

Új oszcilláló kémiai rendszerek előállítása és vizsgálata

Doktori tézisek

Poros-Tarcali Eszter

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



- Témavezető: Csörgeiné Dr. Kurin Krisztina, Ph.D.,
egyetemi docens
- Hivatalos bírálók: Dr. Gáspár Vilmos, D.Sc., egyetemi tanár
Dr. Béni Szabolcs, Ph.D., egyetemi docens
- Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Zelkó Romána, D.Sc.,
egyetemi tanár
- Szigorlati bizottság tagjai: Takácsné Dr. Novák Krisztina,
D.Sc., egyetemi tanár
Dr. Záray Gyula, D.Sc., egyetemi
tanár

Budapest

2015

I. Bevezetés

A *periodicitás* általánosan előforduló jelenség az élő és élettelen környezetben. Példaként szolgálhat a nappalok és az éjszakák ismétlődése, az évszakok váltakozása, az ár–apály, a glikolízis néhány folyamata, a szívizom sejtek periodikus összehúzódása és elernyedése, a populációs dinamika érvényesülése az állatvilágban, bizonyos fertőző betegségek ciklikus jelentkezése, a biológiai óra működése, az állatok kültakaróján, vagy az ásványok metszetén látható mintázatok. Periodicitás speciális tulajdonságokkal bíró *kémiai rendszerekben* is kialakulhat. Ilyen esetekben, – függően a reakció kivitelezésének módjától – a köztitermékek, vagy akár a kiindulási anyagok és a végtermékek koncentrációja is periodikusan változhat a reakcióelegyben. A koncentráció-oszcilláció jelentkezhet az időskálán, ekkor beszélünk *oszcilláló kémiai reakcióról*, vagy a térkoordináták mentén, ami *kémiai mintázatképződést* eredményez. A periodikus kémiai reakciók vizsgálatával a periodicitás jelenségét az anyagi szerveződés legalacsonyabb szintjén, molekuláris szinten tudjuk tanulmányozni, segítve a természetben bonyolultabb formában megnyilvánuló komplex rendszerek megértését, szabályozását.

II. Célkitűzés

Doktori munkám fő célja új oszcilláló kémiai rendszerek előállítására: (1) új módszer kidolgozásával; (2) ismert módszer alkalmazásával; (3) új összetételű rendszer létrehozásával. További célom volt az új rendszerek tanulmányozása, dinamikai viselkedésük kísérletes vizsgálata és modellezése. Célkitűzéseim a következők voltak:

(1) Zárt rendszerű pH-oszcillátorok előállítása:

A 25 ma ismert pH-oszcillátor mindegyike áramlásos rendszerben működik. Közülük néhány félig-zárt reaktorban is oszcillál, ezekben a térfogat állandó növekedése és a reaktánsok fogyása, ill. az oldat hígulása miatt az oszcillációk erősen csillapítottak. A pH-oszcillátorok alkalmazásában történt előrelépések (elképzelések „molekuláris motor”, „periodikus gyógyszeradagoló” készítéséről és próbálkozások pH-oszcillátoroknak biomolekulákkal, pl. DNS-sel vagy nanorendszerekkel történő kapcsolására, stb.) szükségessé tették alig csillapodó, nagy amplitúdójú, jól reprodukálható, zárt rendszerben működő pH-oszcillátor kifejlesztését.

(2) Fémionok és aminosavak közötti komplexképződési egyensúly kapcsolása pH-oszcillátorhoz: A nem-vegyértékváltó ionok koncentrációjának időbeni oszcillációja a

kutatócsoportunk által korábban kidolgozott módszerrel, egy redox-alapú oszcillátor és komplex- vagy csapadékképződési egyensúly összekapcsolásával lehetséges. Az oszcillátor az egyensúlyt periodikus változásra kényszeríti, ami a résztvevő komponensek koncentrációjának az oszcillátor frekvenciájával történő oszcillációját eredményezi. Kutatómunkám egyik célja volt a kapcsolt rendszerek számának bővítése. Az eddig használt szerves kémiai egyensúlyok helyett a bonyolultabb fémion – aminosav komplexképződést alkalmazva olyan új összetételű rendszerek előállítását terveztem, amelyekben a különböző számú ligandumot tartalmazó aminosav-komplexek és a központi fémionok koncentrációja is oszcillál.

(3) Új összetételű, aminosavat tartalmazó mangán-oszcillátor előállítása, mechanizmusának tanulmányozása:

A permanganátionok redukcióján alapuló mangán-oszcillátorokban redukálószerként szerves szubsztrátokat használtak. Az aminosavak permanganátionos oxidációjának kinetikáját több kutatócsoport vizsgálta és hét aminosav esetében, semleges pH-n, autokatalitikus reakcióútról számoltak be. Célul tűztem ki a mangán-oszcillátorok olyan új csoportjának létrehozását, amelyben a szerves szubsztrát helyett aminosavak szerepelnek.

III. Módszerek

Nyitott rendszerben működő oszcillátorok vizsgálatánál $V=110\text{ cm}^3$ és $V=25\text{ cm}^3$ térfogatú, $T=25\text{ °C}$ -on és 45 °C -on termosztált áramlásos kevert tankreaktorokat használtam (CSTR). A reaktorba a reagenseket perisztaltikus pumpával (Gilson Minipuls 2), 4 szilikon csövön folyamatosan vezettem be. Az állandó térfogat biztosítása érdekében, egy másik perisztaltikus pumpával folyamatosan elvezettem a termékeket és a reagenseket tartalmazó oldat feleslegét. Az oldat homogenitását mágneses keverővel biztosítottam (Heidolph MR 3000). A rendszer H^+ koncentrációjának időbeni változását kombinált üvegelektóddal (Radelkis OP-0823P) követtem. Az elegy redoxpotenciálját Pt elektróddal mértem (referencia elektród: $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$). Az elektródokat pH-mérőhöz (Hanna pH-209) csatlakoztattam. Az oszcillációs jeleket két-csatornás analóg rekorder (Kipp & Zonen BD 41) közbeiktatásával számítógépbe helyezett több-csatornás National Instruments 6010PCI digitális/analóg jelfeldolgozó PC-kártya és az ezekhez tartozó szoftver rögzítette.

A *félig-zárt* rendszerben végzett kísérletek során a reaktorba előzetesen betöltöttem a feleslegben lévő komponenseket tartalmazó elegyet. Az oszcillációs ciklusban elfogyó reagenst vékony csövön keresztül, lassú áramlási

sebességgel, perisztaltikus pumpa segítségével juttattam be a reakcióedénybe.

Az előbb ismertetetteknél sokkal egyszerűbb felépítésű az anyagtanszport szempontjából *zárt* kísérleti berendezés. Itt az oszcillátor komponenseinek a reaktorba juttatása után további anyagbevitel kívülről nem történik. A zárt rendszerű pH-oszcillátorok előállítását célzó kísérletek kivitelezésekor a főzőpohárba elkészített, nátrium-szulfidot tartalmazó szilikagél rétegeket használtam reagens-forrásként. A többi komponens keverékét termosztáltam, majd a géltre öntöttem. Azért, hogy a gélek esetleges sérülését elkerüljük mágneses teflon keverő helyett az oldatot felülről kevertettem (IKA RW 20 Digital) és alacsony keverési sebességet (100 – 250 rpm) alkalmaztam.

A Célkitűzések (2) és (3) pontjában szereplő feladatok megvalósítása érdekében *spektrofotometriás méréseket* is végeztem. Milton-Roy 3000 típusú ($\lambda = 300\text{-}800$ nm, $l = 1$ cm-es kvarc kivetta, $T = 25\text{-}45$ °C), illetve Agilent 8452 típusú ($\lambda = 300\text{-}800$ nm, $l = 3,27$ cm-es termosztált reakcióedény, $T = 45$ °C) diódasoros spektrofotométerrel.

A *szimulációkhoz* az XPPAUT programot használtuk. A fémion – aminosav komplexképződési reakciók pH-függésével kapcsolatos egyensúlyi számításokat a MEDUSA szoftvercsomaggal végeztük.

III. Eredmények

Doktori munkám 3 témájában elért eredményeim a következők:

(1) Elsőként dolgoztam ki módszert, amely alkalmas zárt rendszerben is működő pH-oszcillátorok előállítására. Az áramlásos rendszerben (CSTR) működő pH-oszcillátorok egy-egy oszcillációs ciklusában, az egyik komponens szinte teljes mértékben elfogy, míg a többi általában feleslegben marad. Az oszcillációk fenntartásához a reagens pótlására van szükség. Ha ezt a komponenst a reaktorban elkészített gélből való folyamatos kioldódással pótoljuk, akkor oszcillációk keletkeznek. A javasolt módszer alkalmazásával átalakítottam négy CSTR pH-oszcillátort zárt rendszerűvé. A $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-} - \text{Mn}^{2+}$, a $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-} - \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, a $\text{IO}_3^- - \text{SO}_3^{2-} - \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ és a $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-}$ összetételű zárt rendszerekben alig csillapodó, nagy amplitúdójú hosszan tartó pH-oszcillációkat regisztráltam. Mértem a SO_3^{2-} gélből való kioldódását, amely több órán keresztül az oszcillációk kialakulásához szükséges sebességgel megy végbe. Mechanizmus vizsgálatokat végeztünk a $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-}$ félig-zárt és zárt pH-oszcillátor dinamikai viselkedésének leírására.

A modellszámítások eredménye jó egyezést mutat a kísérletekkel.

(2) Az időbeni koncentráció-oszcillációra kényszeríthető ionok és molekulák számának bővítése érdekében tanulmányoztam a pH-oszcillátor fémion – aminosav komplexekkel történő kapcsolásának lehetőségét. A megfelelő oszcillátor és komplex egyensúly kiválasztásához meghatároztam számos fémion – aminosav komplex specieszeloszlásának, valamint spektrumának pH-függését különböző molarányú elegyekben. Sikeresen kapcsoltam össze a $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-}$ CSTR pH-oszcillátort a Ni^{2+} – hisztidin közötti komplexképződési egyensúllyal. A kapcsolt rendszerben a periodikus pH változás a Ni^{2+} , NiHis^+ és $\text{Ni}(\text{His})_2$ specieszek koncentrációjának oszcillációját eredményezte. Az indukált oszcillációkat a megfelelő hullámhosszaknál mért abszorbanciaértékek változása alapján kísérletileg bizonyítottam. A kapcsolt rendszer leírására kidolgozott modell kvalitatív egyezést mutat a kísérleti eredményeinkkel. Megkísérleltem más fémion – aminosav komplexszel bővíteni a kapcsolt rendszerek számát. A $\text{BrO}_3^- - \text{SO}_3^{2-} - \text{Co}^{2+}$ – hisztidin áramlásos rendszerben nagy amplitúdójú oszcillációkat mértem a fény abszorbanciában $\lambda = 418$ nm-en.

(3) Összetételében új, aminosavak permanganátos oxidációján alapuló oszcilláló kémiai rendszereket állítottam elő. A KMnO_4 – glicin – H_3PO_4 CSTR rendszerben több mint 1 óras periódusidejű, kis amplitúdójú oszcillációkat mértem a Pt elektród potenciáljában, valamint a $[\text{Mn(IV)}]$ és a $[\text{MnO}_4^-]$ követésére alkalmas $\lambda = 418$ nm-en és $\lambda = 545$ nm hullámhosszokon mért abszorbancia értékekben. Modellt javasoltunk a fellépő oszcillációs viselkedés leírására.

A glicin mellett más aminosavak pl., threonin, alanin, fenilalanin, stb. KMnO_4 -es oxidációjában is autokatalitikus kinetika érvényesül. Az előzőekhez hasonló oszcillációs jeleket ezidáig a KMnO_4 – threonin – H_2PO_4^- nyitott rendszerben sikerült előállítanom.

1996-ban egy kínai kutatócsoport kis amplitúdójú (~30 mV), nagyfrekvenciás (1 perc/periódus) potenciál-oszcillációkat talált a KMnO_4 – glicin – H_3PO_4 CSTR rendszerben. Kísérleteiket többszöri próbálkozásaink ellenére sem sikerült reprodukálni. Spektrofotometriás módszerrel követtem a reakció lefolyását a megadott reakciókörülmények mellett és bebizonyítottam, hogy a közölt oszcillációk nem lehetnek kémiai eredetűek. Igazoltam, hogy oszcillációk a korábbtól nagymértékben eltérő reakciókörülmények használata mellett jelentkeznek.

V. Következtetések

(1) Zárt rendszerű pH-oszcillátorok előállítása:

Kísérleti eredményeim bizonyítják, hogy a nyitott rendszerben működő pH-oszcillátorok egy része – megfelelő módszert alkalmazva – átalakítható félig-zárt és zárt rendszerben is oszcilláló változattá. Az átalakítás lényeges eleme az oszcillációs ciklus alatt elfogyó reagens pótlása. Ez történhet külső betáplálással (félig-zárt konfiguráció), vagy az általunk javasolt módszerrel, egy másik fázisból való kioldódással. A zárt rendszerű variánsokban a szulfitiont gél-fázisban tároltam és pH-oszcillációkat mértem a többi reagenst tartalmazó, gélllel érintkező oldatban. A négy kipróbált rendszeren kívül hét másik szulfition tartalmú pH-oszcillátor ismert. Valószínűleg ezek közül számos átalakítható a módszerrel. A korábban bemutatott gyakorlati alkalmazási lehetőségekben használt nagy eszköz- és vegyszerigényű nyitott rendszerű pH-oszcillátorok feltételezhetően helyettesíthetők a lényegesen könnyebben használható zárt rendszerű variánssal. A gélrétegbe egyéb reagens is bevihető, így a módszerrel nemcsak pH-oszcillátorok átalakítása lehetséges. Bízató előkísérleteim vannak a réz-katalizálta oszcillátorok (pl. $\text{H}_2\text{O}_2 - \text{S}_2\text{O}_3^{2-} - \text{Cu}^{2+}$) zárt rendszerben való működésére.

(2) *Fémionok és aminosavak közötti komplexképződési egyensúly kapcsolása pH-oszcillátorhoz:*

Kísérleti eredményeim igazolják, hogy a pH-oszcillátorokkal bonyolultabb komplexképződési folyamatok is periodikusan mozgathatóak. A Ni^{2+} – hisztidin – BrO_3^- – SO_3^{2-} CSTR rendszerben a Ni^{2+} , NiHis^+ és $\text{Ni}(\text{His})_2$ specieszek koncentrációja oszcillál. Ez alapján következtethető, hogy más oszcillátorok, más fizikai, kémiai, biokémiai egyensúlyokat is képesek periodikusan változtatni. Feltételezhető az is, hogy hasonlóan az egyszerű kémiai rendszerekhez, a bonyolultabb élő szervezetekben is megvalósulhat a nem-redox tulajdonságú elemek (ionok és molekulák) koncentráció-oszcillációja a célelem valamely egyensúlyi reakciójának egy redox alaposzcillátorhoz történő kapcsolásával. Eredményeim igazolják, hogy a komplex rendszerek viselkedése az alrendszerek adatai alapján modellszámításokkal megjósolható.

(3) *Új összetételű, aminosavat tartalmazó mangán-oszcillátor előállítás, mechanizmusának tanulmányozása:* Bizonyítottam, hogy a mangán kémiáján alapuló oszcillátor család szubsztrátjaként nemcsak szervetlen ionok, hanem bonyolultabb szerves vegyületek, pl. aminosavak is szerepelhetnek. A legegyszerűbb aminosav, a glicin, valamint a threonin CSTR-ben kivitelezett permanganátos oxidációjában,

közel semleges oldatban, H_2PO_4^- jelenlétében oszcillációk regisztrálhatók. Az oszcillációs viselkedés paramétertartománya azonban jóval szűkebb, mint a KMnO_4 – szervetlen szubsztrát – stabilizálószer összetételű oszcillátorokban tapasztalható.

A permanganátió más aminosavakat (például: valin, leucin, izoleucin, stb.) is autokatalitikus reakcióban oxidálja. Feltételezésem szerint, az említett aminosavak közül néhány, esetleg egyszerűbb peptidek is alkalmazhatóak szubsztrátként a mangán-kémián alapuló oszcillátorokban.

IV. Saját publikációk jegyzéke

1. **Poros E**, Horváth V, Kurin-Csörgei K, Epstein IR, Orbán M. (2011) Generation of pH-oscillations in Closed Chemical Systems: Method and Applications. J. Am. Chem. Soc., 133:7174-7179.
2. **Poros E**, Kurin-Csörgei K, Szalai I, Orbán M. (2013) Oscillations in the Permanganate Oxidation of Glycine in a Stirred Flow Reactor. J. Phys. Chem. A, 117(37):9023-9027.
3. **Poros E**, Kurin-Csörgei K, Horváth V, Szalai I, Orbán M. (2014) Periodic Changes in the Distribution of Species Observed in the Ni^{2+} – Histidine Equilibrium Coupled to the BrO_3^- – SO_3^{2-} pH-oscillator. J. Phys. Chem. A, 118(34):6749-6756.
4. **Poros E**, Kurin-Csörgei K, Szalai I, Rábai Gy, Orbán M. (2015) pH-oscillations in the bromate – sulfite reaction in semibatch and in gel-fed batch reactors. Chaos, 25(6): 064602. DOI:10.1063/1.4921176.