



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

Természettudományi és Informatikai Kar

Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

Tiolcsoportokat tartalmazó vegyületek kölcsonhatása arzénessavval

Készítette:

Szekeres Levente István

Vegyész MSc I. évf.

Témavezetők:

Dr. Jancsó Attila *Egyetemi adjunktus*

Dr. Gyurcsik Béla *Egyetemi adjunktus*

Szeged

2012

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	3
2.1. Az arzén	3
2.2. Az arzén élettani hatásai	4
2.3. Az arzénprobléma és jelenlegi megoldásai	6
2.4. Az As ^{III} oldatkémiaja	11
3. Célkitűzések	18
4. Kísérleti munka	19
4.1. Felhasznált anyagok és mérőmódszerek	19
4.1.1. A pH potenciometria	19
4.1.2. UV-Vis abszorpciós spektrometria	20
4.1.3. A mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)	21
4.2. Mérési eredmények	25
4.2.1. Potenciometria	25
4.2.2. UV-spektrometria	28
4.2.3. NMR mérések	36
5. Összefoglalás és konklúziók	41
6. Távlati célok	42
Felhasznált szakirodalom:	43

1. Bevezetés

Az arzénvegyületek toxikus sajátsága közismert, élettani hatásaik azonban jóval sokrétűbbek, az élőlényekben való akkumulációjukkal számos káros szövődmény kialakulásáért is felelősek.

Az arzénvegyületek egyik fő forrása többek közt hazánkban is a rétegvíz-készlet, melyből a felhasználandó ivóvíz legjava származik. Magyarország a 201/2001 (X.25.) kormányrendeletben határozta meg az emberi fogyasztásra szánt vizek minőségéről szóló előírásokat. Az arzéntartalomra vonatkozó határérték ez alapján az ötödére csökkent a korábban meghatározotthoz képest.¹ Az Európai Unió csatlakozási szerződésünk szerint is az arzénszintet ivóvizeinkben legkésőbb 2009 végéig 10 µg/L alá kellett volna csökkenteni, mely azonban számos településen nem valósult meg a határidőig. Ezt követően legvégső haladék 2012 december végére lett kitűzve. Abban, hogy a határértékek betartása nem valósult meg az előző tervezett határideig az is közrejátszott, hogy nincs kellően jól működő, megfelelően tesztelt, olcsón üzemeltethető technológia, mellyel képesek lennénk a vizek arzénmentesítését kivitelezni.

A Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén néhány éve foglalkoznak toxikus fémionok híg vizes oldatbeli komplexkémiájával, így az As^{III} megkötésére alkalmas vegyületek vizsgálatával/tervezésével is. Ezekbe a kutatásokba kapcsolódtam be a tudományos diákköri dolgozatomban összefoglalt munkával.

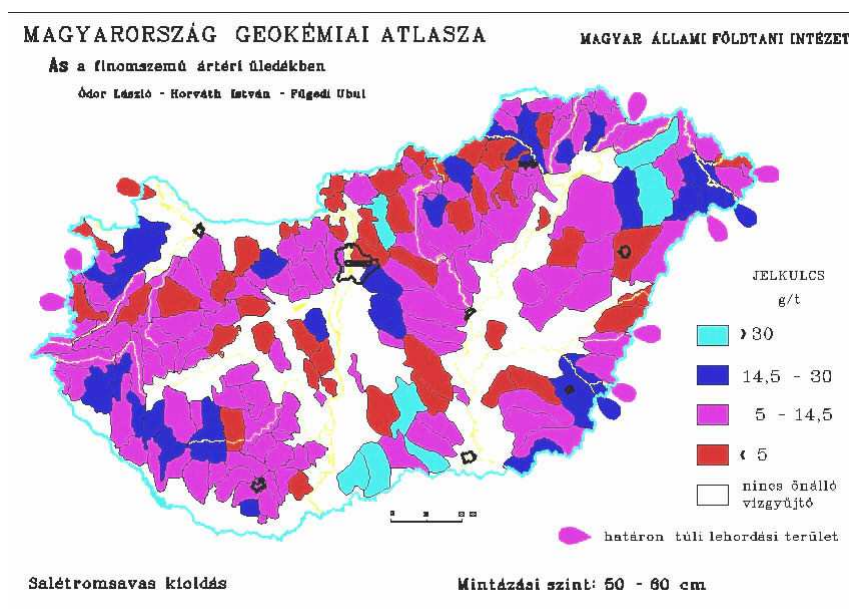
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Az arzén

Az arzén a periódusos rendszer ötödik főcsoportjának negyedik periódusában található félfémes elem. A természetben kizárólag a ⁷⁵As izotóp található meg,² melynek eredő magspinje $I = 3/2$, mágneses momentuma pedig $\mu = 1,43947 \mu_N$.³ Elektronegativitása 2,0 értékű, így jellemzően erős kovalens kötések alakít ki nemfémes elemekkel. Vegyértékhéjának konfigurációja $(4s)^2 (4p)^3$. Ennek megfelelően vegyületeiben az oxidációs állapota -3 , $+3$ és $+5$ lehet, melyek közül az utóbbi kettő jellemző, oxidáló közegben főként az As^V.⁴ Mind az As^{III}, mind az As^V létezik oxid formában (As₂O₃ (As₄O₆), illetve As₂O₅), az előbbi természetes körülmények között vizes közegben H₃AsO₃, azaz arzénessav, az utóbbi H₂AsO₄⁻, HAsO₄²⁻, arzenátok formájában van jelen.⁵

Az elem maga inkább "szoft" sajátságokat mutat, ezt tükrözi számos, kénnel alkotott ásványa is: auripigment (AsS), realgár (As_2S_3), arzenopirit (FeAsS), löllingit (FeAsS_2), szafflorit (CoAsS_2). Gyakran fordul elő átmenetifémek kénnel alkotott érceiben, a legtöbb arzént ezek bányászatának melléktermékeként nyerjük.

Magyarországi talajokban az arzéntartalom várható értékének mediánja 7,17 g/t, átlaga 8,4 g/t (min. < 2,5 g/t, max. 230 g/t), finomszemcsés ártéri üledékekben mérhető eloszlásáról az 1. ábra nyújt felvilágosítást. Világviszonylatban a ugyanez az érték talajokban tájanként 0,1 és 20 g/t közt változik. A magyarországi alsó mintázási közszintekben mérhető arzénmennyiségek mediánja 7,5 g/t (min. 2,5 g/t, max. 505 g/t). Természetes vizek esetében a világátlagokat tekintve: folyóvizekben 1,7 $\mu\text{g/l}$, tengervizekben 3,7 $\mu\text{g/l}$ az arzéntartalom. ⁶



1.ábra: Magyarország vízgyűjtőinek arzéntartalma⁶

2.2. Az arzén élettani hatásai

Az arzén meglehetősen kis koncentrációban létfontosságú eleme az élő szervezeteknek, azonban megnövelt fogyasztása toxikus hatást fejt ki, melynek számos káros szövődménye van, úgy mint: perifériás neuropátia, megváltozott hem metabolizmus, magas vérnyomás, diabétesz, továbbá a szervezetben történő feldúsulása karcinogén hatásokat is eredményezhet, bőr-, tüdő-, máj-, vese- illetve hólyagrák kialakulásához vezethet.⁷ Meg kell jegyezni ugyanakkor, hogy az egyes betegségeket kiváltó mechanizmusok egyelőre csak részlegesen tisztázottak.

Az arzén már említett két oxidációs állapota biokémiai szempontból sokban különbözik egymástól. Az arzenát, mint foszfát-analóg a foszfát-szulfát csatornákon keresztül jut át a sejtmembránon. Egyik főbb káros hatása is az előző tulajdonságából eredeztethető, mivel képes a foszfátot helyettesíteni vegyületeiben és ezzel megzavarja a sejtek biokémiai működését.⁷ Néhány évvel ezelőtt a magas arzéntartalommal rendelkező kaliforniai Mono-tónál akadtak nyomára a GFAJ-1 baktérium fajnak, mely egyedülálló módon teljes mértékben rezisztens az arzénnel szemben, ráadásul úgy találták, hogy képes azt foszfor helyett a DNS láncába beépíteni.⁸ Ezt a megállapítást azóta számos kritika érte, és a legfrissebb vizsgálatok is kizárólag foszfort mutattak ki a nukleinsav kivonatokban. Így az eredmények azt mutatják, hogy a GFAJ-1 mindössze arzenát-rezisztens, de foszfát-függő mikroorganizmus.⁹

Az As^{III} a szervezet számára mintegy 25 - 60 - szor toxikusabb,¹⁰ mint az As^{V} forma, ugyanakkor a kiválasztási folyamatok révén könnyebben eltávolítható. Az arzén kiürülésének természetes útja is tartalmaz egy redukzív lépést, melyben az arzenát arzenitté alakul. Az As^{III} számára a sejtekbe való bejutási lehetőséget a glükóz-permeázok biztosítják. Egyes gliceroporinokon (ASQ7 és ASQ9) keresztül bizonyítottan képes átjutni, melyek az asztrocitákban, a vese, a máj, a here és a zsírszövetek sejtjeiben találhatóak meg.¹¹

Egy másik, sokkal nagyobb veszélyeket rejtő útvonalat a glükóz transzporter fehérjék (GLUT1) jelentenek, melyek pl. az eritrocitákban vagy a vér-agy gát epitheliális sejtjeiben a szervesetlen vagy metilált arzén felvételében játszanak szerepet.¹² Az arzenit a sejtekbe jutva a tiolátcsoportokhoz való erős kötődése révén képes a ciszteinben gazdag enzimek, úgy mint a piruvát-dehidrogenáz,¹³ a glutation-reduktáz,¹⁴ illetve a tioredoxin reduktáz aktivitását lecsökkenteni.¹⁵ Mindennek ellenére számos tiolcsoportokkal rendelkező DNS javító enzim (DNS polimeráz β , DNS ligáz I, DNS ligáz II) működését bizonyítottan nem befolyásolja az arzenit, ami egyben arra is utal, hogy az As^{III} mindössze komutagén hatású, genotoxicitását nem közvetlenül fejtí ki.¹³ Itt megjegyzendő, hogy a fenti állítást M. J. Mass és kollégái is igazolták, ellenben azt is kimutatták *in vitro* vizsgálatokkal, hogy az As^{III} két metilált származéka, az oxometilarzin és a jododimetilarzin képesek voltak közvetlenül, bármilyen kémiai vagy enzimatis aktiválás nélkül degradálni a ϕ X174 RFI típusú DNS mintáikat.¹⁶

Az As^{III} és As^{V} szerves származékairól korábban azt tartották általánosságban, hogy kevésbé toxikusak a szervesetlen származékaiknál (ellentétben például a Hg^{II} -vel). Manapság ez a szemlélet változóban van. Bizonyos szerves formák valóban nem

toxikusak, mint például az arzenobetain. A mélytengeri élőlényekre jellemző, hogy a felvett arzént ebbe a formába alakítják át, így azokban akár rendkívül magas mennyiség is akumulálódhat.¹⁷ Egyes vélemények szerint néhány szerves származék toxikusabb a szervetlen formáknál, mint például a mono-, di- és trimetilarzenit.^{14,18} Ezek a vegyületek az arzén biometabolizmusának termékei. A szervezetben az As^{V} először As^{III} -má alakul. Ez a redoxi lépés történhet egyszerűen a glutationnal történő reakció révén is, de fiziológias körülmények között többnyire enzimatikusan megy végbe. Ezt követően megtörténik az As^{III} lépcsőzetes metilálódása metiltranszferáz enzimek segítségével. A metilált arzén végül a vizelettel távozik. Sokáig az arzén biotranszformációját egy detoxifikációs útként tartották számon, ma azonban már egyes szerzők azon a véleményen vannak, hogy bizonyos szerves formák toxikusabbak, mivel könnyebben képesek a sejtekbe bejutni.¹⁹

2.3. Az arzénprobléma és jelenlegi megoldásai

Az előző fejezetben leírtak indokolják az emberi arzénfogyasztás lehető legalacsonyabb szinten történő tartását. A humán arzénbevitel legfőbb forrásai a tengeri élőlények, illetve a magas arzéntartalmú ivóvizek fogyasztása. A megfelelően alacsony arzéntartalmú vizek elérhetősége azonban komoly probléma. A WHO 1993-ban született javaslata szerint az ivóvizek arzéntartalma nem lehet nagyobb 10 $\mu\text{g/L}$ -nél. A Földön több millió ember számára ez nem lehetséges. Számos ország érintett a problémában, úgy mint: Banglades, Mongólia, Tajvan, Kína, Chile, Mexikó, USA, Kanada, Argentína, Lengyelország, Magyarország, Japán és India.²⁰ Az Európai Unióban az ivóvíz arzéntartalmának felső korlátját az Európai Tanács 98/83/EK rendelete határozta meg, mely érték megegyezik a WHO által javasolt 10 $\mu\text{g/L}$ -rel.²¹ Magyarország a 201/2001 (X.25) kormányrendeletben szintén ezt az értéket nevezte meg tervezett korlátnak, azonban ennek infrastrukturális megvalósításáig a régi határérték marad érvényben, ami pedig 50 $\mu\text{g/l}$.¹

Az ilyen alacsony korlátok betartása azonban komoly kihívást jelent a technológiai megvalósítás szempontjából. A lehetséges fizikai-kémiai eljárások alapvetően négyféle elven működhetnek: megkülönböztethetünk csapadékos, adszorpciós, ioncserés és membránműveleten alapuló technikákat. A továbbiakban az ezekkel elért eredményeket mutatom be röviden.

Csapadékos eljárások: A legegyszerűbb lecsapásos technikák közé sorolható a meszes lágyítás vagy a vasas, mangános oxidációs eljárás. Utóbbi azon az elven alapul,

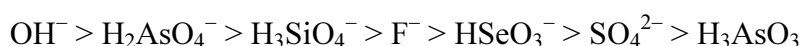
hogy a szolvatált vasat vagy mangánt klórral oxidálva hidroxid formában lecsapják, mely adszorpció révén magával ragadja az oldat arzéntartalmának jelentős részét. Ezeken kívül az arzén egy része megfelelő kationokat tartalmazó sók adagolásával előidézett koaguláció, és egyszerű homokszűrés kombinációjával is eltávolítható az ivóvízből. A leggyakrabban alkalmazott koagulálószeres alumínium(III) sókból, vas(III)kloridból, vagy vas(III)szulfátból állnak, de végeztek kísérleteket megfelelő savanyítás mellett folyadékfázisú vörösiszap adagolásával is. Ezek segítségével az As^{V} hatékonyan eltávolítható: 50 $\mu\text{g/l}$ arzéntartalmú oldatból a megfelelő pH-n az As^{V} tartalom az eredeti érték 10 %-a alá csökkenthető. Ezzel ellentétben az As^{III} esetében már lényegesen rosszabb a helyzet, 30 mg/l koncentrációban alkalmazva egyik fenti koagulálószer sem volt képes a 100 $\mu\text{g/l}$ koncentrációjú As^{III} oldatok arzéntartalmát 50 $\mu\text{g/l}$ alá vinni, ezért ezeket a technikákat oxidációs eljárással érdemes egybekötni, így a víz arzéntartalma kizárólag arzenát formájában lesz jelen a rendszerben.^{22, 23, 24, 25}

Adszorpciós technika: Ezekhez számos különböző szorbenst alkalmaznak. A közönséges aktív szén is felhasználható, de sokkal jobb hatásfokot lehet elérni vele, ha azt vas(III)hidroxiddal módosítják. Mindazonáltal az aktív szén viszonylag drága. Végeztek már arzénadszorpciós kísérleteket mezőgazdasági, élelmiszeripari és faipari hulladékokkal, és azok részben módosított formáival, de ezek az eljárások egyelőre csak kísérleti stádiumban vannak. Jelentős kasztot képviselnek a különböző folyamatos üzemen is működtethető állóágyas vastartalmú adszorbenseken való arzénmegkötéses eljárások. Ezek töltetei többnyire elemi vasat, vas(III)oxidot, vas(II)- vagy vas(III)hidroxidot, illetve vas(III)oxid-hidroxidot tartalmaznak különböző hordozókon, vagy hordozó nélkül, porózus vagy szilárd szemcsés, illetve porított formában. Ilyenek például a vas-oxiddal bevont homok, szemcsés vas(III)hidroxid, porított vas és kén keveréke, szemcsés vas és homok keveréke, vas(III)oxiddal vagy hidroxiddal impregnált gélek, polimerek, vagy a már említett aktív szén. Ezekről általánosan elmondható, hogy igen nagy kapacitással bírnak, ugyanakkor nem mindegyikkel lehet megfelelő tisztaságú ivóvizet nyerni. Ennek oka, hogy a kölcsönhatás folyamata meglehetősen lassú, és így csak irreálisan kicsi áramlási sebességekkel lehetne kellően jó vízminőséget elérni. Ezek is jobbára csak az As^{V} mennyiségét képesek jelentősebben csökkenteni.

A vashidroxid-ágyas eljárásnak a legjobbak az eredményi ezen a téren, ugyanakkor ez meglehetősen drágának számít, ráadásul a foszfátionokkal való kompetíció képes erősen lecsökkenteni a hatékonyságot. Ezzel szemben a vas és

kénport használó technika bár rosszabbul teljesít, ugyanakkor a legolcsóbb módszerek egyikének számít. Az eddigiek mellett alkalmazhatók egyéb szervesetlen adszorbensek is, mint például: kaolinit, kimberlit, goetheit, hidrotalcit, laterit, kalcium-oxid, különböző zeolitok és aktivált alumínium-oxid. Legutóbbival is sikerült elég jó eredményeket elérni, azonban magas vastartalmú vizek tisztítására alkalmatlan, mivel azok nagyon hamar eltömítik az adszorbenst.

Számos kísérletben kimutatták, hogy az arzénessavnak rendkívül alacsony a felületen történő megkötődésre való hajlama, így azt bizonyos ionok kompetitív módon leszoríthatják. Az aktivált alumínium-oxiddal a következő sorrendet határozták meg:



Így általában az adszorpciós eljárások is előoxidációt igénylenek.^{22, 23, 24, 25}

Ioncserés technika: Ezek segítségével lehetséges 40-65 µg/l arzéntartalmú vízből 3 µg/l koncentrációjú előállítani, hat naponta történő regenerálással, akár 30 héten át tartó élettartalommal. Az ioncserés eljárások fő problémája szintén az, hogy az egyszerű, nem specifikus, erősen bázikus gyantákról sok anion (pl.: SO_4^{2-} , F^- , SeO_4^{2-} , ClO_4^- , NO_3^- stb.) képes kompetitíven leszorítani nem csak az arzénessavat, de a legtöbb állítás szerint az arzenátokat is. Így tehát specifikus ioncserélőkre van szükség a megfelelő vízminőség eléréséhez. Az ioncserés technikákban az arzéntartalmú anionokat többnyire kloridra cserélik, melynek sajátos problémája, hogy a magas kloridtartalmú kifolyó víznek nagyobb lesz a korrodáló képessége. Sok esetben pH szabályozásra is szükség van a tisztítás után.^{22, 23, 25}

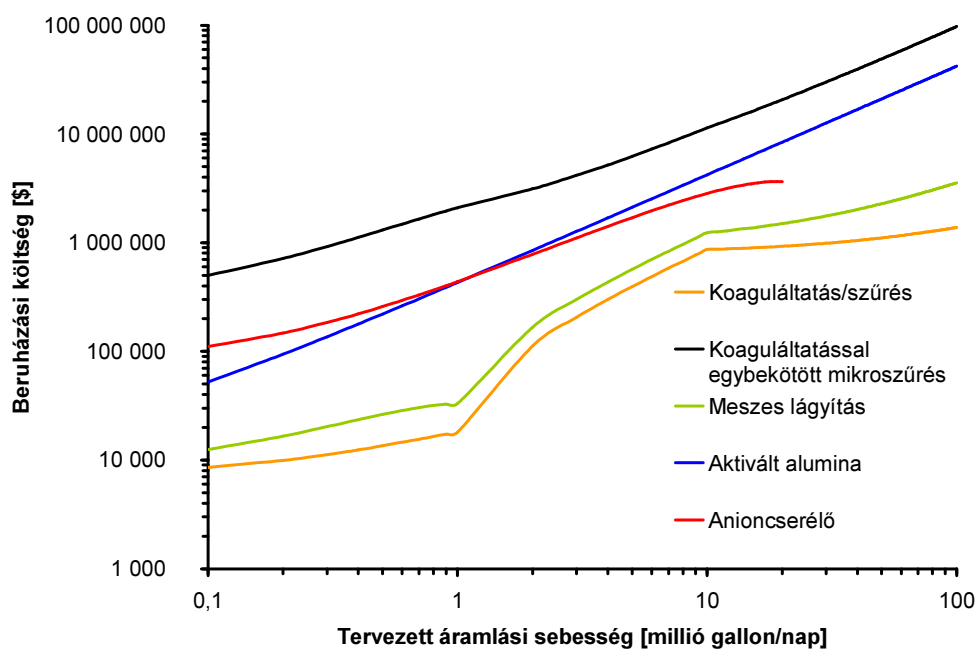
Membrán technikák: Ide sorolhatóak a mikro-, ultra- és nanoszűrőssel, illetve fordított ozmózissal működő eljárások. Utóbbi két módszer segítségével lehet a legkiválóbb eredményeket elérni, megfelelően optimalizált körülmények között akár a víz arzéntartalmának 99 % - át is képesek visszatartani, ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy ezek a legköltségesebb eljárások közé tartoznak.

A méret szerinti megkülönböztetés elvét alkalmazni azért is előnyös, mivel ez hatékony lehet az arzén mindkét oxidációs állapotával szemben. Így például kis pórusméretű nanoszűrőkkel végzett kísérletekben azt tapasztalták, hogy azok az arzenát 95 %-át, az arzenitnek pedig 75 % -át nem engedték át. Ugyanezt nagyobb pórusú membránnal elvégezve az arzenátra még mindig 90 %, az arzenitre viszont csak 30%-os

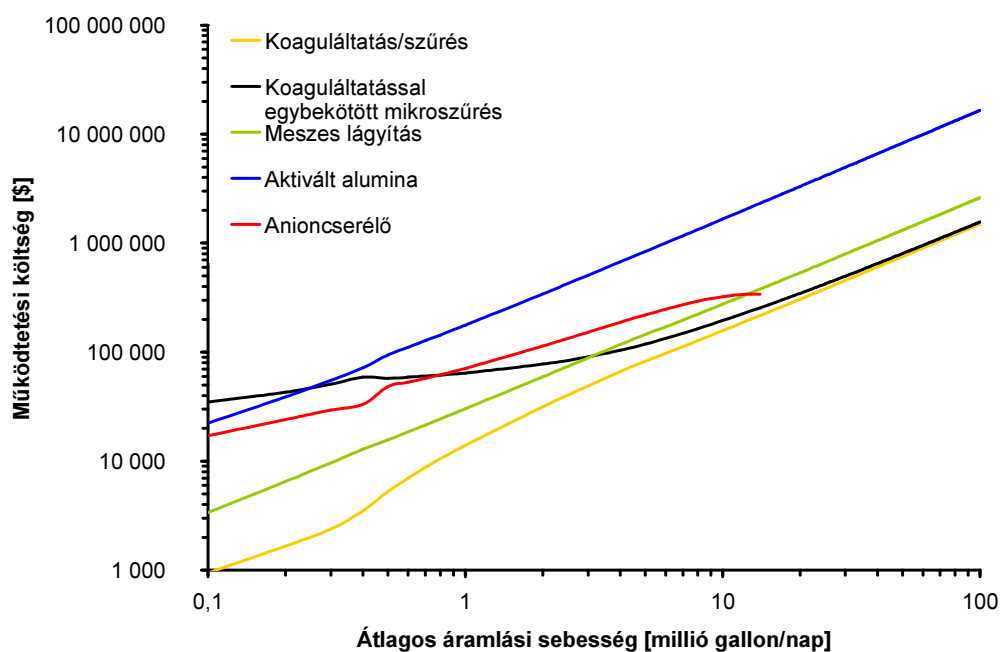
visszatartást mértek. Ebből az is belátható, hogy a két részecske meglehetősen különböző megkötődési sajátságaiért elsősorban nem az elektrosztatikus tulajdonságaik, hanem méretbeli különbségük a felelős. Azonban minél kisebb pórusméretű membránokat alkalmazunk, azok annál inkább hajlamosak az eltömődésre. A mikroszűrés viszont önmagában kevésbé jól alkalmazható, mivel csak a csapadék, illetve kolloidális arzéntartalmú részecskék kiszűrésére alkalmas. Bizonyos adduktumképző adalékok használatával lehet csak hatékonyan alkalmazni (pl.: a már korábban felsorolt csapadékos eljárások).^{22, 23, 25}

Az eddig tárgyalt módszerek a nanoszűrés és a fordított ozmózis kivételével nem képesek az As^{III} koncentrációjának hatékony lecsökkentésére. Ez felszíni vizek tisztítása esetén nem jelent különösebb gondot, ugyanis ezekben az aerob körülmények révén lényegesen nagyobb az As^{V} előfordulása. Felszín alatti vizek esetében azonban más a helyzet, itt már az As^{III} mennyisége is jelentős lehet. Mindazonáltal pont ezek a technikák azok, melyek a legnagyobb beruházási és működési költségekkel rendelkeznek. A megvalósításhoz szükséges tőke szempontjából a lecsapásos és ioncserés eljárások a legkedvezőbbek. A működtetéshez szükséges erőforrások szempontjából az ioncsere kedvezőbb, viszont mint azt korábban említettem, ennél számos zavaró hatás léphet fel, melyek következményeként nehéz megfelelő, állandó vízminőséget biztosítani. Nem szabad megfeledkezni arról sem, hogy ezek az eljárások előoxidációt igénylenek, mely szintén kihatással van a költségekre.²² Így tehát megállapíthatjuk, hogy az előzőekben felsorolt eljárások egyike sem képes az As^{V} mellett az As^{III} -t is költséghatékonyan eltávolítani. A technológia méretnövekedésének a működtetési és beruházási költségekre gyakorolt hatását számított adatokból a 2. ábrán mutatom be.

Egy eddig nem ismertetett módszer, a bioremediáció azonban képes lehet erre. Ennek során a vizek arzéntartalmát arzén-rezisztens baktériumokkal kötik meg. A technika előnyei közt említendő, hogy önfenntartó, környezeti szempontból biztonságos, többségében nem képez hulladékot, egyaránt használható az arzenit és az arzenát eltávolítására is, továbbá mindezt közepes beruházási költségekkel és alacsony energiaigénnyel végzi.²³



2.ábra: Arzéneltávolítási technikák számított beruházási költségigényének változása a tisztítórendszer teljesítménye szerint²²



3.ábra: Arzéneltávolítási technikák számított működtetési költségigényének változása a tisztítórendszer teljesítménye szerint²²

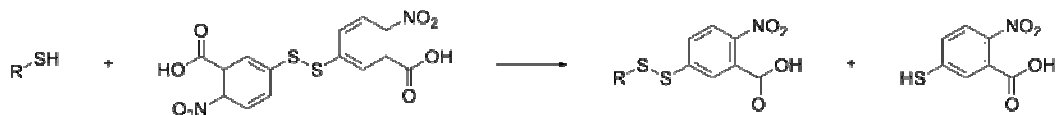
Nagyobb hatékonyságot lehet elérni genetikailag módosított baktériumokkal. A változtatások célja az, hogy egy olyan szakaszt építsenek be a baktérium génállományába, mely felelős lesz egy arzénmegkötő fehérje túltermeléséért, mely ezután képes lesz elősegíteni annak a környezetből történő kivonását. További hatékonyság növelést lehet elérni a fehérje arzénkötő helyének minél tökéletesebb kialakításával. Ehhez elengedhetetlen az arzénessav oldatkémiai sajátosságainak ismerete.

2.4. Az As^{III} oldatkémiaja

Az As^{III} semleges vizes oldatokban trigonális piramis alakú, semleges arzénessav (H_3AsO_3) formájában van jelen, így joggal feltételezhetnénk, hogy viselkedése nagyban hasonlíthat a hozzá térszerkezetben, sáverősségi állandójában ($25\text{ }^\circ\text{C}$ -on $\text{pK}_a = 9,24$)²⁶ és a központi atom elektronegativitásában ($2,0$)⁴ meglehetősen hasonló bórsavhoz. Ilyen megfontolásokból tehát az arzénessavnak nagy affinitást kellene mutatnia vicinális diol típusú vegyületekhez, mint például a borkősav, aszkorbinsav, etilén-glikol, glicerin. Ezekhez a bórsav éter analóg típusú, kovalens jellegű kötésekön keresztül képes kapcsolódni. Azonban pH-potenciometriás vizsgálatok segítségével nem sikerült az itt felsorolt ligandumok és az arzénessav között kölcsönhatást kimutatni. A viselkedésük közötti különbségek részben sav/bázis sajátosságuk eltérő értelmezése alapján is magyarázhatók. Míg bórsav Lewis-sav karakterrel rendelkezik, addig az arzénessav gyenge Brønsted-sav jelleget mutat.²⁷

Az élő szervezetből történő arzéneltávolításban nagy szerepe van a tiolcsoportokat tartalmazó vegyületeknek, köztük a glutationnak (GSH). Az As^{III} nagy affinitást mutat az ilyen csoportokkal szemben, ami nem csak a detoxifikálásban meghatározó, hanem egyúttal a biológiailag káros hatásai is főképp ebből eredeztethetőek. A jelenség nem meglepő, mivel az As^{III} "szoft" sajátosságokkal bír, mint azt már az arzénről szóló bevezetőmben is említettem. A tiolát-arzén kölcsönhatás erős, kovalens tioéter analóg kötésekön keresztül képes megvalósulni. Ezek alapján tehát ígéretes lehet az arzenit bioremediációjához ciszteintartalmú arzénkötő-centrummal rendelkező fehérjéket termelő baktériumokat alkalmazni. Ugyanakkor figyelmesen áttanulmányozva a tiolát - arzenit kölcsönhatásról szóló szakirodalmat számos ellentmondásba ütközhetünk. A több mint 40 évvel ezelőtt született "A Specific and Sensitive Assay for Disulfides" című cikkben még arról számolnak be a szerzők, hogy az egyetlen tiolcsoportot

tartalmazó vegyületek nem, vagy csak nagyon gyengén képesek az arzénessavhoz kötődni. Kijelentésüket rendkívül összetett mérésekkel indokolták, melyek alapját az 5,5'-ditiobisz-(2-nitrobenzoésav) (DTNB) tiolvegyületekkel megvalósított reakciója alkotta:



Vizsgálataik során először tiolvegyületek oldatait mérték össze 3 különböző arányban arzénessavoldattal. Az arzén - ligandum kötések kialakulását egy vízmolekula kilépése kíséri, mely az arzénessav egyik OH-csoportjából, és a tiolcsoport protonjából formálódik savas és semleges pH-tartományban.



Ezt követően adták hozzá a rendszerekhez nagy feleslegben a DTNB reagenst, mely a beállt egyensúlyt megzavarta a szabad ligandummennyiség lecsökkentésével. Ezt a folyamatot követték nyomon UV-spektrometriával. A mért abszorbancia változásokból, illetve azok időfüggéséből meghatározták az egyes stabilitási állandókat, valamint a komplex képződésének és elbomlásának, illetve a tiol - DTNB reakciónak a sebességi együtthatóját. Ezt azonban értékelhető módon csak ditiol-típusú vegyületekkel tudták kivitelezni, monotiol származékokkal a reakció túlságosan gyorsnak bizonyult. Ebből arra következtettek, hogy az arzénessav és a ligandumok között vagy nincs kölcsönhatás, vagy csak nagyon gyenge. A kísérletet elvégezték ciszteinnel és glutationnal is, valamint ezeken kívül még három másik monotiol vegyülettel.²⁸

Ezzel szemben a '90-es évek elejére több cikk is arról számolt be, hogy sikerült ¹H-és ¹³C-NMR vizsgálatokkal azonosítani a GSH As^{III}-mal képzett As^{III}:L = 1:3 összetételű komplexét. Az eredmények egyértelműnek tűnnek, a kölcsönhatás következtében jelentősen lecsökken az elektronok diamágneses árnyékolása a koordinációs helyhez közeli magokon (Cys β-CH₂ szene és protonjai), így azok jelei a kisebb térerő irányába tolódnak el. Ebből egyben azt a következtetést is levonhatjuk, hogy a koordinációban csak tiolcsoportok vesznek részt. A As^{III}:L = 1:3 összetételt az bizonyítja, hogy a szabad ligandum jeleit csak ezt meghaladva észlelték a spektrumokon.^{29,30} Az As^{III}:L = 1:3 komplex létezése a vizsgált pH = 3 – 7 tartományon

tehát megkérdőjelezhetetlennek tűnik, azonban a koordináció erősségét és a teljes pH-függő speciációt illetően eltérő állítások láttak napvilágot.

Delnomdedieu és kollégái az előzőekben említett NMR vizsgálataik során egyúttal azt is észlelték, hogy magasabb pH értékeken újra megjelenik a szabad glutation jele, azaz a komplex elbomlik.³⁰ Ugyanezen kutatócsoport egy másik közleményében a glutation As^{III} komplexeiből történő kiszorítását vizsgálta ditiol típusú vegyületekkel. Az eredmény egybevág a fentebb említettekkel, az egy tiolcsoportot tartalmazó vegyülettel kialakuló hármas koordinációs számú komplex stabilitása lényegesen elmarad a ditiol típusú vegyületeknél tapasztalttól.³¹

Rey és munkatársai később kvantitatív információkat is közöltek a GSH illetve a önálló cisztein és az arzénessav kölcsönhatásáról.³² Eredményeiket pH-potenciometriás, UV- és ^1H -NMR spektroszkópiás mérésekre alapozták. Utóbbi technikával végzett kísérleteik azonos eredményeket mutattak a fentebbi referenciákkal, valamint a Cys esetében is azt találták, hogy a kölcsönhatás kizárólag a tiolcsoportokon keresztül valósul meg, illetve ugyanúgy $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:3$ összetételű komplex az uralkodó részecske semleges közegben. Potenciometriás és spektrometriás méréseik szintén alátámasztották a $[\text{As}(\text{GSH})_3]^{3-}$ és a $[\text{As}(\text{HCys})_3]$ komplexek dominanciáját savas és semleges közegben. Lúgos tartományon viszont azt észlelték, hogy megszűnik a $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:3$ komplex, ezzel párhuzamosan $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:1$ összetételű részecske alakul ki mindkét esetben, vele párhuzamosan pedig nő a deprotonálódott szabad ligandum és arzenit mennyisége, végül pH ~ 10 felett már csak szabad részecskéket tartalmaznak a rendszerek. Ez a folyamatok milyenségét tekintve nagyvonalakban egybevág az eddig leírtakkal, ugyanakkor a potenciometriás és spektrometriás méréseikből olyan stabilitási állandókat határoztak meg az egyes komplexekre nézve, melyek már egyáltalán nincsenek összhangban a korábban tárgyalt eredményekkel. A kérdéses cikkben jóval nagyobb stabilitást feltételeznek, mint ahogyan azt várhatnánk a korábbi tapasztalatokból. Ezt azóta Spuches és kollégái is megemléstették hasonló témában született közleményükben.

³³ A Rey és munkatársai által használt kiértékelési módszer is meglehetősen elbizonytalanító annak hitelességét illetően. Itt érdemes megjegyezni, hogy a pH-potenciometria az egyik leghatékonyabb és leggyakrabban alkalmazott eszköze a komplexkémiának, jelen esetben azonban a koordináció vízkilépéssel jár, így az nem okoz pH-effektust, azaz a komplexképződés közvetlen követése nem lehetséges. A mért eredmények kiértékelése legtöbbször csupán spekulatív szimulációkon keresztül történhet meg. Így jártak el a fenti cikkben is. Amennyiben a teljes vizsgált pH-

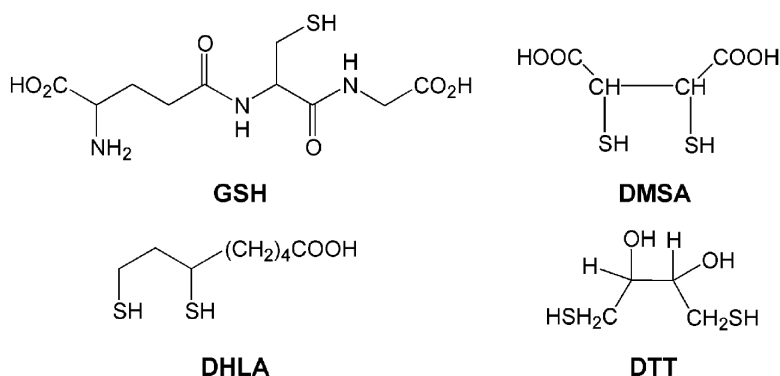
tartományban mindössze egyféle komplex részecske létezne végig változatlan mennyiségben, úgy az aktuális pH-t a szabad arzénessav és ligandum koncentrációja határozná meg, azaz a mérési adatsorok értékeléshez mindössze a szabad részecskék mennyiségét kell meghatározni, és a komplex adatai a bemérésből számolhatóak. A valós rendszerek természetesen nem ilyen egyszerűek. A feltételezendő részecskék meghatározásához Rey-ék az NMR eredményeiket vették alapul. Így végül a mérési adatsorukat két tartományra osztották ($2 < \text{pH} < 8,4$ illetve $8,4 < \text{pH} < 11$), majd ezeket külön - külön illesztették, az elsőn csak 1:3 As^{III} -ligandum összetételű komplexet feltételeztek, a másodikon pedig már az 1:1 összetételű részecske bevezetésére is szükség volt.

Spuches és munkatársai szintén közöltek kvantitatív adatokat a glutation - arzénessav kölcsönhatásra vonatkozóan.³³ Ezeket szintén As^{III} :ligandum arány változtatásával végrehajtott UV-spektrometriás mérések, illetve izotermális kalorimetriás titrálások (ITC) együttes értékelésével határozták meg. Az ITC módszer segítségével sikerült az As^{III} :L = 1:2 komplex létezését is felfedni pH = 7,4 környékén. Lényeges eltérés a két csoport eredményei között, hogy míg Rey és munkatársai a $[\text{As}(\text{HGS})_3]^{3-}$ komplex látszólagos stabilitási állandóját a potenciometriás méréseik alapján T = 25 °C-on $\beta = 1 \cdot 10^{32}$ -nek, spektrometriás mérésekből pedig $\beta = 1,9 \cdot 10^{33}$ -nak találták, addig ugyanezt Spuches és kollégái T = 37 °C-on a kétféle mérés együttes értékelésével $\beta = 1,8 \cdot 10^6$ -nak számolták. Bár a körülmények nem egyeznek meg, az eredmények eltérése olyan nagy, hogy azok mellett a hőmérséklet különbségből fakadó különbség elhanyagolható. Mindenképpen említést érdemel, hogy utóbbi munkában a glutationnal végzett kísérletek során a mintákat 3 órán keresztül inkubálták T = 37 °C-on, amit a lassú komplexképződéssel indokoltak. A többi hivatkozott közlemény egyike sem tesz említést hasonlóról.

A glutation - arzénessav kölcsönhatást tehát még mindig nem nevezhetjük teljesen felderítettnek. Hasonló módon a ditiol típusú vegyületek esetében is sokat változott bizonyos kölcsönhatások leírása az idők során. Zahler és Cleland a korábban bemutatott vizsgálómódszerükkel ditiol típusú vegyületeket is vizsgált, pl. az 1,4-dimerkaptobután-2,3-diol mezo és racém formáját, a ditiotreitolt (DTT) és a ditioeritritolt (DTE), a 2,3-dimerkaptopropán-1-olt (BAL), illetve ennek konstitúciós izomerét az 1,3-dimerkaptopropán-2-olt. Ezen vegyületek arzénessavval alkotott As^{III} :L = 1:1 összetételű komplexeire az alábbiakban összefoglalt stabilitási állandókat határozták meg:

	β
Ditioeritritol:	$3,030 \cdot 10^6$
Ditiotreitol:	$2,703 \cdot 10^6$
1,3-dimerkaptopropán-2-ol:	$2,041 \cdot 10^6$
2,3-dimerkaptopropán-1-ol:	$3,846 \cdot 10^6$

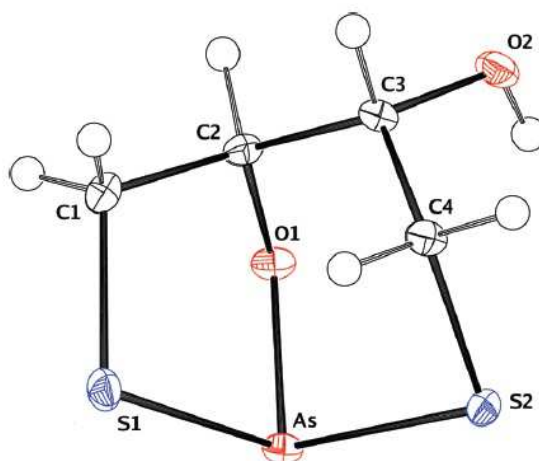
Az adatokból azt a következtetést vonták le, hogy a ditiolok komplexeinek stabilitását nagymértékben meghatározza a SH csoportok távolsága. Amennyiben mind a négy ligandum esetben kizárólag bidentát komplexet feltételezünk, a két As–S kötés kialakulásával a ligandum gyűrűbe záródik, amelyben fellépő feszülés mértéke befolyásolja a komplex stabilitását. Zahlerék tehát azt tapasztalták, hogy az As^{III} -mal öttagú gyűrűt alkotó α -ditiolok (2,3-dimerkaptopropán-1-ol) rendelkeznek a legnagyobb stabilitási állandóval, majd ezt követik a héttagú gyűrűs γ -ditiolok (DTT és DTE), végül pedig a hattagú β -ditiolok (1,3-dimerkaptopropán-2-ol).²⁸



4. ábra: Közismert tiolvegyületek

Spuches és munkatársai ugyancsak vizsgálták számos ditiol vegyület kölcsönhatását arzénessavval. Kísérleteikben a ditiotreitol (DTT, γ -ditiol), a dihidroliponsav (DHLA, β -ditiol) és a dimetil-szukcinsav (DMSA, α -ditiol) arzénessavval alkotott komplexeinek stabilitását hasonlították össze³³. Az eredmények azt mutatták, hogy a molekulák viselkedése nagymértékben eltérő. A DTT, összhangban a fentiekkel, monokomplexet képzett. Azonban az izoterm kalorimetriás titrálások háromfogú koordinációt mutattak. Egy másik munkában ugyanezt bizonyították be szilárd fázisú mintákon végzett röntgen krisztallográfiás vizsgálatokkal³⁴. A ligandum

tehát tridentát módon (is) képes kötődni, ahol a harmadik koordinálódó csoport a DTT egyik hidroxilcsoportja. Így az adduktumban egyszerre fordul elő egy öt-, egy hat- és egy hétagú gyűrű is. A meghatározott térszerkezetben a hattragú gyűrű szék konformációt vesz fel. A fenti táblázatban szereplő molekulák közül a DTE-vel is végeztek röntgen, valamint NMR vizsgálatokat. Ezek szerint ennek komplexe semmi másban nem tér el a DTT-től, minthogy a nem koordinálódó hidroxilcsoport térhelyzete axiális ekvatoriális helyett.²⁷



5.ábra: A DTE As^{III} komplexének röntgen-vizsgálatok alapján javasolt térszerkezete

Az egyik közleményben értelmezni próbálják a BAL és az 1,3-dimerkapto-2-propanol stabilitását is. Amennyiben a koordináció ezeknél a vegyületeknél is tridentát jellegű, úgy az adduktumokban kettő öt és egy hattragú gyűrű jön létre. Tekintetbe véve, hogy a szén-oxigén kötések rövidebbek, mint a szén-kén kötések, a cikkben javasolt térszerkezetben az 1,3-dimerkaptopropán-2-ol esetében ez lényegesen nagyobb torzulást, illetve feszülést fog előidézni.³⁴

A DTT komplexétől azt várhatnánk, hogy a gyűrűfeszülés miatt termodinamikai stabilitása kisebb legyen, a többi Spuches és társai által vizsgált komplexhez képest. Azonban a DTT-arzénessav közötti adduktum képződést jellemző moláris képződési entalpia ellensúlyozza a kevésbé negatív moláris képződési entrópiát. Végeredményben a Spuchesék által számított stabilitási állandó jól korrelál a fenti táblázatban szereplő, Zahlerék által meghatározott értékkel ($9,5 \cdot 10^5$).³³

A DHLA esetében egy viszonylag stabilis 2:3 ($\text{As}^{\text{III}}:\text{L}$) összetételű adduktumot sikerült azonosítani, azonban annak kétféle mérésből számított stabilitási állandója lényegesen különböző.

A DMSA esetében lépcsőzetesen kialakuló $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:1$ és $1:2$ összetételű komplexeket figyeltek meg. Ezzel a kutatók ellentmondásba kerültek egy korábbi publikációval, melyben egy uralkodó, $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 2:3$ összetételű részecskét véltek kimutatni, melyről azt feltételezték, hogy benne az egyik két darab ligandum kétfogú koordinációval kötődik egy-egy arzénessavhoz, a harmadik pedig a két fémcentrumot köti össze áthidalva. Egy másik, már korábban is említett közleményben GSH és DTT kiszorítását is vizsgálták As^{III} komplexből ^{13}C -NMR technikával.³⁰ A két közlemény egyetért abban, hogy a DMSA koordinációja mindkettőnél erősebb. Egy nemrégiben született eredmény az előbbi állítást cáfolja, azaz nem javasol $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 2:3$ összetételű komplexeket a DMSA - arzénessav rendszerben, helyette 1:2 fém-ligandum arányú komplexek létrejöttét feltételezi. Ennek igazolásához egyrészt az izotermális kalorimetriás titrálás módszerét, illetve voltammetriás vizsgálatokat használtak fel.³⁵ A felsorolt komplexekre meghatározott látszólagos stabilitási állandókat és termodinamikai jellemzőket az alábbi táblázatba foglaltam össze:

Paraméter	GSH	DMSA	DHLA	DTT
Összetétel ($\text{As}^{\text{III}}:\text{L}$)	1:3	1:2	2:3	1:1
β	$1,8 \cdot 10^6$	$8,3 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^{10}$ ¹⁸	$9,5 \cdot 10^5$
ΔG (kcal/mol)	-8,8	-12,7	-25	-8,5
ΔH (kcal/mol)	-38,7	-27,3	-43	-13,7
ΔS (cal/mol·K)	-96	-47	-59	-17

A felsorolt eredmények elgondolkodtatóak azzal kapcsolatban, hogy milyen viselkedés feltételezhető a BAL vegyület esetében. A BAL-t a II. világháború idején titokban fejlesztettek ki a nagy-britanniai Oxford Egyetem kutatói az arzéntartalmú, lewisite (2-klóretenildiklórarzén) névre hallgató vegyi fegyver ellenanyagaként. A vegyület az utóbbi fél évszázadban forradalmasította a nehézfém-, főleg arzén-, arany-, higany- és ólommérgezések kezelését, de sikeresen alkalmazták a Wilson betegség tüneteinek enyhítésében is. Mindazonáltal meglehetősen kevés *in vitro* komplexkémiái

tanulmányt közöltek vele kapcsolatban, a BAL-lal végzett kísérletek többnyire élettani jellegűek voltak. Zahler és kollégája $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:1$ összetételű adduktum képződését mutatták a BAL és arzénessav között, melynek stabilitását is meghatározták. Ugyanakkor, minthogy a DMSA-hoz hasonlóan ez is vicinális ditiol típusú vegyület, azt várhatnánk, hogy ez a molekula is képes $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:2$ összetételű adduktumok kialakítására is, de nem zárhatjuk ki a $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 2:3$ típusú komplexek létezését sem. Bár az 1:1 komplex létezése már igazoltnak tekinthető a $\text{H}_3\text{AsO}_3:\text{BAL} = 1:1$ összetételű rendszerben, azonban a koordinációs mód még ebben az esetben is bizonyításra szorul.

3. Célkitűzések

A Szegedi Tudományegyetem Szervetlen és Analitikai Kémia Tanszékén működő Bioszervetlen Kémiai Kutatócsoport távlati céljai között szerepel bioremediációs technikán alapuló arzénmentesítő eljárások fejlesztése/kidolgozása. Ennek megtervezéséhez szükséges az egyszerűbb, arzénessavval potenciálisan kölcsönható bioligandumokkal végbemenő folyamatok pontos ismerete. A terület irodalmának áttekintése alapján megállapítható, hogy a Cys és GSH arzénessavval történő kölcsönhatása nincs egyértelműen leírva. Ennek ismerete azonban alapvető fontosságú lehet a tervezések során.

Munkám során a fő hangsúly a BAL és arzénessav kölcsönhatásának tanulmányozásán volt. A téma kijelölésében szerepet játszott az a felkérés is, mely a Japán Ipari és Egészségügyi Társaságtól érkezett csoportunkhoz egy bonyolultnak tűnő problémával kapcsolatos véleményalkotásra, esetleg annak megoldására. A társaság a BAL-t (dimercaprol-t) alkalmazta hatóanyagként magas arzénmérgezést szenvedett páciensek kezelésére, akiknek vizeletéből kívánta gázkromatográfiával egybekötött tömegspektrometriás módszerrel kimutatni annak As^{III} -mal alkotott $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:1$ összetételű komplexét. A tömegspektrumok kiértékelése során azonban a várható 214 g/mol molekulatömegű, $\text{C}_3\text{H}_7\text{AsO}_2\text{S}_2$ összegképletű részecske helyett egy 212 g/mol tömegűt véltek felfedezni.

Egy korábbi projekt munka keretén belül történtek már elővizsgálatok a BAL - arzénessav ³⁶ rendszerben. Diákköri munkám fő célja tehát az elővizsgálatok eredményeire is támaszkodva a BAL As^{III} -mal alkotott komplexeinek, lehetőség szerint azok stabilitásának és kötémódjának felderítése. A feladatok megoldásához pH-potenciometriás titrálásokat, UV-spektrometriát, valamint 1D és 2D-¹H-NMR spektroszkópiát kívántunk alkalmazni.

4. Kísérleti munka

4.1. Felhasznált anyagok és mérőmódszerek

A vizsgálatokhoz H_3AsO_3 törzsoldataimat szilárd As_2O_3 (Fluka) lúgos közegben történő oldásával készítettem. Az oldási folyamatot argon atmoszféra alatt végeztem, megelőzendő az As^{III} esetleges oxidációját. Ennek végeztével a törzsoldatot visszasavanyítottam $\text{pH} = 3,7$ -re. A BAL törzsoldatokat tiszta BAL (Fluka) oldásával készítettem, a törzsoldatok perklórsavat ($c = 4,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) is tartalmaztak. Minden törzsoldat ionerősségét $0,1 \text{ M}$ -ra állítottam be NaClO_4 (Aldrich) segítségével.

4.1.1. A pH potenciometria

A módszer elvi alapja:

Mind a szabad ligandum, mind az arzénessav tartalmaz protonálódó csoportokat. A tiszta komponenseket, illetve azok különböző arányú elegyeit tartalmazó rendszereket savas pH-ról lúggal megtitrálva, a mindenkori pH-t kombinált üvegelektrod segítségével mérve nyerhetjük a titrálási görbéinket. Az adatsorok egyértelmű kiértékelését, és azokból stabilitási állandók meghatározását azonban csak a ligandumot vagy arzénessavat egyedül tartalmazó minták esetében tudtam elvégezni, melynek oka a a BAL és arzénessav között pH-effektussal nem járó kölcsönhatás lejátszódása. Így az összetett rendszerekben mért potenciometriás görbéket csupán a tiszta komponensek deprotonálódási állandóit alapul vevő szimulációs módszerek segítségével tudtam értékelni.

A vizsgálat körülményei és előkészítése:

Az arzénessav és a BAL savelősségi állandóját három-három, párhuzamos mérésből határoztam meg. Az arzénessavat is tartalmazó rendszerekben ötféle összetétel alkalmazásával végeztem méréseket $\text{pH} = 1,8$ - 11 tartományban. Adatsoraim 70 - 80 adatpontot tartalmaztak. A vizsgálataim során a BAL, és az arzénessav oxidációját, valamint a CO_2 beoldódását elkerülendő az oldatba argont buborékolttam. A hőmérsékletet állandó 298 K -en tartottam. Az ionerősség minden esetben $0,1 \text{ M}$ volt. Mérőoldatként $0,1 \text{ M}$ -os NaOH -ot (Sigma-Aldrich) használtam, melynek pontos koncentrációját kálium-hidrogénftalát segítségével határoztam meg. A titrálások során a BAL koncentrációja $3,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ és $3,8 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, míg az arzénessav koncentrációk $1,2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ és $5,9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ tartományban változtak.

A mérésekhez Metrohm 6.0234.100 kombinált üvegelektrodból, Orion 710A pH mérőből és Metrohm Dosimat 665 típusú számítógép által vezérelt automata bürettából

álló rendszert használtam. Rendszerünk kalibrálása céljából méréseink előtt 0,1 M-os HClO_4 oldatot titráltam a mérésekhez is használt lúgoldattal. A kalibráció értékelése az üvegelektród lúgos és savas valamint a folyadék-folyadék határfelületi potenciálból adódó hibákat (J_{OH} , J_{H}) is figyelembe vevő paraméterekkel módosított Nernst-egyenlet alapján történt.³⁷ A vízion-szorzat értéke irodalmi adatok alapján: $K_w=10^{-13,75}$.³⁸

$$E = E_0 + K \cdot \log[\text{H}^+] + J_{\text{H}} \cdot [\text{H}^+] + \frac{J_{\text{OH}} \cdot K_w}{[\text{H}^+]}$$

Az említett paramétereket egy nemlineáris legkisebb négyzetek módszere szerint működő programmal határoztuk meg. A titrálási görbék kiértékelése során a protonálódási és komplex képződési állandókat a PSEQUAD nevű számítógépes programmal határoztuk meg.³⁹

4.1.2. UV-Vis abszorpciós spektrometria

A módszer elvi alapja:

A 200-800 nm hullámhossz tartományba eső elektromágneses hullámok képesek egy foton elnyelődésének következtében bizonyos elektronokat magasabb energiájú molekulapályákra gerjeszteni állandó spin multiplicitás mellett. A híg oldatban levő fény elnyelésére képes anyag koncentrációja (c) és az abszorbancia (A) között a Lambert-Beer törvény teremt kapcsolatot.

$$A = \lg(I_0/I) = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Ahol I_0 a besugárzó, I a mintából kilépő fény intenzitása, ε a moláris abszorbancia, l a kivető hossza (cm-ben). A molekulák azon részeit, amelyekben az átmenet létrejön kromoforoknak nevezzük. A ligandumok tipikus kromoforjai például a $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ illetve $n \rightarrow \sigma^*$ átmenetek. Az első átmenet az egyszerű telítetlen, vagy aromás rendszerekre, a második a heteroatommal rendelkező telítetlen, vagy aromás rendszerekre, a harmadik pedig a σ kötések tartalmazó csoportokhoz kapcsolódó nemkötő elektronpárral rendelkező heteroatomokat tartalmazó rendszerekre jellemző. A kiválasztott ligandumaim esetében intenzív $n \rightarrow \sigma^*$ típusú átmenetek megjelenését várjuk a deprotonálódott tiolcsoportoktól, melyek elnyelése irodalmi adatok alapján 232 – 236 nm-nél jelentkezik.^{27,32} Emellett a ligandum és az arzénessav között létrejöhetnek nagy intenzitású, elektroneloszlás változással járó tiolát- As^{III} töltésátviteli átmenetek (CT) is, melyek megjelenése irodalmi adatok alapján 265-290 nm közötti hullámhossz-tartományon várható.^{27,32,33}

A vizsgálat körülményei és előkészítése:

Az összetett rendszerek vizsgálata előtt pH-függő spektrometriás méréseket végeztem a BAL ligandummal, illetve felvettem a csak arzénessavat tartalmazó oldatok spektrumait is különböző arzénessav koncentrációk és pH-értékek mellett. Vizsgálataim során a tiolátcsoportok elnyelését, illetve az arzénessavat is tartalmazó rendszerekben az előbbi mellett a tiolát-As^{III} töltésátviteli sáv kialakulását/változását követtem. pH-függő spektumsorozatokot vettem fel 0,5:1 és 1:1 arzénessav:BAL koncentrációarány mellett pH = 1,8 – 11,0 tartományban, illetve az arzénessav:BAL koncentrációarány változtatásával pH = 4,5 és 7,0 értékeknél, továbbá az egyes rendszerekben lejátszódó kinetikai folyamatokat is tanulmányoztam különböző pH-kon.

A spektumsorozatok felvételéhez rendszerint egy UNICAM HELIOS α típusú, kétutas spektrofotométert, a komplexképződés kinetikájának vizsgálatához pedig egy HP 8452A diódasoros spektrofotométert használtam. Mindkét berendezésben 0,5 cm-es úthosszú, teflondugós küvettát alkalmaztam. A BAL koncentrációja a szabad ligandum, a kinetikai és pH-függés vizsgálatok esetében $4,3 \cdot 10^{-4}$ M, az arzénessav koncentrációjának változtatásakor $5 \cdot 10^{-4}$ M volt.

Az arzénessavat tartalmazó minták vizsgálatával ellenőriztem, hogy annak elnyelése a mérendő hullámhossztartományon gyakorlatilag elhanyagolható. A pH-értékek beállításához 0,1 M NaOH és 0,1 M HClO₄ oldatokat használtam. Az arzénessav-koncentráció változtatásakor összesen 12 különböző összetételű, független mintát állítottam össze, melyekben az arzénessav relatív mennyisége a BAL-ra vonatkoztatva 0% és 200% között változott. Az állandó, 4,5-ös pH-t acetát puffer, míg a 7,0-es pH-t foszfát puffer alkalmazásával biztosítottam. A spektrumokat 200–400 nm hullámhossz-tartományban rögzítettem, a hőmérsékletet állandó, 25 °C-on tartottam. A ligandum és az arzénessav oxidációjának megakadályozása érdekében az oldatok összemérését argon gázzal töltött kádban végeztem, és az oldaton ugyancsak argont buborékolttam át.

4.1.3. A mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR)

A módszer elvi alapja:

Az NMR spektroszkópia azon atommagokról nyújt információt, melyek eredő spin-kvantumszáma zérustól különböző ($I \neq 0$), azaz rendelkeznek eredő magspinnel, illetve mag mágneses momentummal. Ezek a mennyiségek iránykvantáltak, így a mag spin-kvantumszáma (m_I) összesen $2I+1$ értéket vehet fel ($+I, I-1, \dots, -I$). A mag mágneses momentum és a külső mágneses tér kölcsönhatási energiája függ a mag spin-

kvantumszámától, azaz mágneses térben az egyébként degenerált állapotok energiaszintjei felhasadnak. Termikus egyensúlyban a magok a legalacsonyabb energiájú spinállapotban vannak, azonban a szomszédos szintek energiakülönbségének megfelelő energiájú fotonnal besugározva gerjeszthetők. Másképpen ezt a rezonancia feltételt úgy is megfogalmazhatnánk, hogy a foton, mint elektromágneses sugárzás mágneses terének körfrekvenciája meg kell, hogy egyezzen azzal a körfrekvenciával, amellyel a mag mágneses momentuma forgó mozgását végzi a mágneses tér körül, az utóbbi jelenséget Larmor-precesszióknak nevezzük.

Méréseinkhez rádiófrekvenciás tartományba eső monokromatikus sugárforrásra és homogén mágneses térre van szükség. A spektrumon a jelek intenzitásait ábrázoljuk egy frekvencia típusú mennyiség függvényében, amit kémiai eltolódásnak nevezünk. A magot körülvevő elektronfelhőben kialakuló mágneses momentum (mely nagysága függ a magon kialakuló elektronsűrűségtől) módosíthatja a magra ható mágneses teret, és ezzel rezonanciafrekvenciát is. A mágneses momentummal rendelkező magok között kölcsönhatás is létrejöhet, ennek eredményeként a magok jelei felhasadhatnak. A kölcsönhatás erősségét csatolási állandóval (J) jellemezhetjük, ami a szomszédos felhasadt csúcsok frekvenciakülönbségével egyenlő. A felhasadások száma, és a csúcsok intenzitásarányai a másik mag eredő spin-kvantumszámától függenek. Az egyes jelek felhasadásaikkal együtt vett csúcsterületei arányosak a jelet szolgáltató magok számával.

Az NMR technika ma már szinte teljesen impulzus üzemű. Az ilyen berendezésekben egy rövid idejű, széles hullámhossz-tartományú impulzussal történő besugárzást követően a mérhető jelet szintén széles tartományon detektáljuk, illetve mérjük annak időbeli lecsengését. Az így kapott szabad indukciós jelet (FID) Fourier transzformáció segítségével alakíthatjuk át kémiai eltolódás skálára. Ha spineket változó ideig hagyjuk relaxálni a detektálás megkezdése előtt, majd mindkét időskála szerint végrehajtjuk a Fourier-transzformációt, úgy 2D-NMR spektrumokat nyerhetünk. Ez meglehetősen előnyös, mivel a spektrumokon megjelenő keresztcsúcsokat megfigyelve könnyedén értelmezhetünk akár első ránézésre bonyolultnak tűnő spektrumokat is. Jelen dolgozatban két különböző pulzusszekvenciájú kétdimenziós NMR spektroszkópia típust alkalmazok. Az egyik az ún. korrelációs spektroszkópia (**C**orrelation **S**pectroscopy=CO₂SY), a másik pedig a teljes korrelációs spektroszkópia (**T**otal **C**orrelation **S**pectroscopy=TO₂CSY). A spektrumok információtartalmát tekintve a kettő között annyi az eltérő, hogy míg az előbbin csak az egymáshoz a kémiai kötések mentén

mérve közeli (kb. két/ három/ négy kötéstávolság), skalárisan csatolódó magok közt látunk keresztcsúcsokat megjelenni, addig az utóbbiban ennek feltétele hasonló, de a keresztcsúcsokat jóval nagyobb távolságban levő magok közt is érzékeltetni tudjuk. Kismolekulák esetében ez kiterjedhet akár az egész részecskére is.

Az NMR spektroszkópia kiválóan alkalmazható módszer a komplexkémiai vizsgálatokban. A kapcsolódó fémionok új kémiai környezetet hoznak létre a ligandum koordinálódó csoportjai körül, tehát fémionok jelenlétében a spektrum megváltozik. A jelek felhasadása és helye eltérő lehet a szabad ligandumétól, amelyekből következtetéseket vonhatunk le a kialakuló koordinációs viszonyokra és geometriára vonatkozóan. Ugyanakkor a fémiont tartalmazó rendszerek vizsgálatában számos probléma is adódhat. Egyik ezek közül a csapadékképződés, mely a jelek intenzitásának csökkenését, illetve a mágneses tér homogenitásának romlása által a jelalakok torzulását és jelkiszéledést eredményez. Ugyancsak jelkiszéledést okozhatnak az NMR mérés időskálájával összemérhető, közepes sebességű cserefolyamatok. Végül az arzéntartalmú minták esetében figyelembe kell vennünk, hogy az As eredő magspinje $I = 3/2$. A kovalens jellegű kötések miatt nem elképzelhetetlen, hogy az egyébként hozzá képest három kötésnyi távolságra elhelyezkedő protonokkal normál spin-spin csatolást mutasson. Ez kvartett jelcsoport megjelenését eredményezné ebben az esetben. Ha az így felhasadt jelű proton esetében más magokkal létrejövő csatolásokat is feltételezünk, akkor a spektrumon megjelenő csúcsok intenzitásai nagyon kicsik lehetnek, ami kevésbé szemléletessé teszi a spektrumot, illetve a csúcsok esetleges átlapolásával nehezebben értelmezhetővé válik a rendszer. Azonban a spektrumon megjelenő diszkrét jelalakok romlásában egy másik tényező is szerepet játszhat. Az arzén, mint kvadrupol mag rendelkezik kvadrupol momentummal, mely képes kölcsönhatásba lépni az elektromos térgradienssel (EFG). A kölcsönhatás eredményeként létrejövő energiaállapotok közti relaxációs folyamatok befolyással vannak a megjelenő jelek szélességére. Kvázi úgy is értelmezhetjük a jelenséget, mint egy cserefolyamat az egyes állapotok között. Ez hasonlóan a cserejelenségekhez minél nagyobb relaxációs idővel bír, annál kisebb lesz a kiszéledés. Az ún. kvadrupol relaxációs időt a kvadrupól csatolási állandó és a rotációs korrelációs idő határozza meg. Előbbi nagymértékben függ a koordinációs geometria szimmetriaviszonyaitól. Ilyen jelenségek megjelenése szintén várható az arzén^{III} komplexek esetében, mivel az csak külső tér gömbszimmetrikus elektroneloszlása (gömbszimmetrikus koordinációs szféra) esetében

nem mutatkozik, jelen esetben pedig maximum axiális szimmetriával bíró specieszeket várunk.

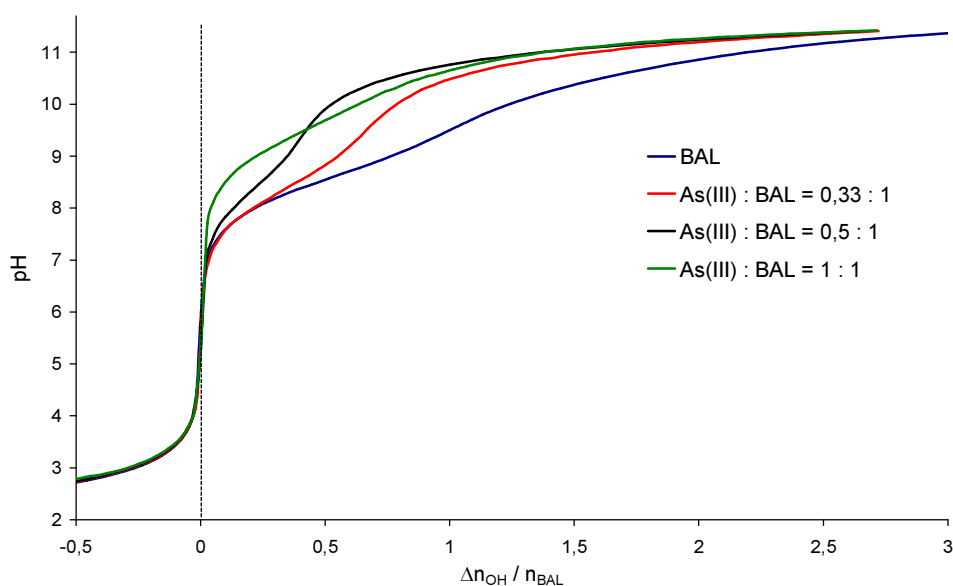
A vizsgálat körülményei és előkészítése:

Az NMR vizsgálatok során pH-függő spektrumsorozatokat rögzítettünk a szabad BAL oldatában, és az arzénessav:BAL = 1:1 arányú rendszerben pH = 1,8 - 11,0 tartományban. Tanulmányoztuk az NMR spektrumok változását az arzénessav:BAL koncentrációarány változtatásának függvényében is pH = 7,0-nél foszfát puffer jelenlétében. Az arzénessav-koncentráció változtatásakor összesen 12 különböző összetételű, független mintát állítottam össze, melyekben az arzénessav relatív mennyisége a BAL-ra vonatkoztatva 0% és 200% között változott. Kétdimenziós ^1H - ^1H COSY és TOCSY spektrumokat vettünk fel a szabad BAL-t tartalmazó oldatban pH = 11-nél, illetve az arzénessav:BAL = 1:1 összetételű rendszerben pH = 7-nél. A ligandum koncentrációja a ligandum pH-függő spektrumainak felvétele során $3 \cdot 10^{-3}$ M, az arzénessav:BAL = 1:1 rendszer pH-függő vizsgálatokor $2,6 \cdot 10^{-3}$ M, az arzénessav koncentráció változtatásakor és a kétdimenziós mérések felvételekor $5 \cdot 10^{-3}$ M volt. A szabad BAL kétdimenziós spektrumainak felvételéhez a ligandumot $1,8 \cdot 10^{-2}$ M koncentrációban alkalmaztuk. Az előbb felsorolt mérések mellett hőmérsékletfüggő spektrumsorozat rögzítésére is kísérletet tettem. Ezt szintén foszfát pufferrel beállítva pH=7-nél végeztem, hasonlóan az állandó hőmérsékleten mért összetételfüggetlen sorozat esetében. A BAL koncentrációja itt $5 \cdot 10^{-3}$ M volt, az arzénessavé pedig az egyes oldatokban ennek 0, 32,5, 62,5 és 100%-a volt. A 62,5%-os As^{III} tartalmú esetében a hőmérséklet emelésére is kísérletet tettem (313, 333 és 353 K-en vettem spektrumot), a többi esetében csak hűtéssel próbálkoztam, melynek során minden esetben 280 K-en végeztem mérést. A pH-értékek beállításához 0,1 M koncentrációjú NaOH és 0,1 M koncentrációjú HClO_4 oldatokat használtunk. A mérések során alkalmazott közeg 90/10 % $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ volt. Az egydimenziós spektrumok felvételekor a $\text{H}_2\text{O}/\text{HDO}$ jel elnyomásához a konvencionális zgpr (Presaturation) programot, míg a két dimenziós spektrumok mérésekor a p3919gp (Watergate) pulzusszekvenciát használtuk. Minden mérést 298 K-en végeztünk. A ligandum és az arzénessav oxidációjának megakadályozása érdekében az oldatok összeállítását argon gázzal töltött kádban végeztük.

4.2. Mérési eredmények

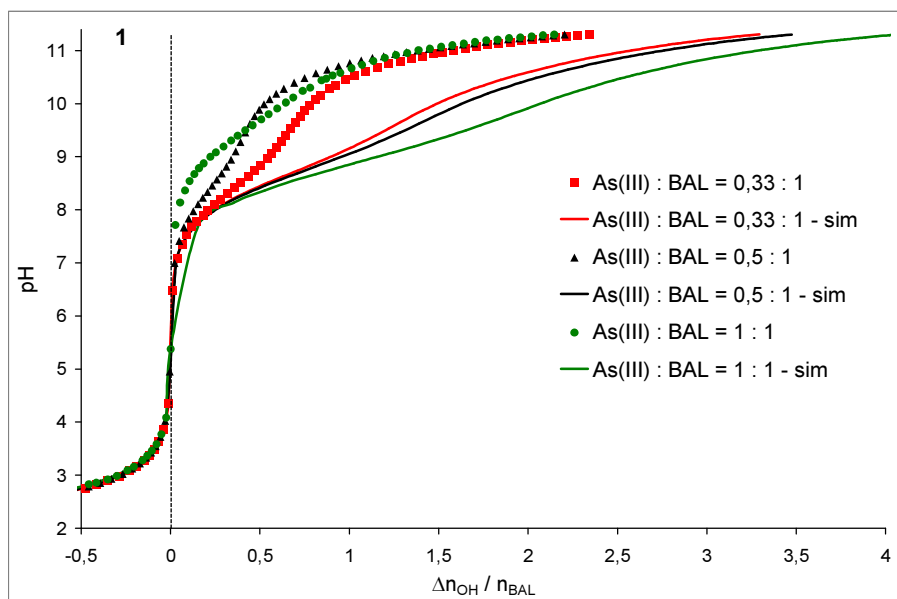
4.2.1. Potenciometria

A BAL és arzénessav kölcsönhatásának pH-potenciometriás titrálásokkal történő vizsgálata előtt meghatároztam a ligandum, valamint az arzénessav protonálódási/deprotonálódási állandóit. A BAL két tiolcsoportja lúgos pH-tartományban veszíti el protonját, a kissé átfedő folyamatokra meghatározott két makroszkópikus állandó ($pK_{s1} = 8,55$, $pK_{s2} = 10,60$ vagy $\lg\beta_1 = 10,60(1)$ és $\lg\beta_2 = 19,15(1)$). Az arzénessav első savi disszociációs állandójára meghatározott érték hasonló ahhoz, mint amit csoportunkban korábban mások meghatároztak ($pK(H_3AsO_3) = 9,09(1)$).²⁷



6. ábra: A BAL ligandum, valamint az arzénessav: BAL = 0,33:1, 0,5:1 és 1:1 összetételű rendszerek ligandum koncentrációra normált titrálási görbéi. A fogyott lúgekvivalensek az erős savra, valamint az arzénessavra vonatkozó fogyásokkal korrigálva

A ligandumot és arzénessavat különböző arányokban tartalmazó mintákban mért titrálási görbéket a 6. ábrán hasonlítom össze a szabad ligandum titrlásával, a mérőoldat fogyásokat a ligandum anyagmennyiségére vonatkoztatott lúgekvivalensként feltüntetve, és az erős savra valamint az arzénessavra vonatkozó fogyásokkal korrigálva.



7. ábra: Szimulált és mért, a ligandumra normált titrálási görbék az arzénessav: BAL = 0,33:1, 0,5:1 és 1:1 összetételű rendszerekben. A feltételezett modellben nincs kölcsönhatás a két komponens között.

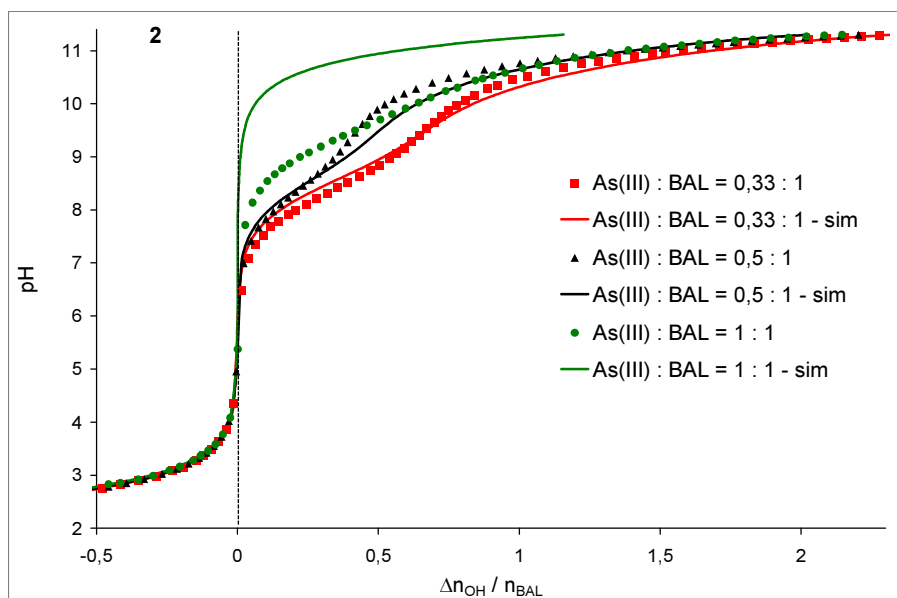
Mindenképpen meg kell említeni, hogy a titrálások kezdetén az egyes oldatok összemérését követően bármilyen arzénessav: BAL aránynál a titrálandó minták tejszerűvé váltak, amelyek azonban hosszabb várakozás után valamelyest kitisztultak. Ezt a változást nem kísérte pH változás. A titrálások során semleges pH-t elérve az összes vizsgált minta teljesen kitisztult.

Az 6. ábra alapján megállapítható, hogy az arzénessavat is tartalmazó rendszerekben nem tapasztalható extra lúgfogyás a ligandumra nézve, sőt azok pH ~ 7-8 felett az ellentétes irányban mutatnak szignifikáns eltérést a szabad ligandumra vonatkozó titrálási görbéhez képest. Ennek oka minden bizonnyal a már sokak által leírt kondenzációs reakciókban keresendő, melyek révén a ligandum tiol- (vagy hidroxil) csoportjai és az arzénessav között vízkilépéses reakcióban –S–As (ill. –O–As) kötések jönnek létre. Az ilyen típusú reakciók lejátszódása természetesen nagyon megnehezíti a titrálások kvantitatív értékelését, hiszen az említett folyamatokat nem kíséri pH-változás (H^+ -ion felszabadulás vagy fogyaszt). Az egyes rendszerek titrálási görbéihez különböző megfontolások figyelembe vételével szimulációkat is végeztem, melyeket a 7. - 9. ábrák mutatnak be.

Az első modell azt az állapotot mutatja be, amikor az arzénessav és BAL között egyáltalán nincs kölcsönhatás, azaz a két vegyület keverékét titráljuk. A 7. ábra alapján teljesen egyértelmű, hogy ez a feltételezés nem igaz, mindhárom bemutatott titrálási

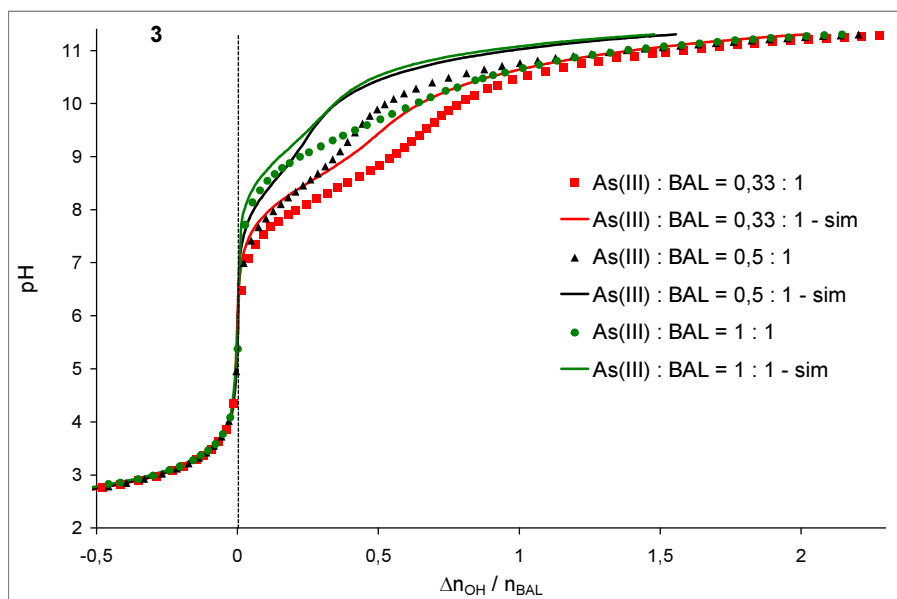
esetében jóval kisebb fogyások tapasztalhatók, mint amit a komponensek egymás melletti megtrálása eredményezne.

A második szimulációban az összes vizsgált aránynál azzal a feltételezéssel éltünk, hogy a teljes arzénessav mennyiség $\text{As}^{\text{III}}:\text{L} = 1:1$ összetételű adduktumot képez a BAL molekulákkal. Ebben az esetben az ekvimoláris oldatban a titrálási görbe gyakorlatilag a minta erős sav tartalmának erős bázissal történő titrlására egyszerűsödik. BAL felesleg jelenlétében pedig a feleslegben maradó BAL deprotonálódási folyamatai határozzák meg a szimulált görbék alakját. A szimulált görbék alapján ez a feltételezés sem helytálló. Különösen az arzénessav: BAL = 1:1 összetételű minta esetében egyértelmű, hogy pH ~ 8 felett a feltételezett adduktum további átalakulása kell, hogy megtörténjen, mely proton felszabadulással jár.



8. ábra: Szimulált és mért, a ligandumra normált titrlási görbék az arzénessav: BAL = 0,33:1, 0,5:1 és 1:1 összetételű rendszerekben. A feltételezett modellben az arzénessav teljes mennyisége 1:1 összetételű adduktum formájában van jelen.

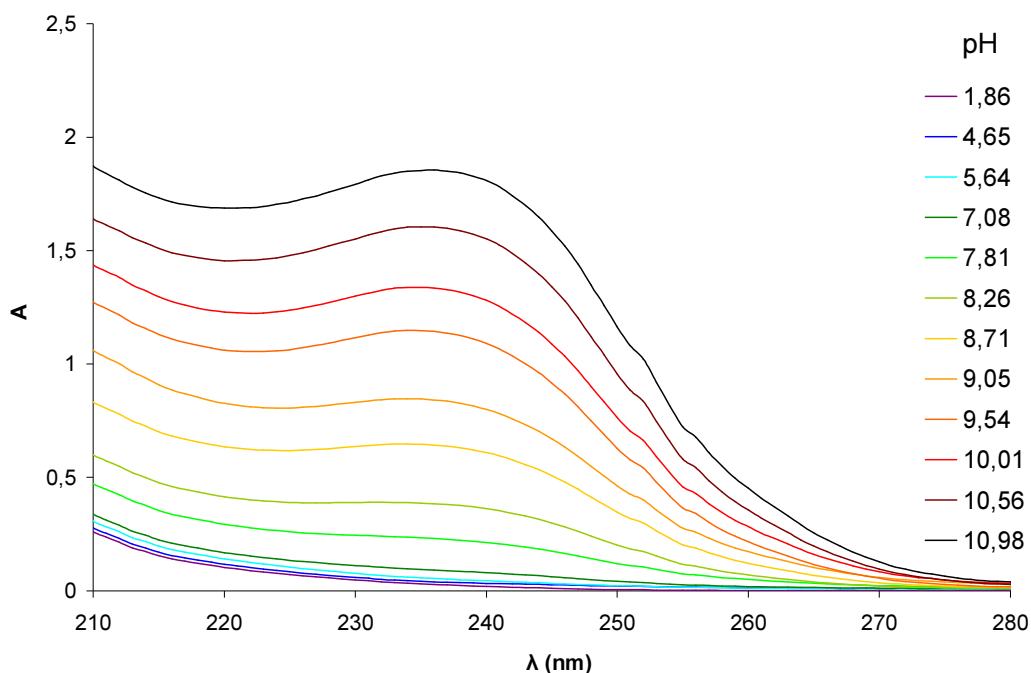
A harmadik szimuláció egy, az irodalomban a BAL-hoz hasonló ditiol ligandumokkal leírt arzénessav: BAL = 2:3 összetételű adduktum 100 %-os képződésének feltételezésével készült. Hasonlóan a második szimulációhoz, ebben az esetben sem írhatók le a rendszerek ennek az egy részecskének a feltételezésével.



9. ábra: Szimulált és mért, a ligandumra normált titrálási görbék az arzénessav: BAL = 0,33:1, 0,5:1 és 1:1 összetételű rendszerekben. A feltételezett modellben az arzénessav, vagy a ligandum teljes mennyisége egy arzénessav: BAL = 2:3 összetételű adduktum formájában van jelen.

4.2.2. UV-spektrometria

Az UV-spektrometriával végzett vizsgálataim során először az egyes komponenseket önmagukban tanulmányoztam. A szabad arzénessav esetében meggyőződtem arról, hogy annak saját elnyelése nem zavarja a vizsgálatokat. Alacsony pH értékeken szinte egyáltalán nincs elnyelése a $\lambda = 200 - 400$ nm-es hullámhossz-tartományban. Bár lúgos közegben $\lambda = 200 - 220$ nm között valamivel nagyobb abszorbanciák mérhetők, azonban ez nem zavarja a méréseinket. A szabad BAL UV-titrálásakor pH ~ 7 -ig nem látszik változás a spektrumokon. Semleges pH felett viszont a $\lambda_{\max} = 236$ nm elnyelési maximum-hellyel jellemezhető sáv intenzitása jelentős mértékben növekedni kezd. A maximumhoz tartozó hullámhossz megegyezik a korábban már említett irodalmi adattal. A növekedés megindulása párhuzamba állítható a ligandum deprotonálódási folyamatainak kezdetével, azaz csak a deprotonálódott tiolcsoportokat tartalmazó formák rendelkeznek számottevő elnyeléssel méréseink hullámhossz-tartományában.



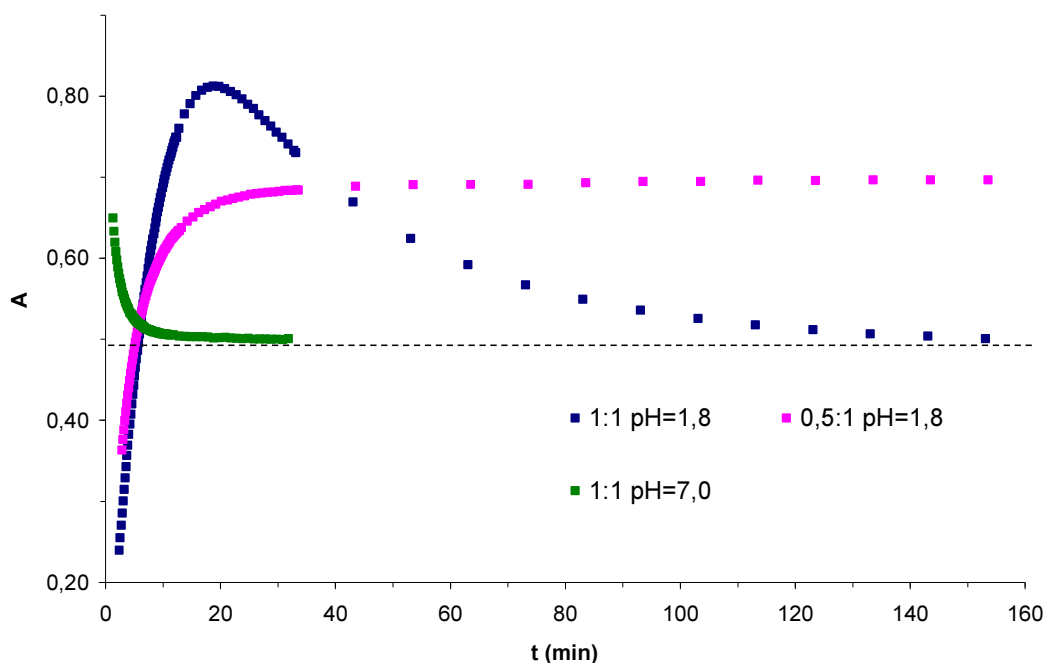
10.ábra: A szabad BAL spektruma $c_{\text{BAL}} = 0,43\text{mM}$ oldatban, 0,5 cm úthosszú teflon dugós kvercküvetében, Ar atmoszféra alatt, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$

Semleges pH felett viszont a $\lambda_{\text{max}} = 236\text{ nm}$ elnyelési maximum-hellyel jellemezhető sáv intenzitása jelentős mértékben növekedni kezd. A maximumhoz tartozó hullámhossz megegyezik a korábban már említett irodalmi adattal. A növekedés megindulása párhuzamba állítható a ligandum deprotonálódási folyamatainak kezdetével, azaz csak a deprotonálódott tiolcsoportokat tartalmazó formák rendelkeznek számottevő elnyeléssel méréseink hullámhossz-tartományában.

Vizsgálataim ezt követő lépéseként az 1:1 és a 0,5:1 arzénessav - ligandum arányú rendszerek pH-függő spektrumsorozatát terveztem felvenni a $\text{pH} = 3,6 - 11,0$ tartományban. Azonban elővizsgálataim alapján a mérhető spektrum időben nem volt állandó, ráadásul nemcsak az abszorbanciaváltozás nagysága, hanem annak iránya is változott időben. A komplexképződési folyamat lassú kinetikája okozza a megfigyelt jelenséget. Minden bizonnyal ez eredményezte a potenciometriás minták átmeneti csapadékosságát is.

Próbavizsgálataim során azt figyeltem meg, hogy a $\text{pH} = 1,8$ és $3,6$ között a mérhető spektrumok csak a spektrális változások sebességében térnek el egymástól, ellenben a különböző arzénessav - BAL arányú rendszerekben a változások menete lényeges különbségeket mutatott. Ezért egy mérési tervet dolgoztam ki az itt lejátszódó kinetikai folyamatok feltérképezésére. Az előzetes próbákat alapul véve a

spektrumfelvétel gyakoriságát úgy szabtam meg, hogy a folyamatok kezdeti szakaszán 10 percig 10 másodpercenként, ezt követően 20 percen keresztül egy percenként, végül pedig 2 órán át 10 percenként történjen spektrumfelvétel a $\lambda = 200 - 400$ nm hullámhossz-tartományban. Ilyen módon spektrumsorozatokot vettem fel pH = 1,8-on az 1:1 és a 0,5:1 arzénessav-BAL összetételű rendszerekben, illetve pH = 7-nél 1:1 összetétel mellett. A három sorozat 240 nm-en mérhető abszorbanancia-változását együtt ábrázoltam.

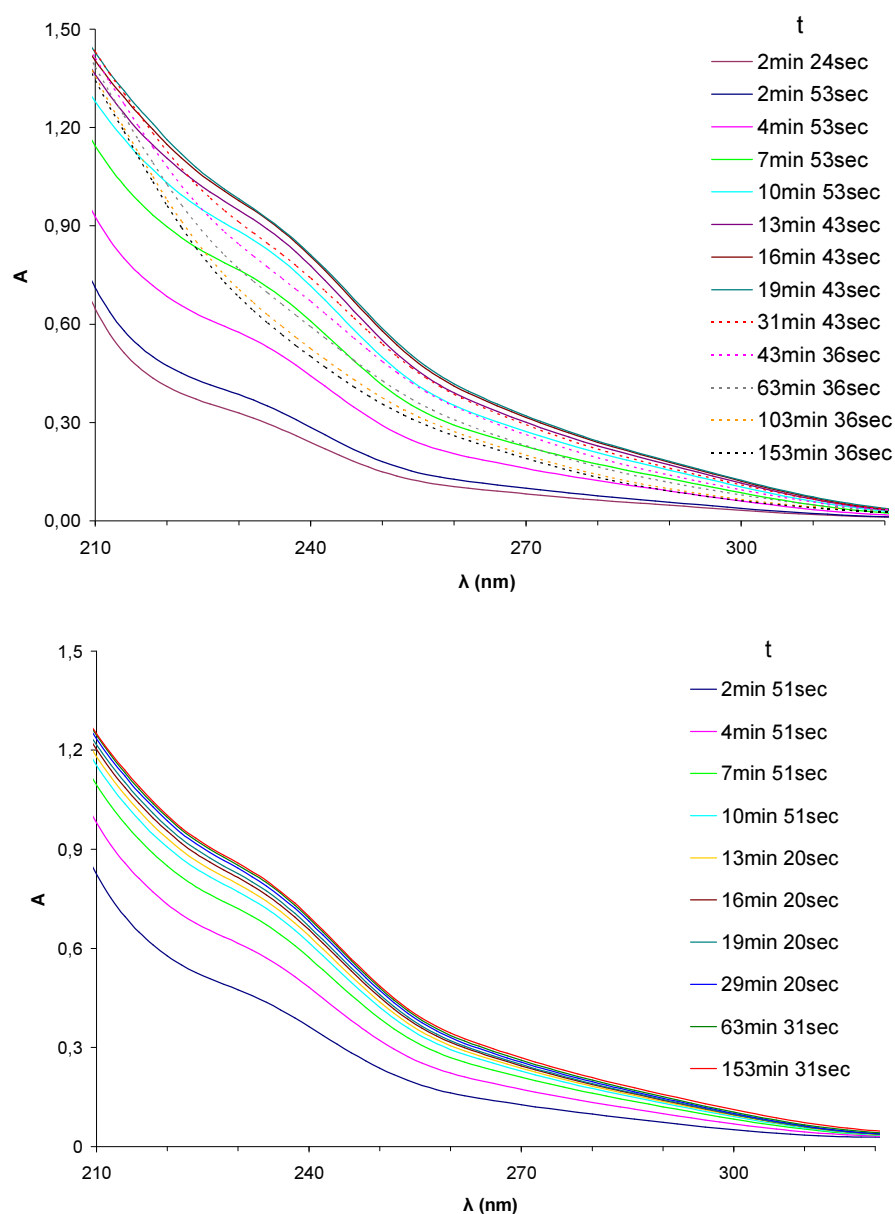


11.ábra: A $\lambda = 240$ nm-en mért abszorbananciák időfüggése a különböző összetételű arzénessav:BAL rendszerekben. ($c_{\text{BAL}} = 4,3 \cdot 10^{-4}$ M, $l = 0,5$ cm, $T = 25$ °C, $I = 0,1$ M)

A savas közegben tapasztalható változások kezdetben igen hasonlóak a teljes mért hullámhossz-tartományon. Az 1:1 arányú rendszerben mérhető abszorbanancia ~19 perc elteltével egy maximumot ér el, majd csökkenni kezd. Végül több mint két óra elteltével az abszorbanancia már állandónak mondható az idő függvényében. Nagyjából ugyanannyi idő elteltével, amikor az arzénessav:BAL=1:1 összetételű rendszerben mért abszorbananciák maximumot érnek el, az arzénessav:BAL=0,5:1 arány mellett mért kinetikai görbe telítésbe hajlik.

A megfigyelt változásokból azt a következtetést vonhatjuk le, hogy mindkét vizsgált összetétel esetén kezdetben feltehetőleg főként ugyanaz a komplex részecske

képződik, mely az ekvimoláris rendszerben továbbalakul. Összevetve az alacsony pH-n mért görbékkel a pH = 7-nél ekvimoláris körülmények mellett felvett adatsort, azt láthatjuk, hogy a folyamat jelentős mértékben felgyorsult, az egész átalakulás ~15 perc alatt lejátszódik, miközben valószínűleg a pH = 1,8-nál megfigyelt változásokkal megegyező folyamatok játszódnak le semleges pH-n is.



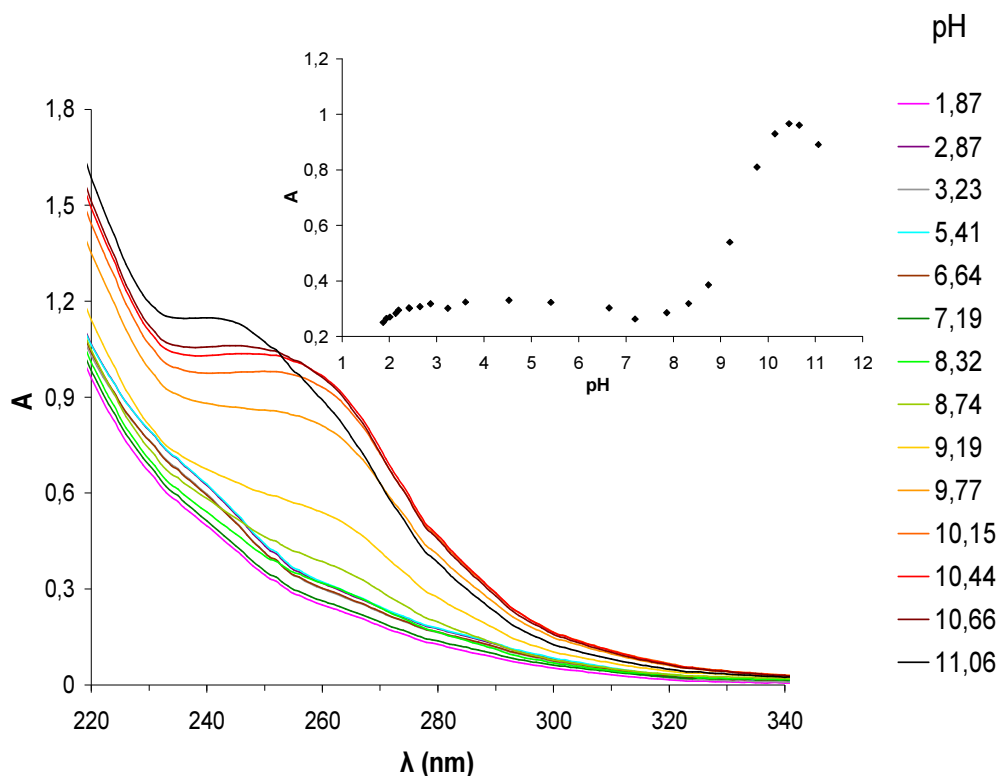
12 - 13. ábra: Kinetikai spektrumok 210 - 320 nm hullámhossztartományon. Felül az 1 : 1, alul a 0,5 : 1 sorozat látható. $c_{\text{BAL}} = 0,43\text{mM}$, 0,5 cm úthosszú teflon dugós kvercküvettában, Ar atmoszféra alatt, $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$

. Természetesen utóbbi kijelentés csupán feltételezés, mivel az első spektrum felvétele és az összemérés között a folyamat sebességéhez mérten túl hosszú idő telt el. A feltételezés bizonyításához olyan összemérési technikát kellene alkalmaznom, mellyel már jóval korábban el tudnám kezdeni a spektrumok felvételét (pl.: megállított áramlásos módszer). Ugyanakkor annyit kijelenthetünk, hogy a különböző pH-n mért végállapotok – az ekvimoláris oldatokban – jó közelítéssel azonosak, tehát a változások befejeződésével azonos részecskékkel kell számolnunk mindkét vizsgált pH-n

A folyamatok lejátszódásához szükséges idő meghatározása alapvető fontosságú volt a további méréseink tervezéséhez. Felmerülhet azonban a kérdés, hogy befolyásolja-e az előző fejezetben tárgyalt pH-potenciometriával nyert eredményeim használhatóságát az a tény, hogy titrálásaimat az összeméréstől számítva minden esetben kevesebb mint két és fél óra (~20-25 perc) elteltével megkezdtem. Véleményem szerint a titrálási görbék annak ellenére sem hibásak, hogy savas pH-tartományban az adduktumok kialakulásához vezető folyamatok feltehetőleg nem játszódtak le teljes mértékben. Ugyanis tapasztalataim szerint a kezdeti pH független volt a csapadék jelenlététől, vagy a várakozási időtől, és a mérőoldat adagolásakor sem volt megfigyelhető egyensúly-beállási probléma. Ez könnyen értelmezhető azzal, hogy a komplexképződésnek nincs pH-effektusa, az esetlegesen el nem reagált részecskék pedig pH ~ 7-ig teljes mértékben protonáltak. Semleges pH környékén pedig – amint azt a 11. ábra tükrözi – már $c_{\text{arzénessav}}:c_{\text{BAL}} = 1:1$ arány mellett is meglehetősen gyorsak a lejátszódó folyamatok, így a titrált rendszerek pH ~ 7 felett valóban elérik egyensúlyi állapotukat az egyes mérési pontokban. Ezt az is alátámasztja, hogy a semleges pH-t elérve a titrált elegyek minden esetben kitisztultak.

A folyamatok időfüggésének ismeretében kezdtem el az arzénessav: BAL = 0,5:1 és 1:1 összetételű rendszerek pH-függésének UV-spektrometriás vizsgálatát. A mérések kivitelezésekor nem egy adott oldat pH-ját változtattam lépcsőzetesen, mivel ebben az esetben a levegővel történő többszöri érintkezés miatt fokozottan fenn állna a lehetősége az oxidációnak. Ehelyett egy ~1,8-as pH-jú törzsoldatot készítettem, melyből kisebb mennyiségeket vettem ki, és azok pH-ját külön-külön állítottam a kívánt értékekre. A komplexképződés végbemeneteléséhez szükséges ~ 2 óra 30 perces időt csak a törzsoldat elkészítésekor vártam ki, az egyes minták pH-jának beállítása után már csak rövidebb ideig várakoztam. Ennek a minta-előkészítési módszernek az alkalmazásához azzal a feltételezéssel kellett élnünk, hogy pH ~ 7 alatt minden egyes pontban ugyanahhoz az végállapothoz jutunk (a kinetikai mérések eredményei alapján ezt joggal

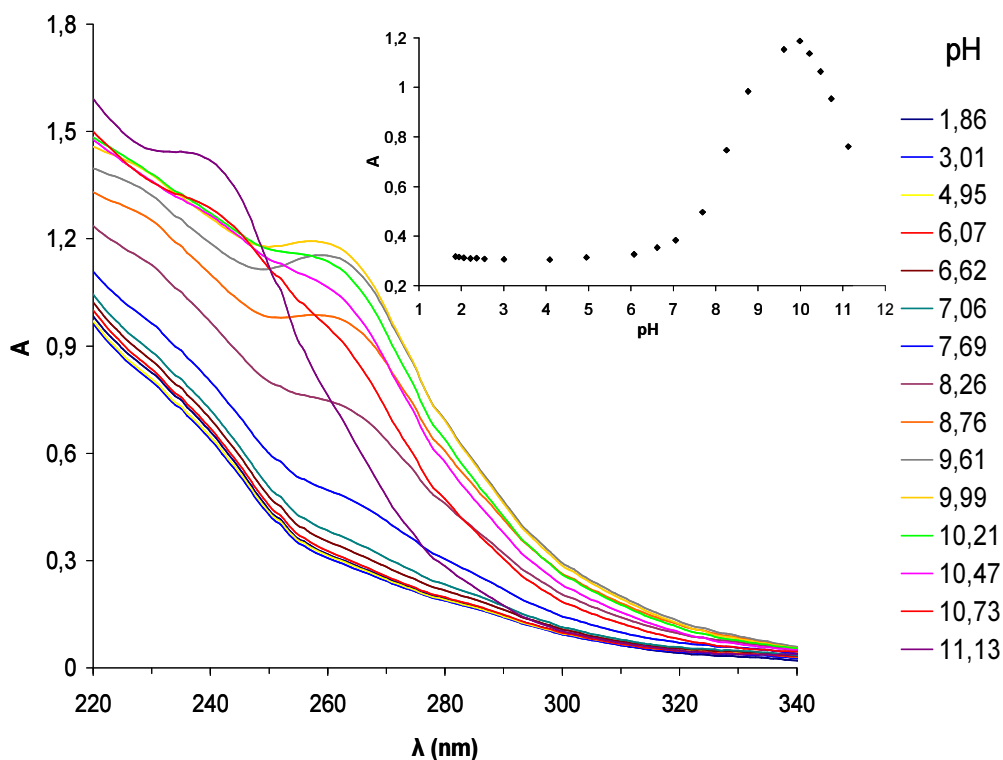
feltételezhattuk), ugyanakkor ilyen módon lényegesen csökkenthető volt az oxidáció kockázata, A pH-értékek beállítás során bekövetkező hígulás mértéke minimális volt. Megállapítható, hogy a pH = 1,8 – 7 intervallumban a spektrumok kis mértékben különböznek az arzénessav:BAL 1:1 rendszerben, de BAL felesleg mellett az egyes pH-kon mért elnyelések közötti eltérés csaknem elhanyagolható mértékű. Szignifikáns változások mindkét spektrumsorozaton csak pH 7 felett figyelhetők meg, az arzén-tiolát kötésre jellemző töltésátviteli sáv kezd növekedni 256 nm-nél.³³ Lényeges különbség, hogy az arzénessav:BAL 1:1 rendszerben a növekedés csak jóval később, pH ~ 8 felett indul el, míg ligandum felesleg mellett ez már pH ~ 7-től kezdetét veszi. Az arzénessav:BAL 0,5:1 összetételnél mérhető spektrumok intenzitása is ~20 % nagyobb (azonos BAL koncentráció mellett), és a spektrumok alakja is különbözik az ekvimoláris rendszerben mérttől. A görbék pH-maximumában is szignifikáns eltérés mutatkozik, az arzénessav:BAL 0,5:1 rendszerben pH ~ 10-nél, míg az ekvimoláris mintában csak pH = 10,5 körül észlelhető.



14.

14. ábra: pH-függő UV-spektrumok az arzénessav:BAL = 1:1 rendszerben. Az inzerten a 260 nm-en mért abszorbanciák láthatók a pH függvényében. ($c_{\text{BAL}} = 4,3 \cdot 10^{-4}$ M, $l = 0,5$ cm, $T = 25$ °C, $I = 0,1$ M)

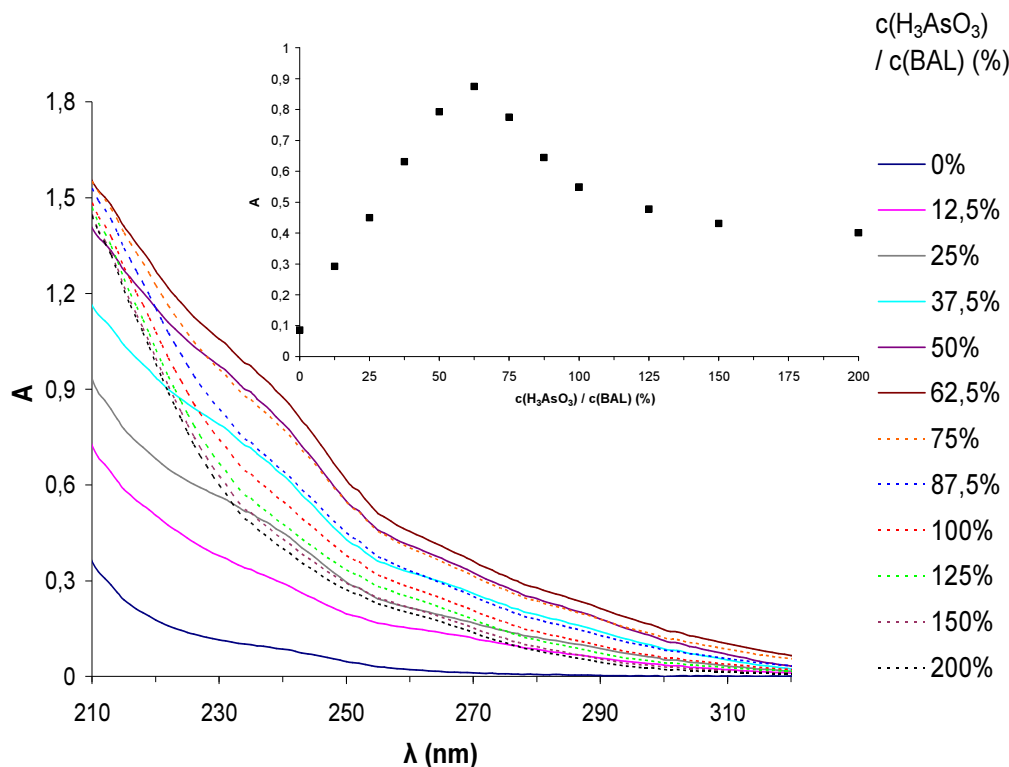
A pH további növelésének hatására mindkét esetben az abszorbancia visszaesése észlelhető, amivel párhuzamosan egy új csúcs kezd el növekedni 236 nm-nél. Ez a sáv a már korábban azonosított szabad BAL tiolát $n \rightarrow \sigma^*$ átmenetéhez rendelhető. Így tehát a BAL komplexei is, hasonlóan más korábban tanulmányozott arzénessav-tiol adduktumokhoz hidrolitikus folyamatban pH = 11 környékén részben vagy teljesen elbomlanak, így tiolátcsoport(ok) válnak szabaddá.



15. ábra: pH-függő UV-spektrumok az arzénessav: BAL = 0,5:1 rendszerben. Az inzerten a 260 nm-en mért abszorbanciák láthatók a pH függvényében. ($c_{\text{BAL}} = 4,3 \cdot 10^{-4}$ M, $l = 0,5$ cm, $T = 25$ °C, $I = 0,1$ M)

Állandó ligandum koncentráció mellett az arzénessav koncentráció változtatásával is mértem UV-spektrumsorozatokat két eltérő pH-n (pH = 4,5, illetve pH = 7). A mintákat független összeméréssel készítettem, melyek összeállítását követően 2 óra 30 percnyi időt hagytam a folyamatok lejátszódására. Az eltérő pH értékek ellenére a spektrumok nagyon hasonlóak. Az $\lambda = 240$ nm-nél mért abszorbanciák a BAL koncentrációjához viszonyítva ~62,5 %-nyi arzénessav hozzáadásakor érnek el maximumot, majd az arzénessav koncentráció további növelésével csökkennek, illetve egy adott értékhez tartanak. A maximum helye alapján tehát a legnagyobb elnyelés a

$c_{\text{arzenessav}}/c_{\text{BAL}} = 2:3$ összetételhez rendelhető, melyből arra a következtetésre juthatunk, hogy ilyen összetételig egy stabilis, nagy moláris abszorbanciájú $\text{As}^{\text{III}}:\text{BAL} = 2:3$ összetételű adduktum jön létre, melynek mennyisége közel lineárisan változik az oldat arzénessavtartalmával.



16. ábra: UV-spektrumok az arzénessav: BAL koncentráció arány függvényében. A belső ábrán a 240 nm-en bekövetkező elnyelés látható. $c_{\text{BAL}} = 0,43\text{mM}$, $0,5\text{ cm}$ úthosszú teflon dugós kvercküvetében, Ar atmoszféra alatt, $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$

A 66 %-nál nagyobb relatív arzénessav tartalmú mintákban 1:1 sztöchiometriájú komplexek válhatnak uralkodóvá, azaz irodalmi adatok alapján a bi- vagy tridentát módon kötődő BAL-t tartalmazó monokomplexek. A bemutatott görbék alapján $c_{\text{arzenessav}}/c_{\text{BAL}} = 1:1$ rendszernek is tartalmaznia kell a monokomplexen kívül más adduktumot is, mivel az bemutatott spektrumsorozatokon az 1:1 arzénessav: BAL arány elérése után még tovább csökken az abszorbancia. Ezek a spektrumsorozatok a pH-függő mérésekkel és kinetikai görbékkel kapcsolatban is további következtetések levonását teszik lehetővé. Az ekvimoláris oldatokban savas pH-tartományban a különböző pH-kon tapasztalt spektrális eltérések feltehetőleg a különböző összetételű adduktumok relatív arányának változásához rendelhető. Nem világos azonban, hogy milyen módon befolyásolja ezek arányát a pH, ha a feltételezett részecskében a

ligandum(ok) összes tiol csoportja kötődik az As^{III} -centrumokhoz. Az 1,8-as pH-n a különböző arzénessav: BAL arányok mellett mért kinetikai görbék alapján ugyanakkor valószínűnek tűnik, hogy a ligandum felesleg jelenlétében domináns többmagvú részecske képződése nagyobb sebességi együtthatóval jellemezhető, mint az As^{III} : BAL = 1:1 összetételű adduktum kialakulása, emiatt először az ekvimoláris oldatban is előbbi részecske képződik először, majd alakul át (részben) monokomplexszé.

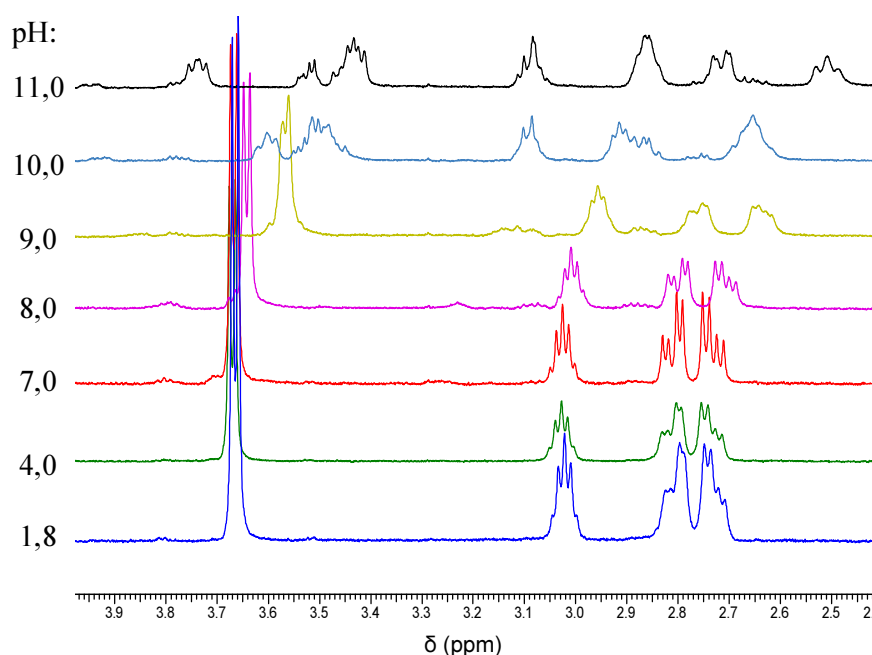
A két tiolcsoportot tartalmazó ligandumokkal kapcsolatos korábbi vizsgálatokhoz képest²⁷ spektrumsorozatainkon egy rendkívül érdekes változás figyelhető meg (lásd. xy cx. ábrák). Ellentétben a ditioeritritol – arzénessav rendszerben tapasztaltakkal, pH 7 – 10 pH-tartományban a spektrumok intenzitása jelentősen növekszik. A ditioeritritol esetében az intenzitás-növekedést csak ~ 9,5-ös pH felett figyelték meg, s azt deprotonálódott tiolcsoportok megjelenésének tulajdonították, legyen akár még kötött ligandumról szó, vagy a komplex teljes hidrolízisének következtében felszabaduló DTE-ről. Esetünkben is hasonló módon értelmezhető a folyamat, azonban a BAL teljes kiszorulása a komplexekből feltehetőleg csak pH 10-10,5 felett történik, amikor a spektrumok elnyelési maximuma látványosan az alacsonyabb hullámhosszak felé, 236 nm-re tolódik el, ami megegyezik a szabad BAL tiolátcsoportjaihoz tartozó $n \rightarrow \sigma^*$ átmenet helyével. A pH 7 – 10 tartományban tapasztalt változás legjobban olyan adduktumok kialakulásával értelmezhető, melyek vagy a As^{III} : BAL = 2:3 összetételű kétmagvú komplex egyik As–S kötésének hidrolízisével, vagy egy második BAL molekula monokomplexhez történő koordinációjával jöhetnek létre. Ezekben a bisz-komplexekben az egyik ligandum tiol/tiolátcsoportja nem kapcsolódik As-centrumhoz, s ennek deprotonálódása, illetve szabaddá válása magyarázhatja a jelentős intenzitás-növekedést.

A spektrometriás mérések alapján levont következtetések alátámasztásához további szerkezetvizsgáló módszerek bevetésére van szükség, ezek közé tartoznak a következő fejezetben tárgyalt NMR mérések, illetve a tervezett tömegspektrometriás vizsgálatok.

4.2.3. NMR mérések

A szabad BAL oldatában pH-függő NMR spektrumok felvételével követtem a ligandum deprotonálódási folyamatait, illetve annak hatását a mért spektrumokra. Savas és semleges közegben a spektrum meglehetősen egyszerű. A ligandum 5 detektálható

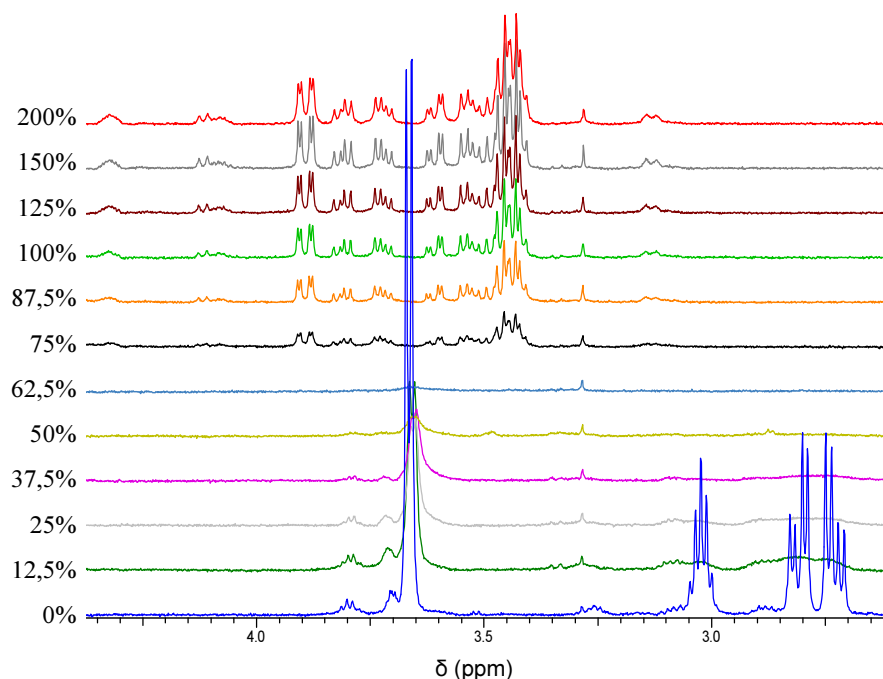
protonjából kettő egy ABX spinrendszert alkot, a további kettő pedig mágnesesen ekvivalensnek bizonyul, és az előző rendszer X-tagjával kialakított csatoláson keresztül egy A_2X típusú dublettet képez, mely lényegesen kisebb térnél helyezkedik el, mint a többi három mag jele. Így a spektrum jeleinek azonosítása könnyedén elvégezhető. Utóbb említett két mag a kis árnyékoltságuk miatt a hidroxilcsoporttal szomszédos CH_2 -csoport hidrogénjeiként, az ABX-spinrendszer egymáshoz hasonló kémiai eltolódású jelei a terminális SH csoport melletti CH_2 -csoportként, míg a multiplet a középső szénhez kapcsolódó -CH hidrogénként azonosíthatók.



17. ábra: A BAL 1H NMR spektrumainak pH-függése ($c_{BAL} = 3,0 \cdot 10^{-3}$ M, $T = 25$ °C, $I = 0,1$ M, 90% $H_2O/10\%$ D_2O)

A mért spektrumok ilyen jellegű finomszerkezete kisebb változásokkal pH ~ 8 -ig jellemző a szabad BAL-ra. Ezt követően pH ~ 9 -nél a spektrum összes jele a nagyobb terek irányába mozdul. A pH ~ 10 felett az OH-csoporttal szomszédos metilén protonok is mágnesesen inekvivalenssé válnak. Magas pH-n több olyan csúcs is megjelenik a spektrumokon, melyek jelenlétét nem tudtam megmagyarázni, illetve pH = 11-nél a jelek asszignálása sem volt egyértelmű. Ezért ilyen körülmények között 2D-NMR vizsgálatokat végeztem. Ezekkel egyértelműen sikerült bizonyítanom, hogy az új csúcsok jelenlétét a BAL oxidációja okozza, továbbá sikerült meghatároznom, hogy mely csúcsok tartoznak a valódi mintához, és melyek az oxidálódott anyaghoz. Így

például a pH = 10 és 11 értékekhez tartozó spektrumokon a 3,52 és 3,08 ppm-nél egyértelműen látszó csúcsok az oxidáció hatásai.



18. ábra: A BAL H_3AsO_3 -függése, $c_{\text{BAL}} = 5\text{mM}$, Ar atmoszféra alatt, $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$, 90% $\text{H}_2\text{O}/10\%$ D_2O

Ezt követően az $\text{H}_3\text{AsO}_3\text{:BAL} = 1\text{:}1$ rendszerben is végeztem pH-függő méréseket. Komoly problémát okozott azonban, hogy szinte a teljes pH-tartományban a jelek olyan mértékben szélesedtek ki, hogy az használhatatlanná tette a spektrumsorozatot a komolyabb értékelésre. Mindazonáltal, még így is tartalmaz információkat. Egyrészt a lúgos tartományban felvett spektrumokat összehasonlítva a szabad BAL pH = 11-nél mért spektrumával nagyon gyengén ugyan, de megfigyelhető a nem kötött ligandum jelenléte az arzenitet is tartalmazó rendszerben.

Az arzénessav:BAL arány változtatása mellett felvett mérésorozatomból mintáit pH = 7-re pufferelve készítettem el. Ez a sorozat már lényegesen informatívabb az előzőnél. A kisebb arzénessav koncentrációtól a nagyobb értékek felé haladva először a szabad ligandum jeleinek eltűnését figyelhetjük meg, s ez a tendencia ~62,5%-nyi relatív arzénessav-tartalom eléréséig folytatódik. A tiolcsoportokkal szomszédos metil protonok kiszélesedése már 12,5 % arzénessav hatására is meglehetősen nagymértékű, ezzel ellentétben a hidroxil csoporttal szomszédos protonok jele (habár az eleve is intenzívebb), még 62,5 %-nyi arzénessav-tartalom mellett sem tűnik el teljes mértékben.

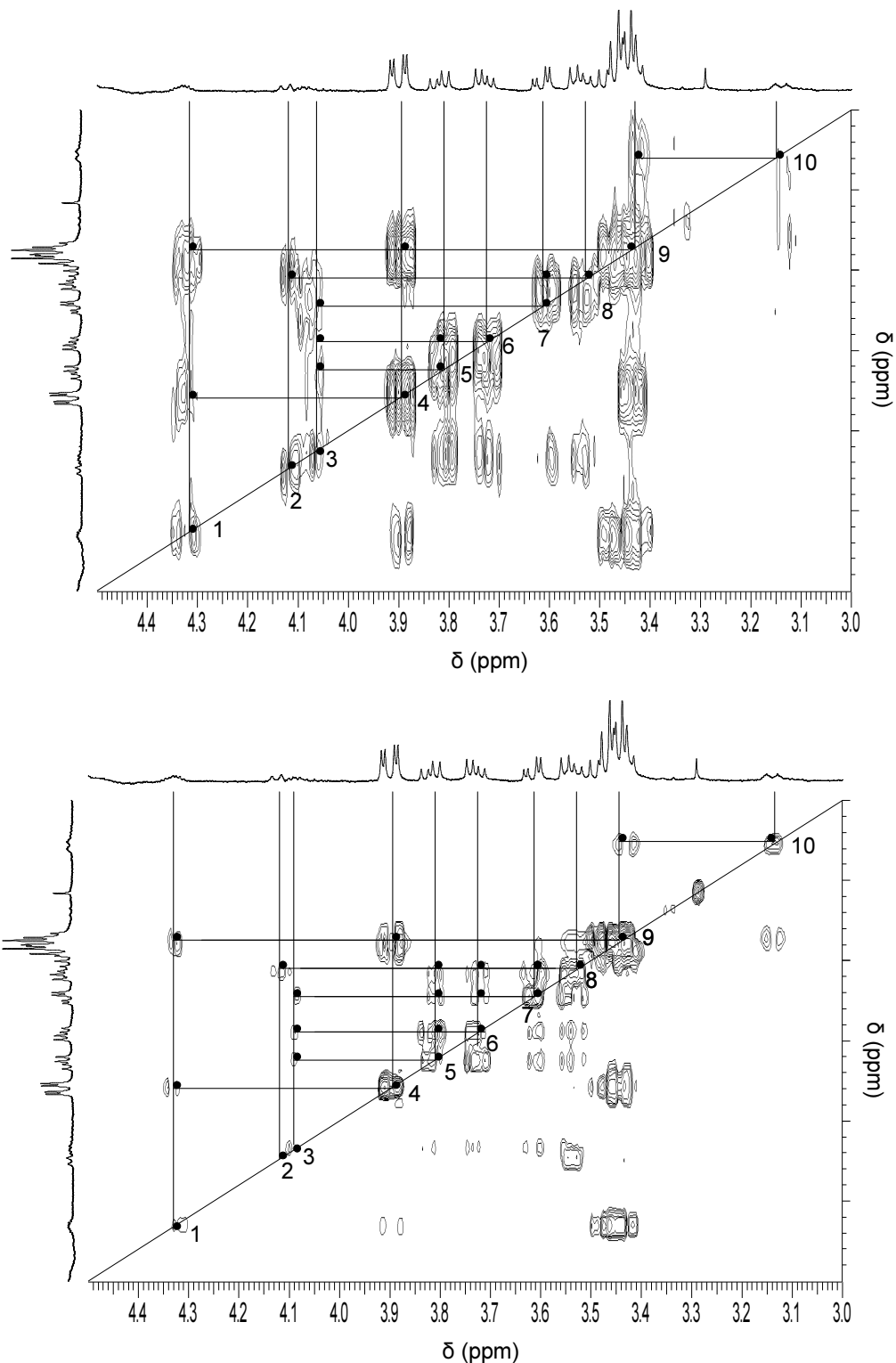
A szelektív kiszélesedés jelensége feltehetőleg közepes cseresebességű egyensúlyra utal részecskék között, ahol az egyik részecskében az arzénessav a tiolátcsoporthoz (is) koordinálódik

Habár a sorozaton egyértelműen azonosíthatók komplexekhez tartozó jelek, abban is biztosak lehetünk, hogy vannak olyan részecskék, amelyeket nem tudtunk detektálni, mivel a szabad ligandum eltűnésével párhuzamosan sehol sem észlelhető új csúcsok megjelenése. Azt sem zárhatjuk ki, hogy az észlelt komplex jelek nem egy részecskéhez tartoznak, illetve az egyes komplexeknek vannak olyan részei is, amelyeket a szelektív jelkiszélesedés miatt nem láthatunk a mért spektrumokon.

Annak érdekében, hogy a fenti spektrumokon nem észlelt jeleket is megfigyelhetővé tegyem, a hőmérséklet változtatásával is végeztem vizsgálatokat. Azt tapasztaltam, hogy a hőmérséklet növelésével a jelek egyre kisebb tereknél jelentek meg. 40 °C felett a spektrum markáns változáson ment keresztül, melyről bebizonyosodott, hogy irreverzibilis folyamat eredménye, azaz a minta degradálódott. A hőmérséklet csökkentésével szűkebb tartomány áll rendelkezésünkre, azonban az alacsonyabb hőmérsékletű mérések gazdagabb információt szolgáltathatnak a közepes cseresebességek miatti széles összeolvadt jelek szétválasztásával. A hőmérsékletet 7 °C-ig csökkentettem, de új jelek megjelenését nem tapasztaltam. A csúcsok elmozdulásán kívül mindössze a 62,5%-nál alacsonyabb arzéntartalmú rendszerekben a szabad BAL kettes és hármas szenéhez tartozó protonok jeleinek egyértelműbb megjelenését tapasztaltam, mely az előbb említett cserefolyamatok lassulásával függ össze. Érdekes azt is megemlíteni, hogy az arzénessav: BAL = 1:1 rendszerben az alacsonyabb hőmérsékleten mért spektrumon a 4,08 és 4,32 ppm értékeknél jelentkező csúcsok mérete is növekedett, azonban nem zárható ki, hogy ez mindössze a hőmérséklet megváltozása által eredményezett egyensúlyi állapot eltolódás következménye.

Az NMR spektrumok jobb értelmezhetősége érdekében az ekvimoláris oldatban pH = 7,0-nél is felvettem 2D-¹H COSY és TOCSY spektrumokat. Utóbbin tökéletesen látszik, hogy a rendszerben kétféle jól detektálható részecske van jelen. A spektrum egyértelmű tárgyalása érdekében minden egyes elkülönülő csúcsot sorszámmal láttam el, melyet a diagonális mentén tüntettem fel. Az elszeparált csúcsok száma 10. Mivel a ligandum mindössze 5 olyan protont tartalmaz, amely megjelenhet a spektrumokon, ezért ebből egyértelműen következik, hogy különböző kémiai környezetben levő ligandumok lehetnek jelen a rendszerben. Amennyiben a TOCSY spektrum keresztcsúcsait is megvizsgáljuk, úgy csatolást állapíthatunk meg a 2,3,5,6,7,8 valamint

az 1,4,9 és 10 számú jeleket kialakító magok közt, azaz ezek tartoznak egy részecskéhez. A megfelelő 1D spektrumon összevetve az egyes csúcsok felhasadásait és területét azt találhatjuk, hogy az első részecskét alkotó csúcsok közül a 2 és a 3 egyazon mag két felhasadt csúcsa, páronként az 5 - 6 és a 7 - 8 pedig egy-egy ABX spinrendszer részei.



17 - 18. ábra: A $\text{H}_3\text{AsO}_3\text{:BAL} = 1\text{:}1$ rendszer COSY (felül) és TOCSY (alul) spektruma, $c_{\text{BAL}} = 5\text{mM}$, Ar atmoszféra alatt, $T = 25^\circ\text{C}$, $I = 0,1\text{ M}$, $90\%\text{ H}_2\text{O}/10\%\text{ D}_2\text{O}$

A COSY spektrumokon keresztcsúcsot csak az utóbbi két jelpár tagjai közt találunk, valamint az említett párok, és a 2 vagy 3 számú csúcs közt figyelhetünk meg keresztcsúcsokat. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a 2, 3 csúcsokhoz tartozó jelek a BAL 2. számú szénatomjának protonjához rendelhetőek, az 5 - 6 és a 7 - 8 jeleket pedig az 1. és 3. szeneken levő protonok szolgáltatják. A 2. szénhez tartozó proton kisméretű jeléből arra következtethetünk, hogy az ehhez a szénhez kapcsolódó tiolcsoport biztosan koordinálódik az arzénhez. A másik részecske asszignációja bonyolultabb, egyelőre még folyamatban van..

5. Összefoglalás és konklúziók

Az arzénessav:BAL rendszerekben mért pH-potenciometriás titrálási görbék szimulációi 1:1, illetve 2:3 arzénessav:BAL összetételű adduktumok 100%-os képződésének feltételezésével nem vezettek a helyes modell megtalálásához. A titrálások alapján azonban egyértelmű, hogy az arzénessav és a ligandum között savas pH-tartományban kondenzációs reakciók játszódnak le, melyek nem járnak pH-változással. A nagy számú spektrometriás titrálás azonban már több információt szolgáltatott, melyekkel jól korreláltak a ^1H -NMR technikával elvégzett méréseim. Arra a következtetésre jutottam, hogy a felvett UV- és NMR spektrumokat legkevesebb három domináns komplex részecskével lehet leírni, melyek közül kettőt a 2D-NMR technikákkal végzett méréseim egyértelműen igazoltak.

Egy, feltehetőleg As^{III} :BAL = 2:3 összetételű többmagvú részecske leginkább a BAL-ra vonatkoztatva 66 %, vagy annál kisebb relatív H_3AsO_3 tartalom esetén savas és semleges közegben domináns. Moláris abszorbananciája $\lambda = 240$ nm környékén lehet a legnagyobb a vizsgált hullámhossz-tartományban, képződési sebessége pedig az összes feltételezett adduktum közül a legnagyobb alacsony és semleges pH-kon. Ez a komplex feltehetőleg azonos lehet azzal a részecskével, melynek ^1H -NMR jelei annyira szélesek, hogy azokat nem voltam képes észlelni a spektrumokon. A második erősen valószínűsíthető komplex 1:1 összetételű, és hasonló adduktumokat már korábban is leírtak a szakirodalomban. Kísérleteim alapján a részecske képződési sebessége jóval lassabb, mint az előző komplexszé, és moláris abszorbananciája is kisebbnek tűnik. pH = 11 körül nagy valószínűséggel hidrolizál szabad BAL-ra és arzenitre. Ez lehet az egyik

azon két részecske közül, melyeket a pH = 7,0-nél ekvimoláris oldatban felvett COSY és TOCSY spektrumok segítségével ki tudtam mutatni. Eredményeim alapján egy harmadik komplex jelenléte is feltételezhető, mely magyarázhatja a lúgos tartományban megfigyelt intenzív abszorbanancia növekedését $\lambda = 256$ nm-nél. Ez a részecske azonban valószínűleg nem azonos a 2D-NMR vizsgálatok során kimutatható második adduktummal, azaz, nem zárható ki háromnál több részecske képződése sem az arzénessav:BAL rendszerben.

6. Távlati célok

További közvetlen célom a vizsgált rendszer kvantitatívabb leírása, mely magába foglalja a kinetikai mérések értékelését (sebességi együtthatók meghatározását), valamint az arzénessav koncentráció változtatása mellett felvett UV-abszorpciós spektrumsorozatokból a képződő komplexek stabilitási állandóinak meghatározását. A feltételezett részecskék jelenlétének alátámasztásához tömegspektrometriás mérések szervezés alatt állnak. Mindenképpen szükséges lenne a képződő komplexek szerkezetének meghatározása. Végezetül további céljaim közé tartozik az eddigi pH-potenciometriás és UV-spektrometriás elővizsgálataim folytatása (melyekről jelen dolgozatban nem számoltam be) a H_3AsO_3 - Cys és H_3AsO_3 - GSH rendszerekben

Felhasznált szakirodalom:

- 1 201/2001 (X.25.) kormányrendelet
- 2 Commission on Atomic Weights and Isotopic Abundances (szerk.: K.J.R.
Rosman, P.D.P. Taylor, International Union of Pure and Applied Chemistry),
Isotopic Compositions of the Elements 1989
- 3 I. Mills, T. Cvitas, K. Homann, N. Kallay, and K. Kuchitsu: *Quantities, Units
and Symbols in Physical Chemistry*, Blackwell Scientific Publications, Oxford,
UK, 1988
- 4 N.N. Greenwood, A. Earnshaw: *Chemistry of elements*, Elsevier 1997
- 5 O.M. Ni Dhubhghaill, J. Sadler: *The structure and reactivity of arsenic
compounds: biological activity and drug design*, *Structure and Bonding* 78, 129-
190, 1991
- 6 L., Ódor, I., Horváth, U., Fügedi, *Magyarország geokémiai Atlasza*, Magyar
Állami Földtani Intézet, Geokémiai Főosztály
- 7 M.F. Hughes: *Arsenic toxicity and potential mechanisms of action*, *Toxicology
Letters* 133, 1-16, Elsevier, 2002
- 8 F. Wolfe-Simon, J.S. Blum, T.R. Kulp, G.W. Gordon, S.E. Hoefft, J. Pett-Ridge,
J.F. Stolz, S. M. Webb, P.K. Weber, P.C.W. Davies, A.D. Anbar, R.S. Oremland:
A Bacterium That Can Grow by Using Arsenic Instead of Phosphorus, *Science*
332, 1163-1166, 2011
- 9 T.J. Erb, P. Kiefer, B. Hattendorf, D. Günther, J.A. Vorholt: *GFAJ-1 Is an
Arsenate-Resistant, Phosphate-Dependent Organism*, *Science* 337, 467-470,
2012
- 10 M.A. Fazal, T. Kawachi, E. Ichion: *Extent and severity of groundwater arsenic
contamination in Bangladesh*, *Water International* 26, 370–379, 2001
- 11 Z. Liu, J. Shen, J.M. Carbrey, R. Mukhopadhyay, P. Agre, B.P. Rosen, *Arsenite
transport by mammalian aquaglyceroporins AQP7 and AQP9*, *Proceedings of
the National Academy of Sciences of the USA* 99, 6053–6058, 2002
- 12 Z. Liu, M.A. Sanchez, X. Jiang, E. Boles, S.M. Landfear, B.P. Rosen:
*Mammalian glucose permease GLUT1 facilitates transport of arsenic trioxide
and methylarsonous acid*, *Biochemical and Biophysical Research
Communications* 351, 424–430, Elsevier 2006
- 13 Y. Hu, L. Su, E.T. Snow: *Arsenic toxicity is enzyme specific and its effects on
ligation are not caused by the direct inhibition of DNA repair enzymes*, *Mutation
Research* 408, 203–218, Elsevier 1998
- 14 M. Styblo, S.V. Serves, W.R. Cullen, D.J. Thomas: *Comparative Inhibition of
Yeast Glutathione Reductase by Arsenicals and Arsenothiols*, *Chemical
Research in Toxicology* 10(1), 27-33, American Chemical Society 1997
- 15 S. Lin, L.M. Del Razo, M. Styblo, Ch. Wang, W.R. Cullen, D.J. Thomas:
Arsenicals Inhibit Thioredoxin Reductase in Cultured Rat Hepatocytes,
Chemical Research in Toxicology 14(3), 305-311, American Chemical Society
2001
- 16 M.J. Mass, A. Tennant, B.C. Roop, W.R. Cullen, M. Styblo, D.J. Thomas, A.D.
Kligerman: *Methylated Trivalent Arsenic Species Are Genotoxic*, *Chemical
Research in Toxicology* 14(4), 355–361, American Chemical Society 2001
- 17 P. Bhattacharya, A.H. Welch, K.G. Stollenwerk, M.J. McLaughlin, J.
Bundschuh, G. Panaullah: *Arsenic in the environment: Biology and Chemistry,
Science of The Total Environment* 379, 109-120, 2007

- 18 M. Styblo, L.M. Del Razo, E.L. LeCluyse, G.A. Hamilton, Ch. Wang, W.R. Cullen, D. J. Thomas: *Metabolism of Arsenic in Primary Cultures of Human and Rat Hepatocytes*, Chemical Research in Toxicology 12(7), 560–565, American Chemical Society 1999
- 19 D.J. Thomas, M. Styblo, S. Lin, *The cellular metabolism and systemic toxicity of arsenic*, Toxicology and Applied Pharmacology 176, 127–144, Elsevier 2001
- 20 T.S.Y. Choong, T.G. Chuah, Y. Robiah, F.L. Gregory Koay, I. Azni: *Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview*, Desalination 217, 139–166, Elsevier 2007
- 21 98/83/EK
- 22 Targeting and Analysis Branch Standards and Risk Management Division Office of Ground Water and Drinking Water United States Environmental Protection Agency: *Technologies and costs for removal of arsenic from drinking water*, 2000
- 23 T.S.Y. Choong, T.G. Chuah, Y. Robiah, F.L. Gregory Koay, I. Azni: *Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: an overview*, Desalination 217, 139–166, Elsevier 2007
- 24 K. B. Vu, M. D. Kaminski, L. Nuñez (Chemical Engineering Division): *Review of Arsenic Removal Technologies for Contaminated Groundwaters*, 2003
- 25 N.R. Khandaker, P.V. Brady, J.L. Krumhansl: *Arsenic removal from drinking water*, Sandia National Laboratories Albuquerque, New Mexico United States of America, 2009
- 26 G.G. Manov, N.J. DeLollis, S.F. Acree: Ionization constant of boric acid and the pH of certain borax-chloride buffer solutions from 0° to 60° C, Journal of Research of the National Bureau of Standards 33, 287 - 306 ,1944
- 27 A. Kolozsi, A. Lakatos, G. Galbács, A.O. Madsen, E. Larsen, B. Gyurcsik: *A pH-Metric, UV, NMR, and X-ray Crystallographic Study on Arsenous Acid Reacting with Dithioerythritol*, Inorganic Chemistry 47, 3832 - 3840, American Chemical Society 2008
- 28 W.L. Zahler, W.W. Cleland: *A Specific and Sensitive Assay for Disulfids*, The Journal of Biological Chemistry 243 (4), 716 - 719, 1968
- 29 N. Scott, K.M. Hatlelid, N.E. MacKenzie, D.E. Carter: *Reactions of Arsenic(III) and Arsenic(V) Species with Glutathione*, Chemical Research in Toxicology 6, 102 - 106, American Chemical Society 1993
- 30 M. Delnomdedieu, M.M. Basti, J.D. Otvos, D.J. Thomas: *Reduction and binding of arsenate and dimethylarsinate by glutathione: a magnetic resonance study*, Chemico-Biological Interactions 90 (2), 139 - 155, Elsevier 1994
- 31 M. Delnomdedieu, M.M. Basti, J.D. Otvos, D.J. Thomas: *Transfer of Arsenite from Glutathione to Dithiols: A Model of Interaction*, Chemical Research in Toxicology 6, 598-602, 1993
- 32 N.A. Rey, O.W. Howarth, E.C. Pereira-Maia: Equilibrium characterization of the As(III)–cysteine and the As(III)–glutathione systems in aqueous solution, Journal of Inorganic Biochemistry 98, 1151–1159, 2004
- 33 A.M. Spuches, H.G. Kruszyna, A.M. Rich, D.E. Wilcox: *Thermodynamics of the As(III)-Thiol Interaction: Arsenite and Monomethylarsenite Complexes with Glutathione, Dihydrolipoic Acid, and Other Thiol Ligands*, Inorganic Chemistry 44, 2964 - 2972, American Chemical Society 2005

-
- ³⁴ W.B.T. Cruse, M.N.G. James: The Crystal Structure of the Arsenite Complex of Dithiothreitol, *Acta Crystallographica Section B* 28, 1325-1331, International Union of Crystallography 1972
- ³⁵ S. Cavanillas, E. Chekmeneva¹, C. Arino, J.M. Díaz-Cruz, M. Esteban: *Electroanalytical and isothermal calorimetric study of As(III) complexation by the metal poisoning remediators, 2,3-dimercapto-1-propanesulfonate and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid*, *Analytica Chimica Acta* 746 47– 52, Elsevier 2012
- ³⁶ Márkus Máté, témavezető: Gyurcsik Béla: *2,3-dimercaptopropanol kölcsönhatása arzénessavval*, Szegedi Tudományegyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szeged 2012
- ³⁷ F.J.C. Rosotti, H. Rosotti, *The Determination of Stability Constants*, McGraw-Hill Book Co., New York, 149. old. (1962)
- ³⁸ E. Högfeltdt, *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part A. Inorganic Ligands*, Pergamon, New York, 32. old. (1982)
- ³⁹ L. Zékány, I. Nagypál, G. Peintler, *PSEQUAD for Chemical Equilibria*, Technical Software Distributors, Baltimore, MD, (1991)

Köszönetnyilvánítás:

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki nélkül ez a dolgozat nem születhetett volna meg sikeresen.

Elsősorban szeretném megköszönni témavezetőimnek a segítségüket:

Köszönöm Dr. Jancsó Attilának, hogy mindig fordulhattam hozzá kérdéseimmel, és köszönöm Dr. Gyurcsik Bélának, hogy munkám során hasznos tanácsokkal és sok felhasználható szakirodalommal látott el.

Köszönöm az aktív segítségét Szokolai Hajnalkának, aki többek közt az NMR mintacserékben vett részt velem, mivel én azt egészségügyi okokból nem tudtam volna egyedül kivitelezni.

Továbbá köszönöm szüleimnek és páromnak is a sok támogatást, amit dolgozatom elkészítésének ideje alatt nyújtottak.