is alkalmazhatóvá teszik, így pl. ipari füstgázok semlegesítésére.<sup>3</sup> Az oldódás és a szelektivitás mértéke az ionos folyadék szerkezetének megváltoztatásával befolyásolható,<sup>4</sup> s mivel a potenciális ionos folyadékok száma igen nagy,<sup>1</sup> ez az oldódás mértékének, tehát a folyamat hatékonyságának széles tartományban való hangolására ad lehetőséget.<sup>3</sup> Az oldhatóság növelésének egyik leghatékonyabb módja az ionos folyadék ionokra olyan funkciós csoportok beépítése, melyek a szén-dioxiddal reagálva kémiai abszorpciót tesznek lehetővé. Ezek közül három csoport kiemelendő: 1. (aminoalkil)alkilimidazólium sók;<sup>3</sup> 2. heterociklusos amid

A kémiai abszorpcióval általában 1:1 oldószer:CO<sub>2</sub> mólarányú, reverzibilis elnyelődés is elérhető,<sup>3</sup> mely sokszor akár kis hőközlés hatására is regenerálható, így noha a vizes aminoldatok tömegszázalékra vonatkoztatott hatékonysága (kisebb moláris tömegük következtében) és áruk jelenleg kedvezőbb, az ionos folyadékok e célokra való ipari alkalmazása egy potenciális fejlesztési területnek tekinthető. Az IF-CO<sub>2</sub> rendszerek egy másik jellemzője, hogy az ionos folyadékok szuperkritikus szén-dioxidban a fentiek ellenére is gyakorlatilag oldhatatlanok,<sup>2</sup> így az ionos folyadékos fázisból (pl. reakcióelegy) szuperkritikus extrakcióval, majd a CO<sub>2</sub> ezt követő egyszerű eltávolításával igen tiszta, oldószermentes terméket állíthatunk elő.<sup>2</sup> E nagyhatékonyságú extrakciós eljárás kétfázisú katalitikus rendszerek kialakításában is hasznosítható.<sup>9</sup>

A fenti egyedülálló tulajdonságok mindegyikében kulcsszerepet játszanak az oldott szén-dioxid molekulák és az ionos folyadék oldószer ionjai közötti kölcsönhatások, így nem meglepő, hogy számos kutatás irányult ezek alapos megismerésére.<sup>4,10</sup> E kölcsönhatásokat felderítendő legtöbbször azt vizsgálták, hogy az ionos folyadék szerkezetének szisztematikus változtatásával hogyan változik a CO<sub>2</sub> oldhatósága. E tanulmányok eredményei általában azt mutatják, hogy a kation lecserélésével a szén-dioxid oldhatósága csak kis mértékben, míg az anion megváltoztatásával jóval nagyobb mértékben befolyásolható.<sup>4</sup> Ez – összhangban a CO<sub>2</sub> Lewis sav karakterével – arra enged következtetni, hogy az oldott gázmolekula a legerősebb kölcsönhatásokat a Lewis bázis anionnal alakítja ki,<sup>11</sup> s a kation szerepe az oldódásban kicsi vagy elhanyagolható. Ezekkel az állításokkal összhangban, az ionos folyadékként leggyakrabban használt imidazólium sókban a kation és a fizikailag oldott gázmolekulák között molekuladinamikai szimulációk során hidrogénhid jellegű kölcsönhatásokat nem sikerült kimutatni.<sup>10</sup> Ennek ellenére érdemes kiemelni, hogy az anionok sokkal nagyobb változhatóságban kerültek vizsgálatra, mint a kationok, és a lehetséges kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások sem feltétlenül merülnek ki hidrogénhidak jelenlétében vagy hiányában. E megfontolások alapján tehát felmerül a kérdés, hogy vajon valóban semmilyen szerepe sincs a kationnak a szén-dioxid fizikai oldódásában?



1. Ábra. Szén-dioxid ionos folyadékokban való kémiai abszorpciójának lehetőségei.

anionokattartalmazóvegyületek;<sup>3</sup> illetve 3. dialkilimidazólium acetátok (1. ábra).<sup>5</sup> Ezek közül a jelen munka szempontjából érdemes kiemelni az utolsó csoportot, melyekben – a kezdeti elméleti és gázfázisú spektroszkópiai vizsgálatok,<sup>6</sup> majd az ezt követő folyadékfázisú, reaktivitásra irányuló indirekt kísérletek<sup>7</sup> és molekuladinamikai szimulációk<sup>8</sup> alapján – az oldott CO<sub>2</sub>-dal reakcióba vihető karbén (2) képződhetnek.

Az említett, elsődleges fontosságúnak tartott anion-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások egy Lewis sav-bázis pár kialakulására vezethetők vissza, ennél fogva bázikusabb anionokhoz az oldott gázmolekulák nagyobb erősséggel kötődnek.<sup>11</sup> Elméleti kémiai DFT számítások alapján ennek megfelelően az acetát ionok (gázfázisban) jóval stabilabb komplexet képeznek a szén-dioxiddal, mint pl. a halogenid ionok.<sup>11</sup> Egy közelmúltban megjelent közlemény szerint,<sup>12</sup>

\*Tel.: +49228760441; fax: +49228732651; e-mail: holloczki@gmail.com

molekuladinamikai szimulációk alapján az 1-etil-3-metilimidazólium acetátban fizikailag 1:1 arányban oldott szén-dioxid szénatomja, és az oldószer anionjának oxigénatomja közötti távolság mindössze  $\sim 150$  pm, ami egy igen erős, kovalens kötés jelenlétére utal. Egy ilyen erős, jelentős töltésátmenettel járó kölcsönhatás vélhetően nagymértékben befolyásolja az acetát ion bázikusságát és a szén-dioxid molekula elektrofilicitását, melyek az 1. ábrán látható 3. reakcióhoz elengedhetetlenek. Ezen eredmények alapján tehát felvetődik a kérdés, hogy ez a reakció hogy megy végbe az erős anion-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások ellenére? A fenti kérdések megválaszolására az 1-etil-3-metilimidazólium acetátban fizikailag oldott szén-dioxidra elméleti számításokat végeztünk, megfigyelve az oldószer és az oldott gázmolekula közötti kölcsönhatásokat,<sup>13</sup> valamint ezek hatását a karbén képződésére, illetve az ionos folyadék hatását a szén-dioxid elektrofilicitására.<sup>14</sup>

## 2. Vizsgált rendszerek és alkalmazott módszerek

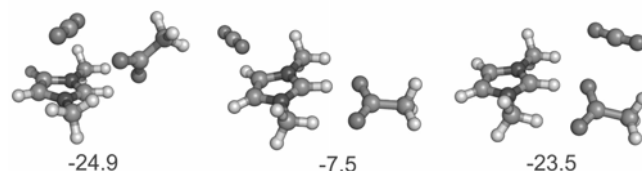
Az 1-etil-3-metilimidazólium acetát és a szén-dioxid kölcsönhatását felderítendő *ab initio* molekuladinamikai szimulációkat (AIMD) végeztünk a CP2k program<sup>15a</sup> segítségével négy különböző rendszerre: 1. egyetlen, izolált ionpár gázfázisban; 2. egyetlen, izolált ionpár és egy szén-dioxid molekula gázfázisban; 3. 36 ionpár; 4. 36 ionpár és egy molekula CO<sub>2</sub>. A számítások periodikus határfeltételek mellett történtek egy 2121,24 élhosszúságú kocka alakú szimulációs dobozon, 350 K hőmérsékleten. A kvantumkémiai számítások a B97-D/6-311+G\*\* sűrűségfunkcionál módszerrel történtek a Gaussian 09 programcsomaggal,<sup>15b</sup> az imidazólium kation etilcsoportját metil szubsztituenssel helyettesítve. A számítások további részletei a 13 és 14 sz. irodalmi hivatkozásban találhatóak.

## 3. Eredmények és tárgyalás

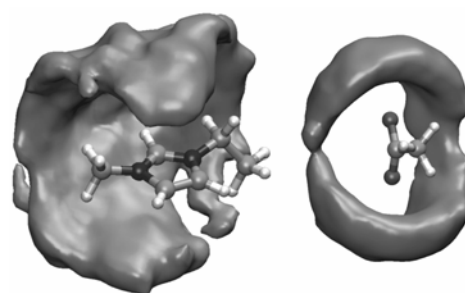
### 3.1. A fizikailag oldott szén-dioxid molekula kölcsönhatása az oldószerrel

A DFT számításokkal kapott eredmények szerint<sup>14</sup> a legerősebb kölcsönhatás gázfázisban valóban az acetát anionnal alakulhat ki ( $-47.9$  kJ/mol), mely megelőzi nem csak az 1-etil-3-metilimidazólium kationnal ( $-14.4$  kJ/mol) való kölcsönhatást, de a karbén hipovalens szénatomjával kialakított kovalens kötés képződésének energiáját is ( $-37.7$  kJ/mol)! Ezen adatok alapján tehát azt a következtetést vonhatnánk le, hogy a szén-dioxid karbénnel képzett komplexének kísérletileg is igazolt kialakulása helyett e gáznak fizikailag oldott állapotban kellene maradnia. Ez a kép kissé módosul, amennyiben nem csak egy iont vesszünk figyelembe a kölcsönhatások erősségének vizsgálatakor, hanem egy ionpárt (2. ábra). Az 1-etil-3-metilimidazólium acetát ionpárral a szén-dioxid molekula érdekes módon jóval gyengébben hat kölcsön ( $-24.9$  kJ/mol, 2. ábra), mint a „szabad” anionnal, tehát a kation jelenléte az anion-CO<sub>2</sub> kölcsönhatást jelentősen legyengíti.<sup>14</sup> Ennek ellenére az e rendszer potenciálisenergia-felületén talált minimumok, azaz az egyes izomerek relatív energiájának elemzése alapján megállapítható, hogy az anionnal való kölcsönhatás ez esetben is jóval nagyobb, mint a kationnal, hiszen azok az izomerek jelentősen stabilabbnak mutatkoztak, melyekben

a szén-dioxid molekula az anionhoz közel helyezkedik el, míg a kationtól való távolságtól a rendszer energiája kevésbé függ (2. ábra).<sup>14</sup> Ez a hatás az e rendszeren elvégzett AIMD szimuláció alapján is kimutatható, hiszen míg a szén-dioxid molekula az acetát ion oxigénatomjaitól nem távolodik el, a kation esetén ilyen kitüntetett orientáció nem figyelhető meg (3. ábra).<sup>14</sup>



2. Ábra. A szén-dioxid és egy ionpár 1,3-dimetilimidazólium acetát ionpár kölcsönhatásának energiája néhány kiválasztott minimumban.



3. Ábra. A szén-dioxid molekula 1-etil-3-metilimidazólium acetát egyetlen ionpárja körüli mozgásának eloszlása AIMD szimulációk alapján.

Az ionos folyadék ionjai és az oldott gázmolekula közötti kölcsönhatások mindkét fenti eredménytől eltérőek a folyadék modelljeként, AIMD szimulációk segítségével vizsgált, 36 1-etil-3-metilimidazólium acetát ionpárt és egy szén-dioxid molekulát tartalmazó rendszerre. A radiális eloszlásfüggvények (RDF-ek, 4. ábra) vizsgálata alapján megállapítható, hogy a várakozásoknak megfelelően erős acetát-CO<sub>2</sub> kölcsönhatás mellett a kationok is jelentős rendezettséget mutatnak az oldott molekula körül, amely említésre méltó kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatás jelenlétére utal.<sup>13</sup> Amennyiben megvizsgáljuk, hogy az egyes ionok a térben hogy helyezkednek el a CO<sub>2</sub> molekula körül (4. ábra), a jelenség megmagyarázható. Az acetát-CO<sub>2</sub> kölcsönhatás egy Lewis sav-bázis komplex kialakulásával értelmezhető, mely a szén-dioxid szénatomja, és az anion oxigénatomja közötti „kötés” kialakulásával jár, s így jelentős irányítottsággal rendelkezik. Ennélfogva az acetát ionok csak e szénatom körül, egy keskeny sávban helyezkedhetnek el (4. ábra), mely jelentősen korlátozza a kölcsönhatásban résztvevő anionok számát.<sup>13</sup> Ezzel szemben a kationok  $\pi$ -rendszerével nem irányított kölcsönhatások alakulnak ki, s így azok a CO<sub>2</sub> molekulát gyakorlatilag teljesen körbezárhatják egy kationkalitkaként is értelmezhető szolvátburokban. Ennek következményeképp az átlagosan 1,38 anionnal szemben hozzávetőlegesen öt kation veszi körül a gázmolekulát, s így noha az egyes kation-CO<sub>2</sub> párokon belül a kölcsönhatások jóval gyengébbek, mint az anion esetén, gyakoriságuk (s ezért teljes erősségük) miatt a kationok hasonló mértékben járulnak hozzá a szolvatációhoz.<sup>13,14</sup>

Ha megfigyeljük, hogy az egyes ionok CO<sub>2</sub>-től való távolságával a gázmolekula geometriája hogyan változik, további érdekességeket figyelhetünk meg. Az acetát

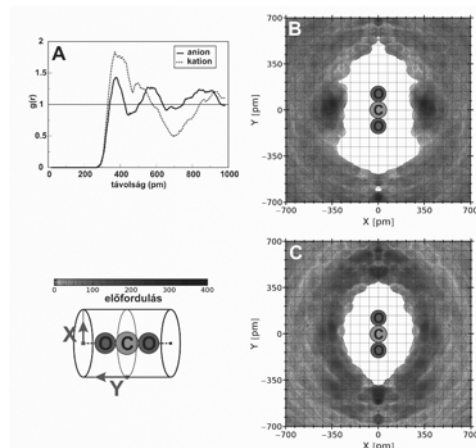
ionok közelítésére a szén-dioxid molekula számottevően meghajlik.<sup>13</sup> Azt várhatnánk, hogy a szén-dioxid ilyen módon karboxilcsoporthoz hasonló csoporttá alakításával a CO<sub>2</sub>-kation kölcsönhatás erősebbé válik, s így egyfajta kooperatív solvatációt figyelhetünk meg. Érdekes módon ennek épp az ellenkezőjét tapasztalhatjuk: a kationok láthatóan eltávolodnak a CO<sub>2</sub> molekulától, amennyiben az meghajlik.<sup>13</sup> Ez arra utal, hogy az anionokkal ellentétben a kationok a lineáris CO<sub>2</sub> molekulával tudnak erősebb kölcsönhatást létesíteni, ezért nem *kooperatív*, hanem *kompetitív* solvatációról beszélhetünk. Láthattuk, hogy a folyadék fázisban a nagyobb számúknál fogva a kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatások jelentősége nagyobb, mint a gázfázisban, s így e versengés az oldatban jelentősebb. Ezt jól tükrözi, hogy míg a solvatburokban megfigyelhető átlagos C<sub>CO<sub>2</sub></sub>-O<sub>acetát</sub> távolságok nagyobbak (300,9 és 320,8 pm), az átlagos C<sub>CO<sub>2</sub></sub>-C<sub>2,kation</sub> távolságok jelentősen kisebbek (456,4 és 397,5 pm) a folyadékfázisú AIMD szimulációkban, mint a gázfázisúakban.<sup>14</sup>

### 3.2. A fizikailag oldott szén-dioxid molekula solvatációjának hatása a kémiai oldódásra

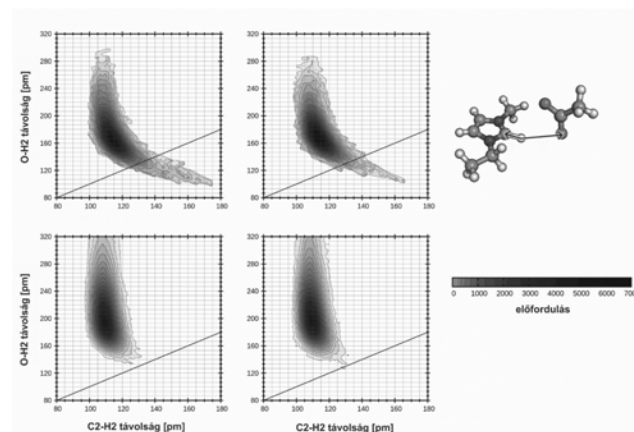
Az előzetes irodalmi adatok, valamint a fenti elméleti kémiai számítások alapján látható, hogy az acetát ion és a szén-dioxid molekula között igen erős kölcsönhatás alakul ki, amely vélhetően hatással van mind a karbén kialakulására, mind a karbén szén-dioxiddal való, kémiai oldódást eredményező reakciójára. Az ecetsav protonaffinitása gázfázisú kvantumkémiai számítások alapján valóban jelentősen lecsökken a szén-dioxid molekula jelenlétében (B97-D/6-311+G\*\* szinten 1483,1 kJ/molról 1457,6 kJ/molra).<sup>14</sup> Az 1,3-dimetilimidazólium acetát egyetlen ionpárjának korábban leírt karbén-ecetsav komplexévé való átrendeződését szén-dioxid jelenlétében megvizsgálva látható, hogy a karbén relatív energiája kissé (B97-D/6-311+G\*\* szinten 5,3 kJ/molal) megnő,<sup>14</sup> azaz a fenti megfontolásokkal összhangban ebben a rendszerben a kationról anionra történő protontranszfer a gázmolekula hatására visszaszorul.

Míg az egyetlen ionos folyadék ionpárból és a szén-dioxid molekulából álló rendszerre az AIMD szimulációk szintén a karbén visszaszorulását mutatják, addig a folyadékfázist leíró két rendszer összehasonlításából egészen más következtetéseket vonhatunk le. Az 5. ábrán jól látható, hogy a folyadékfázisra vonatkozó AIMD szimulációk során észlelhető, karbénként értelmezhető állapotok betöltöttsége az egyetlen ionpár esetéhez képest jelentősen lecsökken,<sup>8,14</sup> ami az ionos származékokat általában stabilizáló „töltéshálózat”<sup>16</sup> jelelétével magyarázható. Ennek ellenére a szokatlanul hosszú C2-H2 kötéshosszak alapján az oldat nagy bázikusságára, tehát a karbén kialakulásának lehetőségére következtethetünk. Ehhez a rendszerhez egy szén-dioxid molekulát hozzáadva érdekes módon nem a C2-H2 kötéshosszak megrövidülését, és a H2-O<sub>acetát</sub> távolságok megnövekedését tapasztaljuk, hanem éppen ezek ellenkezőjét (5. ábra)!<sup>14</sup> Nyilvánvaló, hogy a karbén keletkezésének visszaszorulását a fentebb leírt, anion-CO<sub>2</sub> komplexek kialakulását megzavaró kation-CO<sub>2</sub> és anion-kation kölcsönhatások is megakadályozzák, lehetővé téve a kémiai abszorpció végbemenetelét.<sup>14</sup> A szén-dioxid hozzáadásának a karbén keletkezését enyhén katalizáló hatását úgy értelmezhetjük, hogy a fent említett

„ionhálózatba” semleges oldott molekulákkal pontszerű hibákat idézünk elő, ezáltal csökkentve annak semleges molekulák keletkezését gátló hatását.<sup>14</sup>



4. Ábra. A szén-dioxid molekula solvatációját 1-etil-3-metilimidazólium acetátban. A: az anion és a kation tömegközéppontjának szén-dioxid szénatomja körüli radiális eloszlásfüggvényei. B: az anion oxigénatomja ill. C: a kation tömegközéppontjának helyzete a szén-dioxid molekula körül.



5. Ábra. A karbén képződésében jelentős kötéshosszak változása a négy, AIMD szimulációkkal vizsgált rendszerben. Bal fent: egyetlen ionpár; jobbra fent: egyetlen ionpár és egy CO<sub>2</sub>; balra lent: 36 ionpár; jobbra lent: 36 ionpár és egy CO<sub>2</sub>.

### 4. Összefoglalás

A jelen közleményben összefoglalt eredmények<sup>13,14</sup> a szén-dioxid molekula kémiai, és ipari szempontból is érdekesnek mondható, imidazólium acetát ionos folyadékokban történő kémiai abszorpciójának megértéséhez járulnak hozzá. Megállapítható, hogy a fizikai abszorpcióban nem csak az anionok, hanem a kationok is jelentős szerepet vállalnak, az anionhoz képest páronként ugyan gyengébb, de az oldott gázmolekula nagyobb felületén érvényesülő kölcsönhatásokon keresztül. Ez a kation-CO<sub>2</sub> kölcsönhatás az anion-kation párok között kialakuló vonzó hatás mellett visszaszorítja a stabil anion-CO<sub>2</sub> komplexek képződését, mely az acetát ionok karbénképzésben kiemelkedő szerepet játszó bázikusságának, valamint a szén-dioxid molekula a karbénrel való reakciója szempontjából fontos elektrofilitásának csökkenését eredményezné.

### Köszönetnyilvánítás

H. O. köszönetét fejezi ki Prof. Nyulászi Lászlónak. Ezen felül köszönet illeti az Alexander von Humboldt alapítványt, amely H. O. posztdoktori tartózkodását finanszírozza.

### Hivatkozások

- (a) Wasserscheid, P.; Welton, T. *Ionic Liquids in Synthesis*, 2nd ed.; Wiley-VCH Verlag: Weinheim, 2007. (b) Rogers, R. D.; Seddon, K. R.; Volkov, S. *Green Industrial Applications of Ionic Liquids*; Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, 2002. (c) Welton, T. *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 2459–2477.
- L. A. Blanchard, D. Hancu, E. J. Beckman, J. F. Brennecke, *Nature* **1999**, *399*, 28–29.
- Brennecke, J. F.; Gurkan, B. E. *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 3459–3464.
- (a) Shiflett, M. B.; Yokozeki, A. A. *J. Chem. Eng. Data* **2009**, *54*, 108–114. (b) Anthony, J. L.; Anderson, J. L.; Maginn, E. J.; Brennecke, J. F. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 6366–6374. (c) J. L. Anderson, J. K. Dixon, J. F. Brennecke, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1208–1216.
- Gurau, G.; Rodríguez, H.; Kelley, S. P.; Janiczek, P.; Kalb, R. S.; Rogers, R. D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 12024–12026.
- Hollóczki, O.; Gerhard, D.; Massone, K.; Szarvas, L.; Németh, B.; Veszprémi, T.; Nyulászi, L. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 3004–3009.
- (a) Rodríguez, H.; Gurau, G.; Holbrey, J. D.; Rogers, R. D. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3222–3224. (b) Kelemen, Z.; Hollóczki, O.; Nagy, J.; Nyulászi, L. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5362–5364.
- Brehm, M.; Weber, H.; Pensado, A. S.; Stark, A.; Kirchner, B. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 5030–5044.
- Jutz, F.; Andanson, J.-M.; A. Baiker, A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 322–353.
- Cadena, C.; Anthony, J. L.; Shah, J. K.; Morrow, T. I.; Brennecke, J. F.; Maginn, E. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5300–5308.
- Bhargava, B. L.; Balasubramanian, S. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *444*, 242–246.
- Shi, W.; Myers, C. R.; Luebke, D. R.; Steckel, J. A.; Sorescu, D. C. *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 283–295.
- Hollóczki, O.; Kelemen, Z.; Koczó, L.; Szieberth, D.; Nyulászi, L.; Stark, A.; Kirchner, B. *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 315–320.
- Hollóczki, O.; Firaha, D. S.; Brehm, M.; Cybik, R.; Wild, M.; Stark, A.; Kirchner, B. *J. Phys. Chem. B* **2013**, *117*, 5898–5907.
- (a) CP2k, A General Program to Perform Molecular Dynamics Simulations; CP2k developers group under the terms of the GNU General Public License; see <http://www.cp2k.org/>, 2011. (b) Frisch, M. J.; et al. *Gaussian 09, Revision A.1*; Gaussian Inc.: Wallingford, CT, 2009.
- Lui, M. Y.; Crowhurst, L.; Hallett, J. P.; Hunt, P. A.; Niedermeyer, H.; Welton, T. *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1491–1496.

### Carbon dioxide in ionic liquids: cation-CO<sub>2</sub> interactions, and their relevance

In this paper our recently published results are presented on the presence and role of cation-CO<sub>2</sub> interactions in CO<sub>2</sub>-ionic liquid systems. These systems are of high importance, due to their unique phase behavior: while carbon dioxide can be generally dissolved in much higher quantities in ionic liquids, than other gases (making them applicable in gas separation techniques), ionic liquids are usually non-soluble in supercritical carbon dioxide (enabling efficient extraction processes and biphasic catalysis). Since the CO<sub>2</sub>-ionic liquid interactions are at the center of all these properties, understanding them in details is essential for the further development of the field. Previously, it has been inferred according to the trends in solubilities, that the anion plays the bigger part in the solvation of the gas molecule in these liquids, while the cation's effect is negligible. In this respect it is important to mention the chemical absorption of carbon dioxide in imidazolium acetate-based ionic liquids. In these systems, a proton transfer from the cation to the anion can provide N-heterocyclic carbenes, which then react with the carbon dioxide molecules physically absorbed in the liquid. However, if it is indeed the anion, which interacts with the physically absorbed carbon dioxide molecules, then how can the occupied acetate anions deprotonate the imidazolium cation? Furthermore, how can the carbon dioxide retain its electrophilicity that is required for the reaction with the carbene, if forming strong complexes with anionic species?

In our present studies we found that in contrast to the aforementioned previous suggestions, the cations are also involved in the solvation of this gas molecule to a great extent. Although in the gas phase calculations the interaction with one cation is indeed significantly weaker compared to that with one anion, and also by considering the interplay with one ion pair in the gas phase the unimportance of the cation can be observed, in the liquid there is only a relatively narrow zone around the carbon dioxide molecule that is available

for interaction with the anion, while the cation can be positioned anywhere around the solute. Thus, in our ab initio molecular dynamics simulations on the liquid while generally a single anion is interacting with the solute gas molecule in solution, five cations form a cation cage around the solute, providing a similar overall contribution to solvation. According to the thorough analysis of the carbon dioxide's bending, as expected, the carbon dioxide molecule is bent by the approach of the anion. However, although one could expect that the bending of the carbon dioxide molecule by the acetate into a more polar carboxyl group enhances the interplay with the cation, apparently the solute gas molecule is straightened by the cations' presence. Consequently, the anion and the cation are competing for interacting with the carbon dioxide molecule. According to the differences in anion-solute and cation-solute distances between the gas phase and liquid phase simulations, apparently the cations are weakening the acetate-carbon dioxide interaction. Clearly, this effect influences the basicity of the acetate anion, thus, the carbene formation in the liquid and the connected chemical absorption as well. Indeed, considering the distribution of O (acetate) - H<sub>2</sub> (imidazolium) and C<sub>2</sub> (imidazolium) - H<sub>2</sub> (imidazolium) distances in the ab initio molecular dynamics simulations, interesting trends can be observed. Comparing the gas phase ion pair to the liquid, the suppression of the carbene formation can be observed, in consistence with the „charge screen” of ionic liquids. Adding a carbon dioxide molecule to these systems, however, very different changes can be observed. While in the system with a single ion pair the presence of the carbon dioxide decreases the occurrence of carbene-like structures, in case of the liquid model system the addition of the solute gas molecule enhances the elongation of the C<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> bond, explaining the aforementioned contradictions between the mere importance of the anion-CO<sub>2</sub> interactions and the observed chemical absorption in imidazolium acetate ionic liquids.

# A szén-dioxid sajátos elektronszerkezete

KÉGL Tamás<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup>Pécsi Tudományegyetem, Kémiai Intézet, MTA-PTE Szelektív Kémiai Szintézisek Kutatócsoport, Ifjúság útja 6., 7626, Pécs

<sup>b</sup>Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutató Központ, Ifjúság útja 34., 7634, Pécs

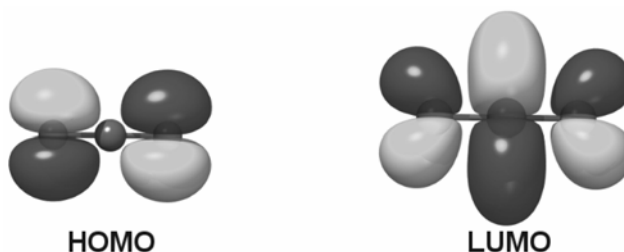
A szén-dioxid komplexek átmenetifémekkel történő reakciói kiemelt figyelmet érdemelnek, ugyanis a CO<sub>2</sub> kimeríthetetlen nyersanyagforrásnak tekinthető, és mint C<sub>1</sub> építőelem számos szerves vegyület előállításához alkalmazható.<sup>1</sup> A szén-dioxid fémekhez történő koordinációjának megismerésével értékes információkhoz juthatunk, melyek segítségével hatékonyabb katalitikus rendszerek fejleszthetők ki.<sup>2</sup> A koordinált CO<sub>2</sub> elektronszerkezetével korábbi közleményekben már foglalkoztunk<sup>3,4</sup>, figyelmet érdemel azonban a szabad szén-dioxid elektronszerkezete is. Jelen közlemény célja a CO<sub>2</sub> kötésviszonyainak ábrázolása néhány elméleti módszer segítségével.

A számításokat a DFT (sűrűségfunkcionál elmélet) módszerrel végeztük el, a hibrid B3LYP<sup>5</sup> funkcionál alkalmazásával. Báziskészletként a tripla- $\zeta$  def2-TZVP bázist<sup>6</sup> választottuk. A kiválasztott módszer kiváló egyezést adott a kísérletileg,<sup>7</sup> valamint a CCSD(T)/aug-cc-pVTZ elméleti szinten<sup>8</sup> kapott kötéstávolság értékkel (mindegyik esetben 1,162 Å). A Bader-analízist<sup>9</sup> a Multiwfn programmal<sup>10</sup> végeztük el. A doméneken átlagolt Fermi-lyuk analízishez (DAFH) a WinFermi<sup>11</sup> programot alkalmaztuk. A számításokhoz a Firefly<sup>12</sup> szoftvert használtuk. Az NBO számítások az NBO 5.0 programmal<sup>13</sup> történtek.

A CO<sub>2</sub> molekulát egyszerűen ábrázolva kumulált kettőskötésekkel jellemezhetjük, melyben a szénatom sp hibridállapotban van. Az alapállapotú szén-dioxidban az 1 $\pi_g$  orbitál a degenerált HOMO, mely az oxigéneken centrált p orbitálok lineáris kombinációja (1. Ábra), míg a LUMO (2 $\pi_u$ ) nagyobb mértékben a szénatomon helyezkedik el. A határorbitálok elég jó kvalitatív leírást adnak a CO<sub>2</sub> számos fémhez történő koordinációjára, melyben az oxigén magános párja vesz részt, mint donor ligandum, míg a viszontkoordinációs kölcsönhatás a szénatomra irányul. A kumulált ábrázolásmóddal (melyben a  $\pi$ -orbitálok szimmetriasíkja egymásra merőleges) azonban szöges ellentétben, a CO<sub>2</sub> D<sub>∞h</sub> szimmetriát követ, azaz hengersizmetrikus.

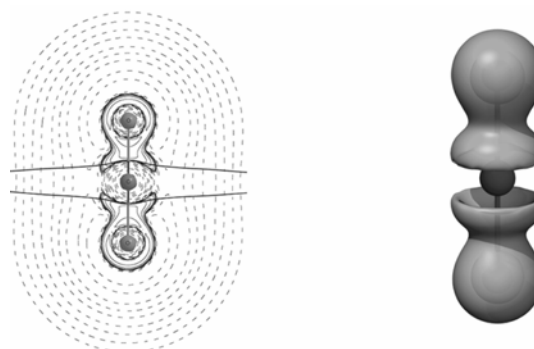
Az elektronsűrűség eloszlása szemléletesen ábrázolható annak térkoordináták szerinti második deriváltja segítségével. A 2. Ábrán a síkbeli ábrázolásmód szaggatott vonalakkal jelzi a ritkább elektronsűrűséggel jellemezhető régiókat. Ilyen például a szénatom közvetlen környezete is, ahol a molekula Lewis-sav karakterű. A folytonos vonallal körbehatárolt terület az elektronsűrűsödésekre, azaz a Lewis-bázis jellegre utal. Az ábrán látható még egy-egy nulla gradiensű vonal is melyek az atomi medencéket, azaz az atommagok „vonzáskörzeteit” határolják el egymástól. Említésre érdemes, hogy – noha nem szomszédosak egymással – a két oxigénatom medencéje közötti kicserélődés (azaz a  $\delta(O,O')$ -vel jelölt, és a kötésrenddel

valamennyire összefüggésbe hozható delokalizációs index) meglepően nagy: 0,39.



1. Ábra. A szén-dioxid határorbitáljai.

A 2. Ábra jobb oldalán a Laplace-térkép térbeli ábrázolása látható, nulla értékű burkolófelület mellett. Így jól látszik, hogy a nagyobb elektronsűrűséggel jellemezhető régió viszonylag közel helyezkedik el az oxigén atomokhoz, de ugyanakkor az is, hogy az elektronsűrűség eloszlása a D<sub>∞h</sub> szimmetriának megfelelően teljesen hengersizmetrikus,  $\epsilon_{CO}=0$  ellipticitással.



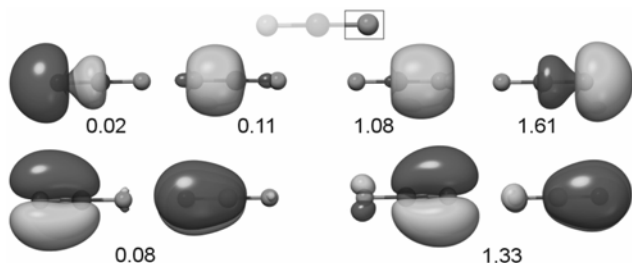
2. Ábra. A CO<sub>2</sub> Laplace-térképe síkbeli (balra) és térbeli (jobbra) ábrázolásmóddal. Folytonos vonallal a töltéssűrűsödést ( $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) < 0$ ), míg szaggatott vonallal a töltésritkulást ( $\nabla^2\rho(\mathbf{r}) > 0$ ) jelöljük.

A következő lépésben megvizsgáljuk, hogy miként néznek ki azok a vegyérték elektronpárok, melyek végül a hengersizmetrikus elektronsűrűség eloszlást eredményezik. Ehhez a doméneken átlagolt Fermi-lyuk analízist<sup>20-23</sup> (DAFH) hívjuk segítségül, melyet korábban részletesebben bemutattunk a [Ni(PH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CO)<sub>2</sub>] komplex elektronszerkezetének vizsgálatakor.<sup>3,4</sup> Vizsgálatainkhoz az egyik oxigénatomot tekintjük doménnek (fragmensnek), és az ezen integrált Fermi-lyuk sajátvektorait ábrázoljuk a 3. Ábrán. Egy-egy sajátvektor egy-egy elektronpárnak felel meg, a hozzájuk tartozó sajátértékek pedig azt mutatják, hogy az adott pár milyen arányban rendelhető hozzá az adott fragmenshez. A  $\sigma$ -kötés majdnem egyenletesen oszlik meg a szén és az oxigén között, azonban érdekes, hogy az oxigén  $\sigma$ -szimmetriájú magános párja kb. 20% arányban

\*Tel.: +36-72-501-500/24585; fax: +36-72-501-518; e-mail: tkegl@gamma.ttk.pte.hu



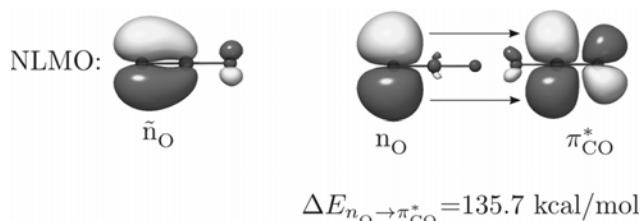
a másik, CO' fragmenszen helyezkedik el. A  $\pi_{CO}$  kötés már lényegesen polarizáltabb: 66,5% arányban rendelhető hozzá az oxigén fragmenshez. Viszont mindjárt kettőt is találunk belőle, melyek degeneráltak, és egymásra természetesen merőlegeselek.



3. Ábra. A CO<sub>2</sub> O fragmensének DAFH sajátvektorai, melyek egy-egy elektronpárnak felelnek meg, valamint a hozzájuk tartozó sajátértékek.

Ha megnézzük az elektronpárok fragmensek közötti megoszlását, akkor mindjárt érthetővé válik az oxigén atomok medencéi közötti jelentős kicserélődés ( $\delta=0,39$ ). Látható, hogy a  $\pi_{CO}$  pálya ha kis mértékben is, de áthúzódik a második oxigén atomra. Ezen felül, a CO' fragmenszen elhelyezkedő  $\pi$  kötések is 4%-os arányban áthúzódnak az O fragmensre, de a  $\sigma_{CO}$  pálya, sőt az  $n_O$   $\sigma$ -szimmetriájú magános pár is megjelenik ezen az általunk vizsgált doménen 5,5%, illetve 1% arányban.

A sajátvektorok megtekintése közben feltűnik, hogy a kumulatív ábrázolással ellentétben, az oxigén atomokon csak egy-egy  $\sigma$ -szimmetriájú magános párt, ugyanakkor  $\pi$ -kötésből két teljesen egyformát (melyek egymásra merőlegeselek) találunk. Logikusnak tűnik tehát a feltételezés, mely szerint az „eltűnő”  $\pi$ -szimmetriájú magános párok a forrásai az „új”  $\pi$ -kötéseknek. Ennek igazolására a természetes lokalizált molekulaorbitálokat (NLMO) hívjuk segítségül, melyek szintén alkalmasak egy-egy elektronpár vizualizálására. Az NLMO-t annak szülő NBO orbitáljából származtathatjuk, melynek a kettőnél kisebb betöltöttségét a molekulán belüli donor-akceptor kölcsönhatások segítségével egészíthetjük ki kettőre. A CO<sub>2</sub> oxigénen centrált  $\pi$ -szimmetriájú magános párjának 1,62-es betöltöttsége elsősorban a szomszédos CO fragmens  $\pi^*$  lazító orbitáljának átadott jelentős elektronsűrűségnek a következménye, mely a 4. Ábrán figyelhető meg. A kölcsönhatás eredményeképpen kialakuló NLMO már egy erősen polarizált  $\pi$ -orbitálnak látszik, nagy hasonlóságot mutatva a megfelelő DAFH sajátvektorral.



4. Ábra. Az 1 (felső sor) és 2 (alsó sor) komplexek Pt(PH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> fragmenséhez rendelhető DAFH-sajátvektorok, melyek a  $\pi$ -akceptor, illetve a központi atomot kikerülő, ligandumok közötti kölcsönhatást (viszontkoordináció) írják le.

Összefoglalásképpen megállapítható tehát, hogy a közleményben megjelenő elméleti módszerek segítségével

értelmezhető a CO<sub>2</sub> hengersizmetrikus szerkezete, ugyanakkor feloldható a szénhez hozzárendelt két-két  $\pi$  kötés megjelenésében rejlő ellentmondás is.

### Hivatkozások

1. Wang, W.; Wang, S.; Ma, X.; Gong, J. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3703–3727.
2. Kégl, T. *Global J. Inorg. Chem.* **2011**, *2*, 286–303.
3. Kégl, T.; Ponec, R.; Kollár, L. *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 12463–12473.
4. Kégl, T. *Magyar Kémiai Folyóirat* **2010**, *363*, 2029–2045.
5. Becke, A.D., *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
6. Weigend, F.; Ahlrichs, R., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, *7*, 3297–3305.
7. Herzberg, G. *Molecular Spectra and Molecular Structure III. Electronic Spectra and Electronic Structure of Polyatomic Molecules*; Van Nostrand: New York, 1966; p 598.
8. NIST Computational Chemistry Comparison and Benchmark Database, NIST Standard Reference Database Number 101 Release 16a, August 2012, Editor: Russell D. Johnson III <http://cccbdb.nist.gov/>
9. Bader, R. F. W. *Chem. Rev.* **1991**, *91*, 893–928.
10. Lu, T.; Chen, F. *J. Comput. Chem.* **2012**, *33*, 580–592.
11. Gironés, X.; Ponec, R.; Roithová, Program *WinFermi*, v. 2.0, Prague, Czech Republic. 2002.
12. Granovsky, A. A. *Firefly*, version 8.0.0. <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
13. Dolg, M.; Wedig, U.; Stoll, H.; Preuss, H. *J. Chem. Phys.* **1987**, *86*, 866–872.
14. Krishnan, R.; Binkley, J. S.; Seeger, R.; Pople, J. A. *J. Chem. Phys.* **1980**, *72*, 650–654.
15. Gorelsky, S. I. *AOMix: Program for Molecular Orbital Analysis*; University of Ottawa: Canada, 2009, <http://www.sgchem.net/>
16. Lu, T.; Chen, F. *J. Comput. Chem.* **2012**, *33*, 580–592.
17. Gironés, X.; Ponec, R.; Roithová, Program *WinFermi*, v. 2.0, Prague, Czech Republic. 2002.
18. Granovsky, A. A. *Firefly*, version 7.1.G. <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>
19. Glendening, E. D.; Badenhoop, J. K.; Reed, A. E.; Carpenter, J. E.; Bohmann, J. A.; Morales, C. M.; Weinhold, F., *NBO 5.G. Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, WI*, 2004
20. Ponec, R. *J. Math. Chem.* **1997**, *21*, 323–333.
21. Ponec, R.; Yuzhakov, G. *Theor. Chem. Acc.* **2007**, *118*, 791–797.
22. Sundberg, M. R.; Ponec, R. *Inorg. Chim. Acta* **2006**, *359*, 899–906.
23. Ponec, R.; Lendvay, G.; Chaves, J. J. *Comput. Chem.* **2008**, *29*, 1387–1398.

### The peculiar electronic structure of CO<sub>2</sub>

The utilization of CO<sub>2</sub> as a renewable carbon source can provide an attractive way for producing organic chemicals from C1 building blocks. Homogeneous catalysis is especially suitable for the transformation of CO<sub>2</sub> because of its activity, selectivity, and versatility. For the optimization of these kinds of reactions, the knowledge about coordination of CO<sub>2</sub> to transition metal (TM) complexes is of utmost importance. The electronic structure of TM-CO<sub>2</sub> species has been shown recently (see Ref. 4) by the example of the simple complex Ni(PH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CO<sub>2</sub>).

The electronic structure of uncoordinated CO<sub>2</sub> is somewhat controversial. It follows the D<sub>∞h</sub> symmetry presuming an entirely cylindrical structure. On the other hand, it is mostly depicted with a Lewis structure having a double bond between the carbon

and both oxygens, and two lone pairs each on the O atoms. This electronic structure could be associated, however, with a molecule with  $D_{2d}$  symmetry, not  $D_{zh}$ . The goal of this study is to give an insight into the electronic structure of carbon dioxide invoking some appropriate theoretical tools, such as the Bader-analysis, also known as the quantum theory of atoms in molecules (QTAIM), the Domain-Averaged Fermi Holes (DAFH), and the NBO method.

In the ground state carbon dioxide the (degenerate) HOMO orbitals are the  $1\pi_g$  orbitals, which are the linear combination of the corresponding  $p_y$  and  $p_z$  orbital of the two oxygen atoms. On the other hand, the LUMO ( $2\pi_u$ ) is positioned mainly on the central carbon atom. The frontier orbitals provide a fairly good description for the coordination of  $CO_2$  to transition metals, which takes place via the coordination of the lone pair of O to the metal center, whereas the back-donation from the TM towards the ligand is directed to the carbon atom. The frontier orbitals of  $CO_2$  are depicted in Fig. 1.

The Laplacian ( $\nabla^2\rho(\mathbf{r})$ ) of  $CO_2$  corroborates the cylindrical electron density distribution (Fig. 2), associated with the  $D_{zh}$  symmetry. Moreover, the ellipticity of both CO bonds are exactly  $\varepsilon=0$ . The charge concentrations are focused on the oxygen atoms, whereas carbon has a pronounced Lewis-acid character, as expected. Surprisingly, the delocalization index for the two O atoms is

$\delta(O,O')=0.39$  assuming some electron sharing between them, even though they are not neighboring.

The analysis of Domain-Averaged Fermi Holes is perhaps one of the most appropriate tools for the analysis and visualization of the bonding interactions. The visual inspection of the eigenvectors of the hole averaged on one of the oxygen atoms in  $CO_2$  (Fig. 3) reveals the presence of *two*  $\pi_{CO}$  bonds polarized towards oxygen, whereas the  $\sigma_{CO}$  bond is almost evenly distributed between the two atoms. The lone pair of  $\sigma$  symmetry of oxygen has an eigenvector of 1.61, thus it is divided in an 80%-20% ratio between the O atom and the CO' fragment. The  $\pi_{CO}$  pairs have some contribution on the other, O' oxygen atom as well, which provides some explanation for the unexpected electron sharing between the two oxygens. Moreover, the  $\sigma_{CO'}$  and  $\pi_{CO'}$  bonds, as well as the lone pair  $n_{O'}$  centered on the CO' fragment, show minor delocalization to the O fragment as well

The „excess”  $\pi_{CO}$  pair can easily be interpreted in terms of Natural Localized Molecular Orbitals (NLMOs). The lone pair of O with p symmetry (denoted as  $\tilde{n}_O$ ) is originated from its parent Natural Bond Orbital (NBO) which has occupancy of 1.62. The leading donor-acceptor interaction of  $n_O$  is found with its neighboring orbital  $\pi_{CO}^*$  with an interaction energy of 135.7 kcal/mol. This results in a strongly polarized  $\pi$ -type orbital, being strongly reminiscent of the respective DAFH by its shape.

# A szén-dioxid megkötése ipari gázokból

MIZSEY Péter<sup>a,b,\*</sup> és NAGY Tibor<sup>a</sup>

*Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Budafoki út 8., 1111 Budapest, Magyarország<sup>a</sup>*

*Műszaki Kémiai Kutatóintézet, Pannon Egyetem, Egyetem utca 10, 8200 Veszprém, Magyarország<sup>b</sup>*

## 1. Bevezetés

A Földi átlaghőmérséklet változása kapcsán előtérbe került az ún. üvegházhatású gázok emissziójának nyomon követése és az emisszió lehetőség szerinti csökkentése. Számos ilyen üvegházhatású gáz van, melyek emissziója leginkább az emberi társadalmak energiaszükségletének kielégítéséhez kapcsolható. Ugyanis ma az energia túlnyomó részét még mindig fosszilis alapon állítják elő.<sup>1</sup>

Számos légnemű komponensnek van üvegház hatása, melyek közül kiemelkedően nagy a vízgőzé, melyet azonban nem sorolnak az üvegházhatású gázok közé. Az üvegházhatású gázok közül különösen a szén-dioxidot figyelik, mert mennyisége folytán ennek a legnagyobb légkörben kifejtett üvegházhatása. Az egyéb üvegházhatású gázokat (Pl. metán, nitrogén dioxid) szén-dioxid ekvivalensként számolják, és így az emissziót CO<sub>2e</sub>-vel jelölik.

Az emberiség éves szén-dioxid emissziója mintegy 37 milliárd tonna, mely 91%-ban a fosszilis energiahordozók használatából (energiaipar, közlekedés stb.) és 9% a mezőgazdasági tevékenységből származik.<sup>2</sup> Ennek a szén-dioxidnak a fele a természetbe kerül, ahol fotoszintézis formájában a növények hasznosítják, ill. a tengerekben oldódik. A többi a levegő szén-dioxid tartalmát növeli, mely érték jelenleg 397 ppmv<sup>2</sup>.

A szén-dioxid emisszió mennyisége több módon is csökkenthető:

- energiaraionalizálással azaz hatékonyabb energiafelhasználással
- megújuló alapú energiaforrások alkalmazásával,
- csővégi hulladékkezelési technikákkal.

A fosszilis elsődleges energiahordozók eltüzelésekor keletkező szén-dioxid mennyiséget csökkenteni lehet:

- ún. „oxy fuel” tüzeléstechnikával,
- tüzelés előtti leválasztással
- tüzelés utáni leválasztással.<sup>3</sup>

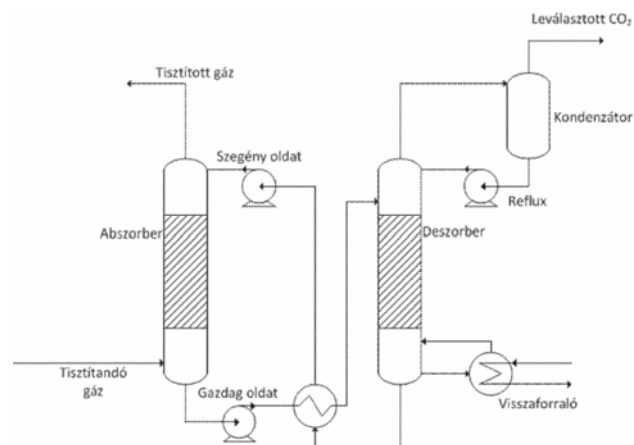
A legelterjedtebben alkalmazott megoldás a tüzelés utáni leválasztás, hiszen ez pótlólagosan is hozzáépíthető a már meglévő berendezésekhez.<sup>4</sup>

Különösen igaz ez az egyre inkább elterjedőben lévő biogáz gyártás esetére. Ilyenkor ugyanis a keletkező magas metán tartalmú gázban jelentős mennyiségű, inertnek tekinthető

szén-dioxid is van jelen, ami zavarja a biogáz felhasználását. Indokolatlanul növeli a szállítási energiaszükségletet és rontja a felhasználás hatékonyságát. Ezért a biogázokból tanácsos a szén-dioxid eltávolítása, melyre leginkább a tüzelés utáni kategóriába sorolható technikák a legalkalmasabbak.

## 2. A vizsgált szén-dioxid leválasztó rendszer

A legelterjedtebb leválasztó rendszer a reaktív abszorpció elvén üzemelő megoldás, ahol a leggyakrabban használt abszorbens a mono-etanolamin (MEA) 30 %-os vizes oldata. Az abszorbenst a deszorberben hővel regenerálják. A berendezés vázlatja az 1. ábrán látható.



**1. Ábra.** Szén-dioxid leválasztása vizes MEA-val abszorber-deszorber rendszerben

Számos egyéb abszorbens is szóba jöhet, pl. más aminok,<sup>5,6</sup> ionos folyadékok.<sup>7</sup> A MEA azért terjedt el széles körben, mert jó a ciklikus kapacitása, a füstgáz egyéb komponenseire nem érzékeny, jól és hatékonyan regenerálható. Az ionos folyadékok esetében gondolni kell arra, hogy azok megkötik a szénhidrogéneket, hidrogént, nitrogént, oxigént és vizet is, ezért a regenerálási fázisban erre gondolni kell.<sup>8</sup>

Membránberendezések alkalmazásával, gázpermeációs technikával is leválasztható a szén-dioxid, de a jelenlegi membránok érzékenyek lehetnek egy esetleges ipari gáz egyéb komponenseire, és a szelektivitást is figyelembe kell venni.<sup>9</sup>

A szén-dioxid leválasztó rendszerek jelentős része a fosszilis hőerőművek részeként dolgozik, és ez a kapcsolódás kölcsönösen befolyásolja mindkettőjük működését.<sup>6,10</sup>

\* Tel.:+36 1 463 3196; fax:+361 463 3197; e-mail: mizsey@mail.bme.hu.

## 2.1. Flexibilitás iránti igény

Hőerőművek, illetve fosszilis alapú energiaközpontok működése változhat. Ennek több oka is lehet. Ezek közül az okok közül azt az esetet vizsgáltuk, amikor tüzelőanyag váltás történik. Ennek több oka lehet, pl. energiaellátás-biztonsága (pl. földgázzal át kell állni más fosszilis energiahordozóra), megújuló energiaforrások alkalmazása (pl. biomassza).

Két esetet vizsgáltunk meg a flexibilitással kapcsolatos modellezéseinkben:

1. állandó füstgáz és biogáz mennyiség; 55 kg/h
2. állandó energiaellátás; 90 MJ/h

Hét különböző fosszilis eredetűnek megfelelő füstgáz-elegyet és egy átlagos biogázt választottunk vizsgálatunk tárgyául (Táblázat 1).

1. Táblázat Vizsgált füstgázok és biogáz

Tartalom, m/m	H <sub>2</sub> O	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
Teszt gáz 1 földgáz tüzelés	0,061	0,12	0,737	0,082	-
Teszt gáz 2 magasabb CO <sub>2</sub> tartalom	0,062	0,105	0,687	0,147	-
Biomassza	0,089	0,031	0,679	0,199	-
Feketeköszén 1	0,009	0,048	0,737	0,261	-
Feketeköszén 2	0,074	0,037	0,683	0,204	-
CCGT, Kombinált ciklus - gázturbina+gőzturbina	0,052	0,142	0,745	0,06	-
Barnaszén	0,161	0,034	0,614	0,19	-
Biogáz	0,001	0,005	-	0,377	0,617

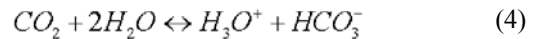
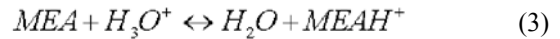
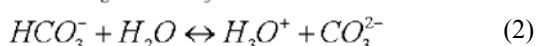
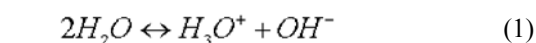
A biogáz szén-dioxid mentesítése azért fontos, mert az a későbbiekben zavarhatja, akár tömegénél fogva, a biogázzal kapcsolatos műveleteket, pl. komprimálás, szállítás, akár magát a biogáz hasznosítását is.

## 3. Az abszorber-deszorber rendszer modellezése

Az 1. ábrán látható abszorber-deszorber rendszert választottunk a nyolc ipari gázból (1. Táblázat) történő szén-dioxid leválasztásra. Az abszorbens a MEA 30%-os vizes oldata.

Számos termodinamikai, egyensúlyszámító modell található a füst/biogáz – MEA rendszer viselkedésének leírására. Ezek közül a legelterjedtebb az ú.n. „E-NRTL” modell.<sup>11,12,13</sup>

A folyadékfázisban a következő reakciók vesznek részt:

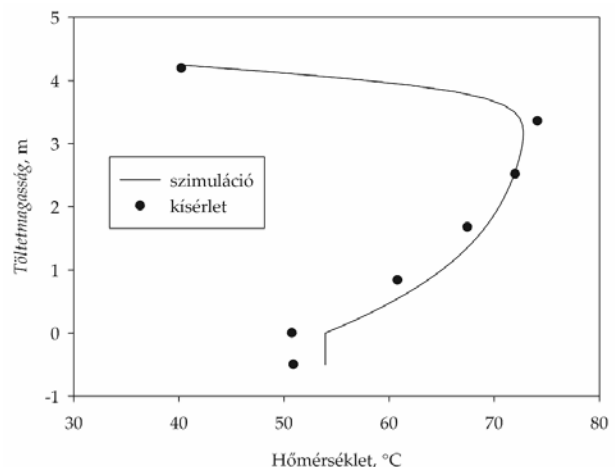


A reakciórendszerben Austgen et al.<sup>14</sup>, Freguia<sup>15</sup> és Freguia et al.<sup>16</sup> munkáiban található egyensúlyi állandókat használtuk. A 4 és 5 reakciók esetében reverzibilis reakció kinetika került alkalmazásra.<sup>15, 17</sup>

Az egyensúly számítása mellett fontos döntés a műveleti egység, abszorber és/vagy deszorber, számításának modellje. A legelterjedtebb megoldás az egyensúlyi egységek, illetve elméleti tényérok módszerének alkalmazása. A reális viselkedést tényérhatásfokkal veszik ilyen esetben figyelembe.

Krishna<sup>18</sup> másképp oldott meg azt a modellezési feladatot. Ő az anyagátadás mértékét, az anyagátadás sebességét számolja egy adott szegmensben belül, melynek pontosan ismert a geometriája. Ez az ú.n. „rate based” vagy sebességkontrollált számítási módszer, melynél nincs szükség a reális viselkedés figyelembe vételéhez a tényérhatásfokra, mert a rate based modell a tényleges anyagátadási viszonyokat számítja. Ez persze automatikusan azt is jelenti, hogy az egyes szegmensekből kilépő anyagáramok, ellentétben az elméleti tényérok módszerével, nincsenek egyensúlyban.

Munkánkban a Technische Universität Kaiserslautern, Lehrstuhl für Thermodynamik félüzemi abszorber-deszorber rendszerén végzett méréseket használtuk fel.<sup>19,20,21</sup> A méréseket a Teszt gáz 1 és a Teszt gáz 2 (1. táblázat) végezték el. A modellezésnél az abszorberben mért és általunk számolt hőmérséklet profilt és a szén-dioxid koncentráció profilt figyeltük, és hasonlítottuk össze. A mérések és a számítások összehasonlítására alapesetül a teszt gáz 2-t választottuk.

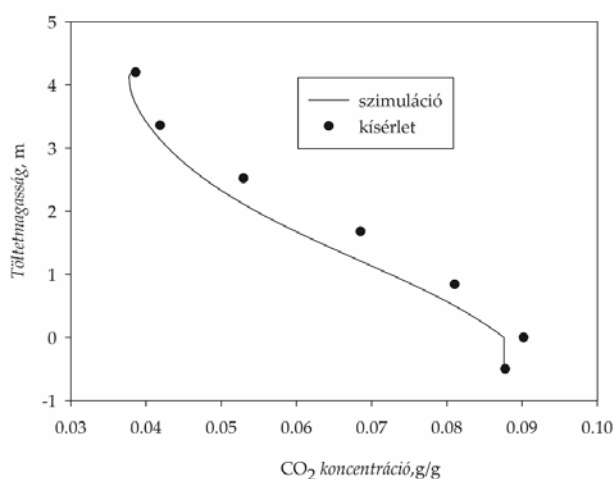


2. Ábra. Mért és számított hőmérséklet profil az abszorberben a teszt gáz 2 esetében.

Először a régebbi és gyakorta használt egyensúlyi modell alkalmazhatóságát vizsgáltuk meg. A méréseket és a modellezési eredményeket összevetve azt tapasztaltuk, hogy az egyensúlyi modell nem alkalmas a modellezési feladatokra.

Modelleztük ugyanezt a feladatot a sebességkontrollált azaz „rate based” modell alkalmazásával is. A deszorbert is a sebességkontrollált modellel modelleztük. A számításához meg kellett adni a félüzemi méretű kolonnák pontos geometriai méreteit is, melyeket a már említett forrásokból és saját tapasztalatainkból vettünk.<sup>19,20,21,22</sup> Ezek főbb méretei: az abszorber és a deszorber átmérője egyaránt 0,125 m és mindkettőben Sulzer BX töltet a kolonna belső. A töltetmagasság az abszorberben 4,25 m, a deszorberben pedig 2,5 m.

A sebességkontrollált modell a 2 és 3. ábrán látható módon írja le az abszorber viselkedését a Teszt gáz 2 esetére.



3. Ábra. Mért és számított koncentráció profil az abszorberben a teszt gáz 2 esetében.

Ezek alapján a sebességkontrollált modellt választottuk vizsgálataink eszközüül.

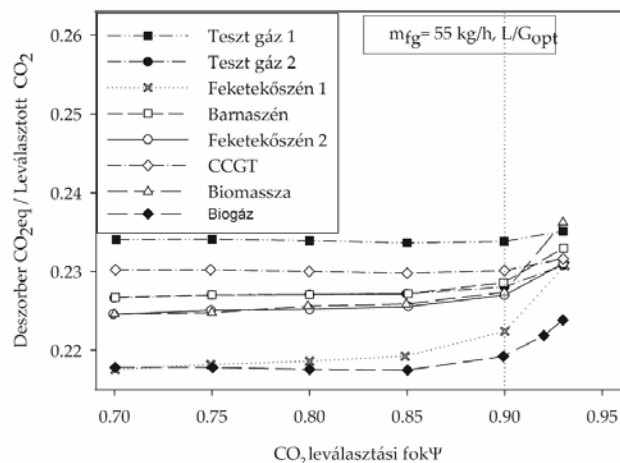
### 3.1. Állandó füstgáz és biogáz mennyiség

A számítások során, akár a 2 és 3. ábrákon, 55 kg/h állandó ipari gázmennyiséget tételeztünk fel. A gázok összetétele az 1. táblázatban látható.

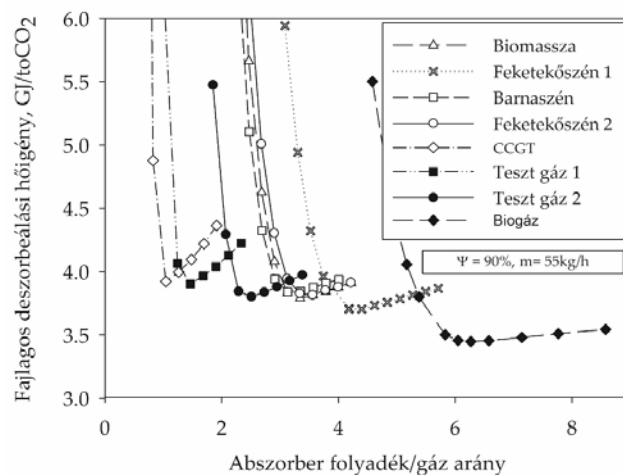
A modellezés első célja az optimális abszorbens-gáz arány (L/G) valamint a szén-dioxid leválasztás mértéke, a leválasztási fok ( $\Psi$ ) megállapítása. Az optimalizálás során azt vizsgáltuk, hogy a szén-dioxid megkötéséhez szükséges energia okozta környezeti  $\text{CO}_2$ e emisszió, hogy aránylik az eltávolított  $\text{CO}_2$ -höz. Ez tulajdonképpen azt mutatja, hogy mennyi energiára van szükség, ha változtatjuk az L/G arányt. Azaz megállapítottuk a minimális energiafogyasztáshoz, másképpen  $\text{CO}_2$ e/ $\text{CO}_2$  leválasztott értékhez tartozó L/G arányt. Eredményeinket a 4. és 5. ábrán mutatjuk be.

Az együttes optimalizálás azt mutatja, hogy 90%-nál nagyobb szén-dioxid leválasztás esetén meredeken emelkedik a fajlagos energiafogyasztás, illetve az azzal járó deszorber  $\text{CO}_2$ e/ $\text{CO}_2$  leválasztott, ezért a továbbiakban mindig 90%-os leválasztással számoltunk.

Az eredményekben látható némi tendencia, ezért megvizsgáltuk, hogy az ipari gázok, füstgáz vagy biogáz, szén-dioxid tartalma és az L/G közt van-e tendencia.

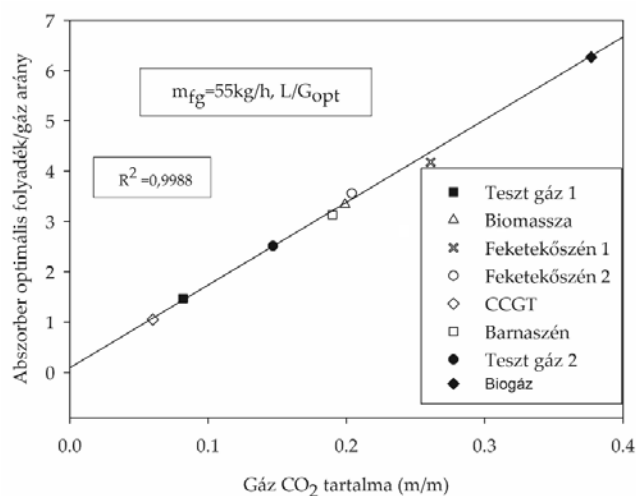


4. Ábra. Optimális L/G arány, ahol a fajlagos energiafogyasztás minimális a  $\text{CO}_2$  leválasztásának mértékében.



5. Ábra. Optimális L/G arány, ahol a fajlagos energiafogyasztás minimális.

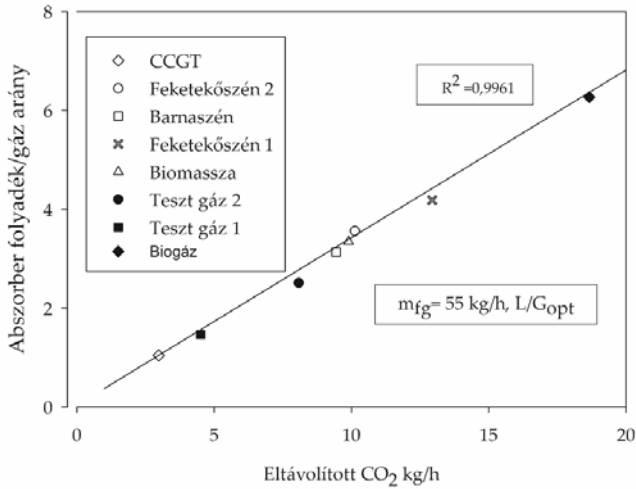
A 6 és 7. ábra mutatja a számítások eredményeit.



6. Ábra. Optimális L/G aránya gáz  $\text{CO}_2$  tartalma függvényében, tömegfört.

A tendencia egyértelmű, lineáris. Minél több szén-dioxid van a kezelendő ipari gázban, annál több abszorbensre,

magasabb L/G arányra van szükség. A nagyobb abszorbens mennyiség természetesen nagyobb energiafogyasztást is jelent.<sup>23</sup>

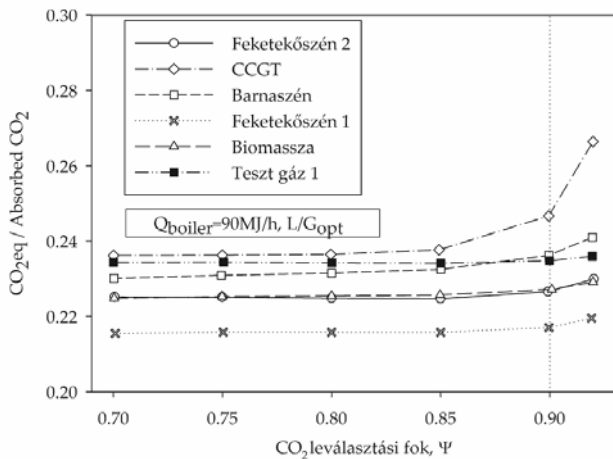


7. Ábra. Optimalis L/G aránya gáz CO<sub>2</sub> tartalma függvényében, mennyiség.

### 3.2. Állandó energiaellátás

Ez az eset felel meg annak az üzemállapotnak, amikor változó fosszilis energiaforrással üzemel egy erőmű vagy energiaszolgáltató úgy, hogy közben állandó mennyiségű energiát kell szolgáltatnia.

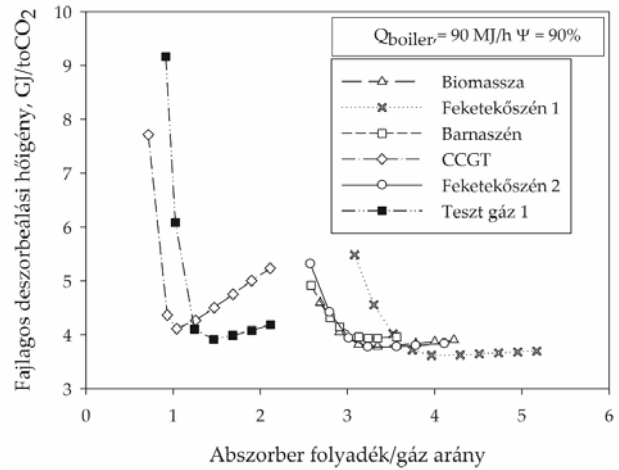
Az állandó ipari gázmennyiség esethez hasonlóan jártunk el. Először a leválasztási fokot és az optimalis L/G arányt vizsgáltuk. A korábbiakhoz hasonlóan ez is egy együttes optimalizálási feladatot jelent. Eredményeinket a 8. és 9. ábra mutatja.



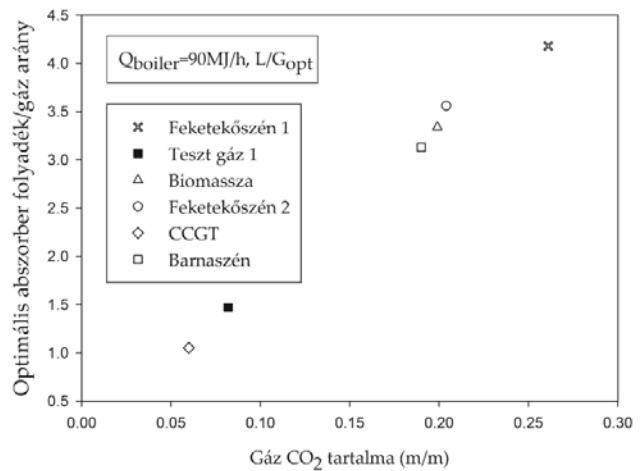
8. Ábra. Optimalis L/G arány, ahol a fajlagos energiafogyasztás minimális a CO<sub>2</sub> leválasztásának mértékében.

Az állandó ipari gázmennyiség esethez hasonlóan itt is a 90%-os szén-dioxid leválasztás felett emelkedik meredeken a fajlagos energiafogyasztás, illetve az azt jellemző CO<sub>2e</sub>/CO<sub>2</sub> leválasztott arány.

Megvizsgáltuk, van-e tendencia az L/G arány és a gáz szén-dioxid tartalma között.

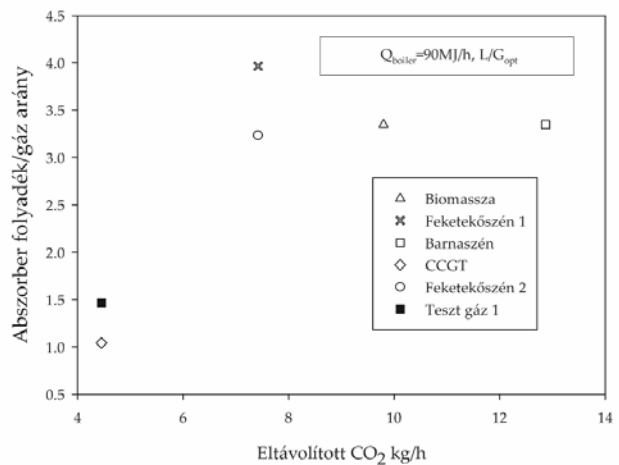


9. Ábra. Optimalis L/G arány, ahol a fajlagos energiafogyasztás minimális.



10. Ábra. Optimalis L/G aránya gáz CO<sub>2</sub> tartalma függvényében, tömegetört.

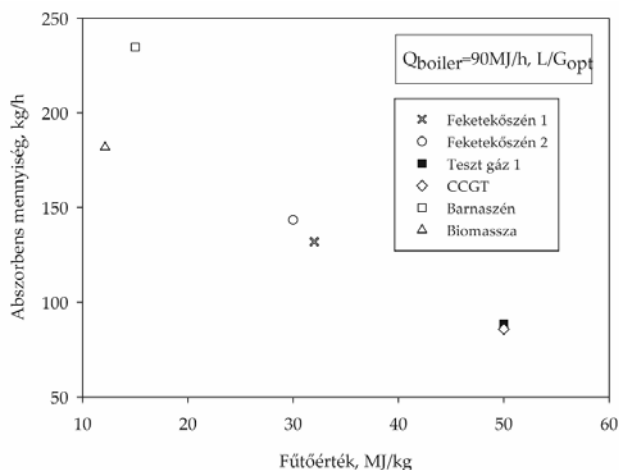
A 10. ábrán látható eredmények alapján, az állandó füst-, ipari gáz esethez hasonlóan, itt is növekszik az optimalis L/G arány, ha a füstgáz szén-dioxid koncentrációja nő.



11. Ábra. Optimalis L/G aránya gáz CO<sub>2</sub> tartalma függvényében, mennyiség.

Állandó energiaellátás esetében az eltávolított szén-dioxid és az abszorber L/G aránya között nem állapítható meg a vizsgált esetekre egyértelmű kapcsolat mint az állandó gázmennyiség esetében lehetséges volt.

Megvizsgáltok, hogy energiahordozó váltás esetében, hogy változik az abszorbens folyadékárama a primer fosszilis energiahordozó fűtőértékével.



12. Ábra. Abszorbens folyadékáramának változása az energiahordozó fűtőértéknek változásával.

Amint a 12. ábra mutatja, minél kisebb a fosszilis energiahordozó fűtőértéke, annál több abszorbensre van szükség.<sup>23</sup>

#### 4. Következtetések, konklúzió

A flexibilis energiapolitika szükséges feltétele az energiabiztonságnak. Ez változó, jellemzően fosszilis energiahordozók alkalmazását jelenti, ami változó összetételű füstgázt eredményez. Az egyre inkább terjedőben lévő biogáz és növekvő termelt mennyisége szintén felhívja a figyelmet a szén-dioxid mentesítés/leválasztás szükségességére, hiszen a biogáz kezelését és felhasználását az inertnek tekinthető szén-dioxid zavarja.

A változó fosszilis energiahordozók változó mennyiségű és összetételű füstgázt eredményeznek. A szén-dioxid leválasztó berendezésnek képesnek kell lennie az ilyen változások kezelésére úgy, hogy az nem befolyásolja károsan a hőközpont/hőerőmű működését.

Megállapítottuk, hogy a szén-dioxid leválasztását 90%-ig érdemes elvégezni, függetlenül az energiahordozótól, mert ezen érték felett a leválasztás hőigénye ugrásszerűen nő.

Biogáz szén-dioxid tartalma jól leválasztható a bemutatott módszerrel.

Energiahordozó váltás esetén változik, változtatni kell az optimális, azaz a minimális energiafogyasztáshoz tartozó abszorbens/füstgáz arányt. Ha az energiahordozó váltás eredményeként a leválasztandó szén-dioxid mennyisége nő, akkor az abszorbens mennyisége és a leválasztás hőigénye is nő.

Megállapítottuk, hogy ha a hőközpont/hőerőmű kisebb fűtőértékű energiahordozóra vált át, akkor növekszik a szükséges abszorbens mennyisége. Ez üzemeltetési gondokat jelenthet.

Az energiahordozó váltás következtében a szén-dioxid leválasztóban fellépő esetleges üzemzavar elkerülése érdekében gondolni kell arra, hogy más energiahordozó más füstgázt jelent, mind mennyiségében mind összetételében, ami változó üzemi körülményeket is jelent a szén-dioxid leválasztóban. A változó üzemi körülmények változó áramlási, hidrodinamikai körülményeket eredményeznek, ami nem biztos, hogy még az optimális működési tartományba esik. Ezért lehetőleg azonos fűtőértékű energiahordozót kell lehetőleg választani váltás esetén. A leválasztási fok minden esetben 90 %.

Ha a szén-dioxid leválasztó erőműhöz kapcsolódik, befolyásolhatja annak működését, ha a leválasztó üzemeltetése kedvezőtlenül változik. Az erőmű stabil működése érdekében meg lehet a leválasztás mértékét is változtatni, ami természetesen nem kívánatos változtatás.

A leválasztó üzemeltetése, irányítása során ügyelni kell arra, hogy energiahordozó csere esetén nem csak az abszorbens – füstgáz arányt kell megváltoztatni, szabályozni, hanem ezzel egyidejűleg a deszorber fűtését is.

A bemutatott eredmények és az azokból levonható következtetések mind azt az általános érvényű igényt húzzák alá, hogy a szén-dioxid leválasztó tervezésénél is a tervező mérnöknek flexibilisre, azaz szélsőséges üzemállapotok esetén is jól működőre kell terveznie a berendezést. Mindez mutatja a helyes és szakszerű mérnöki tervezés fontosságát, ilyen feladatok megoldása során is.

#### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak a KMR - 12-1-2012-0066 és a TÁMOP-4-.2.2.A-11/1/KONV-2012-0072 projekteknek a munka támogatásáért.

#### Hivatkozások

- George A. Olah, Alain Goeppert, G. K. S. P., *Beyond Oil and Gas: The Methanol Economy*, Wiley-VCH., 2009.
- CO2now.org (utoljára látogatva 2013. április)
- Metz, B.; Davidson, O. & Coninck, H., ed., *IPCC special report on carbon dioxide capture and storage*, Cambridge University Press., 2005.
- Kohl, F. R.; A., *Gas purification*, Gulf publishing company., 1985.
- Lucquiaud, M. & Gibbins, J., 'Steam cycle options for the retrofit of coal and gas power plants with postcombustion capture', *Energy Procedia*. 2011, 4, 1812–1819.
- Duan, L.; Zhao, M. & Yang, Y., 'Integration and optimization study on the coal-fired power plant with CO2 capture using MEA', *Energy*. 2012, 45, 107–116.
- Joan F. Brennecke, Burcu E. Gurkan, *Ionic Liquids for CO2 Capture and Emission Reduction*, *J. Phys. Chem. Lett.* 2010, 1, 3459–3464.
- Ross Taylor, Rajamani Krishna, H. K., 'Real World Modeling of Distillation', *CEP*, 2003.

9. Mizsey P. Cséfalvay E., Membránseparációs műveletek, vegyipari Műveletek II. Tananyag, Szerkesztette Simándi Béla, Typotex Kiadó, **2011**.
10. Lucquiaud, M. & Gibbins, J., 'Steam cycle options for the retrofit of coal and gas power plants with postcombustion capture', *Energy Procedia*. **2011**, *4*, 1812–1819.
11. Chen, C. C.; Britt, H. I.; Boston, J. F.; Evans, L. B. Extension and application of the pitzer equation for vapor-liquid equilibrium of aqueous electrolyte systems with molecular solutes. *AIChE Journal* **1979**, *25*, 820–831.
12. Chen, C.-C.; Evans, L. B. A local composition model for the excess Gibbs energy of aqueous electrolyte systems. *AIChE Journal* **1986**, *32*, 444–454.
13. Hilliard, M. D. A Predictive Thermodynamic Model for an Aqueous Blend of Potassium Carbonate, Piperazine, and Monoethanolamine for Carbon Dioxide Capture from Flue Gas. Ph.D. thesis, University of Texas, **2008**.
14. Austgen, D.; Rochelle, G.; Peng, X.; Chen, C.-C. Model of Vapor-Liquid Equilibria for Aqueous Acid Gas-Alkanolamine Systems Using the Electrolyte-NRTL Equation. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1989**, *28*, 11060–1073.
15. Freguia, S. Modeling of carbon dioxide Removal from Flue Gases with Monoethanolamine. Ph.D. thesis, The University of Texas at Austin, **2002**.
16. Freguia, S.; Rochelle, G. T. Modeling of CO<sub>2</sub> capture by aqueous monoethanolamine. *AIChE J.* **2003**, *49*, 1676–1686.
17. Hikita, H.; Asai, S.; Ishikawa, H.; Honda, M. The kinetics of reactions of carbon dioxide with monoethanolamine, diethanolamine and triethanolamine by a rapid mixing method. *Chem. Eng. J* **1977**, *13*.
18. Krishna, T. R. R. Multicomponent mass transfer; Wiley-IEEE, **1993**.
19. Nagy, T., Simulative study of postcombustion carbon capture using aqueous amine, Master Thesis, **2010**.
20. Mangalapally, H.; Notz, R.; Hoch, S.; Aspiron, N.; Sieder, G.; Garcia, H. & Hasse, H. Pilot Plant experimental studies of post combustion reactive absorption with MEA and new solvents, *Energy Procedia* **2009**, *1*, 963-970.
21. Mangalapally, H. P.; Hasse, H. Pilot plant study of postcombustion carbon dioxide capture by reactive absorption: Methodology, comparison of different structured packings, and comprehensive results for monoethanolamine. *Chemical Engineering Research and Design* **2011**, *89*, 1216-1228, Special Issue on Distillation and Absorption.
22. Tönnies, I.; Mangalapally, H. P.; Hasse, H. Sensitivity study for the rate-based simulation of the reactive absorption of CO<sub>2</sub>. *Energy Procedia* **2011**, *4*, 533 – 540, 10th International Conference on Greenhouse Gas Control Technologies.
23. Nagy, T.; Mizsey, P. The effect of fossil fuels on the parameters of CO<sub>2</sub> capture, *Environmental Science and Technology*, <http://dx.doi.org/10.1021/es400306u>, **2013**.

### The capture of carbon-dioxide from industrial gases

The different industrial gases, for instance flue gases, biogas, are the most suitable for CO<sub>2</sub> capture considering their origin as point sources and also the amount of CO<sub>2</sub> that is emitted in such form. In most cases the compositions of flue gases from exiting boilers vary in a wide range. Their quantity can also vary depending on needs.

The design and operation of the industrial boilers have increasing importance due to the stricter environmental regulations, aiming at clean carbon technologies. One of the efforts to meet these regulations is capturing carbon dioxide with an absorber-desorber system. Considering energy security, boilers should be capable to operate with various types of fuels and the changing from one fuel to another or co-firing significantly influences the flue gas properties. The flue gas- composition and flow are crucial parameters in optimizing the operation of a boiler and the absorber-desorber system therefore such systems should be able to flexibly function at different flue gas conditions, quantities and compositions. These effects call for special measures in design and control as well.

This article deals with the influence of flue gas composition- and flow change on the removal of CO<sub>2</sub>. We give a general overview

about the validated computer model we build up and use in this study. Different type of flue gases: from coal, lignite, natural gas firing and also flue gases from different combustion types such as power plant boilers and gas turbines are used selected for our study. The biogas is also involved into our investigation.

We set up two scenarios. (i) constant flue or biogas flow rates are assumed (ii) constant boiler performance is assumed that results in varying flue gas flow rates. These two cases can happen when fossil primary energy sources or biogas operational conditions are changed or changing.

We see the tendency that the CO<sub>2</sub> content of the flue gas is proportional to the optimal liquid-gas ratio applied in the absorber-desorber system. The energy demand of the CO<sub>2</sub> capture under the scope of environmental impact is taken into account in varying capture rates and it shows that it increases rapidly if the CO<sub>2</sub> removal is getting higher than 90%.

The operational/process control conditions of the absorber-desorber system should be also changed if flue or biogas changes to guarantee optimal conditions for the capture of carbon-dioxide.



# A szuperkritikus szén-dioxid alkalmazásai

SZÉKELY Edit és SIMÁNDI Béla\*

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME), Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék

A szén-dioxid oldószerként – és ekkor is csak apoláris oldószerként – viszonylag nagy nyomáson, jellemzően 80 bar felett (8 MPa) használható. A szükséges nyomás ellenére sok esetben versenyképes a szub- vagy szuperkritikus szén-dioxidos eljárás a modern iparban. A szuperkritikus oldószerek felhasználási területei között az extrakció, a kromatográfia, a kristályosítás és a reakciók a jelentősebbek. A szuperkritikus (sc) oldószerek előnye, hogy két független és jól szabályozható paraméterrel, a nyomással és a hőmérséklettel az oldószer tulajdonságai (és ezen keresztül oldóképessége, a diffúziós együttható értéke, az anyagátadási tényező stb.) változtathatóak, és ezért „finomhangolással” optimalizálhatóak a maximális szelektivitás és/vagy maximális hatékonyság elérése érdekében. Szén-dioxid ( $P_c = 73,8$  bar,  $T_c = 31$  °C) esetén a változtatható paraméterek közé szokás még venni a segédoldószer mennyiségét és minőségét, amit jellemzően 1-10 %-ban adnak a rendszerhez. Segédoldószer lehet pl. etanol de gyakran valamelyik reagens is segédoldószerként viselkedik, azaz növeli a többi komponens oldhatóságát. További meghatározó előny a hagyományos oldószerekkel szemben, hogy nyomáscsökkentés után az oldószerből a korábban oldott anyag kiválik, tehát ha a termék atmoszférikus nyomáson nem gáz (jellemzően folyadék vagy szilárd anyag) akkor a korábbi oldószer, a szén-dioxid, egyszerűen eltávozik a termékből. A szuperkritikus oldószerek (elsősorban szén-dioxid vagy víz) alkalmazását többnyire környezetvédelmi és/vagy hatékonysági szempontok indokolják, azonban nem elhanyagolható az sem, amikor új, korábban nem létező termék előállítására nyílik lehetőség. Ez utóbbi az oka a szuperkritikus mikronizáláshoz/kompozit képzéshez kapcsolódó kutatási terület dinamikus fejlődésének.

## Szuperkritikus fluidum extrakció

A szuperkritikus fluidum extrakció (SFE) nagyléptékben alkalmazott ipari eljárás, elsősorban az élelmiszeriparban. Legismertebb alkalmazásai közé tartozik a kávé és tea koffeinmentesítése, illetve a komló kivonat előállítása, de számos egyéb kinyerésnél is használják (szezámolaj, fűszerkivonatok kinyerése, növényvédőszer extrakciója hántolatlan rizsből stb.).<sup>1</sup>

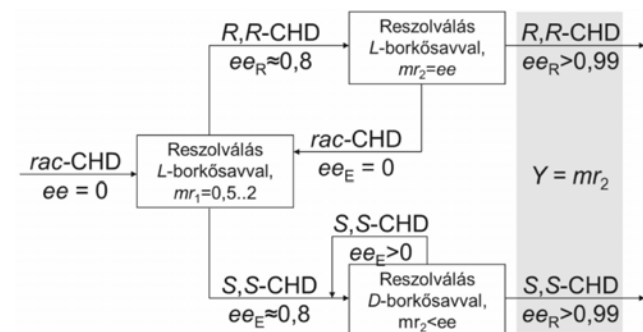
1. Táblázat. A hatóanyagok koncentrációja (tömegszázalékban kifejezve) barátcserje kivonatokban

	Rotundifurán	$\beta$ -szitoszterin	$\beta$ -amirin	Kasztcin
$\text{CO}_2$				
450 bar, 45 $\pm$ 5°C	1,62%	1,65%	0,91%	3,93%
etanol (96 V/V%)	0,47%	0,49%	0,34%	1,24%
Koncentráció arány	~3,5x	~3,5x	>2,5x	>3x
scCO <sub>2</sub> /EtOH				

\* email: simandi.vmt@chem.bme.hu

Ha a szuperkritikus extrakcióval biológiailag aktív komponenseket kívánunk kinyerni, az extraktum hatóanyagkoncentrációja többszöröse is lehet, mint az alkoholos kivonással elérhető töménység. A hatás megfigyelhető az 1. táblázatban a barátcserje, amely hagyományosan alkalmazott női hormonháztartásra ható gyógynövény, mintapéldáján.<sup>2</sup> A növény nagyszámú aktív komponense közül a  $\beta$ -szitoszterint, a rotundifuránt és  $\beta$ -amirint szokás kiemelni.

A szuperkritikus szén-dioxidos extrakció a növényi-, állati termékek feldolgozása mellett hasznos eszköze lehet a vegyiparnak, gyógyszeriparnak is. A szén-dioxidban a szerves oldószerek többnyire jól oldódnak, ezért poláris komponensek mellől a szerves oldószernyomokat el lehet távolítani szén-dioxiddal. A nagy polaritás különbséget használja ki enantiomerek elválasztására a BME-n kidolgozott resolválási eljárás is.<sup>3</sup> Első lépésben ekvivalensnél kevesebb resolválószerezrel szerves oldószerben elvégezzük a diasztereomer sóképzést miközben az oldószert teljesen lepároljuk. A kapott szilárd mintából megfelelően választott nyomású és hőmérsékletű szén-dioxiddal az enantiomereket kioldjuk. A sók jellemzően oldhatatlanok szén-dioxidban, ezért a diasztereomer só nem szennyezi az extraktumot, az extraktorban visszamarad. Az elérhető enantiomer tisztaság (ee) és resolválhatóság sok esetben függ az extrakciós paraméterektől (nyomás, hőmérséklet, felhasznált szén-dioxid mennyisége, extrakciós idő), azonban a királis megkülönböztetésért nem a szén-dioxid, hanem a resolválószerez a felelős. Egyes diasztereomerek esetében (pl. transz-1,2-ciklohexán-diol (CHD) borkősav komplexe) az elreagálatlan enantiomer kíméletes extrakciója után nyomás- és/vagy hőmérsékletemeléssel a diasztereomer in situ megbontható az atmoszférikus bomlási hőmérsékletenél jellemzően 10-40 °C-kal alacsonyabb hőmérsékleten. Ekkor a frakcionált szuperkritikus extrakciós eljárás raffinátuma a resolválószerez, ami közvetlenül újrafelhasználható, az egyes enantiomereket pedig a két egymást követő extrakciós lépés extraktumaiként nyerjük ki. A CHD esetében a módszer egyszerű ismétlésével tiszta enantiomereket állíthatunk elő (1. ábra).<sup>4-5</sup>



1. Ábra. Enantiomertiszta termékek előállítása transz-1,2-ciklohexán-diolból (CHD) két egymást követő frakcionált szuperkritikus extrakciós resolválási lépéssel. Az ábrán  $mr$  a resolválószerez és a CHD molarányát jelöli,  $ee$  az enantiomer tisztaság,  $Y$  a hozam.

### Kristályosítás/mikronizálás szuperkritikus szén-dioxiddal

A szuperkritikus szén-dioxid alkalmas szűk, szabályozott szemcseméret eloszlású, kívánt morfológiájú szemcsék, kristályok, gyakran kompozitok előállítására.<sup>6</sup> Három alapvetően különböző technika ismert.

A kicsapás (RESS= Rapid Expansion of Supercritical Solutions) során a mikronizálandó anyagot teljes mértékben fel kell oldani szén-dioxidban (vagy szén-dioxid és segédoldószer elegyében). A homogén oldatot fűvókán vagy szelepen keresztül egy kisebb nyomású térbe vezetve az oldat hirtelen jelentősen túltelítetté válik (mert a szén-dioxid oldóképessége a nyomás csökkentésével töredékére csökken), ezért kisméretű (<1 µm) kristályok keletkeznek. A nyomás (azaz a túltelítettség) szabályozásával meghatározott átlagos szemcseméretű és szűk szemcseméret eloszlású kristályok állíthatók elő. A módszer hátránya, hogy csak szén-dioxidban jól oldódó komponenseknél célszerű alkalmazni, és még ekkor is a feldolgozott anyag tömegének több-százszorosra is lehet a szén-dioxid felhasználás.

Olvadék mikronizálása (PGSS = Particles from Gas Saturated Solutions) során jelentős mennyiségű szén-dioxid oldódik bele az olvadékba (gyakran a szén-dioxid nyomás hatására olvad meg adott hőmérsékleten a mikronizálandó anyag, ez az ún. olvadáspont-csökkenés). A szén-dioxiddal telített olvadékot fűvókán keresztül engedjük a kisebb nyomású (jellemzően atmoszférikus) kristályosítóba, ahol az adiabatikus expanzió során megtörténik a szemcsképződés. Az újabb kutatási eredmények szerint a nyomás és hőmérséklet mellett a fűvókából kilépő jet geometriai viszonyai is meghatározóak az átlagos szemcseméret és morfológia szempontjából. PGSS és rokon eljárásokkal kompozitokat (30-60% folyadékartalmú szilárd anyagokat, vagy polimermátrixszal szabályozott kioldódású gyógyszerhatóanyagokat), illetve viszonylag kis (10-100 µm) jellemző szemcseméretű polimereket lehet gyártani, a módszert alkalmazzák azonban pl. zsírszegény kakaópor előállítására is.<sup>7</sup>

Az antiszolvens eljárások (GAS = Gas AntiSolvent precipitation, SAS = Supercritical AntiSolvent precipitation) kifejezetten poláris, szén-dioxidban nem, vagy csak nagyon rosszul oldódó komponensek feldolgozására használhatóak, amelyek azonban valamely szén-dioxiddal elegyedő szerves oldószerben jól oldódnak. Az eljárás azon alapszik, hogy a szén-dioxid beleoldódik az eredeti (szerves) oldószerbe, amiben a kristályosítandó anyagot feloldottuk. A nagymennyiségű szén-dioxid hatására a folyadékfázis (csepp) oldóképessége pillanatszerűen töredékére csökken, emiatt az oldat jelentősen túltelítetté válik és megképződnek a kristályok. A módszer leginkább a gyógyszeripar számára lehet ígéretes, hiszen bár szerves oldószerek felhasználását is igényli, gyakran lehetséges a morfológia szabályozása is. A GAS és SAS módszer resolválás során is előnyös lehet a diasztereomer sók pillanatszerű kicsapására, elválasztására. Azt találtuk, hogy a nyomás hatása a termék enantiomertisztaságára rendkívül nagy lehet: cisz-permetrinsav resolválásakor R-fenil-etil-amin resolválószerrel metanol oldószerből GAS módszerrel (rögzített koncentrációk mellett) 120 bar alatt

jó termeléssel, de racém diasztereomer só kristályosodik ki, 130-170 bar között a só enantiomer tisztasága 85-95%, 170 bar felett viszont nem képződik só.<sup>8</sup> Az eljárás reményeink szerint a diasztereomer só képzésen alapuló resolválások esetében alkalmazható, ha a racém vegyület oldódik szén-dioxidos elegyoldószerben és a kinetikus kontroll a kedvező. A kristályosítás műveleti ideje rövid: a fél folyamatos eljárásban a kristályosodás pillanatszerűen lejártszódik, az időigény a mosási szakasszal együtt is sokkal rövidebb, mint a hagyományos eljárások esetében.

### Egyéb jelenlegi, illetve potenciális alkalmazások

A cikk kereteit meghaladja, hogy szén-dioxidot, mint reakciók oldószerét bemutassuk. A szakirodalomban ezres nagyságrendű a szuperkritikus szén-dioxidban végzett homogén-, heterogén-, vagy biokatalitikus reakciókkal kapcsolatos publikációk száma, számos összefoglaló munka is megjelent. Reakciók szempontjából azt a lehetőséget tartjuk legfontosabbnak, hogy előnyösen kapcsolható az optimalizált reakció és az elválasztás, ha az oldószer szuperkritikus szén-dioxid.<sup>9</sup> Teflongyártásnál ipari léptékben is kihasználják már a szelektív oldóképesség előnyeit (jobb minőségű, homogénebb termék keletkezik), miközben a gyártás környezeti hatásait is jelentősen lecsökkentették.<sup>10</sup> Polimerfeldolgozás során a szén-dioxid alkalmas a polimerolvadék viszkozitásának csökkentésére az extrúzió alatt.

A környezetterhelés csökkentése, vagy a műveleti idő redukálás számos más alkalmazás mozgatórugója is. Ha az építőipari faanyag gombaellenes szerekkel való impregnálását szuperkritikus szén-dioxidban végzik, akkor a megnövekedett diffúzió miatt a folyamat időigénye lecsökken, míg a hatásossága megnő. További előny, hogy az impregnálószer a szén-dioxidból a nyomáscsökkentés során teljes mértékben vissza lehet nyerni.<sup>11</sup> Újabb, félüzemi méretig már igazolt eljárás a bőr szén-dioxiddal elősegített cserzése, amely magas minőségi követelményeknek megfelelő bőr előállítását teszi lehetővé, míg a króm(III)-sókkal szennyezett szennyvíz mennyisége a töredékére csökken.<sup>12</sup> Tisztítási folyamatokban a szén-dioxid hatékony zsírmentesítő hatását használhatjuk ki (alkatrészek-,<sup>13</sup> implantátumok<sup>14</sup> tisztítása, vegytisztítás<sup>15</sup>), míg elválasztásokban a szabályozható oldóképességét (aerogél előállítás,<sup>16</sup> kromatográfia<sup>17</sup>...) avagy éppen a viszkozitás csökkentő hatását (ásványolaj kinyerés,<sup>18</sup> ionos folyadékok<sup>19</sup>).

### Összefoglalás

A szuperkritikus szén-dioxid alkalmazási területei folyamatosan bővülnek. Az alkalmazandó nyomás egyes iparágak számára teljesen elfogadott, míg más területeken, ahol az atmoszférikus üzemeltetés általános az alkalmazás korlátja lehet. A 70-es évektől egyre intenzívebben folyó kutatási, fejlesztési munka eredményeképpen általánosan elmondható, hogy a szuperkritikus szén-dioxid hatékonyan alkalmazható többek között apoláris oldószerek kiváltására, diffúzió kontrollált folyamatok felgyorsítására, mint szelektív extrahálószer, termék kicsapására pl. bizonyos molekulatömeg elérésekor, mikronizálás, kompozitok

előállításakor és egyre gyakrabban új, különleges minőségű termékek előállításánál is.

A kapcsolódó kutatómunkát támogatta az OTKA (K 108979), EU FP7 Marie Curie program (DoHip - PITN-GA-2012-316959) és az MTA a Bolyai János Kutatási Ösztöndíjon keresztül (Sz.E).

### Hivatkozások

1. Simándi, B.; Sawinsky, J. *Olaj Szappan Kozmetika* **2002**, *51*, 3.
2. Cossuta, D.; Simándi, B.; Vagi, E.; Hohmann, J.; Prechl, A.; Lemberkovics, É.; Kery, A.; Keve, T. *J. Supercrit. Fluids* **2008**, *47*, 188.
3. Fogassy, E.; Ács, M.; Szili, T.; Simándi, B.; Sawinsky, J. *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 257.
4. Székely, E.; Simándi, B.; Illés, R.; Molnár, P.; Gebefügi, I.; Kmecz, I.; Fogassy, E. *J. Supercrit. Fluids* **2004**, *31*, 33.
5. Székely, E.; Bánsághi, G.; Thorey, P.; Molnár, P.; Madarász, J.; Vida, L.; Simándi, B. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2010**, *49*, 9349.
6. Simándi, B.; Székely, E. *A szuperkritikus oldószerek alkalmazási lehetőségei a gyógyszeriparban, Szuperkritikus Oldószerek Műveleti és Analitikai Alkalmazása '12.* Budapest, Magyarország, **2012.05.24**
7. Kareth, S.; Weidner, E. *Powderous composites by high pressure spray processes. From supercritical fluids to the smallest praline in the world, Szuperkritikus Oldószerek Műveleti és Analitikai Alkalmazása '12.* Budapest, Magyarország, **2012.05.24**
8. Bánsághi, Gy.; Lőrincz, L.; Székely, E.; Szilágyi, I.; Madarász, J.; Simándi, B. *Crystallization and resolution of cis-permethric acid with carbon dioxide antisolvent, 6th Int. Symp. on High Pressure Processes Technology*, Belgrád, Szerbia, **2013.09.08-12.**
9. Utczás, M.; Székely, E.; Tasnádi, G.; Monek, E.; Vida, L.; Forró, E.; Fülöp, F.; Simándi, B. *J. Supercrit. Fluids* **2011**, *55*, 1019.
10. Mawson, S.; Johnston, K. P.; Combes, J. R.; DeSimone, J. M. *Macromolecules* **1995**, *28*, 3182.
11. Kjellow, A.W. *Supercritical Wood Impregnation*, Phd értekezés, Koppenhága, Dánia, **2010.**
12. Renner, M.; Weidner, E.; Geihlsler, H.; Heinen, T. *Free of water tanning – intensified by CO<sub>2</sub> - Parameter and Scale up study, 13th European Meeting on Supercritical Fluids*, Hága, Hollandia, **2011.10.9-13.**
13. Weibel, G.L.; Ober, C.K. *Microelectron. Eng.* **2003**, *65*, 145.
14. Ellis, J.L.; Titone, J.C.; Tomasko, D.L.; Annab, N.; Deghani, F. *J. Supercrit. Fluids* **2010**, *52*, 235.
15. Iliff, R.J.; Mitchell, J.D.; Carty, D.T.; Latham, J.R.; Kong, S.B. *USP* **5,412,958** (1995).
16. Czakkel, O.; Székely, E.; Koczka, B.; Geissler, E.; László, K. *Micropor. Mesopor. Mat.* **2012**, *148*, 34.
17. Taylor, L.T. *J. Supercrit. Fluids* **2009**, *47*, 566.
18. Fayer, J. F. (ed.) *Enhanced oil recovery*, Elsevier: Hollandia, **1981.**
19. Keskin, S.; Kayrak-Talay, D.; Akman, U.; Hortacsu, O. *J. Supercrit. Fluids* **2007**, *43*, 150.

### Applications of supercritical carbon dioxide

From the various industrial applications and possible future applications of supercritical carbon dioxide (scCO<sub>2</sub>) some selected examples are described in this paper. The use of carbon dioxide is especially advantageous as a selective and environmentally benign extractive agent, as a selective antisolvent, in micronization, in preparation of composites or, especially in the last decade, for development of novel products of improved properties opening new markets. Supercritical fluid extraction (SFE) is the typical method in the decaffeination of tea or coffee and the extraction of hops. Large SFE plants are operated in the Far East for sesame oil extraction, and all around the world seasonal herbs and spices are extracted in several multipurpose plants. Additionally, a wide range of other extraction processes were demonstrated in research laboratories including separation of enantiomers based on diastereomeric salt formation followed by SFE step(s), developed at BME. Direct and antisolvent micronization processes employing

scCO<sub>2</sub> might be interesting for pharmaceutical, polymer, food and fragrance industries. The three basic types of micronization shortly described in this paper are capable of producing solid products of small to large molecules of various polarity with controlled average particle sizes, narrow particle size distributions; the shape of the particles or the morphology of the crystals might be also adjusted. All these factors, or others like enantioselectivity of antisolvent based precipitation of diastereomeric salts, are controlled directly by pressure, temperature and composition of the media. A common trait of these technologies is that they are operated at elevated pressures (typically above 80 bar) – which is well accepted at certain industrial sectors while uncommon in others – but close to ambient temperatures (typical temperature range is 35-90 °C). As a result of the intensive worldwide research from the 1970s it can be concluded that scCO<sub>2</sub> can be efficiently applied for the replacement of apolar organic solvents, for separation purposes and for the intensification of diffusion controlled processes.

# Tetrahydroizokinolin-vázis vegyületek enzimés rezolválása szakaszos és áramlásos kémiai módszerrel

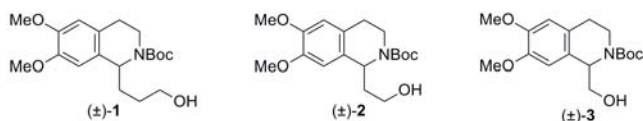
SCHÖNSTEIN László, FORRÓ Enikő és FÜLÖP Ferenc\*

Szegedi Tudományegyetem, Gyógyszerkémiai Intézet, Eötvös utca 6., 6720, Szeged

## 1. Bevezetés

Atetrahydroizokinolin-vázis vegyületeknek jelentős szerepük van kémiai és biológiai szempontból.<sup>1</sup> Fontos építőelemei a természetben előforduló egyes növényi alkaloidoknak, mint például a tumor ellenes hatással rendelkező Kriszpin A-nak, amit a *fodros bogáncsból* (*Carduus crispus*)<sup>2</sup>, vagy a kalikotominnak, amit a *Calycotome spinosa* nevű növényből izoláltak először.<sup>3</sup> A gyógyszergyártásban is fontos szerepe van ezen enantiomertiszta vegyületeknek, hiszen egyes terápiás hatással rendelkező gyógyszermolekuláknak alapvető szerkezeti részei. Ilyen gyógyszerek például a köhögéscsillapító noszkapin<sup>4</sup>, a köptető hatású emetin<sup>5</sup>, a daganat ellenes trabectedin (Yondelis® név alatt).<sup>6</sup> Az 1-metil és 1-fenil tetrahydroizokinolinoknak jelentős szerepük van Parkinson kór és egyes neurológiai betegségek kezelésében is.<sup>7</sup>

Tetrahydroizokinolin-vázis célvegyületeinket, azaz a kalikotomin, a homokalikotomin és a kriszpin A mindkét enantiomerét nagy enantiomerfelesleggel enzimkatalizált kinetikus rezolválással terveztük előállítani. A kísérletek elvégzéséhez a megfelelő intermedier ( $\pm$ )-**1**, ( $\pm$ )-**2** és ( $\pm$ )-**3** aminoalkoholokat választottunk kiindulási anyagokként, amelyek aminocsoportját Boc-védőcsoporttal láttuk el, az enzimés acilezést pedig a kiralitás centrumtól egy, kettő, *ill.* három szénatomnyi távolságra lévő primer hidroxilcsoporton kívántuk elvégezni (1. ábra). Az irodalomból ismert, hogy a kiralitáscentrumtól több szénatomnyi távolságra lévő primer hidroxilcsoportok enzimés acilezése, mind szakaszos, mind folyamatos áramú üzemmódban alacsony enantioszelektivitással ( $E \leq 11,6$ ) játszódik le.<sup>8</sup>



1. Ábra. Kiindulási aminoalkoholok.

Az enzim-katalizált kinetikus rezolválást szakaszos és áramlásos kémiai módszerekkel terveztük megvalósítani.

Szisztematikusan vizsgálni kívántuk továbbá a reakciócentrum és kiralitáscentrum közötti távolság változtatásának a hatását az enantioszelektivitásra és a reakciósebességre.

Célvegyületeink közül az (*S*)-kalikotomin enantiomertiszta formában történő előállítása ismert az irodalomból, amely szintézisút egy aszimmetrikus redukciós lépést tartalmaz, amit irídium(I)-(*R*)-BINAP-ftalimid komplexszel végezték.<sup>9</sup> Az irodalomban szintén leírták az 1,2,3,4-

tetrahydroizokinolin-1-karbonsav etilészter enzimés hidrolízisét, majd az így kapott 1,2,3,4-tetrahydroizokinolin-1-karbonsav enantiomerből, az abszolút konfiguráció meghatározása céljából egy redukciós lépéssel állították elő az (*R*)-kalikotomint ( $ee = 91\%$ ).<sup>10</sup>

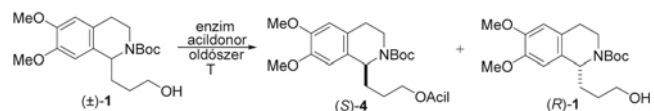
Az áramlásos üzemmódban végzett kísérletek napjainkban egyre nagyobb teret hódítanak,<sup>11</sup> hiszen ezen módszer használatának számos előnye van, így a reprodukálhatóság, gazdaságos oldószerhasználat, rövid reakcióidő, gyorsan és egyenletesen fűthető és kompresszálnak rendszer.<sup>12</sup> Az áramlásos üzemmódban lehetővé válik számos heterogén fázisú reakció megvalósítása, amihez különböző katalizátorokat lehet használni: fém katalizátort,<sup>13</sup> peptid<sup>14</sup> és nem utolsósorban enzim katalizátort.<sup>15</sup>

## 2. Kísérleti eredmények

### 2.1. Kriszpin A enantiomerek szintézise

A racém kiindulási anyagot az irodalomból ismert módszerrel állítottuk elő.<sup>16</sup> Első lépésben homoveratrilamint reagáltattunk  $\gamma$ -butirolaktonnal, majd az így kapott amidon Bischler-Napieralski gyűrűzárási reakciót végeztünk. A következő lépésben a gyűrűzárásból kapott 1-(3-acetoxipropil)-6,7-dimetoxi-3,4-dihydroizokinolint egy nátrium-borohidrides reakciónak alávetve kaptuk meg az 1-(3-hidroxi-propil)-6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetrahydroizokinolint, melyet Boc védőcsoporttal védtük.

A ( $\pm$ )-**1** vegyület enzimkatalizált acilezésének (2. ábra) optimális reakciókörülményeinek meghatározása érdekében előkísérleteket végeztünk, szakaszos kémiai módszerrel.



2. Ábra. A ( $\pm$ )-**1** vegyület enzim katalizált acilezése.

Az előkísérletek során megvizsgáltuk különböző enzimek enantioszelektivitására és reakciósebességre gyakorolt hatását, mely eredményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze. CAL-A (*Candida antarctica* A lipáz), AK lipáz (*Pseudomonas fluorescens*), PPL (sertés hasnyálmirigy lipáz), és AY lipáz (*Candida rugosa*) használata esetében nem volt megfigyelhető reakció 1 óra után, CAL-B (*Candida antarctica* B lipáz) esetében viszonylag gyorsan, de szelektivitás nélkül zajlódtott a reakció (1. sor), míg PS lipáz (*Burkholderia cepacia*) használata esetében alacsony szelektivitási érték ( $E < 2$ ) volt tapasztalható (2. sor).

\* Levelező szerző. Tel.: 62/545-562; fax: 62/545-705; e-mail: fulop@pharm.u-szeged.hu.

**1. Táblázat.** A ( $\pm$ )-**1**<sup>a</sup> vegyület enzimkatalizált acilezésének hatása a reakciósebességre és az enantioszelektivitásra.

Sor	Enzim	Acil-donor (ekv.)	Oldószer	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	<i>E</i>
1	CAL-B	vinil-acetát (1,1)	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> O	<i>rac.</i>	<i>Rac.</i>	43	1
2	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-acetát (1,1)	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> O	4	22	15	1,6
3	PS lipáz <sup>c</sup>	<i>i</i> -propenil-acetát (1,1)	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> O	8	35	19	2,2
4	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-butirát (1,1)	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> O	12	71	14	7
5	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (1,1)	<i>i</i> Pr <sub>2</sub> O	9	85	10	13
6	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (1,1)	toluol	5	67	7	5
7	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (1,1)	<i>n</i> -hexán	26	88	23	20
8	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (1,1)	<i>t</i> -BuOMe	10	95	10	43
9	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (1,1)[+ Et <sub>3</sub> N, + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	<i>t</i> -BuOMe	15	95	14	45
10	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (3)[+ Et <sub>3</sub> N, + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	<i>t</i> -BuOMe	19	96	17	59
11	PS lipáz <sup>c</sup>	vinil-dekanoát (4)[+ Et <sub>3</sub> N, + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]	<i>t</i> -BuOMe	33	95	26	53

<sup>a</sup> 0,0125 M szubsztrát, 30 mg mL<sup>-1</sup> enzim, 1 mL oldószer, acil donor, 45 °C, reakcióidő 1 h.

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva [Chiralpak IA oszlop, eluens: *n*-hexán:*i*PA (85:15), áramlási sebesség: 0,5 mL min<sup>-1</sup>, detektálás 260 nm-en].

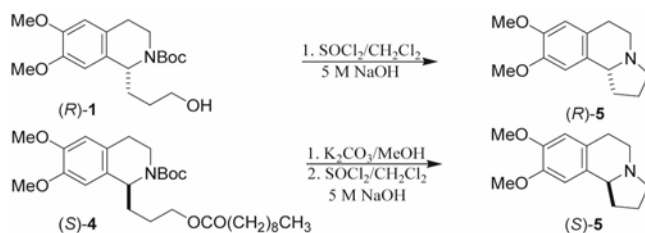
<sup>c</sup> 20% lipáz tartalmú, cukor jelenlétében celitre adszorbeált.

Az előkísérletek következő szakaszában acildonor vizsgálatot végeztünk (1. táblázat, 2-5. sorok). A viszonylag hosszú szénláncú acildonor (vinil-dekanoát) használata esetében az enantioszelektivitás növekedését tapasztaltuk (10%-os konverziónál *E* = 13) (5. sor).

Az optimális reakciókörülmények meghatározása céljából a *i*Pr<sub>2</sub>O mellett több oldószer is kipróbálásra került (5-8 sorok). Az enantioszelektivitás függvényében (*E* = 43) az ipar által zöld oldószerként elfogadott *t*-BuOMe-t választottuk a további előkísérletekhez.

Az előkísérletek utolsó szakaszában acildonor mennyiségének és adalékanyagok reakcióelegyhez való hozzáadásának reakció lefutására gyakorolt hatását vizsgáltuk (9-11. sorok). Három ekvivalens vinil-dekanoát, Et<sub>3</sub>N és Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> egyidejű használata esetében a reakció enantioszelektivitása tovább emelkedett (11. sor).

Az előkísérletek során optimálisnak talált körülmények között (PS lipáz, vinil-dekanoát, *t*-BuOMe, Et<sub>3</sub>N és Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 45 °C) a ( $\pm$ )-**1** preparatív mennyiségű rezolválását két lépésben végeztük. A kapott alkohol (*R*)-**1** és észter (*S*)-**4** termékeket oszlopkromatográfiás elválasztásuk után igen jó enantiomerfeleslegekkel ( $ee > 94\%$ ) jellemeztük.

**3. Ábra.** Kriszpin A enantiomerek előállítása.

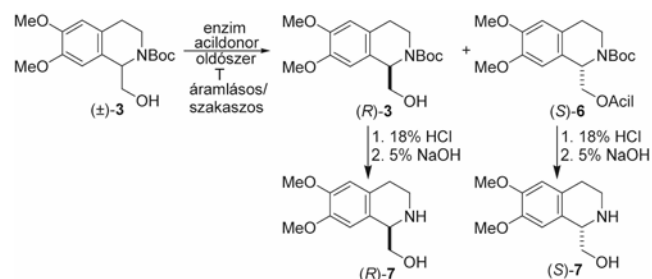
Az enantiomertiszta észtert (*S*)-**4** előzetesen alkohollá alakítottuk (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), majd az így kapott terméket (*S*)-**1**,

valamint az enzimikus reakcióból visszamaradó elreagálatlan alkohol enantiomert (*R*)-**1** egy lépésben alakítottuk (Boc védőcsoport eltávolítása és gyűrűzárás) a kívánt kriszpin A enantiomerekké ( $ee = 95\%$ ) (3. ábra).<sup>17a</sup>

## 2.2. Kalikotomin enantiomerek szintézise

A ( $\pm$ )-**3** homológ aminoalkohol enantioszelektív acilezésére a korábban bemutatott szakaszos kémiai módszert folyamatos áramú módszerrel kibővítve terveztük elvégezni. Az optimális körülmények meghatározása végett egy sor előkísérletet végeztünk folyamatos áramú üzemmódban (4. ábra). A kísérleteket egy folyamatos áramú reaktorban (H-Cube) végeztük „No H<sub>2</sub>” üzemmódban. A reagáltatni kívánt szubsztrátot és reagenst feloldottuk, majd a reakcióelegyet egy HPLC pumpa segítségével, átáramoltattuk egy fűthető és kompresszálható foglalatba helyezett enzim töltetű katalizátor ágyon.

A ( $\pm$ )-**3** vegyületet az irodalomból ismert szintetikus úton állítottuk elő.<sup>16c,d</sup>

**4. Ábra.** A ( $\pm$ )-**3** vegyület enzim katalizált acilezése.

Az előkísérletek során megvizsgáltuk különböző enzimek hatását a reakciósebességre és az enantioszelektivitásra (2. táblázat). A vizsgált enzimek közül a PPL lipáz nem katalizálta a reakciót, CAL-A használata esetében pedig nem volt szelektivitás tapasztalható (1. sor), AY és PS lipáz

esetében alacsony szelektivitási értéket kaptunk (2-3. sorok). CAL-B-vel végzet kísérletek során sikerült kiváló  $E > 200$ -t elérni 35%-os konverzió mellett (4. sor).

## 2. Táblázat. A ( $\pm$ )-**3**<sup>a</sup> vegyület enzim vizsgálata.

Sor	Enzim	T (°C)	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	$E$
1	CAL-A <sup>c</sup>	45	rac.	rac.	14	1
2	AY lipáz <sup>c</sup>	45	4	50	7	3
3	PS-IM lipáz	45	6	54	10	3
4	CAL-B	60	52	99	35	> 200

<sup>a</sup> 0,012 M szubsztrát, 2 ekv. vinil-acetát, 80 bar, 60 °C, 0,1 mL min<sup>-1</sup> áramlási sebesség.

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva [Chiralpak IA oszlop, eluens: *n*-hexán:*i*PA (85:15), áramlási sebesség: 0,5 mL min<sup>-1</sup>, detektálás 260 nm-en].

<sup>c</sup> 20% lipáz tartalmazó, cukor jelenlétében celitre adszorbeált.

A kinetikus rezolválás során elérhető maximális konverzió (50%) egy körben történő elérése céljából további előkísérletek keretében vizsgáltuk az oldószerek reakciósebességre gyakorolt hatását (3. táblázat, 1-3. sorok). *t*-BuOMe-ben végzett kísérletek esetében a reakciósebességének jelentős csökkenése mellett a szelektivitása váratlanul  $E = 45$ -re csökkent (2. sor). Toluolban végezve az acilezést kiváló enantioszelektivitást ( $E > 200$ ) tapasztaltunk és a reakció konverziója elérte a kívánt 50 %-ot (3. sor).

## 3. Táblázat. A ( $\pm$ )-**3**<sup>a</sup> vegyület oldószere és hőmérséklet vizsgálata.

Sor sz.	Oldószere	T (°C)	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	$E$
1	<i>n</i> -hexán	60	52	99	35	> 200
2	<i>t</i> -BuOMe	60	15	95	14	45
3	toluol	60	99	99	50	> 200
4	toluol	40	92	99	48	> 200
5	toluol	25	71	99	42	> 200

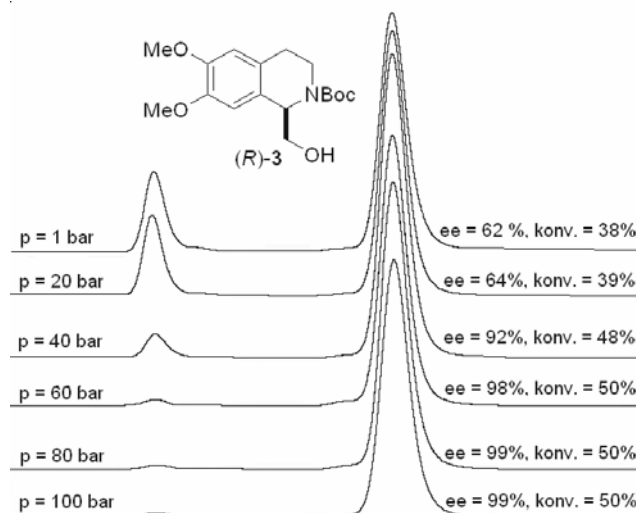
<sup>a</sup> 0,012 M szubsztrát, 2 ekv. vinil-acetát, CAL-B, 80 bar, 60 °C, 0,1 mL min<sup>-1</sup> áramlási sebesség.

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva

Továbbá vizsgálatra kerül a hőmérséklet (3. táblázat, 3-5. sorok) hatása az enantioszelektivitásra, ahol az volt a tapasztalat, hogy a hőmérséklet csökkentésével a reakció konverziója is csökkent. 60 °C-on a konverzió 50% (3. sor) volt, azonban 25 °C-on ez az érték 42%-ra csökkent (5. sor).

Mivel az előkísérleteket folyamatos áramú üzemmódban végeztük, ezért lehetővé vált megvizsgálni a nyomás hatását is a reakciósebességre és az enantioszelektivitásra (5. ábra).

Atmoszférikus nyomáson végzett reakciók esetében a konverzió 38% volt a szubsztrát enantiomerfeleslege pedig 62%, majd 20 bar egységenként növeltük a nyomást



5. Ábra. A nyomás hatása a reakciósebességre.

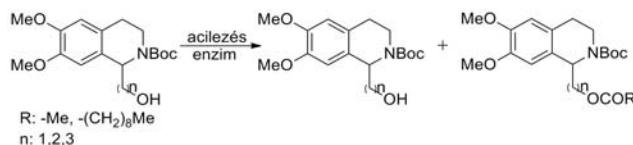
és azt tapasztaltuk, hogy a nyomás növelésével a reakció konverziója és a szubsztrát enantiomerfeleslege is nőtt, egészen 60 bar nyomásig, ahol a reakció elérte az 50%-os konverziót 98%-os szubsztrát enantiomerfelesleg mellett. A nyomás tovább növelésének már nem volt hatása a konverzióra és az enantiomerfeleslegre. A szelektivitási érték a nyomás vizsgálat során végig 200 fölött volt.

Az előkísérleteket 4 mg/mL (0,012 M) szubsztrát koncentrációban végeztük, és amikor ezt a koncentrációt ötszörösére, majd tízszeresére növeltük, abban az esetben is megmaradt az 50% konverzió melletti 200 feletti enantioszelektivitás.

Az előkísérletek során kapott eredmények alapján az optimális körülmények között végeztük el a gramm mennyiségű rezolválást szakaszos kémiai módszerrel. Így az *N*-Boc védett ( $\pm$ )-**3** aminoalkohol enzim úton történő acilezésével sikerült enantiomertiszta ( $ee = 99\%$ ) termékeket [(*R*)-**3** és (*S*)-**6**] izolálni nagy enantioszelektivitással ( $E > 200$ ). Az így kapott enantiomertiszta termékekből egy hidrolízises lépéssel sikerült a Kalikotomin mindkét enantiomerét előállítani 99%-os enantiomerfelesleggel.<sup>17b</sup>

## 2.3. Reakciócentrum és kiralitáscentrum közötti távolság vizsgálata

Primer hidroxilcsoporttal rendelkező vegyületek enzim rezolválása során a reakciócentrum és a kiralitáscentrum közötti távolság változása eltérő enantioszelektivitást és reakciósebességet eredményezhet. Ezért a krispin A intermedier ( $n = 3$ ) enantiomertiszta előállítására optimálisnak talált reakciókörülmények között végeztünk el egy reakciósorozatot és megvizsgáltuk ezen körülmények között az enantioszelektivitásra és a reakciósebességre gyakorolt hatását a kalikotomin és a homokalikotomin intermedierekre esetében (6. ábra).



6. Ábra. Reakciócentrum és kiralitáscentrum közötti távolság változtatása.

A reakciósorozatban (4. táblázat) az volt a tapasztalat, hogy ha három szénatomnyi távolságra ( $n = 3$ ) van a reakciócentrum a kiralitáscentrumtól akkor a reakció 17%-os konverzió mellett  $E = 59$  enantioszelektivitást értünk el. Ha ez a távolság egy szénatommal rövidebb ( $n = 2$ , homokalikotomin intermedier) a reakció enantioszelektivitása 4,8-ra csökken 27%-os konverzió mellett. A kalikotomin intermedier estében, mikor a reakciócentrum és a kiralitáscentrum közötti távolság egy szénatom ( $n = 1$ ) a reakció nem is játszódik le az optimálisnak talált körülmények között.

4. Táblázat. [(±)-1-(±)-3]<sup>a</sup> vegyületek enzimés rezolválása PS lipázzal.

n	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	E
3	19	96	17	59
2	34	90	27	4,8
1	nincs reakció			

<sup>a</sup> 0,0125 M szubsztrát, 30 mg mL<sup>-1</sup> PS lipáz, 1 mL *t*-BuOMe, vinil-dekanoát [+ Et<sub>3</sub>N, + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>], 45 °C, reakcióidő 1 h.

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva.

A reakciócentrum és a kiralitáscentrum közötti távolság változtatás hatásának a vizsgálata következő szakaszában egy újabb reakciósorozatot végeztünk a kalikotomin intermedierre optimálisnak talált reakciókörülmények között.

5. Táblázat. [(±)-1-(±)-3]<sup>a</sup> vegyületek enzimés rezolválása CAL-B-vel.

n	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	E
1	99	99	50	> 200
2	41	56	42	5,2
3	rac.	rac.	64	1

<sup>a</sup> 0,012 M szubsztrát, 2 ekv. vinil-acetát, CAL-B, 80 bar, 60 °C, 0,1 mL min<sup>-1</sup>.

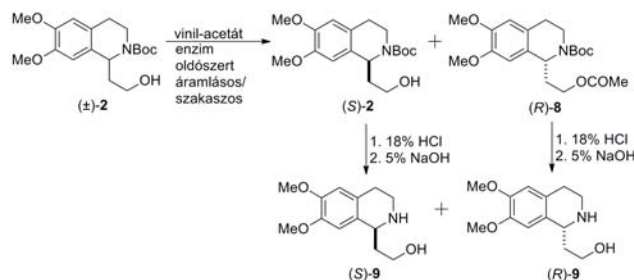
<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva.

Ebben a reakciósorozatban (5. táblázat) épp az ellenkezője volt tapasztalható, mint a kriszpin A intermedierre optimálisnak talált reakciókörülmények között, hiszen ha a reakciócentrum és a kiralitáscentrum között egy szénatomnyi távolság van abban az esetben értük el a legmagasabb szelektivitási értéket  $E > 200$  (1. sor). Azonban ha ezt a távolság növekedett a reakció szelektivitása is csökkent (2. és 3. sorok), egészen  $E = 1$ -ig, amit a Kriszpin A intermedier ( $n = 3$ ) három szénatomnyi távolság esetében tapasztaltunk.

#### 2.4. Homokalikotomin enantiomerek szintézise

Mivel a kriszpin A és a kalikotomin intermedierekre az előkísérletek során optimálisnak talált reakciókörülmények nem bizonyultak megfelelőnek a homokalikotomin intermedier enantiomertiszta formában történő előállítására (7. ábra), ezért egy újabb sor előkísérletre volt szükség. A kísérletekhez szükséges kiindulási anyagokat az

irodalomból ismert úton állítottuk elő.<sup>16c,d</sup> Az előkísérleteket folyamatos üzemű rendszerben végeztük, kihasználva a módszerben rejlő előnyöket (rövid reakcióidő).



7. Ábra. A (±)-2 vegyület enzim katalizált acilezése.

Az előkísérleteket ebben az esetben is enzimvizsgálattal kezdtük. A vizsgált enzimek közül CAL-A, PS IM és a PPL lipáz esetében nem volt reakció tapasztalható. AK lipáz használata esetében alacsony 1,6-os enantioszelektivitást mértünk (6. táblázat, 1 sor), CAL-B lipáz használata esetében ez az érték 5,2 volt (2. sor).

6. Táblázat. A (±)-2<sup>a</sup> vegyület enzim és hőmérséklet vizsgálata.

Sor sz.	Ezim	T (°C)	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	E
1	AK lipáz	45	10	20	33	1,6
2	CAL-B	60	41	56	42	5,2
3	CAL-B	40	17	80	18	10
4	CAL-B	25	17	90	16	22

<sup>a</sup> 0,012 M szubsztrát, 4 ekv. vinil-acetát, toluol, 80 bar, 0,1 mL min<sup>-1</sup>

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva [Chiralpak IA oszlop, eluens: *n*-hexán:IPA (85:15), áramlási sebesség: 0,5 mL min<sup>-1</sup>, detektálás 260 nm-en].

Az előkísérleteket hőmérséklet vizsgálattal folytattuk az optimális reakciókörülmények meghatározása végett (6. táblázat) és a hőmérséklet csökkentésének hatására a reakció enantioszelektivitása nőtt, a konverzió pedig csökkent (3. és 4. sorok).

7. Táblázat. A (±)-2<sup>a</sup> vegyület oldószer vizsgálata.

Sor sz.	Oldószer	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	E
1	<i>t</i> -BuOMe	7	26	21	1,8
2	<i>n</i> -hexán	4	5	44	1,1
3	toluol	17	90	16	22

<sup>a</sup> 0,012 M szubsztrát, 4 ekv. vinil-acetát, CAL-B, 80 bar, 60 °C, 0,1 mL min<sup>-1</sup>

<sup>b</sup> HPLC-vel meghatározva.

Különböző oldószerekben (7. táblázat) is elvégeztük a reakciókat azonban a legnagyobb szelektivitási értéket a toluolban végzett kísérletek esetében értük el (3. sor). A folyamatos áramú üzemű rendszerben végzett előkísérletek után szakaszos üzemű rendszerben folytattuk és megvizsgáltuk különböző adalékanyagok (katalitikus mennyiség) hatását az enantioszelektivitásra és reakciósebességre 3 °C-on (8.

táblázat). Et<sub>3</sub>N és Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> egyidejű használata esetében értük el a legjobb enantioszelektivitást ( $E = 88$ ).

**8. Táblázat.** A ( $\pm$ )-2<sup>a</sup> vegyület enzim katalizált acilezéséhez használt adalékanyagok hatása a reakciósebességre és az enantioszelektivitásra.

Sor sz.	Adalékanyag	$ee_s^b$ (%)	$ee_p^b$ (%)	Konv. (%)	$E$
1	-	12	96	11	55
2	LiCl	15	83	15	12
3	KCl	14	86	14	15
4	N,N-diizopropiletamin	41	81	34	14
5	Et <sub>3</sub> N	22	96	19	60
6	Et <sub>3</sub> N + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	30	97	24	88

<sup>a</sup>0,012 M szubsztrát, 30 mg mL<sup>-1</sup> CAL-B, 4 ekv. vinil-acetát, 1 mL toluol, 3 °C, reakcióidő 10 min.

<sup>b</sup>HPLC-vel meghatározva.

Majd ezen optimalizált paraméterek között elvégeztük a preparatív mennyiségű rezolválást két lépésben, melyek során jó  $ee$ -vel ( $\geq 94\%$ ) kaptuk meg az aminoésztert ( $R$ )-**8** és az el nem reagált aminoalkoholt ( $S$ )-**2**. Ezen termékekből az enantiomerfelesleg csökkenése nélkül ( $ee \geq 94\%$ ) tudtuk a kívánt homokalikotomin mindkét enantiomerét előállítani.<sup>17c</sup>

### 3. Összefoglalás

Optimalizáltuk a kalikotomin, homokalikotomin és kriszpin A intermedierjeinek folyamatos és szakaszos üzemmódban végzett enzimes rezolválásának körülményeit. A preparatív mennyiségű rezolválásokat mindegyik esetben szakaszos módszerrel valósítottuk meg és a termékeket nagy enantiomerfelesleggel ( $ee \geq 94\%$ ) izoláltuk.

Szisztematikusan vizsgáltuk a reakciócentrum kiralitás-centrumtól való távolságának az enantioszelektivitásra és a reakciósebességre gyakorolt hatását, két optimalizált körülményre. PS lipáz használata esetén a távolság csökkenése az enantioszelektivitás csökkenéséhez vezetett ( $E = 59 \rightarrow 1$ ), míg CAL-B esetén a távolság növelése eredményezte az enantioszelektivitás csökkenését ( $E = 200 \rightarrow 1$ ).

### Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak az OTKA NK-81371, K-108943 és a TÁMOP-4.2.2/A-11/1/KONV-2012-0035 támogatásáért

### Hivatkozások

- (a) Herbert, R. B. in *The Chemistry and Biology of Isoquinoline Alkaloids*, Eds.; Philips, J. D.; Roberts, M. F.; Zenk, M. H. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, **1985**, pp. 213. (b) Chrzanowska, M.; Rozwadowska, M. D.; *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, 3341-3370. (c) Miyazaki, M.;

- Ando, N.; Sugai, K.; Seito, Y.; Fukuoka, H.; Kanemitsu, T.; Nagata, K.; Odanaka, Y.; Nakamura, K. T.; Itoh, T. *J. Org. Chem.*, **2011**, *76*, 534-542.
- Zhang, Q.; Tu, G.; Zhao, Y.; Cheng, T. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 6795-6798.
- White, E. P. *New Zealand J. Sci. Tech.* **1944**, *25B*, 137-162.
- Al-Yahya, M. A.; Hassan, M. M. A. *Anal. Profiles Drug Subst.* **1982**, *11*, 407-461.
- Boyd, E. M.; Knight, L. M. *J. Pharm. Pharmacol.* **1964**, *16*, 118-124.
- (a) Ortín, I.; González, J. F.; Cuesta, E.; Manguan-García, C.; Perona, R.; Avendaño, C. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9065-9078. (b) Cuevas, C.; Francesch, A. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 322-337. (c) Schwartsman, G.; Brondani da Rocha, A.; Mattei, J.; Lopes, R. M. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2003**, *12*, 1367-1383.
- Taniyama, D.; Hasegawa, M.; Tomioka, T. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 221-223.
- Sabbani, S.; Hedenström, E.; Andersson, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, *18*, 1712-1720.
- Morimoto, T.; Suzuki, N.; Achiwa, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 183-187.
- Paál, T. A.; Liljebblad, A.; Kanerva, L. T.; Forró, E.; Fülöp, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5269-5276.
- Wegner, J.; Ceylan, S.; Kirschning, A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4583-4592.
- Wiles, C.; Watts, P. *Green Chem.* **2012**, *14*, 38-54.
- Falus, P.; Boros, Z.; Hornyánszky, G.; Nagy, J.; Darvas, F.; Üрге, L.; Poppe, L. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1310-1312.
- Ötvös, S. B.; Mándity, I. M.; Fülöp, F. *ChemSusChem* **2012**, *5*, 266-269.
- Tomin, A.; Hornyánszky, G.; Kupai, K.; Dorkó, Zs.; Üрге, L.; Darvas, F.; Poppe, L. *Process Biochem.* **2010**, *45*, 859-865.
- (a) Lázár, L.; Fülöp, F.; Bernáth, G.; Mattinen, J. *Org. Prep. Proc.* **1993**, *25*, 91-97. (b) Campbell, J. A.; Lee, W. K.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4602-4616. (c) Fülöp, F.; Forró, E.; Martinek, T.; Günther, G.; Sillanpää, R. *J. Mol. Struct.* **2000**, *554*, 119-125. (d) Kóbor, J.; Fülöp, F.; Bernáth, G. *Heterocycles* **1986**, *24*, 2227-2231.
- (a) Forró, E.; Schönstein, L.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1255-1260. (b) Schönstein, L.; Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2013**, *24*, 202-206. (c) Schönstein, L.; Forró, E.; Fülöp, F. *Tetrahedron: Asymmetry* **2013**, *In Press*.

### Enzymatic resolution of tetrahydroisoquinoline derivatives in batch and continuous-flow systems

The tetrahydroisoquinoline derivatives are important building blocks for a large number of naturally-occurring alkaloids. Enantiomerically pure tetrahydroisoquinoline derivatives with biological activity are applied in the synthesis of several drugs, such as the antitumour agent trabectedin (as Yondelis®), the antitussive nescapin and the expectorant emetin. 1-Methyl- and 1-p-henyltetrahydroisoquinoline play significant roles in the prevention of certain neurological diseases and Parkinson's disease.

A new enzymatic strategy was developed for the preparation of the enantiomers of tetrahydroisoquinoline derivatives such as calycotomine [1-(hydroxymethyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, ( $S$ )-**7** and ( $R$ )-**7**], homocalycotomine [1-(2-hydroxyethyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, ( $S$ )-**9** and ( $R$ )-**9**] and crispine A [8,9-dimethoxy-1,2,3,5,6,10-hexahydro- $\gamma$ -irrolidino[2,1a]isoquinoline, ( $S$ )-**5** and ( $R$ )-**5**]. Two of these substances were initially isolated from plants: calycotomine from *Calycotome spinosa* and crispine A from *Carduus crispus*, but several synthetic methods have also been described. For example, a new enzymatic dynamic kinetic resolution was developed for the synthesis of ( $R$ )-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-1-carboxylic



acid, from which (*R*)-calycotomine was prepared with a relatively modest *ee* of 91%. (*S*)-Calycotomine has also been prepared by asymmetric synthesis involving catalytic hydrogenation with an iridium(I)-(*R*)-BINAP-phthalimide complex.

The enzymatic resolutions of ( $\pm$ )-**1** - ( $\pm$ )-**3** (Scheme 1) were achieved through lipase (PS or CAL-B)-catalysed acylation of the primary OH group of these compounds with a remote stereogenic centre. A few literature articles dealing with the possibility of the enzymatic acylation of primary alcohols with a remote stereogenic centre have reported only low to moderate selectivity ( $E \leq 11.6$ ) and *ee* values.

In order to determine the optimum conditions for the enzyme-catalysed *O*-acylations of ( $\pm$ )-**1** - ( $\pm$ )-**3**, preliminary reactions were performed in both continuous-flow and batch systems. An incubator shaker was used for the batch reactions, while the continuous-flow reactions were performed in a flow reactor (H-Cube in "no H<sub>2</sub>" mode). The continuous-flow technique has many advantages, such as rapid heating and compression, a short reaction time and safer solvents, which explains its current popularity. The continuous-flow techniques are widely applied in heterogeneous catalysis procedures such as catalysis with metals or metals on activated charcoal, peptide catalysis and enzyme catalysis.

The effects of the enzyme, acyl donor, solvent, temperature and additive on the enantioselectivity and reaction rate were investigated in the acylation of *N*-Boc-protected 1-(3-hydroxypropyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline [( $\pm$ )-**1**] (Table 1). The highest enantioselectivity ( $E = 59$ ) was obtained in the presence of lipase PS with vinyl decanoate and catalytic amounts of Et<sub>3</sub>N and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in *t*-BuOMe as a green solvent, at 45 °C (Scheme 2). After the preliminary experiments, the gram-scale resolution of [( $\pm$ )-**1**] was performed in two steps and the product amino ester (*S*)-**4** and the unreacted amino alcohol (*R*)-**1** were obtained with good *ee* ( $\geq 94\%$ ). The *O*-acylated amino ester (*S*)-**4** was hydrolysed to the corresponding alcohol. The deprotection and the cyclization of the *N*-Boc-protected amino alcohol enantiomers were performed in one step, which resulted in the corresponding crispine A enantiomers [(*R*)-**5** and (*S*)-**5**] without loss in enantiopurity (*ee*  $\geq 94\%$ ) (Scheme 3).

To prepare both calycotomine enantiomers [(*R*)-**7** and (*S*)-**7**] (Scheme 4), the optimum conditions for the enzymatic resolution

were determined in continuous-flow reactions. In the preliminary reactions, the effects of the enzyme, solvent, temperature and substrate concentration on the enantioselectivity and reaction rate were tested (Tables 2 and 3). The use of a continuous-flow system also allows the possibility of testing the effect of pressure (Scheme 5). The optimized conditions for the enzymatic acylation of *N*-Boc-protected 1-(hydroxymethyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline [( $\pm$ )-**3**] were as follows: CAL-B as enzyme with vinyl acetate as acyl donor in toluene, at 80 bar, 60 °C and a flow rate of 0.1 mL min<sup>-1</sup>. A small-scale enzymatic batch reaction was performed in the presence of CAL-B with vinyl acetate in toluene at 60 °C in an incubator shaker. After a reaction time of 1 h, high enantioselectivity ( $E > 200$ ) was observed at 50% conversion. The preparative-scale batch reaction was performed under the optimized conditions and the resulting amino ester (*S*)-**6** and the unreacted amino alcohol (*R*)-**3** were obtained with high *ee* ( $\geq 99\%$ ). The product enantiomers were further transformed into the desired calycotomine enantiomers (*R*)-**7** and (*S*)-**7** with *ee* = 99%.

The homocalycotomine enantiomers [(*R*)-**9** and (*S*)-**9**] were prepared (Scheme 7) through an enzyme-catalysed *O*-acylation of *N*-Boc-protected 1-(2-hydroxyethyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline. In the preliminary small-scale experiments, the effects of the enzyme, solvent, temperature and pressure on the enantioselectivity and reaction rate were investigated in a continuous-flow system (Tables 6 and 7) and the effects of additives were tested in a batch reaction (Table 8). The preparative-scale resolution of [( $\pm$ )-**2**] was carried out in two steps in the presence of CAL-B with vinyl acetate, Et<sub>3</sub>N and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in toluene at 3 °C. After hydrolysis and deprotection, homocalycotomine enantiomers (*R*)-**9** and (*S*)-**9** were obtained with high *ee* values ( $\geq 94\%$ ) (Scheme 7).

A systematic study was also performed on the *O*-acylation of amino alcohols with a remote stereogenic centre [ $n = 3$ : crispine A intermediate, ( $\pm$ )-**1**,  $n = 2$ : homocalycotomine intermediate, ( $\pm$ )-**2** and  $n = 1$ : calycotomine intermediate, ( $\pm$ )-**3**] (Scheme 6) under the optimized conditions. In the presence of lipase PS, the enantioselectivity increased from 1 to 59 when the distance between the hydroxy group and the stereogenic centre increased from one carbon atom [( $\pm$ )-**3**] to three carbon atoms [( $\pm$ )-**1**] (Table 4), while with CAL-B the enantioselectivity decreased from 200 to 1 when the distance increased from 1 to 3 carbon atoms (Table 5).

# Szelektív szintetikus receptorok fejlesztése és alkalmazása fehérjék meghatározására<sup>§</sup>

LAUTNER Gergely<sup>a,\*</sup> és GYURCSÁNYI E. Róbert<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszék, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

<sup>b</sup>MTA-BME „Lendület” Kémiai Nanoszenzorok Kutatócsoport, Szent Gellért tér 4., 1111 Budapest, Magyarország

## 1. Bevezetés

A bioanalitikát forradalmasították a biológiai eredetű molekulák, pl. enzimek, nukleinsavak és ellenanyagok, szelektív molekuláris felismerésre történő alkalmazása. A rendkívül szelektív, esetenként specifikus, biomolekuláris kölcsönhatások (ellenanyag-antigén, enzim-szubsztrát, komplementer nukleinsav szálak hibridizációja) lehetővé tették a bioszenzorok, illetve a nagy áteresztőképességű biochip technológia kifejlesztését.

A biológiai eredetű receptorok (receptor alatt itt a szelektív felismerésért felelős molekulát értjük, amely nem-kovalens kötések kialakításán keresztül lép kölcsönhatásba a meghatározandó komponenssel) előnyös tulajdonságaik mellett jelentős hátrányokkal is bírnak. Így alkalmazásuk általában csak a természetes közegűknek megfelelő körülményekre (pH, ionerősség, hőmérséklet, stb.) korlátozódik. Emellett sok esetben nem megoldott a költséghatékony, reprodukálható és nagy mennyiségben történő előállításuk sem. További problémát jelent a bioreceptorok stabilitása, tárolhatósága különböző hőmérséklet viszonyok között. Ennek megfelelően jelentős előrelépést jelenthet a robusztus, tetszőleges fizikai-kémiai tulajdonságokkal bíró, szintetikus úton előállított receptorok alkalmazása. Doktori munkám célkitűzése két különböző típusú szintetikus receptor fejlesztése és analitikai alkalmazása volt fehérjék meghatározására: *DNS aptamerek és molekuláris lenyomatú polimerek*.

### 1.1. Aptamerek

Az aptamerek tipikusan 40-80 bázisból álló egyszálú oligonukleotidok, amelyek megfelelő három-dimenziós szerkezet felvételén keresztül képesek szelektíven kötődni egy adott célmolekulához. Az aptamerek bázissorrendjének megállapítása és előállításuk tisztán szintetikus úton, *in vitro* eljárással történik. Ennek megfelelően alkalmazási körük is kiterjedtebb lehet, mint az antitesteké, ugyanis az aptamerek akár kismolekulákra, toxikus anyagokra is előállíthatók, és alkalmazásuk során nem szükséges fiziológiai körülményeket biztosítani. Az aptamerek szelektívát lehetővé tevő SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) eljárás 1990-es kifejlesztése óta<sup>1,2</sup> nagyon sok célmolekulára szelektáltak aptamereket.<sup>3</sup> A módszer lényege, hogy egy rendkívül nagyszámú ( $10^{13}$ - $10^{15}$  féle) véletlenszerű oligonukleotid szekvenciát tartalmazó könyvtárból iteratív eljárással kiválasztják azokat a szekvenciákat, amelyek egy adott célvegyülethez kötődnek. A célvegyületet leggyakrabban egy szilárd hordozó

felületére immobilizálják (pl. mágneses részecske) és a nem-kötődő szekvenciákat mosási lépésekkel elválasztják, majd a célmolekulához kötődő oligonukleotidokat polimeráz láncreakcióval sokszorosítják. A folyamatot többször megismételve egy olyan oligonukleotid könyvtárhoz jutnak, amelyben feldúsulnak a célmolekulához kötődő szekvenciák, az aptamerek. Szekvenálás után, a szekvenciájuk ismeretében, az aptamereket szintetikus úton elő lehet állítani. Fontos kihangsúlyozni, hogy az eddig szelektált aptamerek döntően nem analitikai, hanem molekuláris biológiai, vagy éppen terápiás célra, biológusok által lettek kifejlesztve. Rendkívül kevés olyan tanulmány áll rendelkezésre, amelyekben az aptamer alapú szenzorok fejlesztése végig van vezetve a szelektiótól az analitikai alkalmazásig. A komplex mintákban történő mérésekhez azonban elengedhetetlen a megfelelő közegben való szelektálás és a mintában jelenlevő komponensek zavaró hatásának kiküszöbölése kontraszelekcióval. Kontraszelekcióval távolítjuk el a könyvtárból a zavaró komponensekhez kötődő oligonukleotidokat a szelektió előtt és közben.

Ennek megfelelően célunk originális aptamer szekvenciák szelektálásával és felhasználásával egy olyan aptamer szenzorchip fejlesztése volt, amellyel specifikusan detektálhatók akár homológ vírusfehérjék is. Modellként egy patogén növényi vírust, az alma törzsgöndörödés vírust (Apple Stem Pitting Virus – ASPV) választottuk, mely kétféle kapszid fehérjével (MT32 és PSA-H) fordul elő a természetben, és amelyek aminosav szekvenciája 81%-ban azonos.

A munka sarkalatos pontja volt az aptamerek és a fehérjék közötti kölcsönhatás jellemzése, amelyhez az esetek többségében a kölcsönhatások kinetikájának valós idejű, jelölés nélküli nyomon követését lehetővé tevő felületi plazmon rezonanciát (Surface Plasmon Resonance - SPR) alkalmaztunk. Emellett az aptamer-fehérje kölcsönhatások mérésére kidolgoztunk egy nagy jelerősítésű homogén távolság modulált lumineszcens módszert (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay - ALPHA). Ez alapot ad az aptamer szelektió során kapott oligonukleotid szálak közül a megfelelő analitikai tulajdonságokkal rendelkező aptamer gyors kiválasztására.

### 1.2. Felületi lenyomatú polimerek

A doktori munkám másik fő kutatási irányvonala fehérjék szelektív meghatározására alkalmas molekuláris lenyomatot

<sup>§</sup> PhD értekezés összefoglalója

\* Főszerző. Tel.: +36 1 463 1598; fax: +36 1 463 1598; e-mail: glautner@mail.bme.hu

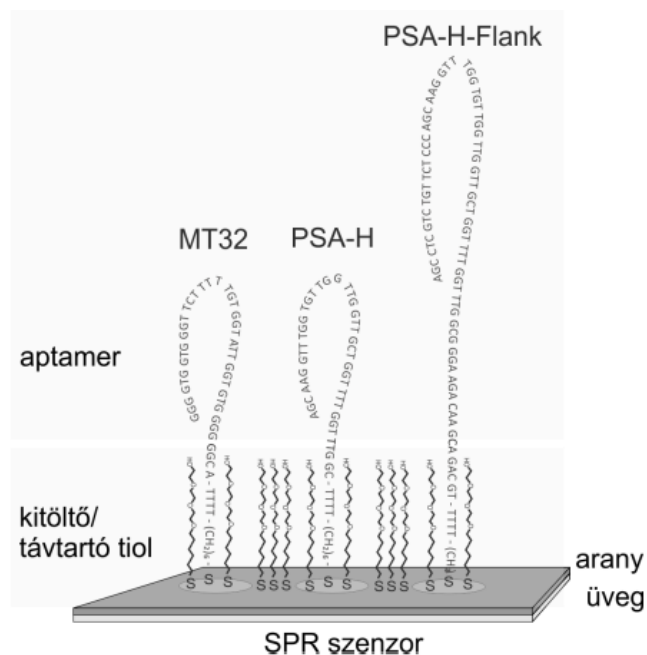
tartalmazó polimerek fejlesztése volt. A molekuláris lenyomatú polimerek (Molecularly Imprinted Polymer–MIP) előállítására megfelelő funkcionális monomer egységekből, polimerizációval történik a célmolekula jelenlétében. Ennek eltávolítása után a polimerben visszamaradt negatív lenyomat lehetőséget ad a célmolekula szelektív visszakötésére. Ez az univerzális elv, amely kimondottan sikeresnek bizonyult kis molekulatömegű komponensekre szelektív MIP-ek előállítására, a makromolekuláris célvegyületek esetében több okból nehézségbe ütközik. Így a makromolekulák mozgása gátolt a konvencionális molekuláris lenyomatot tartalmazó tömbpolimerekben és a polimerizáció után a makromolekulák eltávolítása a polimerből nem lehetséges.<sup>4,5</sup> A probléma megoldásához felületi lenyomatú polimer mikroszerkezetek előállítására és alkalmazására dolgoztunk ki elektrokémiai módszert. Ennek segítségével a fehérje felismerésére alkalmas felületi lenyomatú polimer közvetlenül az SPR szenzorchipen állítottuk elő.

## 2. Eredmények

### 2.1. Aptamer alapú SPR szenzorchipek fejlesztése növényi vírusfehérjék kimutatásához<sup>6</sup>

Az SPR bioszenzorok esetében a szelektív molekuláris felismerést biztosító komponenst a szenzorchip felületére kell immobilizálni. Az aptamerek a felületi borítottság és a szenzorchip alaposabb optimalizálását igénylik, mint az antitestek, mivel nagymértékű konformációs flexibilitásuknak köszönhetően adaptív felismerési mechanizmussal kötődnek a ligandumaikhoz.<sup>7</sup> Munkám során tiol módosítással ellátott aptamerek (HS-aptamer) közvetlen immobilizációját vizsgáltam arany szenzorchipen. Vizsgáltam az oligonukleotid hosszának hatását a felületi borítottságra, valamint a felületen található egyéb, térkitöltő tiolok és a primer felismerő (flank) régiók hatását a specifikus és nem-specifikus adszorpcióra az SPR szenzor felületén (1. Ábra). Mivel a korábbi tanulmányok rámutattak, hogy az etilén-glikol származékokkal módosított felületek jobban ellenállnak a proteinek nem-specifikus adszorpciójának, vizsgáltam a tiol terminális csoportot tartalmazó polietilén-glikol (5 és 20 kDa) és rövidebb oligoetilén-glikol térkitöltő molekulák alkalmazhatóságát növényi minták esetén. Az etilén-glikol származékok valóban nagyon kismértékű nem-specifikus adszorpciót mutattak többféle növényi kivonat esetében is, azonban a kevert aptamer/polietilén-glikol monorétegek esetében a hosszabb polietilén-glikol láncok sztérikusan gátolták a specifikus kötődést is. Csak a tetra- és hexaetilén-glikol származékok (HS-TEG, HS-HEG) alkalmazásakor tapasztaltunk megfelelő specifikus kötődést, ami rávilágít az aptamer rétegek optimalizálásának fontosságára. Ennek megfelelően a monoréteg nem tartalmazhat az aptamer szekvencia immobilizálásához használt távtartónál hosszabb kitöltő molekulákat, mivel azok már sztérikusan gátolják a célmolekula bekötődését. Az aptamer szálak 3' végére tervezett TTTT-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-SH távtartónak köszönhetően a vírus kapszidfehérje felismeréséért felelős rész kiemelkedik a TEG-SH felületből.

Az optimális specifikus kötőképesség elérése érdekében az aptamer/HS-TEG monoréteg optimalizálását három alapvető immobilizációs paraméter változtatásával végeztem: a két



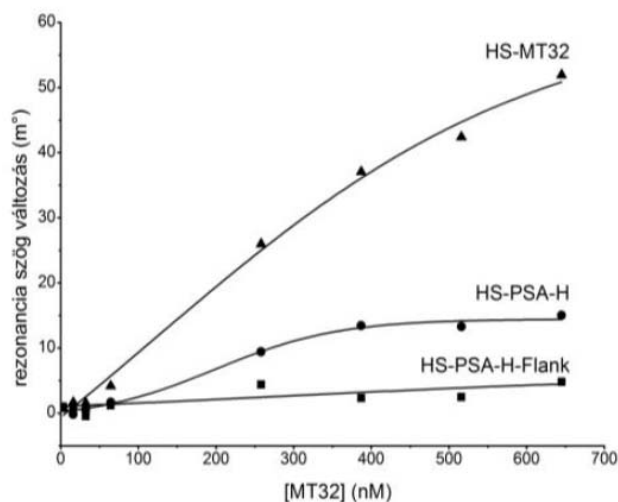
1. Ábra. Mikroceppentett SPR szenzor sematikus ábrája.

tiol koncentrációját és a pufferoldat ionerősségét változtattam. Az eredmények azt mutatták, hogy az optimális aptamer-ligandum kölcsönhatás, azaz a legalacsonyabb nem-specifikus adszorpció és a legmagasabb specifikus válasz érdekében legalább 5  $\mu\text{M}$  aptamer koncentráció szükséges, míg a TEG-SH koncentrációját nagyobb, 100  $\mu\text{M}$ , értéken kell tartani az immobilizáció során.

Az SPR jel koncentráció függését kezdetben tisztított MT32 és PSA-H vírus fehérjékkel vizsgáltam. A primer felismerő régiókat is tartalmazó 81mer PSA-H-Flank aptamerhez egyáltalán nem kötődött az MT32 fehérje, lehetőséget adva a két homológ vírusfehérje megkülönböztetésére. Az aptamerek szelektivitása összhangban volt az SPR tranziensek kinetikai kiértékeléséből származó aptamer-fehérje kölcsönhatások disszociációs állandóival ( $K_d$ ). MT32 fehérje esetén a HS-MT32 aptamer  $K_d$  értéke kb. 1 nagyságrenddel volt kisebb, mint a HS-PSA-H aptamer  $K_d$  értéke, azaz  $5,5 \times 10^{-8}$  M a  $2,9 \times 10^{-7}$  M-rel szemben. A PSA-H fehérje-aptamer disszociációs állandó értéke az alábbiak szerint nőtt: PSA-H aptamer ( $8,0 \times 10^{-9}$  M), PSA-H-Flank aptamer ( $2,6 \times 10^{-8}$  M) és MT32 aptamer ( $8,3 \times 10^{-8}$  M), ami megfelelt a szelektivitási sorrendnek.

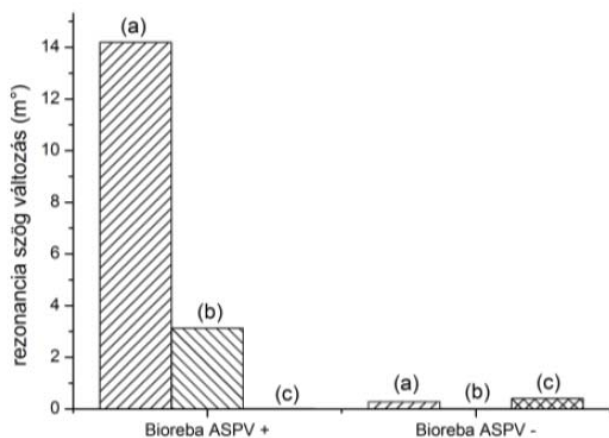
A vírusfehérjék valós növényi mintából történő kimutatásakor számolni kellett az aptamerek jelentős negatív töltéssűrűsége miatt a magasabb pI értékű mátrix fehérjék nem-specifikus adszorpciójával. A TEG-SH felületek nem mutattak szignifikáns nem-specifikus adszorpciót a vizsgált mintákkal, azonban az aptamereket is tartalmazó kevert monorétegek esetén ez jelentős mértékű volt (10-35  $\text{m}^2$ ). Bár az azonos sarzsából származó növényi kivonatok esetén a nem-specifikus adszorpció gyakorlatilag megegyezett, jelentősen eltért a különböző növényekből készített növényi kivonatok, illetve az azonos növényből készített, de különböző sarzsok esetén. Véletlenszerű bázissorrendű, de az aptamerekkel megegyező hosszúságú és felületi

borítottaságú DNS százból kialakított referencia felületet alkalmazva vizsgáltam a felületre immobilizált aptamerek és MT32 vírus kapszidfehérjével adalékolt alma levél kivonat közötti kölcsönhatást. Az SPR mérésekkel kapott adatok jó egyezést mutattak a pufferoldatban végzett mérésekkel. A hosszabb PSA-H-Flank és a rövidebb PSA-H aptamerek válasza kisebb volt, míg az MT32 aptamer a növekvő MT32 koncentrációval közel lineárisan növekvő rezonancia szög eltolódást mutatott (2. Ábra).



2. Ábra. MT32 kalibrációs görbék alma levél kivonatból, három különböző aptamerrel. A görbék korrekciója a referencia DNS felületen mért rezonancia szög eltolódások kivonásával történt. A mérési adatokat a specifikus kötődés elsődrendű kinetikáját leíró hiperbolikus egyenlettel illesztettem.

A vírus kapszidfehérjék növényi kivonatból történő meghatározására alkalmazott módszert ASPV pozitív növényi kivonatokon teszteltem (3. Ábra).

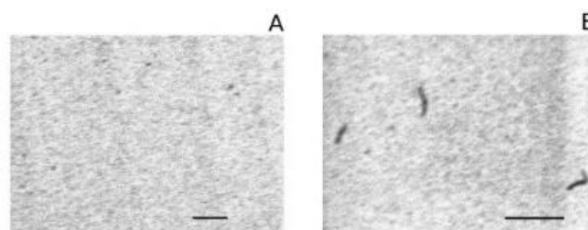


3. Ábra. 500 µg/mL összes protein koncentrációjú, ASPV fertőzött növényi kivonat válaszele: (a) MT32, (b) HS-PSA-H, (c) HS-PSA-H-Flank aptamerek.

Az eredmények szerint a HS-PSA-H és HS-MT32 aptamerek alkalmazásával, jelölésmentes detektálással megkülönböztethető a pozitív és negatív kontroll minta. Mivel a HS-PSA-H-Flank aptamer egyáltalán nem adott válaszelet, és a legnagyobb rezonancia szög eltolódást az MT32 aptamerrel mértem, feltételezhető, hogy a növényi

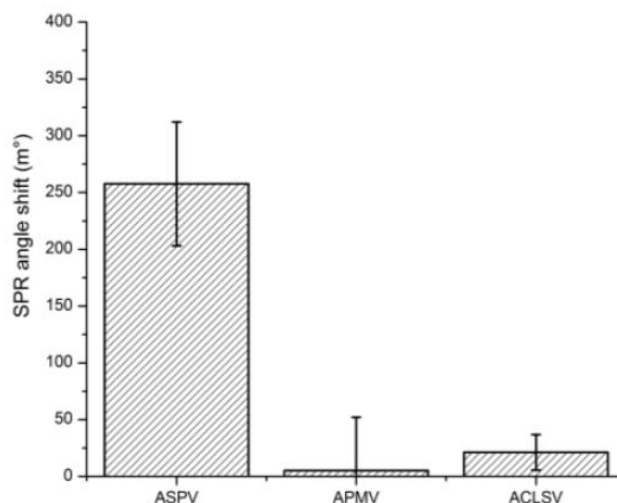
kivonat csak MT32 proteint tartalmazott, ami a kontroll gyártói specifikációjának megfelelően az ASPV jelenlétére utal.

Az SPR méréseket pásztázó elektronmikroszkópiás (SEM – Scanning Electron Microscopy) felvételekkel támasztottam alá (4. Ábra). Az aptamerrel módosított szenzorfelületen hosszúságú vírusfragmenseket ( $2,2 \times 10^7$  db/cm<sup>2</sup>) detektáltunk, míg a HS-TEG blokkolt felületen egyáltalán nem tapasztaltunk víruskötődést.



4. Ábra. Tipikus pásztázó elektronmikroszkópiás felvételek: (A) aptamer nélküli referencia felület és (B) HS-MT32 aptamer módosított felület ASPV fertőzött növényi kivonattal történő inkubálást követően. A méretvonalak 500 nm-esek.

Annak ellenőrzésére, hogy az MT32 aptamer különbséget tud-e tenni más vírusok által fertőzött növényi minták között, ASPV-vel, alma mozaik vírussal (apple mosaic *ilarvirus* – APMV) és alma klorotikus levélfoltosság vírussal (apple chlorotic leaf spot *trichovirus* – ACLSV) fertőzött növényi mintákat vizsgáltam HS-MT32 aptamerrel módosított SPR szenzorchipen. Az MT32 aptamer és a HS-T<sub>44</sub> referencia oligonukleotidon mért rezonancia szög eltolódások között nem volt szignifikáns eltérés az APMV és az ACLSV vírussal fertőzött minták esetében (5. Ábra). Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az MT32 aptamer különbséget tud tenni az ASPV és egyéb releváns vírusok között.<sup>8</sup>



5. Ábra. Referencia felülettel korrigált felületi plazmon rezonanciás válaszele ASPV, APMV és ACLSV fertőzött növényi kivonatokra, 100 µg/mL teljes protein koncentrációnál.

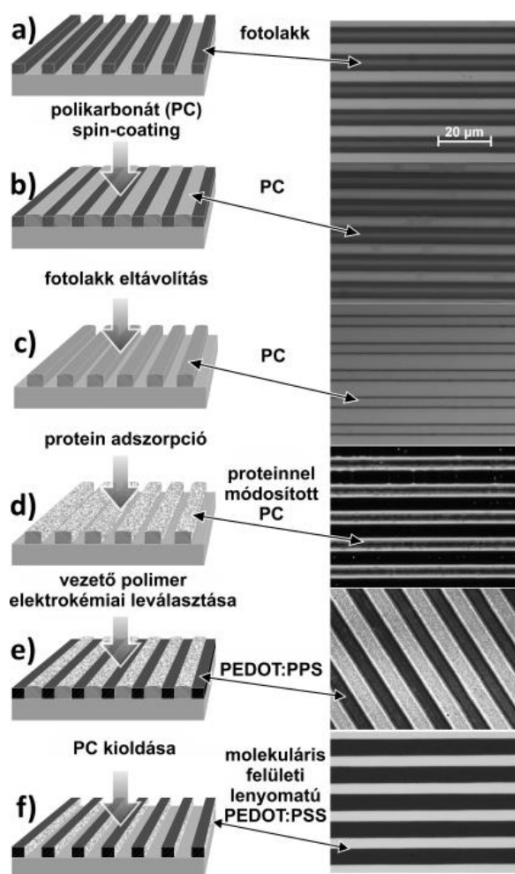
## 2.2. Nagy jelerősítésű homogén távolság modulált lumineszcens assay (ALPHA) aptamer-fehérje kölcsönhatások jellemzésére

A vírus fehérje - aptamer kölcsönhatások jellemzésére kidolgoztam egy erősített lumineszcenciás távolságmodulált

homogén mérési módszert (ALPHA - Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay). A PSA-H aptamer esetében az ALPHA módszerrel meghatározott  $K_d$  érték  $5,3 \pm 3,9$  nM, az MT32 aptamer esetében pedig  $70,5 \pm 28,0$  nM volt. Ezek az eredmények jó egyezést mutattak az SPR-rel mért adatokkal.<sup>9</sup>

### 2.3. Fehérjék szelektív, jelölésmentes detektálása mikromintázott, felületi lenyomatot tartalmazó mesterséges receptorokkal

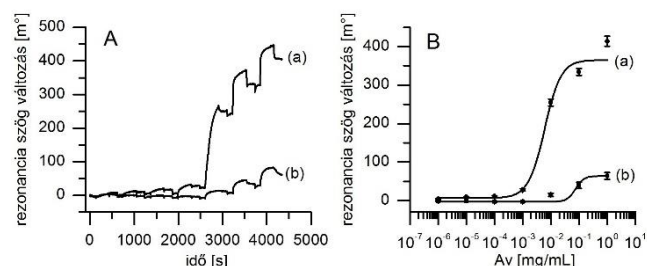
Egy újszerű megközelítést alkalmaztunk annak érdekében<sup>10</sup>, hogy az SPR szenzor érzékelési zónájában alakítsunk ki fehérjekötő helyeket a felületi lenyomatképzéssel (SI - Surface Imprinting). A 6. Ábra mutatja a molekuláris lenyomatképzés sématis ábráját, ami fotolitográfias eljárással létrehozott mintázatképzésen alapul, és csak a PEDOT/PSS barázdák függőleges falain, azaz a szenzorchip felületére merőlegesen elhelyezkedő kötőhelyeket hoz létre.



**6. Ábra.** A molekuláris lenyomatú polimer mikrobarázdák létrehozása során a felületi lenyomatképzés folyamatának sématis ábrája (a-f, bal), és a megfelelő mikrostrukturák optikai mikroszkópiás képei (a-c, e, f, jobb). A (d) ábrán a polikarbonát (PC) mikrobarázdákon a protein adszorpciót fluoreszcensen jelölt proteinnel (avidin-fluoreszcen izotiocianát - Av-FITC) és epifluoreszcens képalkotással jelenítettük meg.

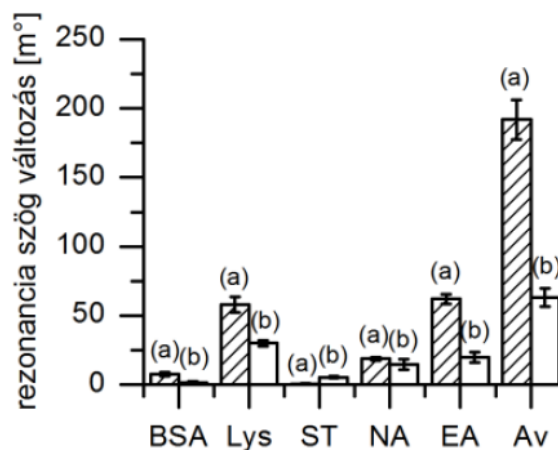
A mikromintázott polimer chippekkel történő SPR mérésekhez a szenzorchipen felületi lenyomatot tartalmazó (SIP) és felületi lenyomatot nem tartalmazó (NIP) strukturákat is kialakítottunk, hogy egyszerre lehessen nyomonkövetni a kétféle felületen a kötődéseket. Az avidin válaszgörbék (7. ábra) egyértelműen bizonyítják a felületi lenyomatképzés hatását a NIP felülethez képest. Az avidin-MIP kölcsönhatás

disszociációs egyensúlyi állandója ( $125 \text{ nM}$ )<sup>10</sup> közel egy nagyságrenddel kisebb volt, mint a NIP felület esetében ( $1,4 \mu\text{M}$ ). Ugyanez a tízszeres faktor jellemezte a telítési koncentrációnak megfelelő jelarányt, ami azt jelenti, hogy a lenyomatképzési faktor az egyik legmagasabb az eddig publikált protein-MIP-ek között. A SIP szelektivitását avidin származékokkal, streptavidinnal (ST), NeutrAvidinnal (NA) és ExtrAvidinnal (EA) vizsgáltam, valamint olyan fehérjékkel, melyek szintén magas izoelektromos ponttal (pI) rendelkeznek, például a lizozimmal (Lys, pI 11,35). Egy jelentősen kisebb pI értékű (4,7), de közel azonos molekulatömegű fehérjét, marha szérumalbumint (BSA - Bovine Serum Albumin) is vizsgáltam.



**7. Ábra.** (A) avidin-SIP mikromintázott (a) és NIP (b) felületeken mért SPR szenzorgramok egymást követő, növekvő avidin koncentrációk esetén; (B) a kumulatív kalibrációs görbe.

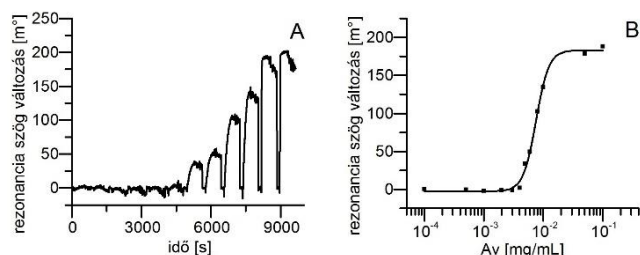
A NIP felületek minden esetben kisebb válaszjelet adtak a vizsgált fehérjék esetén, mint az avidin felületi lenyomatú polimer felületeken (Avidin-SIP). A vártak megfelelően az avidin-SIP felületen a legnagyobb válaszjelet az avidin adta, majd az ExtrAvidin, NeutrAvidin és streptavidin következett a szerkezeti hasonlóság sorrendjében (8. Ábra).



**8. Ábra.** Avidin-SIP (a) és NIP (b) felületek válaszjelei különböző proteinek  $10^{-2}$  mg/mL koncentrációjú oldata esetén.

1 M-os NaCl oldat alkalmazása lehetővé tette a SIP felületek regenerálását. A regenerált felület válaszjele (9. Ábra) ugyan elhanyagolható alapvonal eltolódást mutat, de ebben az esetben valamivel kisebb a lenyomatképzési faktor. Ez arra utal, hogy a koncentrált NaCl oldat hatással van a SIP kötőhelyeire. A nagy ionerősségű oldattal végzett sikeres regenerálás az avidin és a SIP közötti kölcsönhatás elektrosztatikus jellegére utal, szemben az avidin - NIP kölcsönhatással, amit nem befolyásol az ionerősség.

Valószínűleg a lenyomatképzés során feldúsul a PSS a PEDOT/PSS filmek felületén. Ez a jelenség megmagyarázná



**9. Ábra.** (A) Mikromintázott avidin-SIP nem-specifikus adszorpcióval korrigált SPR válaszele különböző avidin koncentrációk esetén, az egyes koncentrációk között regenerálva a felületet; (B) kalibrációs görbe.

a SIP felületek nagyobb affinitását a nagyobb pI-vel rendelkező fehérjékhez, valamint lizozim nagyobb adszorpcióját a SIP felületekhez, mint a NIP felületekhez. Az avidin és a SIP közötti kölcsönhatás azonban nem tisztán elektrosztatikus jellegű, amire az utal, hogy az avidin és a semleges töltésű extravidin esetén nagyobb válaszelet kapunk, mint a lizozim estében.

### Köszönetnyilvánítás

Ez a közlemény Lautner Gergely PhD disszertációja alapján készült (védés: 2013. január 17.). Köszönet illeti Dr. Mészáros Tamást, a Semmelweis Egyetem, Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézetének egyetemi docensét, akinek a csoportja végezte az aptamerek szelektációját. Köszönet az Új Széchenyi Terv TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0002 és 0001 program, valamint az OTKA (NF69262, K68161), ENIAC CAJAL4EU és MTA Lendület program anyagi támogatásáért.

## 3. Kísérleti módszerek

### 3.1. Aptamerrel módosított SPR szenzorchipek előállítása

A növényi vírus fehérjékre (MT32 és PSA-H) szelektált originális aptamereket tiol csoporton keresztül immobilizáltuk a felületi plazmon rezonanciás szenzorchip arany felületéhez. Ennek érdekében az aptamereket a 3' végükön „TTTT-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-SH” módosítással szintetizáltattuk meg (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). A képkötő felületi plazmon rezonanciás (iSPR) mérésekhez a szenzorchip felületét mikroceppentő robot (Calligrapher Microarrayer, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) alkalmazásával mintáztuk a tiol módosított oligonukleotidokkal. Amennyiben nem volt szükség a szenzorchip mintázására, az iSPR-t egy csatornás rendszerként alkalmaztuk és a szenzorchipet az SPR átfolyó cellájában módosítottuk. Az aptamerek immobilizációs körülményeit iSPR mérések alapján optimalizáltuk.

A különböző hosszúságú oligonukleotidok felületi sűrűségét az immobilizált DNS szálak negatív töltését kompenzáló Ru<sup>3+</sup> mennyiségének mérésével, voltametriásan határoztuk meg.

### 3.2. Felületi lenyomatú polimer alapú SPR szenzor előállítása

A protein felületi lenyomatú PEDOT/PSS mikromintázatot planáris, módosítatlan arany SPR szenzorchipen

hoztuk létre. Az arany bevonatú üveg hordozón először fotolitográfias technika alkalmazásával mikrobarázdákat hoztunk létre fotolakkból, majd a felületre polikarbonát (PC) áldozati anyagot vittünk fel a fotolakk barázdák közé. A fotolakk eltávolítását követően a visszamaradt PC mikrobarázdákra adszorbeáltattuk a célfehérjét, majd PEDOT/PSS vezető polimert választottunk le a felületre elektrokémiaiag. A PC eltávolítása után a felületen fehérje lenyomatot tartalmazó PEDOT/PSS mikrobarázdák maradnak vissza. A lenyomatképzéshez avidin (Av, 66 kDa, pI = 10,5) fehérjét használtunk és ExtrAvidin (EA, pI = 6,5), streptavidin (ST, 60 kDa, pI = 5,5), NeutrAvidin (NA, 60 kDa, pI = 6,3), lizozim (Lys, 14,3 kDa, pI = 11,35) és BSA (66,4 kDa, pI = 4,7) fehérjékkel vizsgáltuk a felületi lenyomatú polimer szelektivitását.

### 3.3. Fehérje detektálás felületi plazmon rezonanciával

A szintetikus receptorok és a fehérjék közötti kölcsönhatás mérésére iSPR készülék (IBIS Technologies, Enschede, Hollandia) alkalmaztunk. Ez lehetőséget adott egy vékony arany réteggel bevont üveglemez (szenzorchip) felületén történő törésmutató változás nagy érzékenységu nyomonkövetésére, amely adott esetben arányos a szenzor felületén immobilizált receptorokhoz kötődő molekulák tömegével. Így ez a módszer alkalmas a szenzorchip felületére immobilizált receptorok és a szenzorchip felületére oldatban juttatott molekulák közötti kölcsönhatás valós idejű, jelölésmentes detektálására.

### 3.4. Fehérje-aptamer kölcsönhatás jellemzése ALPHA-val

Az ALPHAScreen<sup>®</sup> néven elterjedt nagy jelerősítésű homogén távolság modulált lumineszcens mérés technika biológiai kölcsönhatások mérésére alkalmas, rendkívül érzékeny módszer. A mérés technika egy polisztirol donor- és akceptor mikrogyöngy párból áll, melyek a felületükre immobilizált biomolekulák kölcsönhatása következtében kerülnek egymáshoz közel. Nagy intenzitású lézerténnyel megvilágítva a donor gyöngyöt a felületén található fényérzékenyítő származék hatására a környezeti oxigén molekulákból gerjesztett állapotú, szingulett oxigén molekulák jönnek létre. A szingulett oxigén molekulák reagálnak a kb. 200 nm térségben található akceptor gyöngyben lévő fluoroforokkal, melynek hatására kemilumineszcencia lép fel.

### Hivatkozások

1. Tuerk, C., Gold, L. *Science*. **1990**, 249(4968), 505-10.
2. Ellington, A. D., Szostak, J. W. *Nature*. **1990**, 346(6287), 818-22.
3. Lee, J. F., Hesselberth, J. R., Meyers, L. A., Ellington, A. D. *Nucleic Acids Research*. **2004**, 32(suppl 1):D95-D100.
4. Glad, M., Norrlöw, O., Sellergren, B., et al. *Journal of Chromatography A*. **1985**, 347(0):11-23.
5. Kryscio, D. R., Peppas, N. A. *Acta Biomaterialia*. **2012**, 8(2): 461-73.
6. Lautner, G., Balogh, Z., Bardóczy, V., Mészáros, T., Gyurcsányi, R. E. *Analyst*. **2010**, 135, 918-926.
7. Hermann, T., Patel, D. J. *Science*. **2000**, 287(5454):820-5.
8. Balogh, Z., Lautner, G., Bardóczy, V., Komorowska, B., Gyurcsányi, R. E., Mészáros, T. *Faseb Journal*. **2010**, 24(11) 4187-4195.

9. Lautner, G., Balogh, Z., Gyurkovics, A., Gyurcsányi, R. E., Mészáros, T. *Analyst* **2012**, *137*, 3929-3931
10. Lautner, G., Kae, J., Reut, J., Opik, A., Rappich, J., Syritski, V., Gyurcsányi, R. E. *Advanced Functional Materials*. **2011** *21*, 591-597.

### Development and Application of Selective Synthetic Receptors for Protein Detection

My doctoral research focused on the development and application of robust synthetic receptors designed explicitly for analytical purposes. Two, conceptually different kind of synthetic receptors were developed and evaluated for the selective detection of protein targets: DNA aptamers and molecularly imprinted polymers.

Aptamers are 40-80mer single stranded oligonucleotides that selectively bind to their cognate target molecules upon forming specific 3D structures. Although nucleic acid – protein interactions are well known in nature, the sequences of nucleic acid aptamers for a given target compound are determined by a synthetic, *in-vitro* procedure referred to as SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment).<sup>1,2</sup> Since the first publication of the SELEX procedure in 1990, a large number of aptamers have been selected for an impressive range of target molecules.<sup>3</sup> However, still most of analytically aimed studies are performed in „ideal conditions” on a relatively limited number of well characterized model aptamers, which were not intended originally for analytical application. This implies that in the majority of the reports the analytical method development uses aptamers that have not been optimized for the analytical task and consequently, analytical applications that start from the selection of aptamers custom tailored for the intended analytical task are scarce. However, the aptamer selection would gain significantly, if through counter-selection the sequences, that bind notorious interferents from the sample, are discarded from the oligonucleotide library.

Therefore, one of the main goals of my research was to develop aptamer-based label-free sensors by covering the whole line of research from aptamer selection to their application in complex matrices. In addition, we also aimed at developing methodologies for high throughput evaluation of aptamer-protein interactions. As the fast generation of highly discriminating receptors makes aptamers one of the most prospective candidates for the detection of various virus strains and their mutants, we attempted for the first time, the development of an aptamer-based assay against the coat proteins (MT32 and PSA-H) of a plant virus, Apple Stem Pitting Virus (ASPV). The label-free detection of ASPV was ensured by developing surface plasmon resonance (SPR) sensor chips based on original aptamer sequences, which also allowed the real time kinetic analysis of aptamer-target interactions.<sup>6,8</sup> SPR imaging was used both as a fast means to optimize a mixed HS-aptamer/HS-TEG self-assembled monolayer for optimal binding and for analyzing plant virus contamination in plant extracts. We studied in detail the effect of various parameters, i.e., aptamer length, spacer length, surface density, co-immobilized thiol derivatives, on the specific and non-specific binding of the relevant target proteins and viruses in various conditions. This enabled ultimately the development of a self-referencing method based on multiplexed aptamer based sensorchips for specific recognition of ASPV virus in real plant extract samples. The selected aptamer were even able to discriminate between the two virus coat proteins PSA-H and MT32 with amino acid sequences identical in 81%. The specificity of MT32 aptamer was confirmed by testing crude plant extracts infected by apple mosaic *ilarvirus* or apple chlorotic leaf spot *trichovirus* that are widespread apple viruses often coinfecting with ASPV.

During our experiments we realized that a major bottleneck of the aptamer selection process is that selected oligonucleotides have to be evaluated individually in terms of their binding properties, e.g., by determining the dissociation constant ( $K_d$ ) of aptamer–target molecule complexes, to designate the most auspicious aptamers. However, as typically a great number of sequences are selected this becomes an arduous task. Therefore, we introduced a microtiter plate based Amplified Luminescent Proximity Homogenous Assay (ALPHA) to assess the  $K_d$  value of aptamer–protein complexes demonstrated through the study of apple stem pitting virus coat protein-specific aptamers. The obtained  $K_d$  values for PSA-H and MT32 aptamers were  $5.3 \pm 3.9$  nM and  $70.5 \pm 28.0$  nM, respectively, in very close agreement with the values determined by SPR: 8 nM (PSA-H aptamer) and 83 nM (MT32 aptamer).<sup>9</sup> Thus the ALPHA method can be used as a simple, cost-effective method for screening aptamer–target protein interactions during aptamer selection.

The second part of my research focused on the development of molecularly imprinted polymers for protein recognition. Molecularly imprinted polymers (MIPs) are selective, synthetic sorbents prepared from a mixture of functional monomers in the presence of a target molecule. During polymerization, the target molecule acts as a template inducing binding sites in the polymer matrix, which are capable of selectively recognizing (rebinding) the target molecule. Although the universal concept of molecular imprinting proved to be very successful for small molecule imprinting, its application for biomacromolecules is still a major challenge.<sup>4,5</sup> It has been reported that despite of the ubiquitous importance of macromolecular recognition in bioanalysis only ca. 2 % of the reported MIPs involve macromolecular targets. One reason for this is that the bulk synthesis method, with excellent results in generating MIPs for recognition of low-molecular-weight compounds, is hardly applicable to macromolecules due to their hindered mobility in the highly reticulated polymeric networks. Thus, in the worst case the macromolecules become entrapped in the polymeric material with both their removal and rebinding prohibited. Therefore, the essential prerequisite of generating macromolecular imprints should be clearly to create accessible binding sites amenable for free exchange of the target between the MIP and the sample phase.

We have developed a novel method for the synthesis of surface imprinted polymers (SIP) compatible with conventional photolithographic technology directly onto the surface of surface plasmon resonance (SPR) sensorchips. Apart from the overwhelming majority of the MIPs prepared by chemical synthesis, we used electrochemical oxidation to form surface-imprinted microbands of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) doped with poly(styrenesulfonate) (PSS) enabling the label-free real-time detection of the model protein (avidin) – MIP interactions.<sup>10</sup> Despite the structural complexity of the surface imprinted PEDOT/PSS micropatterns, their interaction with proteins could be determined in a straightforward manner with SPR imaging at sensitivities that, in this particular case, outperformed those of fluorescence imaging.

The novel surface imprinted microstructures bound avidin, the template protein, with dissociation constants in the submicromolar range (125 nM). Imprinting factors of approximately 10 were obtained, which places the protein-imprinted PEDOT/PSS among the best SIPs reported so far. The avidin imprinted PEDOT/PSS microstructures were shown to discriminate even between close functional Av homologues, i.e., neutravidin, streptavidin and extravidin. The marked ionic strength dependence of the Av binding to the SIP that we found as well as the lesser selectivity towards lysozyme, a protein with (pI=11.35) suggested a major electrostatic contribution to the binding interactions, which, however, is not solely responsible for the selective recognition of avidin.

## Ruff Imre (1938-1990)

BARANYAI András\*

ELTE TTK Kémiai Intézet, Pázmány sétány 1, 1117 Budapest, Hungary



Ruff Imre (1938-1990)

1938. augusztus 4-én Főherceglakon született egy „úriszabó” egyetlen gyermekeként. Középiskolába Mohácson járt, majd az ELTE vegyész szakán végezte tanulmányait. Tanulmányi eredményeinek köszönhetően - egy rövid, a Szilárdtest Fizikai Kutatóintézetben eltöltött év után - tanársegéd lett a Schulek Elemér vezette Analitikai Kémiai Tanszéken. Hallgatói laborgyakorlatok vezetése mellett kutatásait Burger Kálmán munkatársaként a komplex kémia körében végezte. Elméleti érdeklődése azonban hamar eltávolította őt a hagyományos analitikához szorosabban kapcsolódó területekről és az elektron átugrás problémakörével kezdett foglalkozni. Ebből írta kandidátusi dolgozatát is, de az igazi sikert az átugrások diffúzióinak több kísérletben való bemutatása és elméleti leírása hozta. A jelenség lényege, hogy ha koncentráció gradiens létezik egy redoxi reakció valamelyik komponensére, akkor a diffúzió sebesség gyorsabb lesz, mintha csak ez a komponens önmagában lenne jelen a rendszerben. A gyorsulás az elektronátugrás lehetősége által következik be. Az átugrásra kísérleti eredményül kapott  $10^{-15}$  másodperces időintervallum, akkor, 1970-ben, különleges eredménynek számított. Az elmélet, amely azóta is az ő nevét viseli, egy évtizeddel később vált igazán használatossá, amikor felismerték, hogy a polimerfilm borította elektródok töltés transzportjának leírására alkalmas.

Ruff Imre, amellett, hogy egy analitikai tanszéken minden a kor színvonalán álló analitikai módszerrel fel volt vértelve, széleskörű ismeretekkel rendelkezett a fizikai-kémiában, amit az is elősegített, hogy másfél évig oktatta ezt a tárgyat Nigériában. A legjobb angol „textbook”-ok mindegyikét

részletesen tanulmányozta. Kifejezetten felkészült volt a statisztikus mechanika területén, ezért a hetvenes évek második felében vizes elektrolit oldatok leírásával kezdett foglalkozni. Ezért Akadémiai Díjban is részesült. Felismerte, hogy milyen jelentősége van a számítógépes szimulációknak. A hazai szűkös számítási kapacitást egy oxfordi együttműködési kapcsolat enyhítette, ahol só-olvadékok szerkezeti vizsgálatával foglalkozott. Utolsó éveiben visszatért régi „szerelméhez” a vízhez és ionok vizes oldataihoz.

Ruff Imre egyik elindítója volt a tudomány-metriának. A korabeli előmeneteli gyakorlat motiválta erre, amikor a pártállami beágyazottság felülírhatta a tudományos eredményességet. Mivel származása nem volt tökéletes, a pártnak sem volt tagja, az akkori viszonyok az ő előmenetelét hátrányosan érintették, amit az is bizonyít, hogy akadémiai tagságát többször megvétőzták, s csak a rendszerváltoztatás után, közvetlenül tragikus halála előtt kapott zöld utat.

Ruff Imre professzor egy dinamikus, vezetői tevékenységekre hivatott ember volt. Nem csak közel 190 cm-es magassága és éles tekintete tette azzá, hanem az a belülről fakadó aktivitás, ami az egyetemi élet és egészében a teljes felsőoktatási rendszer megreformálásában, egy modern nyugati típusú universitas megteremtéséért való küzdelmeiben is megnyilvánult. Ezért vállalta el a dékánhelyettesi posztot is, ahol a rendszerváltozást megelőző viharos időkben szolgált. Nyílt, szókimondó stílusa miatt sokszor ütközött, s talán ezek is hozzájárultak ahhoz, hogy egészsége felörlődjék és egy szellemi erejében lévő, kiemelkedő kollégát veszítsünk el személyében.

Fulbright ösztöndíjasként tanított és kutatott az Egyesült Államokban, amikor megbetegedett. Hazajött, de sajnos a kezelések sikertelenek maradtak és 1990 március 1-én eltávozott közülünk. Körülbelül 80 közlemény, két könyv és néhány interjú maradt utána. Felesége, három gyermeke, tanítványai, kollégái, barátai, de az ELTE és a magyar tudomány számára is hatalmas veszteség volt a halála.

### Közlemények

1. Ruff, I.; Diestler D. J. *Journal of Chemical Physics* **1990**, *93*, 2032-2042.
2. Ruff, I.; Baranyai, A. et al. *Journal of Chemical Physics* **1989**, *91*, 3148-3159.
3. Ruff, I.; Baranyai, A. et al. *Chemical Physics Letters* **1988**, *150*, 473-477.
4. Botar, L.; Ruff I. *Chemical Physics Letters* **1988**, *149*, 99-101.
5. McGreevy, R. L.; Baranyai, A. et al. *Acta Chimica Hungarica-Models in Chemistry* **1988**, *125*, 717-743.
6. Pusztai, L., A. Baranyai, et al. *Journal of Physics C-Solid State Physics* **1988**, *21*, 3687-3698.

\*email: bajtony@chem.elte.hu



7. Baranyai, A.; Ruff I. *Journal of Chemical Education* **1988**, 65, 400-403.
8. Baranyai, A.; Geiger A. et al. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1987**, 83, 1335-1365.
9. Baranyai, A.; Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1987**, 93, 33-42.
10. Baranyai, A.; Ruff, I. *Journal of Chemical Physics* **1986**, 85, 365-373.
11. Baranyai, A.; Ruff, I. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1986**, 92, 351-358.
12. Baranyai, A.; Ruff, I. et al. *Journal of Physics C-Solid State Physics* **1986**, 19, 453-465.
13. Botar, L.; Ruff, I. *Chemical Physics Letters* **1986**, 126, 348-351.
14. McGreevy, R. L.; Baranyai, A. et al. *Physics and Chemistry of Liquids* **1986**, 16, 47-54.
15. McGreevy, R. L.; Baranyai, A. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1986**, 92, 416-419.
16. Ruff, I. *Acta Chimica Hungarica-Models in Chemistry* **1986**, 121, 203-213.
17. Ruff, I.; Baranvai, A. et al. *Journal of Chemical Physics* **1986**, 85, 2169-2177.
18. Ruff, I.; Botar, L. *Journal of Chemical Physics* **1985**, 83, 1292-1297.
19. Ruff, I.; Liszi, J. *Chemical Physics Letters* **1985**, 116, 335-340.
20. Ruff, I.; Liszi, J. *Kémiai Közlemények* **1982**, 58, 147-167.
21. Ruff, I.; Palinkas, G. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1982**, 88, 7-13.
22. Ruff, I. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1982**, 78, 617-624.
23. Ruff, I. *Chemical Physics Letters* **1982**, 93, 553-554.
24. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1982**, 88, 210-213.
25. Gombos, K.; Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1982**, 111, 99-116.
26. Liszi, J.; Papp, E. et al. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I* **1982**, 78, 915-922.
27. Liszi, J.; Papp, E. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1982**, 88, 30-36.
28. Ruff, I.; Palinkas, G. et al. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1981**, 77, 1189-1201.
29. Szabo, Z. G.; Ruff, I. et al. *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-Wiesbaden* **1981**, 126, 167-175.
30. Liszi, J.; Meszaros, L. et al. *Journal of Chemical Physics* **1981**, 74, 6896-6901.
31. Liszi, J.; Meszaros, L. et al. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1980**, 104, 279-285.
32. Liszi, J.; Meszaros, L. et al. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1980**, 104, 273-278.
33. Wajand, J.; Szabo, Z. G. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1980**, 86, 339-345.
34. Ruff, I.; Liszi, J. et al. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1980**, 104, 69-77.
35. Ruff, I.; Liszi, J. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1980**, 86, 74-78.
36. Ruff, I.; Szabo, Z. G. et al. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1979**, 100, 353-363.
37. Liszi, J.; Meszaros, L. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1979**, 85, 560-562.
38. Liszi, J.; Meszaros, L. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1979**, 85, 557-559.
39. Ruff, I. *Kémiai Közlemények* **1979**, 52, 491-497.
40. Ruff, I. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1979**, 75, 1-11.
41. Konkolythege, I.; Ruff, I. et al. *Thermochimica Acta* **1978**, 24, 89-96.
42. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1978**, 84, 145-156.
43. Szabo, Z. G.; Wajand, J. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1978**, 84, 198-202.
44. Szabo, Z. G.; Kamaras, K. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1977**, 83, 317-323.
45. Ruff, I. *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions II* **1977**, 73, 1858-1877.
46. Szabo, Z.; Barcza, L. et al. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1976**, 82, 612-613.
47. Szabo, Z. G.; Barcza, L.; Ladanyi, L.; Ruff, I. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1976**, 71, 241-4.
48. Szabo, Z.; Barcza, L.; Ladanyi, L.; Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1976**, 82, 612-13.
49. Ruff, I.; Zimonyi, M. *Electrochimica Acta* **1973**, 18, 515-16.
50. Ruff, I.; Friedrich, V. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1973**, 79, 65-69.
51. Ruff, I.; Friedrich, V. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1973**, 79, 131-3.
52. Ruff, I.; Hegedus, A.; Friedrich, V. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1973**, 79, 133-5.
53. Ruff, I.; Zimonyi, M. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1973**, 79, 135-7.
54. Ruff, I.; Laczko, B. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1972**, 78, 584-8.
55. Ruff, I.; Laczko, B. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1972**, 74, 335-43.
56. Ruff, I.; Friedrich, V. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1972**, 78, 83-9.
57. Ruff, I.; Friedrich, V.; Demeter, K.; Csillag, K. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1972**, 78, 89-97.
58. Ruff, I.; Friedrich, V.; Csillag, K. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1972**, 78, 449-52.
59. Ruff, I.; Friedrich, V. J.; Csillag, K. *Journal of Physical Chemistry* **1972**, 76, 162-5.
60. Ruff, I.; Friedrich, V. J. *Journal of Physical Chemistry* **1972**, 76, 2954-7.
61. Ruff, I.; Friedrich, V. J. *Journal of Physical Chemistry* **1972**, 76, 2957-8.
62. Komor, M.; Vertes, A.; Dezsi, I.; Ruff, I. *Proc. Conf. Appl. Moessbauer Eff.* **1971**, 713-20.
63. Ruff, I.; Friedrich, V. J. *Journal of Physical Chemistry* **1971**, 75, 3297-302.
64. Ruff, I.; Friedrich, V. J.; Demeter, K.; Csillag, K. *Journal of Physical Chemistry* **1971**, 75, 3303-9.
65. Ruff, I.; Korosi-Odor, I. *Inorganic Chemistry* **1970**, 9, 186-8.
66. Komor, M.; Vertes, A.; Dezsi, I.; Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1970**, 76, 402-5.
67. Ruff, I. *Electrochimica Acta* **1970**, 15, 1059-61.
68. Komor, M.; Vertes, A.; Dezsi, I.; Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1970**, 66, 285-92.
69. Ruff, I.; Rendek, E. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1969**, 60, 57-65.
70. Ruff, I.; Kosa, S. G. *Radiochemical and Radioanalytical Letters* **1969**, 1, 81-6.
71. Ruff, I. *Journal of Physical Chemistry* **1968**, 72, 1792-7.
72. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1968**, 55, 15-24.
73. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1968**, 55, 9-14.
74. Ruff, I. *Quarterly Reviews, Chemical Society* **1968**, 22, 199-221.
75. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1967**, 73, 324-9.
76. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1967**, 73, 447-51.
77. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1967**, 52, 251-60.
78. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1966**, 72, 249-54.
79. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1966**, 47, 241-53.
80. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1966**, 72, 454-7.
81. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1966**, 47, 255-61.

82. Burger, K.; Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1966**, *49*, 1-9.
83. Burger, K.; Egyed, I.; Ruff, I. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* **1966**, *28*, 139-45.
84. Ruff, I.; Burger, K. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1966**, *47*, 143-55.
85. Ruff, I. *Kémiai Közlemények* **1966**, *26*, 73-106.
86. Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1965**, *45*, 13-21.
87. Burger, K.; Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1965**, *45*, 77-86.
88. Burger, K.; Ruff, I.; Papp-Molnar, E. *Ann. Univ. Sci. Budapest. Rolando Eotvos Nominatae, Sect. Chim.* **1965**, *7*, 49-54.
89. Burger, K.; Ruff, I.; Ruff, F. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* **1965**, *27*, 179-90.
90. Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1965**, *71*, 404-7.
91. Burger, K.; Ruff, F.; Ruff, I.; Egyed, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1965**, *46*, 1-21.
92. Burger, K.; Ruff, F.; Ruff, I.; Egyed, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1965**, *71*, 282-91.
93. Burger, K.; Egyed, I.; Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1965**, *71*, 472-5.
94. Ruff, I.; Burger, K. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1965**, *71*, 437-42.
95. Burger, K.; Ruff, I. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1964**, *70*, 226-32.
96. Burger, K.; Ruff, I.; Ruff, F. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1964**, *70*, 394-400.
97. Burger, K.; Ruff, I. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae* **1964**, *41*, 75-89.
98. Burger, K.; Ruff, I.; Ruff, F. *Magyar Kémiai Folyóirat* **1964**, *70*, 351-7.
99. Burger, K.; Ruff, I. *Talanta* **1963**, *10*, 329-38.

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

Főszerkesztő: Sohár Pál

Szerkesztő: Huszthy Péter

Technikai szerkesztő: Nagy Tibor Zsigmond

A szerkesztőség címe:

ELTE Általános és Szervetlen Kémiai Tanszék, 1117 Budapest, Pázmány Péter sétány 1/A

telefon: 372-2910; fax: 372-2909; e-mail: [mkf@para.chem.elte.hu](mailto:mkf@para.chem.elte.hu)

URL: <http://www.mkf.mke.org.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:

Press+Print Kft., Kiskunlacháza, Gábor Áron u. 2/a; telefon/fax: 24-433-433

Felelős vezető: Tóth Imre

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.

**Index: 25.540**

**HU ISSN 1418-9933**

