



**Országos Tudományos Diákköri
Konferencia
2013**



**Gadolinium vegyületek környezeti és egészségügyi jelentősége,
kromatográfiás analízise**

Készítette:

Lukács Diána

Környezetmérnök BSc szak, V. évfolyam

Témavezető:

Dr. Hajós Péter, egyetemi docens

Dr. Horváth Krisztián, egyetemi adjunktus

Analitikai Kémia Intézeti Tanszék

Mérnöki Kar

Pannon Egyetem

2011

Kivonat

A lantanoidák csoportjába tartozó gadolínium vegyületeinek alkalmazása egyre növekvő jelentőséggel bír különböző alkalmazási területeken. Az orvosi képalkotó módszerekben nagyfelbontású MRI felvételeket biztosítanak az intravénásan adagolt Gd-kelátok, amelyek nagymértékben elterjedtek, mivel segítik a megbízható klinikai diagnózis felállítását. A mikroelektronikai ipar és a környezetbarát hűtőgépek Gd-vegyületeket is alkalmaznak különböző problémák megoldásában, amely a Gd különleges tulajdonságainak következménye. Ugyanakkor ezen vegyületek felhasználása környezetvédelmi szempontból körültekintést igényel.

Munkám során tanulmányoztam a Gd vegyületek fizikai, kémiai tulajdonságait, felhasználási területeit, környezeti jelentőségét és hatásait. Komplexképződési és protonálódási egyensúlyok figyelembevételével vizsgáltam Gd-kelát komplexek ionkromatográfiás elválasztásának, meghatározásának lehetőségeit. Megállapítottam, hogy lúgos pH tartományban a Gd elsősorban negatív töltésű kelát komplex formában van jelen az oldatban, így analitikai meghatározására az anion kromatográfia előnyösen alkalmazható. Számításaimat az elvégzett kísérletek is alátámasztották. Vizsgáltam továbbá Gd-kelátok (Gd-EDTA, Gd-DTPA) szimultán elválasztását, szerves ionok zavaró hatását, illetve az alkalmazott módszer kimutatási határát.

Kulcsszavak: gadolínium-komplex, EDTA, DTPA, nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia, MRI kontrasztanyagok

Tartalomjegyzék

Kivonat.....	1
Tartalomjegyzék	2
Bevezetés.....	3
1. Irodalmi áttekintés.....	4
1.1 A kromatográfiás módszerekről általában	4
1.1.1 A folyadékkromatográfiás módszerek elvi alapjai	4
1.1.2 Kromatográfiás alapfogalmak	5
1.2 Az ionkromatográfia általános jellemzése.....	9
1.2.1 Az ionkromatográfia főbb típusai	9
1.2.2 Az ion-kromatográfiában leggyakrabban használt eluensek és mintakomponensek.....	10
1.2.3 Az ionkromatográfia eszközei.....	11
1.2.4 Az ionkromatográfia előnyei.....	13
1.3 A gadolínium átfogó jellemzése	14
1.3.1 A gadolínium története, fizikai és kémiai tulajdonságai	14
1.3.2 A gadolínium előfordulása, előállítása és felhasználása	14
1.3.3 A gadolínium és vegyületeinek felhasználási területei	15
1.3.4 A gadolínium alapú kontrasztanyagok és azok használatának kockázatai.....	18
2. Kísérleti rész.....	21
2.1 Kísérleti eszközök, anyagok	21
2.2 Gd(III)-kelát komplexek protonálódási és komplexképződési egyensúlyai, moláris eloszlásai.....	22
2.3 Gd(III)-kelát komplexek kromatográfiás analízise.....	28
2.4 Gd-DTPA komplex meghatározásának érzékenysége, kimutatási határának vizsgálata	32
2.5 Zavaró ionok hatásának vizsgálata	35
Összefoglalás.....	39
Irodalomjegyzék.....	40
Ábrajegyzék	41
Táblázatok jegyzéke.....	42

Bevezetés

A XX. század második felében az elválasztási módszerek ugrásszerű fejlődése volt tapasztalható, mely fejlődés mind a mai napig folytatódik. Az 1940-es években jelent meg a megoszlásos- és a papírkromatográfia, melyet a '60-as években a gélkromatográfia térhódítása követett. A szerves vegyületek tekintetében a gázkromatográfia kidolgozása volt az első meghatározó lépés, míg a legjelentősebb fejlődést az analitikai vizsgálatok területén a '70-es években, a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC = high performance liquid chromatography) kidolgozása jelentette. Az előbb említett analitikai módszer gyorsabb, pontosabb, reprodukálhatóbb és egyben szelektívebb elválasztást biztosít még bonyolult szeparációs problémák megoldása tekintetében is. [1]

A HPLC és az ehhez szorosan kapcsolódó ion-, valamint az ionpár kromatográfia számos területen, többek között a vízanalitika, bioanalitika, gyógyszergyártás, illetve a környezeti, környezetvédelmi analízis területén is tért hódított. Dolgozatom egy nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszer fejlesztését mutatja be biológiai és környezeti kémiai szempontból egyaránt jelentőséggel bíró gadolínium specieszek meghatározására.

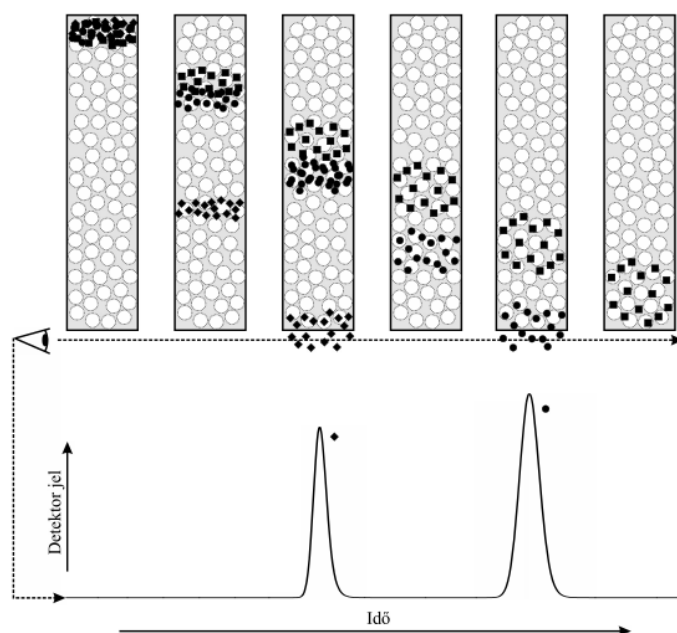
1. Irodalmi áttekintés

1.1 A kromatográfiás módszerekről általában

A kromatográfia eltérő kémiai tulajdonságokkal rendelkező komponensek olyan fizikai elválasztását jelenti, amelynek során az elválasztani kívánt komponensek megoszlanak két fázis között. A két fázis közül az egyik helyzete rögzített, míg a másik fázis egy meghatározott irányban halad előre. Előbbit állófázisnak, míg az utóbbit mozgófázisnak nevezzük. A mozgófázis halmazállapotának függvényében beszélhetünk folyadékkromatográfiáról (LC = liquid chromatography), illetve gázkromatográfiáról (GC = gas chromatography).

1.1.1 A folyadékkromatográfiás módszerek elvi alapjai

A folyadékkromatográfiás elválasztások alapja a mintakomponensek, valamint a kromatográfiás állófázis között fellépő kölcsönhatások különböző erőssége. Két eltérő kémiai tulajdonságokkal rendelkező komponens esetében akkor érhetünk el megfelelő elválasztási hatásfokot, ha ezen kölcsönhatások erőssége eltérő. Ez a különbség teszi lehetővé a komponensek önmagukban való detektálását. Amennyiben a kromatográfiás oszlopra a vizsgálandó komponensek elegendően kis mennyiségét injektáljuk, azt tapasztaljuk, hogy az eluenshez hasonló tulajdonságot mutató komponens az eluenssel közel azonos időben távozik az oszlopról, míg az állófázishoz erősebben kötődő komponens nagyobb visszatartást szenvedve, bizonyos idő elteltével eluálódik [2]. Tehát amennyiben megfelelően nagy eltérés van a mintakomponensek állófázishoz való kötődési erőssége között, akkor lehetőség nyílik az egyes alkotóelemek önálló detektálására (*1.1. ábra*).



1.1. ábra: Kromatográfiás elválasztás folyamatábrája és a regisztrált kromatogram [1]

A kromatográfiás elválasztások során az oszlopra injektált minta mennyisége meglehetősen kicsi (5-20 μl), azonban az ebből adódó keskeny sáv a folyamat során kiszélesedik, többek között a lassú adszorpciós kinetika, valamint longitudinális és örvénydiffúzió következtében. Az előbb említett paraméterek együttes hatásának köszönhető a kromatográfiás csúcs sávszélessége, valamint általánosan elmondható, hogy minél nagyobb visszatartást szenved egy adott komponens az oszlopban, annál szélesebb zónában eluálódik.

1.1.2 Kromatográfiás alapfogalmak

A kromatográfiás elválasztás alapja a mintát alkotó, hasonló tulajdonságokkal rendelkező komponensek két, egymással nem elegyedő fluid fázis közötti megoszlása, melyet a *megoszlási hányadossal* (K_d) jellemezhetünk: [2 - 3]

(1.1.)

$$K_d = \frac{c_s}{c_M}$$

c_s : komponens koncentrációja az állófázisban

c_M : komponens koncentrációja a mozgófázisban

A *nettó retenciós térfogat* (V_N) az a mozgófázis térfogat, amely az elválasztandó komponenst a kromatográfiás oszlopon éppen keresztülhajtja.

(1.2.)

$$V_N = K_d \times X$$

X: állófázis térfogata

A *bruttó retenciós térfogat* (V_R) a kromatográfiás oszlop hézagtérfogatának (V_0) és a nettó retenciós térfogatnak az összege. A komponens retenciójának (visszatartásának) mértéke tehát az állófázis mennyiségével (vastagságával) szabályozható.

(1.3.)

$$V_R = V_0 + V_N$$

A komponens retenciójának mértéke, azaz a bruttó retenciós térfogat (V_R) a *retenciós idővel* (t_R) is leírható.

(1.4.)

$$V_R = t_R \times F$$

F: a mozgófázis térfogatáramlási sebessége

A *holtidő* (t_0) az az időtartam, amely alatt a retenciót nem szenvedő komponens a mozgófázissal azonos sebességgel haladva eluálódik az oszlopról.

(1.5.)

$$u = \frac{L}{t_0}$$

u: a mozgófázis haladási sebessége

A *retenciós tényező* (k_i) vagy más néven kapacitási faktor az elválasztandó komponens oszlopon való relatív mozgásának mértékét adja meg.

(1.6.)

$$k_i = \frac{u - v}{v} = \frac{K_i \times V_S}{V_M} = \frac{c_S \times V_S}{c_M \times V_M}$$

A retenciós tényező számszerű meghatározása közvetlenül a kromatogramból is elvégezhető a következő egyenlet alapján, amennyiben a két fázis haladási sebességét az oszlophossz, a retenciós idő és a holtidő segítségével írjuk fel.

(1.7.)

$$k_i = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Az *elválasztási tényező* (szelektivitási faktor) (α) a szétválasztandó elegy komponenseinek megoszlási hányadosának aránya. Kétkomponensű elegy esetén:

(1.8.)

$$\alpha = \frac{K_j}{K_i}$$

K_j : az oszlopon erősebben kötődő komponens megoszlási hányadosa

K_i : az oszlopon gyengébben kötődő komponens megoszlási hányadosa

Az elválasztási tényező a két komponens retenciós tényezőjének hányadosaként is kifejezhető, azaz:

(1.9.)

$$\alpha = \frac{k_j}{k_i} = \frac{(t_R)_j - t_0}{(t_R)_i - t_0}$$

A kromatográfias oszlop hatékonyságának számszerű jellemzésére a tányérmagasság, valamint az elméleti tányérszám szolgál. A *tányérmagasság* (h) a kromatográfias oszlop azon minimális hossza, amelyen az elválasztandó komponensek megoszlása az álló- és a

mozgófázis között az egyensúlyi megoszlással azonos. Az *elméleti tányérszám* (N) azt adja meg, hogy az adott L hosszúságú kromatográfiás oszlop elméletben hány darab egyensúlyi egységre („tányérra”) osztható fel.

(1.10.)

$$N = \frac{L}{h}$$

A kromatográfiás oszlop hatékonysága annál nagyobb, minél nagyobb az elméleti tányérszám, illetve minél kisebb a tányérmagasság értéke. Amennyiben a kromatogramon jelentkező csúcs oldalaira egy-egy egyenest illesztünk, akkor az ezek által meghatározott háromszög alapja lesz az ún. *bázisszélesség* (W).

(1.11.)

$$h = \frac{L \times W^2}{16 \times t_R^2}$$

(1.12.)

$$N = 16 \times \left(\frac{t_R}{W}\right)^2$$

A *felbontás* (R_S) segítségével meghatározható, hogy a két egymás után eluálódó komponenst milyen mértékben lehet két különálló sáv formájában elválasztani.

(1.13.)

$$R_S = \frac{2 \times [(t_R)_i - (t_R)_j]}{W_j - W_i}$$

W_j : az oszlopon erősebben kötődő komponenshez tartozó bázisszélesség

W_i : az oszlopon gyengébben kötődő komponenshez tartozó bázisszélesség

1.2 Az ionkromatográfia általános jellemzése

Az ionkromatográfia olyan folyadékkromatográfias módszer, amely egyaránt alkalmas az összes ionos vagy ionizálható komponens analízisére [4]. Ezek alapján elmondható, hogy az ionkromatográfia a többi kromatográfias eljárástól nem a retenciós mechanizmus, hanem az elválasztott komponensek minőségében különbözik.

Ionkromatográfiával a következő komponensek határozhatók meg [5]:

- szervesetlen anionok
 - halogenidek (pl.: F^- , Cl^-)
 - oxoanionok (pl.: SO_4^{2-} , NO_3^- , PO_4^{3-}) [5]
- szerves anionok
 - kis molekulatömegű, vízoldható mono-, di-, trikarbonsavak (pl.: acetát, oxalát, citrát, EDTA) [7]
 - szulfonsavak
 - detergensek
- szervesetlen kationok
 - alkáli-, alkáliföldfémek (pl.: Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+})
- szerves kationok
 - kis molekulatömegű, vízoldható aminok (pl.: metil-, etil-, propilamin)
- ionos organo-metallo komplexek (pl.: fém-kelátok) [8 - 9]
- aminosavak (pl.: glicin, alanin)
- szénhidrátok (pl.: glükóz, fruktóz, szacharóz)

1.2.1 Az ionkromatográfia főbb típusai

Az ionkromatográfias módszerek 3 fő csoportba sorolhatók. Beszélhetünk úgynevezett *ionkizárásos-kromatográfiáról* (HPICE = High Performance Ion-Exchange Chromatography Exclusion), *ionpár-kromatográfiáról* (MPIC = Mobile Phase Ion Chromatography), valamint a dolgozatom alapját adó *ioncsere-kromatográfiáról* (HPIC = High Performance Ion-Exchange Chromatography). [10]

Ioncsere-kromatográfia esetében az elválasztást a mozgó- és állófázison kötött ioncserére képes csoportok közötti ioncsere folyamatok befolyásolják. Polarizálható ionok esetében egyéb, nem ionos adszorpciós folyamatok is hatással vannak az ioncsere

mechanizmusára. Állófázisként ioncserélő csoportokkal módosított sztirol-divinilbenzol kopolimert használnak. Ioncsere-kromatográfiát egyaránt alkalmaznak szerves és szervetlen anionok, illetve kationok elkülönítésére is. Anionok elválasztása céljából kvaterner ammónium csoportokkal ellátott gyantákat, míg kationok elkülönítésére szulfoncsoportokkal rendelkező töltetet alkalmaznak. [1]

1.2.2 Az ion-kromatográfiában leggyakrabban használt eluensek és mintakomponensek

A mozgófázis kiválasztásakor elsősorban az analízis fizikai-kémiai típusát kell figyelembe venni. Ezen kívül az eluens hasonló affinitással kell, hogy rendelkezzen az állófázishoz, mint a mintaion. Az elválasztás eredményessége a koncentrációviszonyoktól függ. Az eluens koncentrációja az egyik legfontosabb retenciómeghatározó paraméter, hiszen a koncentráció növelése gyorsítja a retenciót. Az eluens áramlása és a retenció között egyenes arányosság figyelhető meg.

Amennyiben a mozgófázis nagy vezetőképességgel rendelkezik, akkor a szupresszorban egy olyan reakció zajlik le, melynek során az eluensből kis vezetőképességű oldat keletkezik annak érdekében, hogy ne zavarja a mintakomponens detektálhatóságát.

A legtöbb ioncserés elválasztás vizes közegben valósul meg, mivel a víz rendkívül jó oldó- és ionizáló képességgel rendelkezik. A minta molekuláinak retencióját jelentősen befolyásolja a mozgófázisban levő ionok típusa, hiszen a különböző ellenionok különböző mértékben lépnek kölcsönhatásba a gyantafázissal. Előbbiekén kívül a komponensek retencióját nagyban meghatározza a sókoncentráció, valamint az eluens pH-ja is. A mozgófázis sókoncentrációját növelve csökkenthető a komponensek retenciója, mivel a minta ionjai ebben az esetben kevésbé tudnak versengeni az ioncserélő funkciós csoportjaiért. Az eluens pH-jának növelésével kationcserés kromatográfia esetén általában növelhető, míg anioncserés kromatográfia során csökkenthető a retenció. A szelektivitás egyrészt a pH, másrészt pedig az eluens összetételének változtatásával befolyásolható. Az egyes mintaionok elválasztására leggyakrabban alkalmazott kísérleti körülményeket az *1.1. táblázat* mutatja. [11]

1.1. táblázat: Különböző mintakomponensek detektálási körülményei [11]

Minta	Eluens	Detektálás	Kolonna
Anion (Cl^- , Br^- , NO_3^- , SO_4^{2-})	Na_2CO_3	Elektromos vezetőképességi	anioncserélő
Szerves anion (formiát, acetát, stb.)	NaOH	Elektromos vezetőképességi	anioncserélő
Kation (alkáli-, alkáliföldfém)	Aminosav + HNO_3	Elektromos vezetőképességi	felületi kationcserélő
Szerves kationok	Aminosav + HNO_3	Elektromos vezetőképességi	felületi kationcserélő

1.2.3 Az ionkromatográfia eszközei

Az ionkromatográfias rendszerek szinte teljesen azonosak a hagyományos folyadékkromatográfias rendszerekkel, mindössze az állófázis tulajdonságai és a detektálás módja tér el. [10]

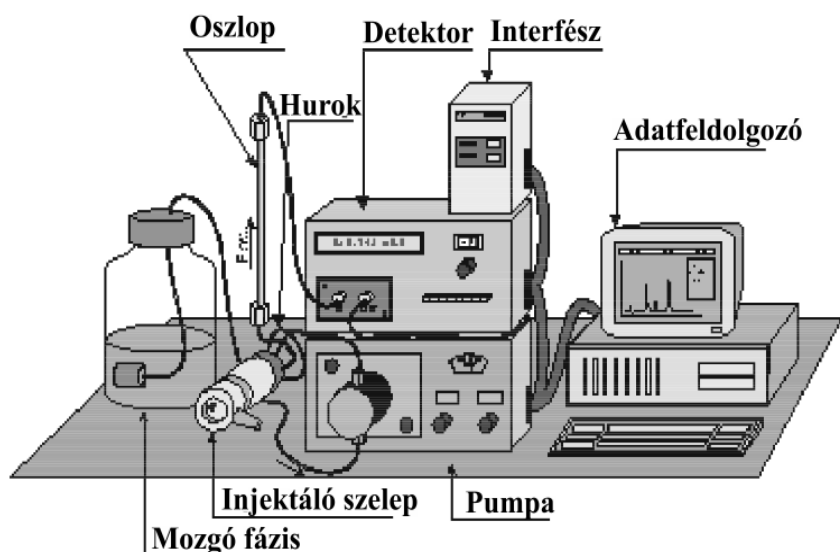
Ionkromatográfiaiban elsősorban a szerves polimer alapú állófázisok terjedtek el, amelyek pH stabilitása a teljes (0-14) pH tartományban fennáll, míg a HPLC technológiában alkalmazott szilikagél alapú állófázisok csak egy szűk, 2-8 közötti pH tartományban használhatók. Ezen kívül a szilikagél állófázist tartalmazó oszlopok hatékonysága jelentősen meghaladja a polimer alapúakét.

Az ionkromatográfias készülékek elvi felépítése az 1.2. ábrán látható. A mozgófázis áramoltatását a kromatográfias rendszerben egy kettősdugattyús pumpa végzi. Ez a pumpa állandó áramlási sebességet biztosít. A minta beinjektálása a rendszerbe mikrofecskendővel történik.

A bevitt minta mennyiségének szabályozására az ún. „loop” vagy mintabeviteli hurok szolgál, melybe a fecskendő segítségével adott térfogatú mintát juttatunk. A program adott időközönként megváltoztatja a szelepállást, amikor is a mozgófázis a hurkon áthaladva magával viszi a mintaoldatot a készülékbe.

A folyadékkromatográfias berendezés legfontosabb részét az elválasztó oszlop alkotja. A megfelelő tulajdonságú állófázis valamint a kromatográfias körülmények kiválasztásával meghatározható az analízis minősége. Minél hosszabb kolonnát alkalmazunk, annál nagyobb

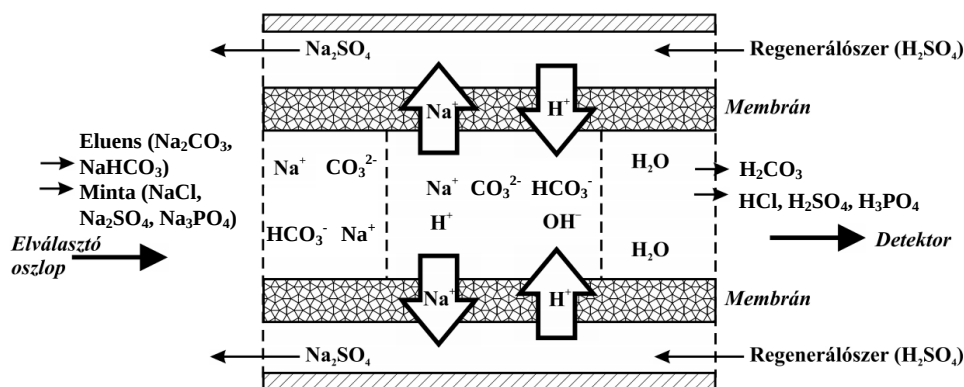
retenciós időt érhetünk el. A kolonnában helyezkedik el az ioncserélő gyanta, amely töltéssel rendelkező funkciós csoportokkal rendelkezik.



1.2. ábra: Az ion-kromatográfia eszközei [1]

A kromatográfias berendezéshez tartozik továbbá a detektor, mely a vizsgált minta kimutatására alkalmas. Az ion-kromatográfiában leggyakrabban elektromos vezetőképességű detektorokat használnak. A detektorban annál nagyobb jelet észlelünk, minél nagyobb a minta és az eluens vezetőképessége közötti különbség.

A szupresszor nevű berendezés a detektor elé kerül annak érdekében, hogy az eluens vezetőképességét kémiai módon csökkentse, ezáltal növelve a hasznos jelet, és ezzel együtt a detektor érzékenységét. A szupresszorban egy ionszelektív kationcserélő membrán található, melyen csak a pozitív töltésű ionok tudnak keresztülvándorolni. A mérések során az eluens kationjait protonokra cseréltük, aminek eredményeképpen jelentősen lecsökkent az eluens vezetése. Na_2CO_3 , NaHCO_3 mozgófázist alkalmazva a szupresszorban lejátszódó folyamatok az 1.3. ábrán figyelhetők meg.



1.3. ábra: A szupresszorban lejátszódó folyamatok [1]

Az ioncserélő membrán folyamatos regenerálására kénsavat alkalmaznak, mely alkalmas a reakcióhoz szükséges protonok biztosítására.

A detektor által szolgáltatott kromatográfiás jeleket egy regisztráló készülék rögzíti. A minta minőségéről a kromatográfiás csúcs helye szolgáltat információt, azaz a retenciós idővel jellemezhető a minta, míg a mintakomponensre vonatkozó mennyiségi információt a csúcs alatti terület nagyságából kapunk. Az összegyűjtött adatok digitális integrátor, vagy számítógép segítségével dolgozhatók fel. [1]

1.2.4 Az ionkromatográfia előnyei

Ionos komponensek vizes oldatban való meghatározása egy olyan analitikai feladat, melynek megoldására többféle módszer és technológia is alkalmas lehet. Míg a különböző kationok vizsgálatára többféle gyors és érzékeny módszer is rendelkezésre áll – többek között atomabszorpciós- és atomemissziós spektrometria, ICP vagy a polarográfia – addig az anionok meghatározására csak kevés alkalmas és megfelelő érzékenységgű eljárás létezik. A hagyományos nedves analitikai módszerek, mint a titrálás, fotometria vagy a gravimetria egyaránt nagy eszköz- és időigénnyel jellemezhető. Evvel szemben az ionkromatográfia számos előnyös tulajdonsággal bír úgy, mint az analízis gyorsasága, nagy érzékenység, kiváló szelektivitás, stabil kromatográfiás oszlop, valamint több komponens egyidejű detektálhatósága [4].

1.3 A gadolínium átfogó jellemzése

1.3.1 A gadolínium története, fizikai és kémiai tulajdonságai

Jean de Marignac fedezte fel 1880-ban. Nevét az ittrium felfedezőjéről (Johan Gadolin) kapta. A gadolínium a lantanoidák egyik eleme, melyeket a szkandiummal, ittriummal és a lantánnal együtt ritkaföldfémek néven is ismerhetünk. A gadolínium a periódusos rendszer 64. eleme, vegyjele Gd, relatív atomtömege 157,25 g/mol. A természetben 6 stabil és 1 radioaktív izotópja fordul elő, ezen kívül pedig több mint 20 különböző felezési idejű mesterséges radioaktív izotópja ismert.



1.4. ábra: Fém gadolínium [12]

A gadolínium elektronkonfigurációja $[\text{Xe}](4f)^7(5d)^1(6s)^2$. Fizikai tulajdonságait tekintve ezüstfehér (1.4. ábra), lágy nehézfém, mely az ólomhoz hasonlóan képlékeny. Olvadáspontja $1312\text{ }^{\circ}\text{C}$, míg forráspontja $3273\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sűrűsége $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on $7,9\text{ g/cm}^3$. A gadolínium rendelkezik a legerősebb neutronelnyelő tulajdonsággal, ezen kívül pedig $19\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatt ferromágneses tulajdonságot mutat. Előbbi hőmérséklet felett erősen paramágneses jellegű. Vegyületeiben a gadolínium többnyire +3-as oxidációfokkal szerepel, de előfordul más oxidációs állapotú (+1, +2) formákban is. [12]

1.3.2 A gadolínium előfordulása, előállítása és felhasználása

A gadolínium többféle ásványban is fellelhető úgy, mint a bastnäsit vagy a monacit nevű ásványokban. A gadolínium kinyerésének érdekében a feldolgozandó ásványt savban oldják, majd az oldatot nátrium-hidroxiddal részben semlegesítik. Ennek következtében a tórium - mely szintén előfordul ezekben az ásványokban - az oldatban marad, melyből ezt követően könnyen eltávolítható. A nátrium-hidroxiddal részben semlegesített oldatból a

ritkaföldfémek - melyek közé a gadolínium is beletartozik - ammónium-oxaláttal kicsapathatók, majd az oxalátok hevítéssel oxidokká alakíthatók. Az oxidokat ezt követően salétromsavban oldva elkülöníthető a cérium-oxid, mely salétromsavban oldhatatlan. A salétromsavas oldatból magnézium-nitrát segítségével a gadolíniumon kívül samárrium, illetve eurórium kettős sók keveréke kristályosítható ki. Ebből a többkomponensű oldatból a gadolínium ioncserével választható el. A fém gadolínium előállítása annak oxidjából kalcium felhasználásával argon atmoszférában valósítható meg.

A gadolíniumot az élet számos területén használják. A Gd-157 izotóp például a sugárterápia egyik fontos eleme, ezen kívül pedig atomreaktorokban a neutronsugárzás árnyékolására alkalmazzák. A gadolíniumot kis mennyiségben adagolva a vashoz, valamint annak ötvözetéhez javítható azok feldolgozhatósága. A gadolínium szerves vegyületei az MRI vizsgálatokban kontrasztanyagként használatosak. Előbbiekén kívül a gadolínium alkalmazható még magneto-optikai komponensek alapanyagaként, valamint vegyületei CRT-berendezésekben és kompakt fénycsővekben zöld fényporként kerülnek hasznosításra. [12]

1.3.3 A gadolínium és vegyületeinek felhasználási területei

A gadolínium és egyes vegyületeinek, például a gadolínium-szulfátnak a kiváló ferromágneses tulajdonsága már az 1920-as évek elejétől ismert. Ezen ferromágneses anyagok rendelkeznek a legjobb mágneses tulajdonságokkal, hiszen az atommagok és az elektronok mágneses tulajdonságai felerősítik egymást az előbb említett anyagok esetében. A földkéregben 6×10^{-4} m/m%-ban előforduló gadolíniumot ötvözetek, szupravezetők, mágnesek, valamint elektronikus alkatrészek előállítására használják.

Az önmegsemmisítő chipek (1.5. ábra) gadolínium-nitrát és szilícium felhasználásával készülnek. Ilyen chipek kerülhetnek például a mobiltelefonokba vagy laptopokba, amelyek ez által távirányító segítségével könnyen felrobbanthatók. A robbanás elve a gadolínium és a szilícium nagy reakcióképességén alapul, mely reakció eredményeképpen apró szúróláng alakul ki, amely mikroszkópikus méretű gépek esetében egyfajta rakétameghajtásként is hasznosítható.



1.5. ábra: Önmegsemmisítő chip [13]

Környezetvédelmi szempontból nagy jelentőséggel bírnak a *környezetbarát hűtőszekrények*, melyeket az USA Energiaügyi Minisztériuma Ames Laboratóriumában fejlesztettek ki. Ezen berendezések működési elve a gadolínium különleges mágneses tulajdonságán alapul, és szinte teljesen hangtalan szerkezetekről van szó. Korábban is kísérleteztek hasonló elven működő hűtési technológiával, szupravezető mágnes segítségével, ez az új módszer azonban szobahőmérséklethez közeli, tehát a gyakorlatban is könnyen hasznosítható hőmérsékleten, permanens mágnessel dolgozik. Mágneses tér hatására ugyanis a gadolínium felmelegszik, míg annak hiányában lehűl. A hűtőszekrények hűtését úgy valósítják meg, hogy egy a gépben elhelyezett forgótárcsára gadolínium port visznek fel, és ezt a tárcsát egy nagyon erős mágnes pólusai között forgatják. Amikor a gadolínium áthalad a mágnes pólusai között, felmelegszik és ekkor áramló vízzel oldják meg a hűtését, amelynek eredményeképpen szobahőmérséklet alá hűl. A forgótárcsán egy másik vízkör is áramlik, mely egyaránt alkalmas hűtőszekrények, illetve légkondicionálók hűtésére is. A gadolínium hűtők segítségével lehetőség nyílik a környezetbarát hűtési technikák megvalósítására.

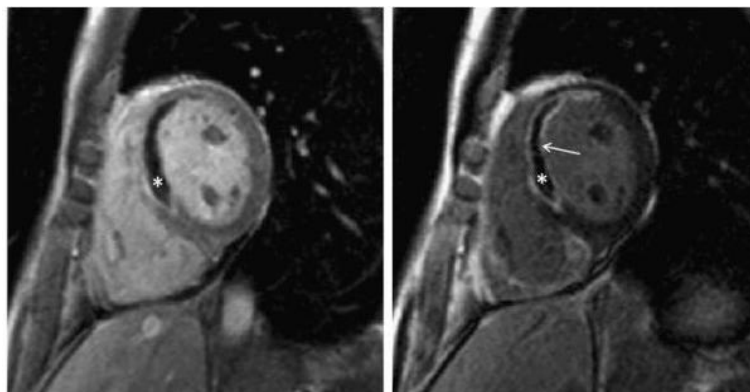
A gadolíniumot előbbiek mellett az orvostudomány is széles körben alkalmazza. A *mágneses rezonancia (MRI) vizsgálatokban*, mint kontrasztanyag kerül felhasználásra (1.6. ábra). [13]



1.6. ábra: MRI készülék [13]

A gadolínium tehát ipari jelentősége mellett diagnosztikai célokra is használható. Az MRI vizsgálatok során az emberi szervezet belső testrészeit vizsgálják. A csontok és egyes belső szervek esetében kontraszt anyag nélkül is elvégezhető a képalkotás, míg egyéb szövetek, például a vér esetében csak kontrasztanyag bejuttatásával kaphatnak az orvosok megfelelő képet a szervezet állapotáról, illetve az esetleges elváltozásokról. Az első gadolínium alapú kontrasztanyagot 1983-ban Schering fejlesztette ki, amikor is felfedezte, hogy a gadolínium egy a vérerek falán könnyen átjutó ferromágneses anyag, amely diagnosztikai célokra kiválóan használható. Szabad ionos formában a gadolínium erősen toxikus az emlősökre, ezért kelát-komplexek formájában használható csak a gyógyászatban, mint kontrasztanyag.

A gadolínium nemcsak az MRI vizsgálatokban, hanem MRA (magnetic resonance angiography), valamint CMR (cardiovascular magnetic resonance) diagnosztikában is nagy jelentőséggel bír. MRA vizsgálat során az emberi szervezetben futó ereket (1.8. ábra) illetve azok sérülését, míg CMR vizsgálat során a szív szervi elváltozásait (1.7. ábra) tudják feltérképezni. [14]



1.7. ábra: CMR felvétel az emberi szívről Gd-tartalmú kontrasztanyag beadása előtt (bal) és beadása után (jobb) [16]



1.8. ábra: MRA felvétel az emberi testről [15]

1.3.4 A gadolínium alapú kontrasztanyagok és azok használatának kockázatai

Az Európai Gyógyszerügynökség számos vizsgálatot folytatott a gadolínium-tartalmú kontrasztanyagot kapott betegek esetében a *nefrogen szisztémás fibrózis (NSF)*¹ kockázatának felülvizsgálatára. A tanulmány eredményeképpen arra jutottak, hogy számos óvintézkedés megtételére van szükség ezen készítmények használata során.

A gadolíniumot kontraszthalmozóként alkalmazzák, hogy a test belsejében jobb láthatóságot érjenek el. A betegek közvetlenül a vizsgálatot megelőzően vagy az alatt kapják meg injekció formájában a kontrasztanyagot. A gadolínium tartalmú kontrasztanyagok között 9 különböző hatóanyagot tartanak számon úgy, mint a gadobensav, gadobutrol, gadodiamid, gadofosveset, gadopentetsav, gadotersav, gadoteridol, gadoversetamid, illetve a gadoxetsav nevű anyagokat. Előbbiek közül két készítmény – az OptiMARK (gadoversetamid) és a

¹ A *nefrogen szisztémás fibrosis*, egy ritka kórkép, mely vesebetegeknél jelentkezik. A kialakulása elsősorban gadolínium alapú MRI-kontrasztanyagok alkalmazásához köthető beszűkült vesefunkciójú, többnyire dializált betegek esetében. A betegség több szervrendszer együttes érintettsége esetén – az esetek mintegy 5%-ában – gyors lefolyású és halálos kimenetelű is lehet. [8]

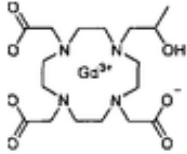
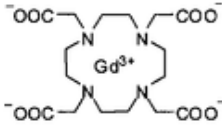
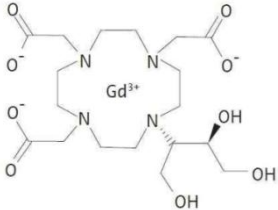
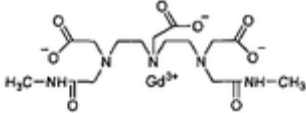
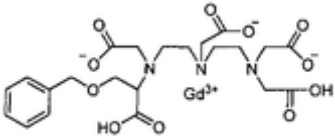
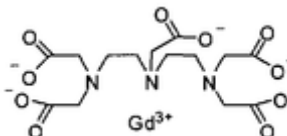
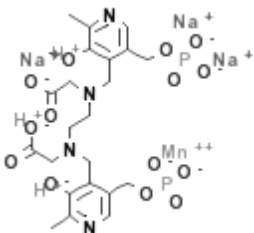
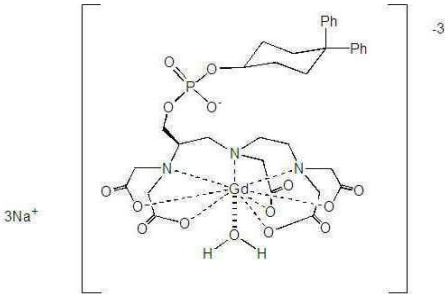
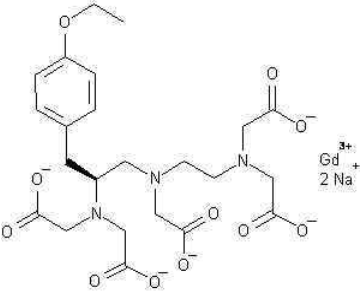
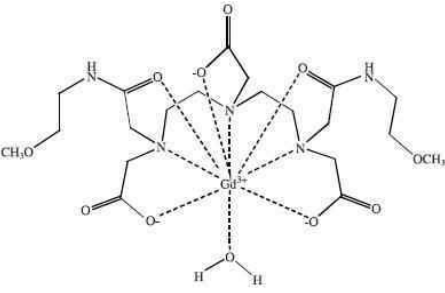
Vasovist (gadofosveset) - rendelkezik az egész Európai Unióra érvényes forgalomba hozatali engedéllyel.

A gadolínium-tartalmú kontrasztanyagok és az NSF betegség közötti összefüggést elsőként 2006 januárjában figyelték meg Dániában, illetve Ausztriában. Az NSF egy olyan betegség, melynek során a bőr és egyes kötőszövetek (máj, tüdő, szív) a súlyos vesebetegségben szenvedő betegeknél megvastagodnak. A vizsgálatok alapján megállapították, hogy a hatóanyag típusa mellett az alkalmazás módjának (dózis, adagolási gyakoriság, időtartam) is jelentős szerepe van a fent említett betegség kialakulásában. A 2007-ben összehívott tudományos szakértő bizottság az előbb említett anyagokat az 1.2. táblázatban bemutatott három csoport szerint kategorizálta. [17 - 20]

1.2. táblázat: MRI vizsgálatokban alkalmazott kontrasztanyagok csoportosítása az NSF kialakulásának kockázata alapján [20]

Magas kockázat		Közepes kockázat		Alacsony kockázat	
gadoversetamid	(Optimark)	gadofosveset	(Vasovist, Ablavar)	gadotersav	(Dotarem)
gadodiamid	(Omniscan)	gadoxetsav	(Primovist)	gadoteridol	(ProHance)
gadopentetsav	(Magnevist, Magnegita, Gado-MRT-ratiopharm)	gadobensav	(MultiHance)	gadobutrol	(Gadovist)
				gadoxetsav	Eovist

Általánosságban elmondható, hogy az ionos, láncszerű szerkezettel rendelkező gadolínium alapú kontrasztanyagok komplexstabilitási állandói nagyobb értékűek, mint a nem ionos láncszerűeké. Nem ionos szerkezettel az Omniscan és az Optimark nevű anyagok rendelkeznek, míg a Magnevist, MultiHance, Eovist és az Ablavar elnevezést viselő kontrasztanyagok ionos láncszerűek. A harmadik típust a makrociklusos vegyületek alkotják, melyek közé a ProHance, Dotarem és a Gadovist termékek tartoznak. A makrociklusos anyagok irányába folyamatosan csökken a gadolínium láncból való kiszabadulásának lehetősége (1.9. ábra).

ProHance 	DOTAREM 
Gadovist 	Omniscan 
MultiHance 	Magnevist 
Teslascan 	Ablavar 
Eovist 	Optimark 

1.9. ábra: Jelenleg forgalomban levő Gd-alapú kontrasztanyagok [18][22-25]

2. Kísérleti rész

Kísérleteim fő céljaként a gadolínium-kelát komplexek kromatográfiás analízisét tűztem ki. A vizsgálatok megkezdéséhez elengedhetetlen volt a kutatás során alkalmazott két komplexképző anyag, az EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav) és a DTPA (dietilén-triamin-pentaecetsav), valamint előbbieik gadolínium fémionnal alkotott komplexeinek esetén a protonálódási és komplexképződési egyensúlyok pH függvényében való meghatározása.

2.1 Kísérleti eszközök, anyagok

A méréseket Dionex DX 300 típusú gradiens kromatográfiás rendszerrel (Dionex, Sunnyvale, CA, USA) végeztük, mely SAGP típusú gradiens pumpát, Dionex ACI interfészt, CHA-6 típusú nagynyomású kromatográfiás modult, CDM-II vezetőképességi detektort, Model 9125 típusú injektáló egységet (Rheodyne, Rohnert Park, CA, USA) 50 µl térfogatú mintabeviteli hurokkal, AMMS-II (4 mm) típusú mikromembrán szupresszort, Dionex EDM eluens gáztalanító egységet tartalmazott. Az elválasztások során IonPack AS4A-SC (250×4 mm) típusú, közepes hidrofobitású, 11,0 µm szemcseátmérőjű, alkil/alkanol kvaterner ammónium funkciós csoportokkal ellátott tölteteket tartalmazó anioncserélő oszlopot alkalmaztunk. Az eluens oldat literenként 0,2292 g Na_2CO_3 -ot és 0,1240 g NaHCO_3 -ot tartalmazott (pH = 10,2). A mozgófázis térfogatárama 1,2 ml/min volt.

Az oldatokhoz (eluens, regenerálószer, minták) szükséges ultratisztaságú víz (vezetőképessége $18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$) MilliPak-40, 22 µm pórusátmérőjű szűrővel ellátott Milli-Q Plus (Millipore) típusú készüléken állítottuk elő. Az eluens oldatok levegőmentesítését Bandelin Sonorex RK 52 típusú ultrahangos fürdővel végeztük.

A felhasznált analitikai tisztaságú vegyszerek, a Na_2CO_3 , NaHCO_3 tartalmú eluens oldat, a NaCl , Na_2SO_4 , Na_3PO_4 , GdCl_3 , $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$, H_5DTPA , maleinsav, borostyánkősav, tejsav mintaoldatok és a cc. H_2SO_4 (96 m/m%, 0,025 N) tartalmú szupresszor oldat elkészítéséhez a svájci Fluka Chemie AG, Buchs termékeit alkalmaztuk.

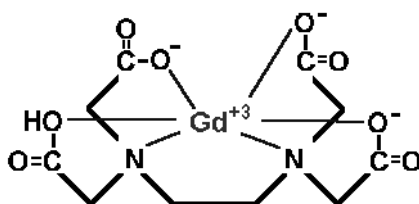
A mérések rögzítéséhez, a kromatogramok kiértékeléséhez és a szükséges számításokhoz az alábbi szoftvereket használtuk: Dionex AI 450, Mathematica 5.1, SigmaPlot 11.0 és MS Office Professional Edition 2003.

2.2 Gd(III)-kelát komplexek protonálódási és komplexképződési egyensúlyai, moláris eloszlásai

Ezen fejezet könnyebb megértéséhez érdemes áttekinteni a vizes oldatokban lejátszódó komplexképződési reakciók elméleti alapjait. A fémionok többsége képes magányos elektronpárral rendelkező ionokkal, molekulákkal koordinatív kötést létrehozni. Az így kialakuló *komplex vegyületek* esetében a fémionhoz kapcsolódó iont vagy molekulát *ligandumnak* nevezzük. A fémion által maximálisan felvehető ligandumok száma a *koordinációs szám*.

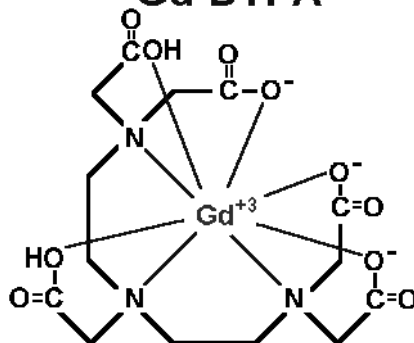
A dolgozatom témáját szolgáltató Gd(III)-kelát komplexek közül az EDTA 4 (2.1. ábra), míg a DTPA molekula 5 (2.2. ábra) fogú ligandum, így mindkét vegyület Gd^{3+} fémionhoz kapcsolódva egy-egy gyűrűs szerkezetű kelát komplexet alkot.

Gd-EDTA



2.1. ábra: Gd-EDTA komplex szerkezete [26]

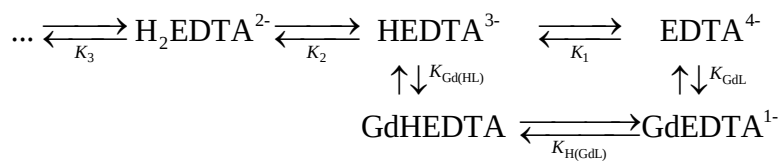
Gd-DTPA



2.2. ábra: Gd-DTPA komplex szerkezete [27]

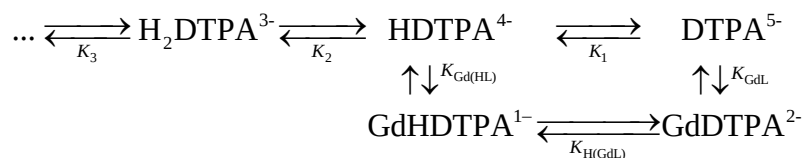
Vizes oldatokban lúgos körülmények között a Gd^{3+} ionok EDTA-val és DTPA-val az alábbi egyensúlyi reakciókban vesznek részt (2.1., 2.2. egyenlet).

(2.1.)



ahol $K_1 = 10^{10,34}$, $K_2 = 10^{6,24}$, $K_3 = 10^{2,75}$, $K_4 = 10^{2,07}$, $K_{\text{GdL}} = 10^{17,37}$, $K_{\text{Gd(HL)}} = 10^{1,53}$. [5] Mivel a GdEDTA^- komplex protonálódása a többi egyensúlyi lépés kombinációjából előállítható, ez nem egy független folyamat. A $K_{\text{H(GdL)}}$ egyensúlyi állandó értéke K_1 , K_{GdL} és $K_{\text{Gd(HL)}}$ ismeretében kiszámítható, értéke $10^{-5,50}$.

(2.2.)



ahol $K_1 = 10^{10,56}$, $K_2 = 10^{8,69}$, $K_3 = 10^{4,37}$, $K_4 = 10^{2,87}$, $K_5 = 10^{1,94}$, $K_{\text{GdL}} = 10^{22,46}$, $K_{\text{Gd(HL)}} = 10^{2,40}$. [5] A fentiekhez hasonlóan $K_{\text{H(GdL)}}$ egyensúlyi állandó értéke K_1 , K_{GdL} és $K_{\text{Gd(HL)}}$ ismeretében számítható. Értéke DTPA ligandum esetén $10^{-9,72}$. A számított protonálódási állandók értéke arra enged következtetni, hogy az elúció lúgos körülményei között (pH=10,2) sem EDTA, sem DTPA esetén nem kell a kialakult komplex protonálódásával számolni, ezért ennek részletezésétől a továbbiakban eltekintek. [28]

A fenti egyensúlyokat és egyensúlyi állandókat figyelembe véve kiszámítható az oldatban levő komplexképző ligandumok egyes specieszeinek moláris aránya a pH és Gd^{3+} egyensúlyi koncentrációjának ismeretében az alábbi összefüggések alapján (2.3., 2.4., 2.5. *egyenlet*).

(2.3.)

$$\Phi_0 = \frac{1}{1 + K_1[\text{H}^+] + K_1 \times K_2[\text{H}^+]^2 + \dots + \dots \times K_{n-1} \times K_n[\text{H}^+]^n + K_{\text{GdL}} \times [\text{Gd}^{3+}]}$$

ahol Φ_0 a Gd(III)-kelát komplex protonátlan formájának móltörtje, K_n a komplexképző i-edik protonálódási állandójának értéke, K_{GdL} pedig a Gd(III)-kelát komplex stabilitási állandója

(2.4.)

$$\Phi_j = \frac{\dots \times K_{j-1} \times K_j [H^+]^j}{1 + K_1 [H^+] + K_1 \times K_2 [H^+]^2 + \dots + \dots \times K_{n-1} \times K_n [H^+]^n + K_{GdL} \times [Gd^{3+}]}$$

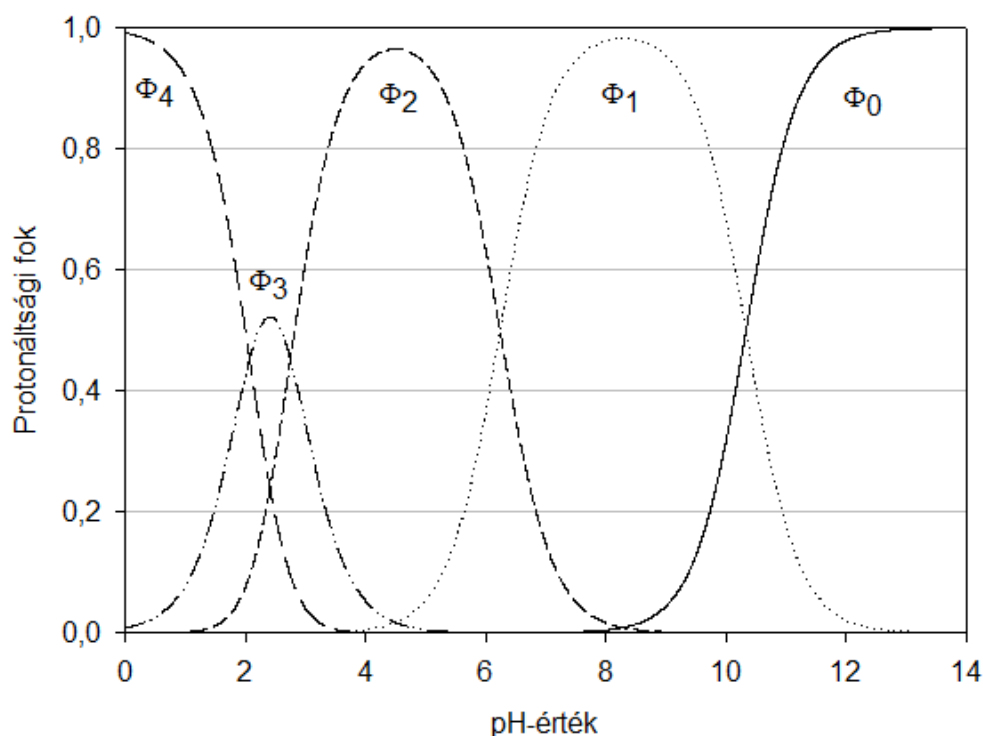
ahol Φ_j az j-szeresen protonált komplexképző moláris arányát fejezi ki

(2.5.)

$$\Phi_M = \frac{K_{GdL} [Gd^{3+}]}{1 + K_1 [H^+] + K_1 \times K_2 [H^+]^2 + \dots + \dots \times K_{n-1} \times K_n [H^+]^n + K_{GdL} \times [Gd^{3+}]}$$

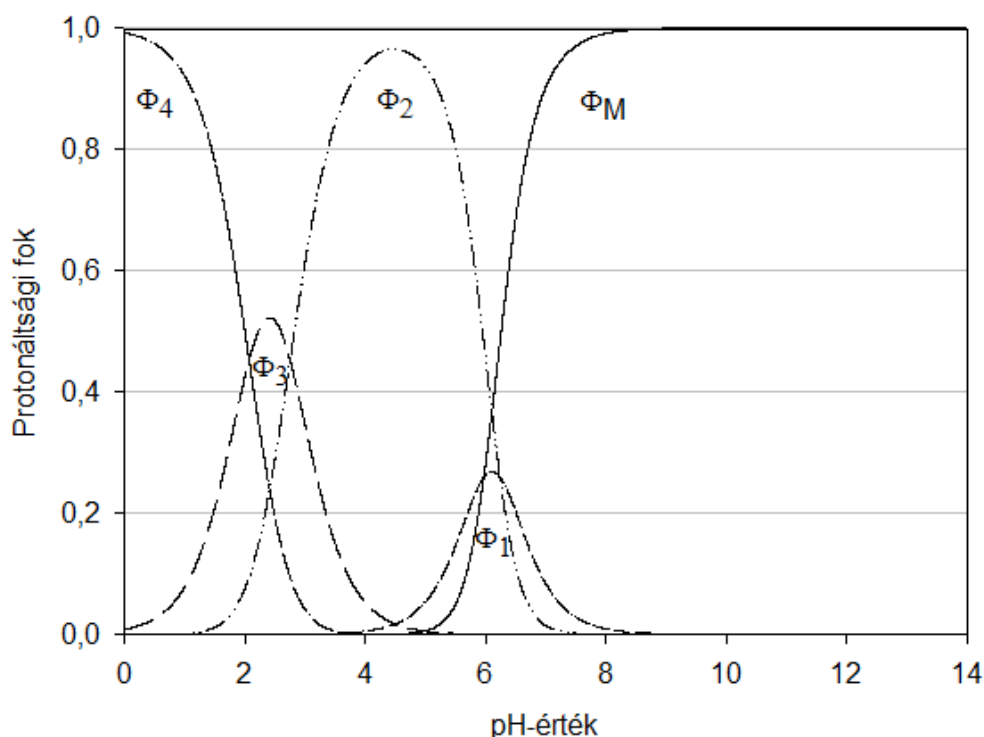
ahol Φ_M azt fejezi ki, hogy az összes ligandum hányad része van jelen GdL összetételű komplex formájában

A 2.3. ábrán látható, hogy az EDTA különböző mértékben protonált formáinak mólaránya miként változik a pH függvényében. Jól látszik, hogy erősen lúgos oldatban a 4 negatív töltésű, teljesen disszociált forma a meghatározó. A pH csökkenésével egyre nagyobb arányban jelennek meg a többszörösen protonált formák. Erősen savas pH-kon (pH < 1) már mind a 4 karboxil csoport protonált állapotban van jelen. Az elúció pH-ján (pH = 10,2) közel 40-60 % a 4 negatív és a 3 negatív töltésű specieszek aránya.



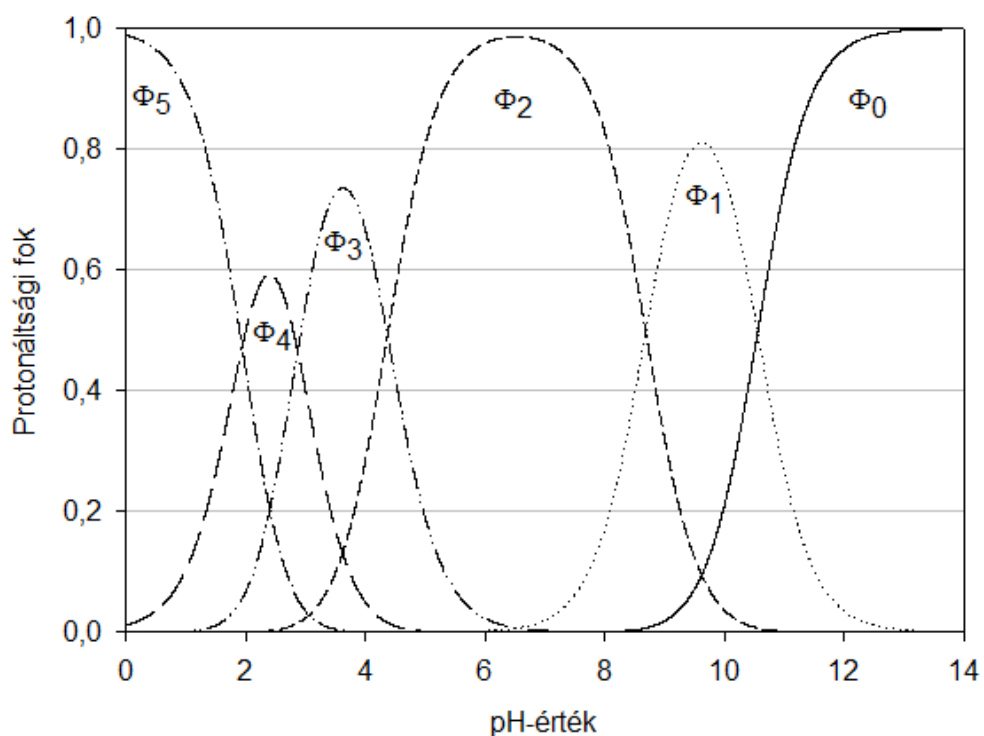
2.3. ábra: EDTA protonáltsági foka a pH függvényében Gd^{3+} ion jelenléte nélkül

Amennyiben Gd^{3+} -iont is adunk a rendszerhez, mindössze 10^{-13} M feleslegben, megfigyelhető, hogy eltűnik a Φ_0 -hoz tartozó görbe, azaz nincs protonálatlan EDTA az oldatban, valamint Φ_1 értéke is jelentősen megváltozik. A 2.4. ábra avval a fontos információval szolgál, hogy az elválasztás lúgos pH körülményei között szinte 100 %-ban 1 negatív töltésű Gd-EDTA komplex található az oldatban. Az anionkromatográfiás elválasztások szempontjából előnyös pH tartomány tehát egybeesik a komplex stabilitása szempontjából legmegfelelőbb pH tartománnyal. Előbbiek mellett megállapítható, hogy a Gd-EDTA komplex ionkromatográfiás meghatározása lehetséges.



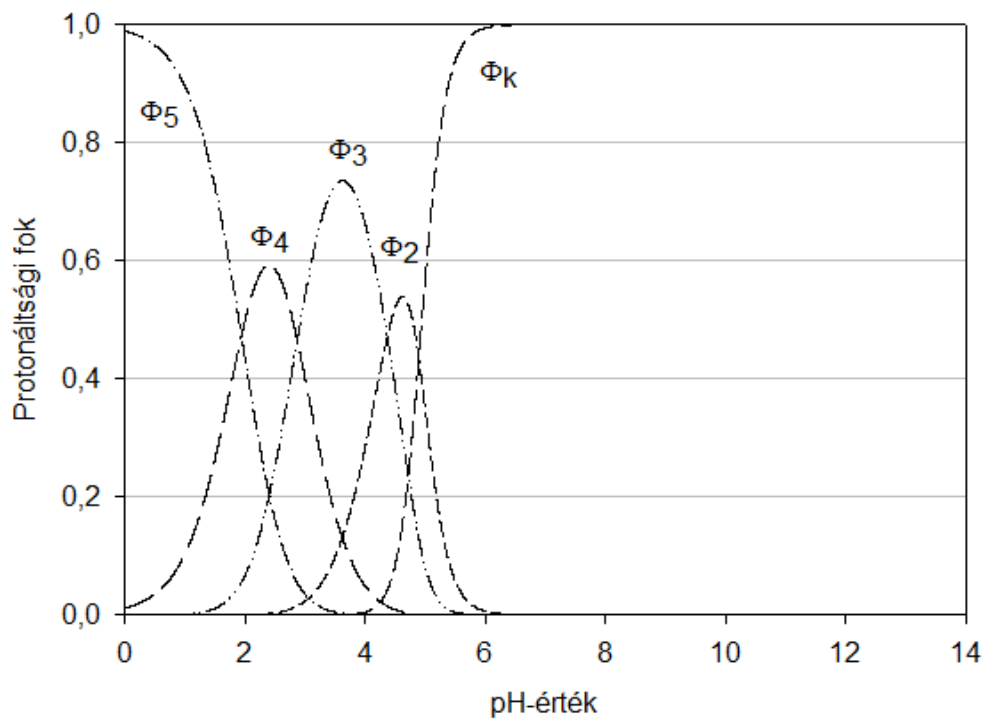
2.4. ábra: EDTA protonáltsági foka a pH függvényében Gd^{3+} ion jelenlétében

A 2.5. ábrán EDTA-hoz hasonlóan a DTPA különböző mértékben protonált formáinak molarányának változása látható a pH függvényében. Erősen lúgos oldatban az 5 negatív töltésű, teljesen disszociált forma a meghatározó, a pH csökkenésével pedig egyre nagyobb arányban jelennek meg a többszörösen protonált formák. Erősen savas pH-kon ($\text{pH} < 1$) már mind az 5 karboxil csoport protonált állapotban van jelen. Az elúció pH-ján ($\text{pH} = 10,2$) közel 30-70 % az 5 negatív és a 4 negatív töltésű specieszek aránya.



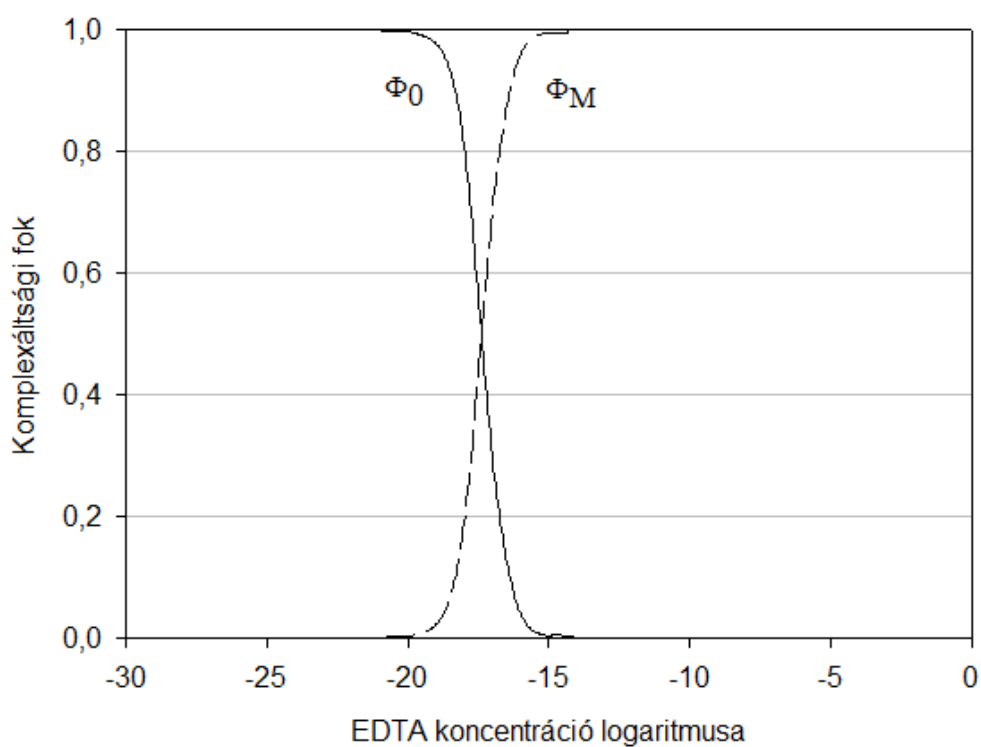
2.5. ábra: DTPA protonáltsági foka a pH függvényében Gd^{3+} ion jelenléte nélkül

10^{-13} M Gd^{3+} felesleg esetén megfigyelhető, hogy eltűnik a Φ_0 -hoz és Φ_1 -hez tartozó görbe, azaz nincs protonátlan és egyszeresen protonált állapotú DTPA az oldatban, valamint Φ_2 értéke is jelentősen megváltozik (2.6. ábra).



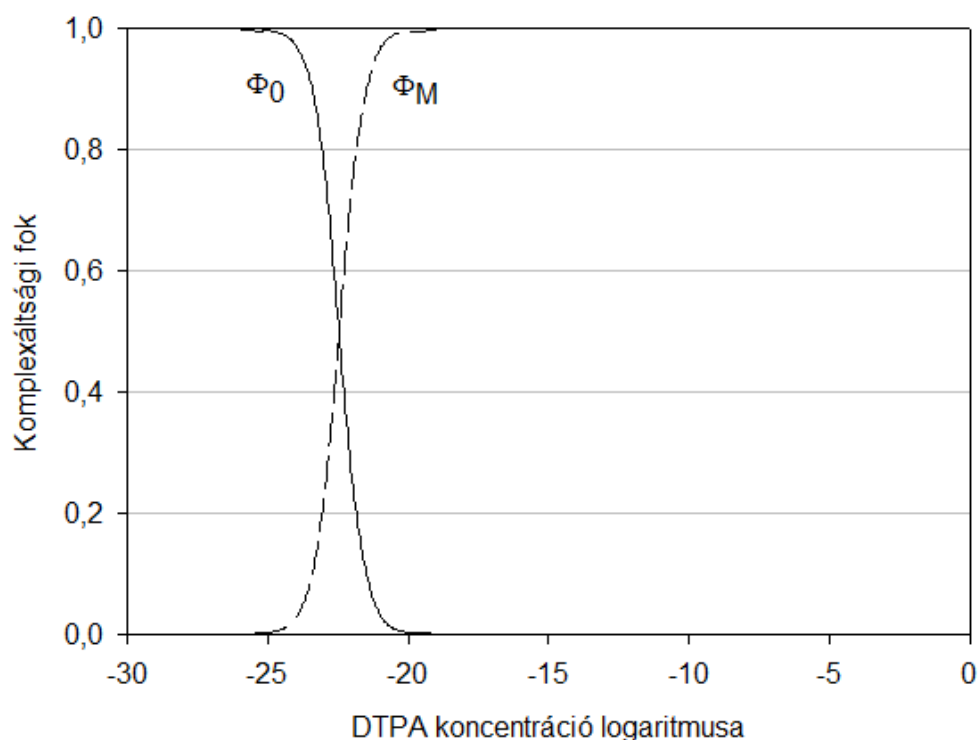
2.6. ábra: DTPA protonáltsági foka a pH függvényében Gd^{3+} ion jelenlétében

Előbbiek mellett vizsgáltuk a Gd-EDTA-kelát komplex képződésének folyamatát a ligandum koncentráció függvényében is, melynek eredményét a 2.7. ábra mutatja. Az eredmények alapján elmondható, hogy 10^{-15} - 10^{-20} M EDTA koncentráció esetén már kelát komplex képződésével kell számolni. Mindössze 10^{-15} M ligandum felesleg esetén pedig a Gd^{3+} teljes hányada komplex formában van jelen.



2.7. ábra: EDTA-Gd-kelát komplexképződés a koncentráció függvényében

Nemcsak EDTA, hanem DTPA reagens esetén is megvizsgáltuk a koncentráció komplexképző folyamatra gyakorolt hatását. Gd-DTPA-kelát komplex képződésének folyamata a ligandum koncentráció függvényében a 2.8. ábrán látható. EDTA-val ellentétben már 10^{-25} – 10^{-20} M DTPA koncentráció esetén kelát komplex képződésével kell számolni.

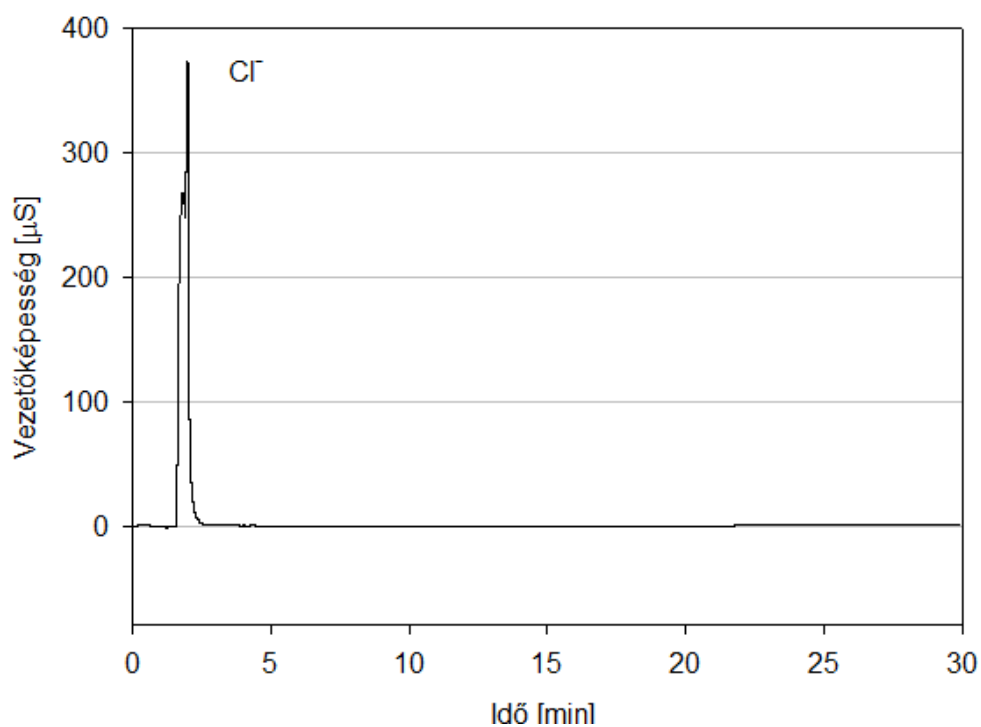


2.8. ábra: DTPA-Gd-EDTA komplexképződés a koncentráció függvényében

2.3 Gd(III)-kelát komplexek kromatográfiás analízise

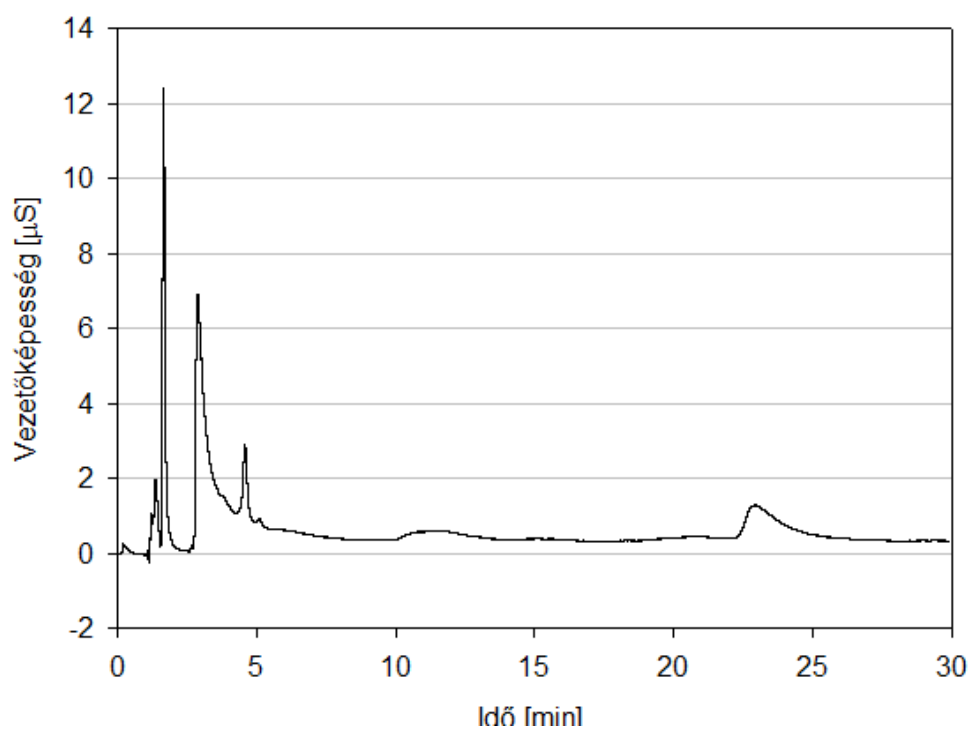
A mérések során egységesen 250-250 μl reagenst mértünk be az előzetesen elkészített 20 mM koncentrációjú törzsoldatból egy 5 cm^3 -es mérőlombikba, melyet nagytisztaságú vízzel jelre töltöttünk. Az 50 μl -es mintabeviteli hurkot $3 \times 100 \mu\text{l}$ mennyiségű oldattal mostuk át minden injektálást megelőzően. Minden minta esetén a fent említett módon jártunk el.

Elsőként a GdCl_3 oldat kromatográfiás analízisét végeztük el, melynek eredménye a 2.9. ábrán látható. A kromatogram jól tükrözi a Cl^- -ion jelenlétét, azonban a Gd^{3+} -ion ilyen módon anionkromatográfiásan nem detektálható.



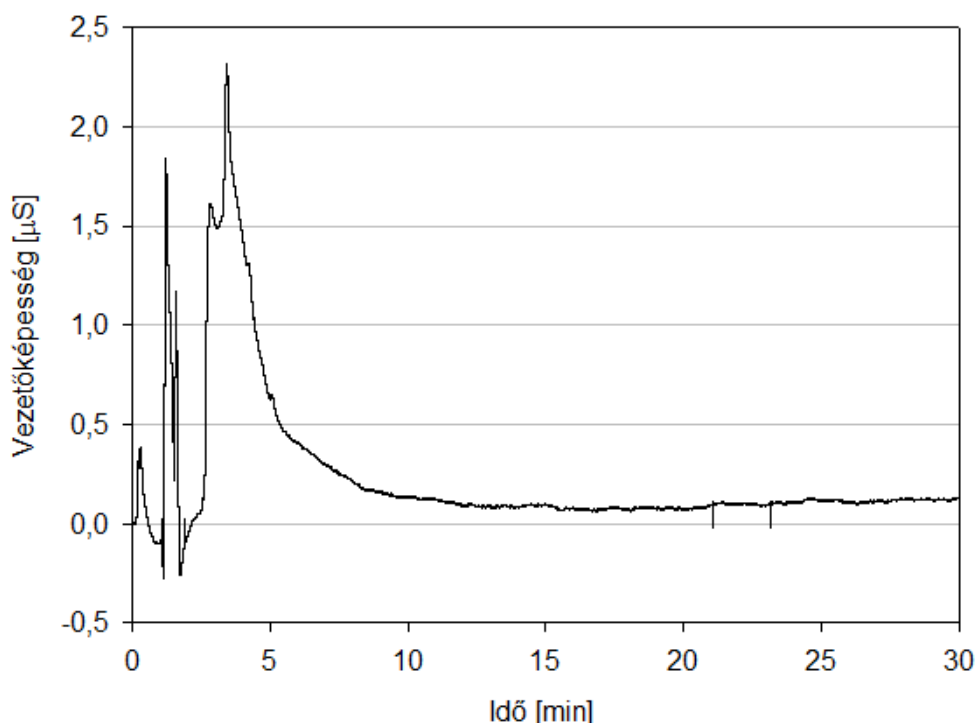
2.9. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd-klorid kromatogramja

A 2.10. ábrán látható kromatogram egy 1 mM-os EDTA oldat analízisének eredménye, melynél a számos csúcs az EDTA különböző formáinak jelenlétével magyarázható. Jelen van ebben az oldatban EDTA, Na komplexált EDTA (NaEDTA), kétmagvú komplex (Na_2EDTA), valamint protonált komplex (NaHEDTA).



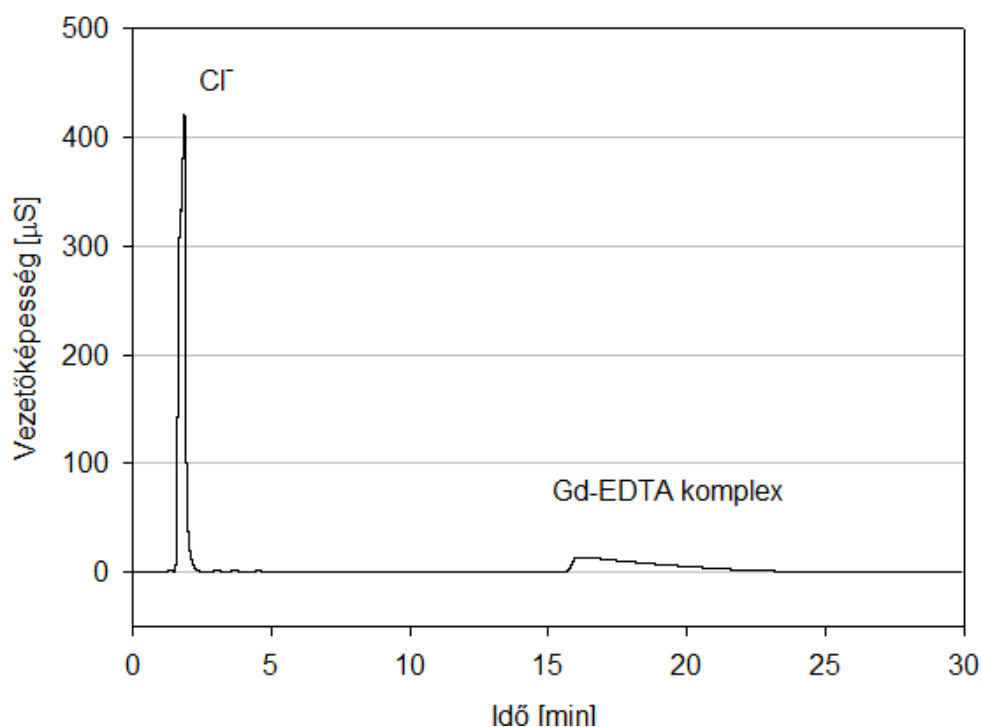
2.10. ábra: 1 mM koncentrációjú EDTA kromatogramja

A 2.11. ábrán egy 1 mM-os DTPA oldat analízisének kromatogramja látható, melynél az EDTA-hoz hasonló számos csúcsot a DTPA különböző formáinak jelenléte magyarázza. Ebben az oldatban egyszerre van jelen DTPA, Na komplexált DTPA (NaDTPA), kétmagvú komplex (Na_2DTPA), valamint protonált komplex (NaHDTPA).



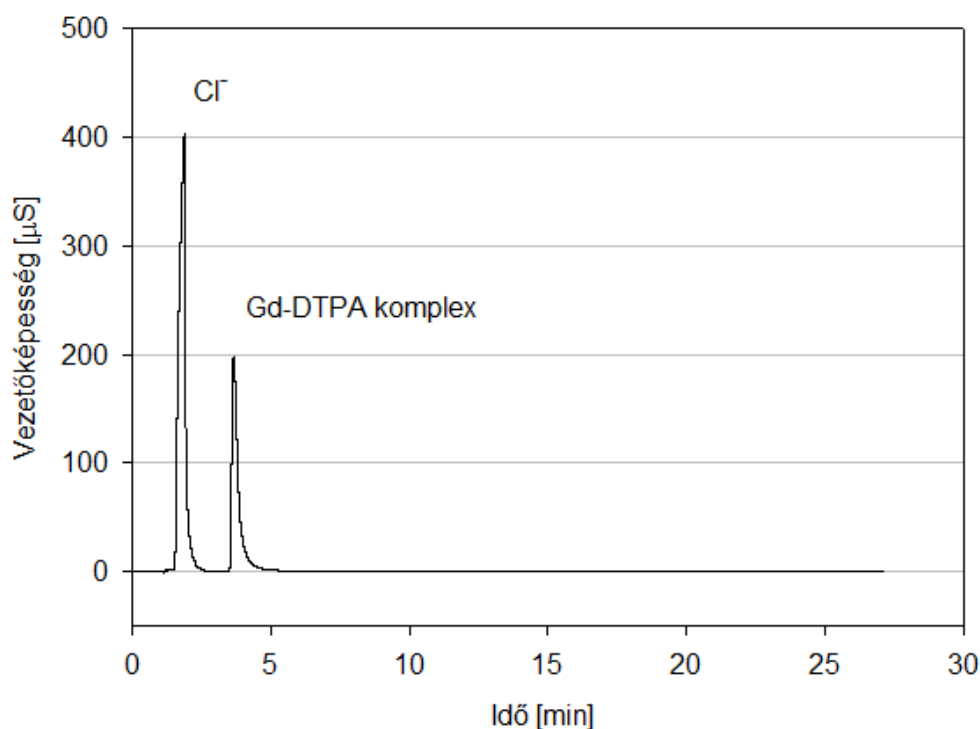
2.11. ábra: 1 mM koncentrációjú DTPA kromatogramja

GdCl_3 és EDTA oldatok elegyének injektálásakor a 2.12. ábrán látható kromatogram tükrözi a kapott eredményt. EDTA komplexképző esetén a klorid csúcsot követően közel 16 percnél detektálható újabb csúcs, mely Gd-EDTA komplex jelenlétére utal. EDTA esetén egy elnyúló csúcs jelenik meg, tehát a Gd-EDTA komplex kromatográfias analízise evvel a módszerrel nem kedvező.



2.12. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd-EDTA komplex kromatogramja

GdCl₃ és DTPA oldatok elegyének injektálásakor a 2.13. ábrán látható kromatogram vehető fel. DTPA komplexképző esetén közel 4 percnél detektálható újabb éles csúcs, mely Gd-DTPA komplex jelenlétére utal. EDTA komplexképző alkalmazásával ellentétben egy jól detektálható, rövid időn belül megjelenő csúcs figyelhető meg, tehát a Gd³⁺- ion kromatográfiás analízise DTPA-val kedvező körülmények között végezhető el. A 2.12. és a 2.13. ábra jól tükrözi, hogy lehetőség van Gd-EDTA és Gd-DTPA szimultán anioncsere kromatográfiás elválasztására.



2.13. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd- DTPA kromatogramja

2.4 Gd-DTPA komplex meghatározásának érzékenysége, kimutatási határának vizsgálata

A Gd-DTPA komplex kimutatási határának (LOD) meghatározását az Amerikai Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatala (EPA) által ajánlott RMSE (root mean square error) módszerrel végeztem. Ez az eljárás abban az esetben alkalmazható, amikor a detektor által szolgáltatott jel és az analitikai koncentráció között lineáris összefüggés áll fenn, azaz ha növeljük a mintaion koncentrációját, akkor avval egyenes arányban fog növekedni a vezetőképesség. [29]

Az RMSE módszer a következő lépések alapján végezhető el:

1. Elkészítjük a kalibrációs görbét minimum 4-5 mérési pont felvételével, melyek a kimutatási határ meghatározása érdekében egyre csökkenő koncentrációkhoz tartoznak. Egy-egy adott koncentrációjú oldat kromatogramjának felvételét háromszor ismételjük meg. A kalibrációs görbe a detektor által szolgáltatott jelet (csúcsterület) mutatja a koncentráció függvényében.
2. Elvégezzük a kalibrációs görbe regressziós analízisét és meghatározzuk n számú minta esetén a kalibrációs görbe meredekségét (m), y tengelymetszetét (i) és az r^2 értékét.

3. A kalibrációs görbét a következő általános egyenlettel definiáljuk:

(2.6.)

$$x = m \times c + i$$

4. A meredekség (m) és a tengelymetszet (i) értékek alapján kiszámítjuk az egyes jelek várható értékét (x_p).

5. Meghatározzuk minden egyes mérés hibáját (E) a következő egyenlet segítségével:

(2.7.)

$$E = |x_p - x|$$

6. Kiszámítjuk minden minta esetében a hiba négyzetét (E^2), majd ezek összegzésével meghatározzuk n számú pont esetén a hibák négyzetének összegét (ΣE^2).

7. Az előbbiek alapján RMSE értéke a következő módon számítható:

(2.8.)

$$RMSE = \left[\frac{\sum_{j=1}^n E_j^2}{n - 2} \right]^{1/2}$$

8. A kimutatási határnak (x_L) megfelelő méretű csúcs területét az alábbi egyenlettel határozzuk meg:

(2.9.)

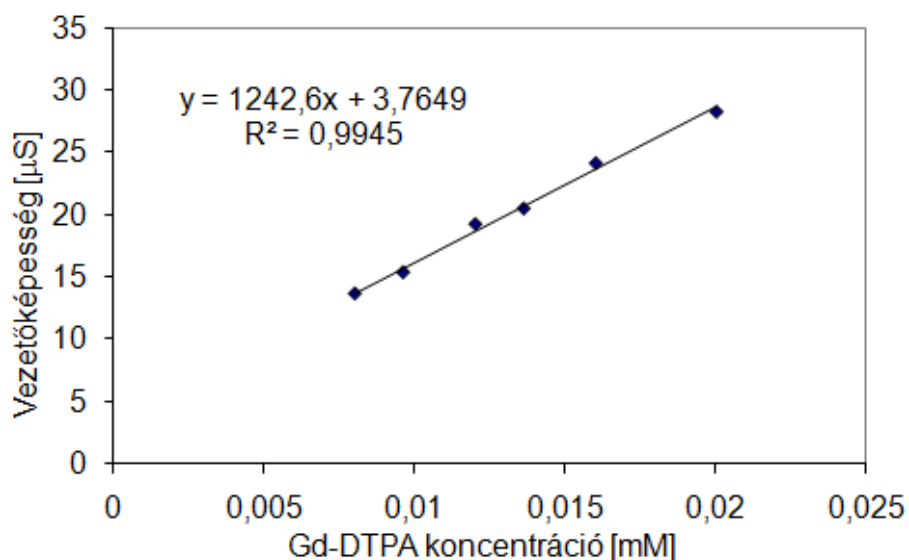
$$x_L = i + (3 \times RMSE)$$

9. A 2.6. *egyenlet* átrendezésével, illetve a 2.8. és 2.9. *egyenlet* felhasználásával meghatározható az LOD (c_L) értéke.

(2.10.)

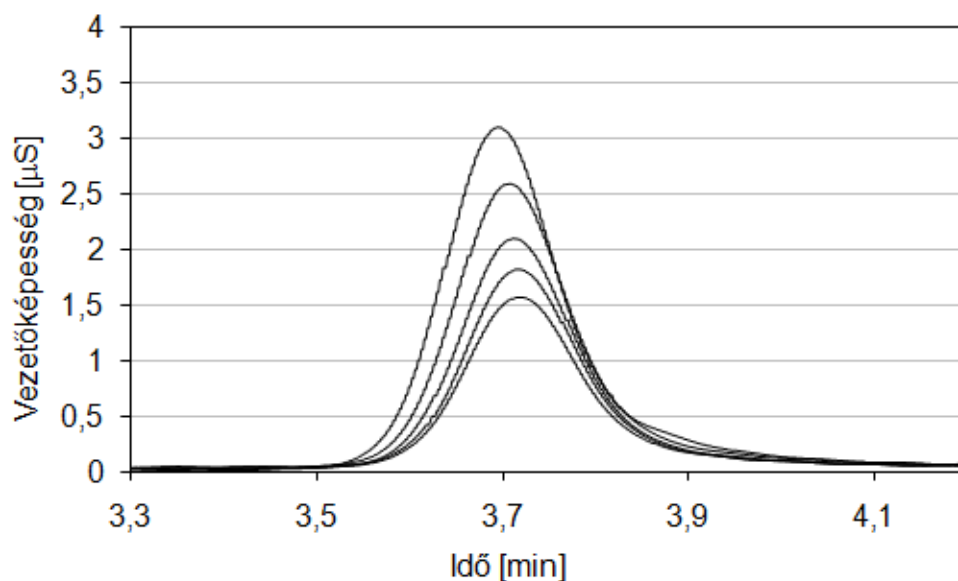
$$c_L = \frac{x_L - i}{m} = \frac{3 \times RMSE}{m}$$

A Gd-klorid és DTPA esetében felvett kalibrációs görbe a 2.14. ábrán látható, mely jól tükrözi a módszer érzékenységét. Egyrészt kismértékű a mérési pontok egyenestől való eltérése, szórása, valamint az R^2 értéke is kedvező.



2.14. ábra: Kalibrációs görbe Gd-DTPA komplex esetén

A kalibrációs görbe felvételéhez 6 különböző koncentrációjú, GdCl_3 és DTPA 1:1 arányú elegyét használtuk fel. Ezen minták esetén a 2.15. ábrán látható kromatogramot rögzítettük, melyen a Gd-DTPA komplexhez tartozó, a mintakonzentráció csökkenésével arányos csúcsterületek változása jól látható. A kalibrációs görbe felvételénél 0,02 mM, 0,016 mM, 0,0136 mM, 0,012 mM, 0,0096 mM és 0,008 mM koncentrációjú mintaoldatokhoz tartozó csúcsterületeket vizsgáltuk. A kromatogramon látható csúcsok mérete a koncentráció csökkenésével arányosan csökken.



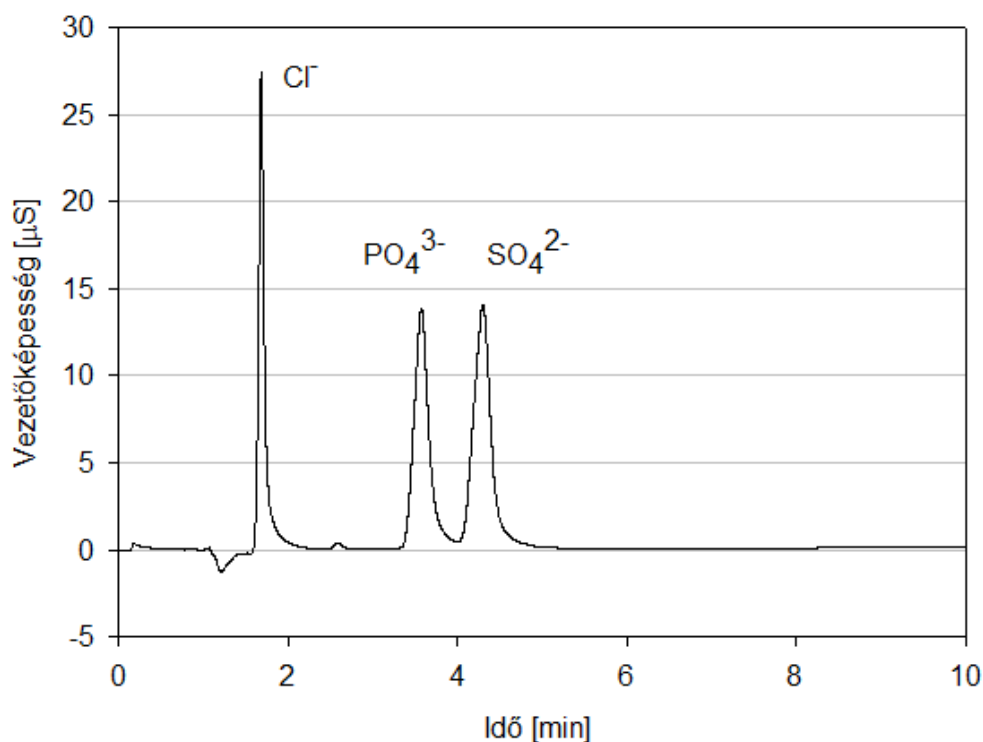
2.15. ábra: Kalibrációhoz szükséges GdCl_3 és DTPA sztöchiometriai arányú elegyének kromatogramja csökkenő reagens koncentráció mellett

Számolások alapján meghatároztuk az RMSE értékét, amelynek alapján a kimutatási határ $8,7 \times 10^{-7}$ M értéket vesz fel, tehát a módszer megfelelően érzékeny, hiszen alacsony kimutatási határral rendelkezik.

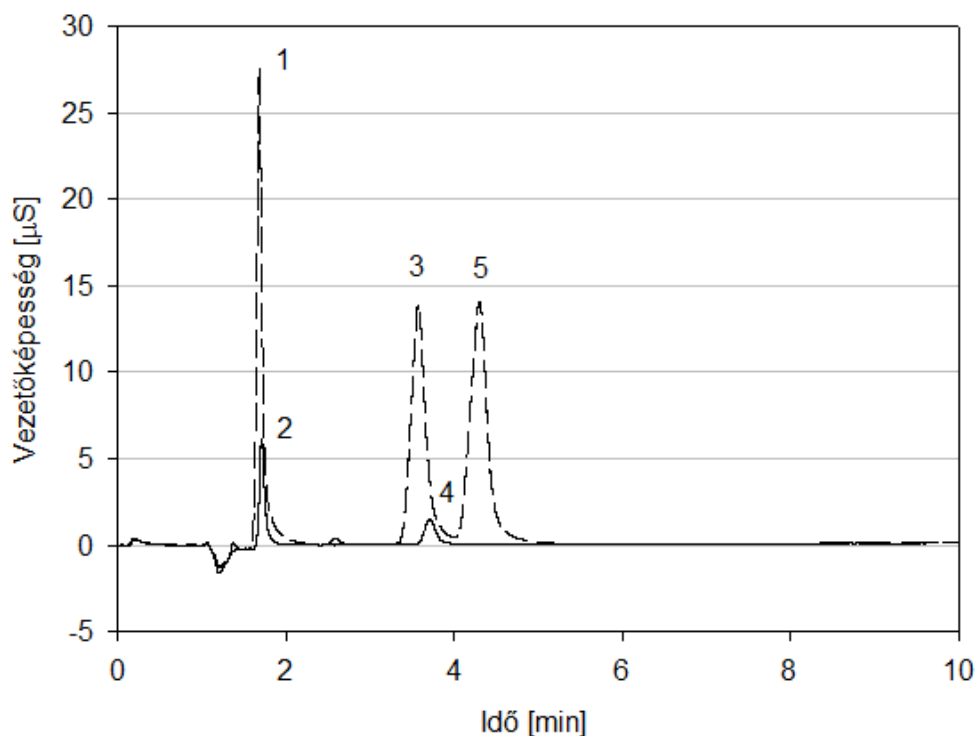
2.5 Zavaró ionok hatásának vizsgálata

A korábbi fejezetekben ismertetett vizsgálatok mellett elvégeztük olyan szerves és szerves ionok analízisre gyakorolt hatásának tanulmányozását is, melyek az emberi szervezetben és/vagy a környezeti mintákban előfordulnak. Ilyenek voltak például a Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , a maleinsav, a szukcinát (borostyánkősav), illetve a laktát (tejsav).

A szerves ionok önálló analízisét a 2.16. ábra szemlélteti, míg előbbieket Gd-DTPA-kelát komplex detektálására való hatása 2.17. ábrán látható. Az eredmények alapján elmondható, hogy környezeti minták - melyek elsősorban szerves ionokat tartalmaznak - esetén a módszer további optimalizálást igényel.



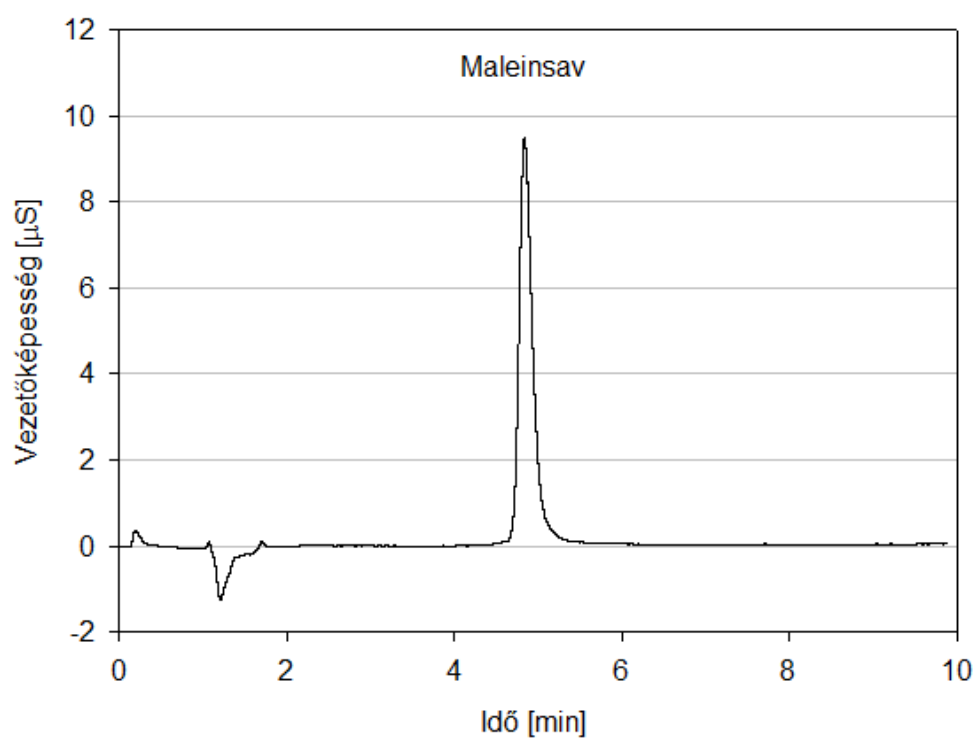
2.16. ábra: Szerves ionok (Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) kromatográfias vizsgálata



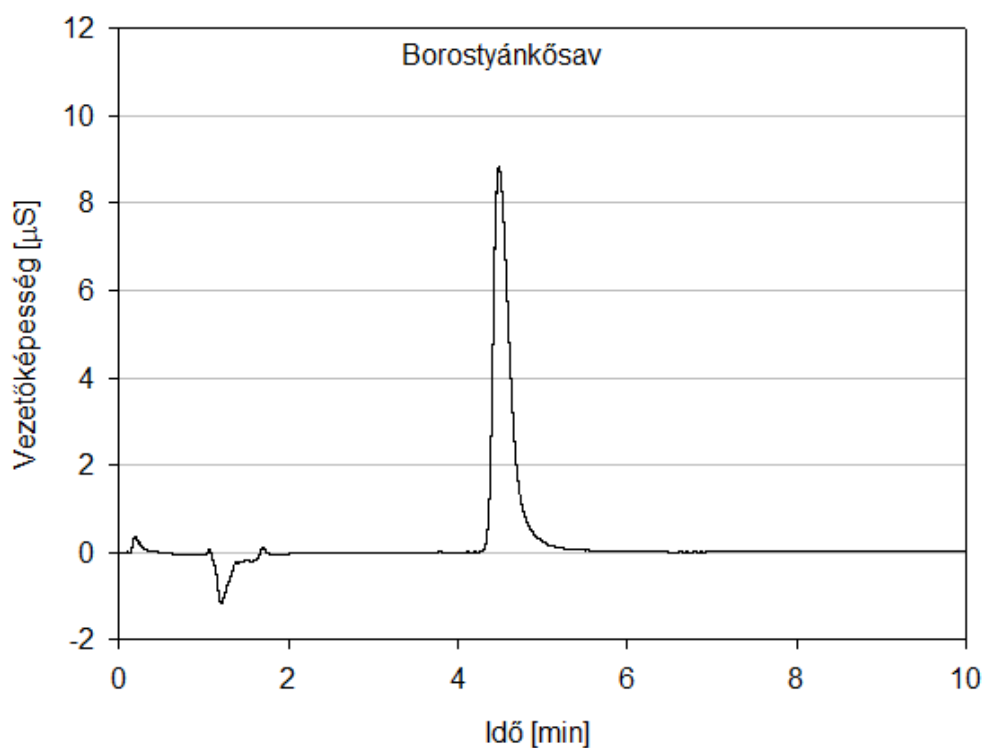
2.17. ábra: Szervetlen ionok (Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) és Gd-DTPA együttes vizsgálata

1,2: Cl^- ; 3: PO_4^{3-} ; 4: Gd-DTPA; 5: SO_4^{2-}

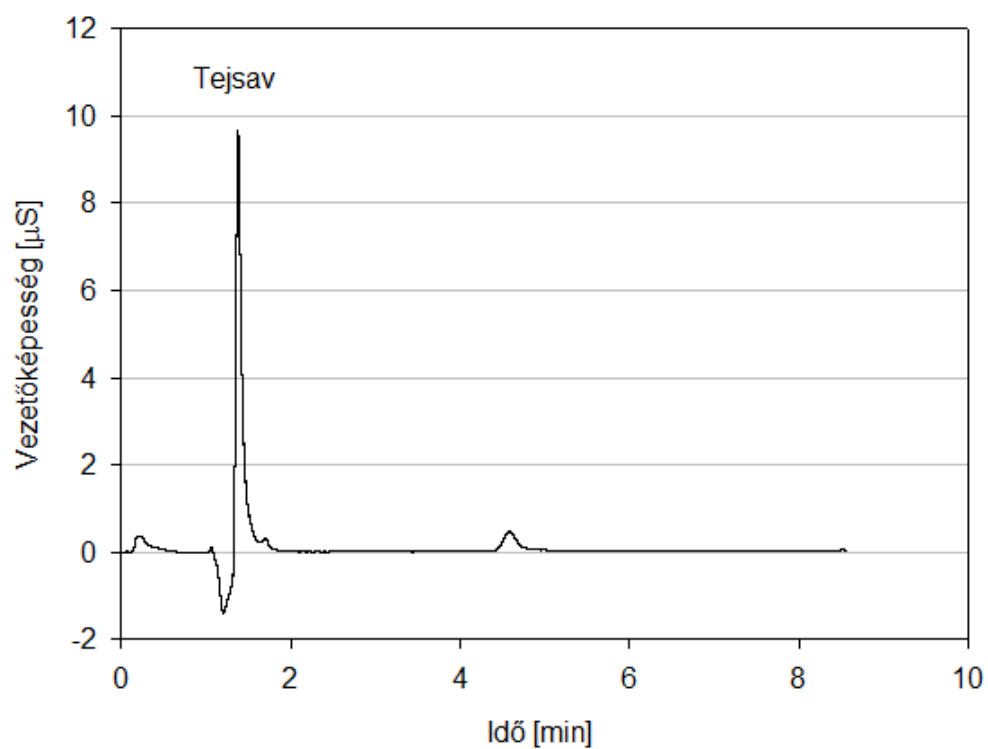
Szerves ionok (maleinsav, szukcinát, laktát) analízisét először egykomponensű oldatokkal végeztük, hogy a későbbiekben meg tudjuk vizsgálni a Gd-DTPA komplexszel való esetleges átfedéseket. Maleinsav esetén a kromatográfiás csúcs körülbelül 5 percnél jelentkezett (2.18. ábra), míg szukcinát esetében egy az előzőhöz közeli, körülbelül 4,5 percnél jelentkező csúcsot figyeltünk meg (2.19. ábra). Laktát injektálásakor a kromatográfiás csúcs 1,5 perc elteltével jelent meg (2.20. ábra). A detektálást esetlegesen zavaró szerves ionok kromatogramját végül összehasonlítottuk a Gd-DTPA komplex esetén kapott eredményekkel, és megállapítottuk, hogy a vér ezen szerves ionjai nem befolyásolják a Gd-DTPA-kelát komplex kromatográfiás analízisét (2.21. ábra).



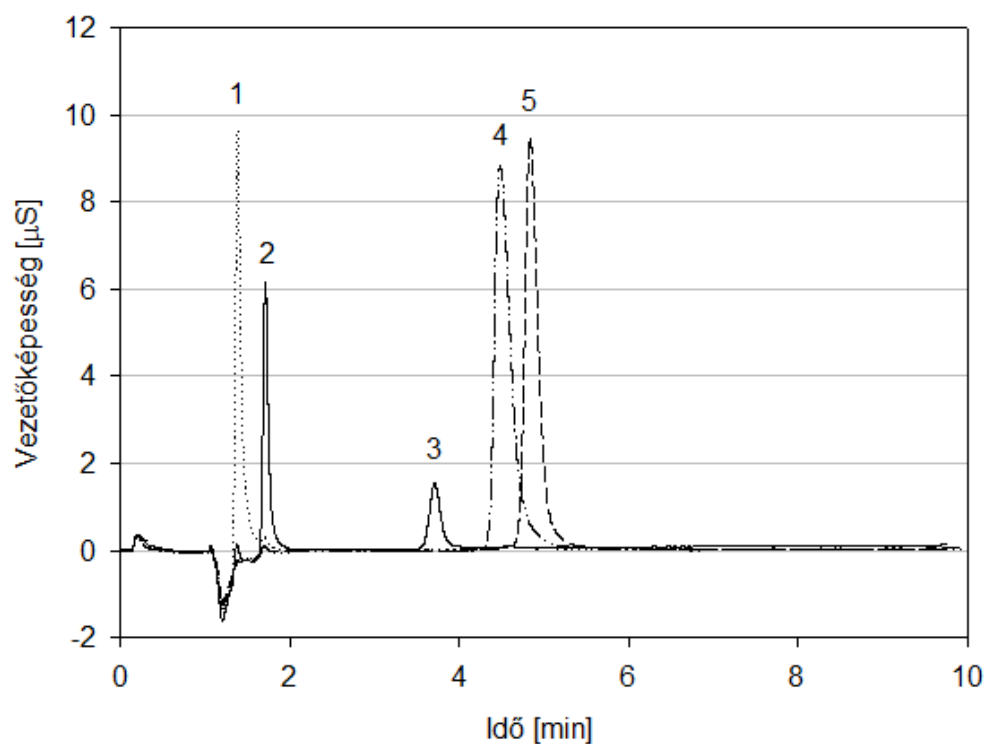
2.18. ábra: Maleinsav kromatográfiás vizsgálata



2.19. ábra: Borostyánkősav/szukcinát kromatográfiás vizsgálata



2.20. ábra: Tejsav/laktát kromatográfiás vizsgálata



2.21. ábra: Szerves ionok (maleinsav, borostyánkősav, tejsav) kromatográfiás analízise 0,1 mM koncentrációjú Gd-DTPA

1: laktát; 2: Cl⁻; 3: Gd-DTPA; 4: szukcinát; 5: maleinsav

Összefoglalás

Munkám során a Gd vegyületek fizikai, kémiai tulajdonságainak, felhasználási területeinek, környezeti jelentőségének és hatásainak áttekintése mellett vizsgáltam a Gd-kelát komplexek ionkromatográfiás elválasztásának, meghatározásának lehetőségeit.

Előbbihez figyelembe vettem a komplexképződési és protonálódási egyensúlyokat, melyek alapján megállapítottam, hogy lúgos pH tartományban a Gd elsősorban negatív töltésű kelát komplex formában van jelen az oldatban, amelynek megfelelően anion kromatográfiás eljárást alkalmaztam analitikai tanulmányozására. Számításaimat az elvégzett kísérletek is alátámasztották. Vizsgáltam továbbá Gd-kelátok úgy, mint Gd-EDTA, és Gd-DTPA vegyületek szimultán elválasztását, szervetlen és szerves ionok zavaró hatását, illetve az alkalmazott módszer kimutatási határát.

Az elvégzett kísérletek tapasztalatai alapján megállapítottam, hogy

- Gd^{3+} -ion már kismértékű komplexképző felesleg esetén is stabil komplexet képez mind EDTA, mind DTPA esetében
- a Gd-EDTA-kelát komplex kromatográfiás analízise a vizsgált körülmények között nem ideális a hosszú retenciós idő és a kromatográfiás csúcs elnyúlása miatt
- a Gd-DTPA-kelát komplex analízise, a komplex oszlopról való gyors elúciója, valamint az éles kromatográfiás csúcsnak köszönhetően ezen körülmények között ideálisnak tekinthető
- a vizsgált módszer alkalmas Gd-EDTA és Gd-DTPA szimultán elválasztására
- a Gd-DTPA komplex analízisére nincs jelentős zavaró hatása a vizsgált, emberi szervezetben is előforduló szervetlen és szerves ionoknak

Előbbiekből alapján megállapítható, hogy a Gd-DTPA-kelát komplex kromatográfiás analízise klinikai jelentőségű minták esetén is alkalmazható lehet.

Irodalomjegyzék

- [1] Horváth Krisztián, Kémiai egyensúlyi és kinetikai kölcsönhatások leírása, alkalmazása az ioncsere-kromatográfiában (Doktori (PhD) értekezés, Témavezető: Dr. Hajós Péter, Pannon Egyetem, Analitikai Kémia Intézeti Tanszék, Veszprém, 2007
- [2] L.R. Snyder, J.J. Kirkland, J.W. Dolan, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Wiley; 3 edition, 2009
- [3] Dr. Kristóf János, Kémiai analízis II. (Nagyműszeres analízis) (129-145), Veszprém, 2000
- [4] Weiss, J., *Handbook of Ion Chromatography*, Wiley-VCH, Weinheim, 3rd ed., 2005.
- [5] Jackson, P. E., John Wiley & Sons, Chichester, 2000; pages 2779-2801.
- [6] Hajós, P.; Horváth, O. and Denke, V., *Anal. Chem.*, 1995, 67, 434.
- [7] K. Horváth, P. Hajós, *J. Chromatogr. A*, 1104 (2006) 75
- [8] M.C. Bruzzoniti, E. Mentasti, C. Sarzanini, *Analytica Chimica Acta* 382 (1999) 291-299.
- [9] P. Hajos, G. Revesz, C. Sarzanini, G. Saccherio, E. Mentasti, *J. Chromatogr.*, 640 (1993) 15-25.
- [10] Haddad, P. R. and Jackson, P. E., *Ion Chromatography: Principle and Applications*, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- [11] Olajos Marcell, Az ion-kromatográfia retenció elmélete és alkalmazása környezetvédelemben fontos anionok elválasztásában (Diplomadolgozat, Témavezetők: Dr. Hajós Péter, Dr. Horváth Krisztián, Pannon Egyetem, Analitikai Kémiai Intézeti Tanszék, Veszprém, 2006
- [12] <http://www.vilaglex.hu/Szojegyz.htm>
- [13] <http://www.sulinet.hu/tart/cikk/Se/0/17613/1>
- [14] <http://www.hearthealthywomen.org/tests-diagnosis/peripheral-vascular-disease/magnetic-resonance-angiogram-mra-for-pvd.html>
- [15] http://www.hearthealthywomen.org/images/PVD/mr_angio_body.jpg
- [16] http://www.medscape.com/viewarticle/750321_2
- [17] <http://web.interware.hu/valas/Valas/hirek/mater/gadolin.htm>
- [18] http://www.ema.europa.eu/docs/hu_HU/document_library/Referrals_document/gadolinium_31/WC500015635.pdf
- [19] <http://www.akademiai.com/content/000316373516p461/>

- [20] <http://www.grin.com/en/doc/233686/design-synthesis-and-evaluation-of-innovative-carriers-for-delivery-of>
- [21] <http://www.chemicalregister.com/upload/cr/140678-14-4.png>
- [22] http://drugsdb.eu/images/ablavar_Ablavar-Structure.jpg
- [23] http://drugsdb.eu/images/gadavist_5d99ca42-4088-44b4-9876-69c6361ad297-01.jpg
- [24] http://drugsdb.eu/images/eovist_c6e9ff6d-842d-452d-ab15-a8c08eb682ca-01.jpg
- [25] http://drugsdb.eu/images/optimark_optimark-01.jpg
- [26] <http://www.cis.rit.edu/class/schp730/bmri/chap-12/images/gd-edta.gif>
- [27] <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/chap-12/images/gd-dtpa.gif>
- [28] Dr. Inczédy János, Komplex egyensúlyok analitikai alkalmazása, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1970
- [29] US EPA, Assigning Values to Non-detected/Non-quantified Pesticide Residues in Human Health Food Exposure Assessments, Guidance Document: Office of Pesticide Programs, US Environmental Protection Agency, Washington, DC (March 23, 2000)

Ábrajegyzék

1.1. ábra: Kromatográfiás elválasztás folyamatábrája és a regisztrált kromatogram [1].....	5
1.2. ábra: Az ion-kromatográfia eszközei [1]	12
1.3. ábra: A szupresszorban lejátszódó folyamatok [1]	13
1.4. ábra: Fém gadolínium [12].....	14
1.5. ábra: Önmegsemmisítő chip [13].....	16
1.6. ábra: MRI készülék [13]	17
1.7. ábra: CMR felvétel az emberi szívről Gd-tartalmú kontrasztanyag beadása előtt (bal) és beadása után (jobb) [16]	17
1.8. ábra: MRA felvétel az emberi testről [15]	18
1.9. ábra: Jelenleg forgalomban levő Gd-alapú kontrasztanyagok [18][22-25]	20
2.1. ábra: Gd-EDTA komplex szerkezete [26].....	22
2.2. ábra: Gd-DTPA komplex szerkezete [27]	22
2.3. ábra: EDTA protonáltsági foka a pH függvényében Gd ³⁺ ion jelenléte nélkül.....	24
2.4. ábra: EDTA protonáltsági foka a pH függvényében Gd ³⁺ ion jelenlétében	25
2.5. ábra: DTPA protonáltsági foka a pH függvényében Gd ³⁺ ion jelenléte nélkül	26

2.6. ábra: DTPA protonáltsági foka a pH függvényében Gd^{3+} ion jelenlétében	26
2.7. ábra: EDTA-Gd-kelát komplexképződés a koncentráció függvényében	27
2.8. ábra: DTPA-Gd-kelát komplexképződés a koncentráció függvényében	28
2.9. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd-klorid kromatogramja	29
2.10. ábra: 1 mM koncentrációjú EDTA kromatogramja	29
2.11. ábra: 1 mM koncentrációjú DTPA kromatogramja	30
2.12. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd-EDTA komplex kromatogramja	31
2.13. ábra: 1 mM koncentrációjú Gd- DTPA kromatogramja	32
2.14. ábra: Kalibrációs görbe Gd-DTPA komplex esetén	34
2.15. ábra: Kalibrációhoz szükséges $GdCl_3$ és DTPA sztöchiometriai arányú elegyének kromatogramja csökkenő reagens koncentráció mellett	34
2.16. ábra: Szervetlen ionok (Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) kromatográfiás vizsgálata	35
2.17. ábra: Szervetlen ionok (Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) és Gd-DTPA együttes vizsgálata	36
2.18. ábra: Maleinsav kromatográfiás vizsgálata	37
2.19. ábra: Borostyánkősav/szukcinát kromatográfiás vizsgálata	37
2.20. ábra: Tejsav/laktát kromatográfiás vizsgálata	38
2.21. ábra: Szerves ionok (maleinsav, borostyánkősav, tejsav) kromatográfiás analízise 0,1 mM koncentrációjú Gd-DTPA	38

Táblázatok jegyzéke

1.1. táblázat: Különböző mintakomponensek detektálási körülményei [11]	11
1.2. táblázat: MRI vizsgálatokban alkalmazott kontrasztanyagok csoportosítása az NSF kialakulásának kockázata alapján [20]	19