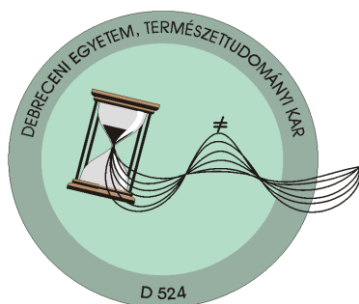




A glicin-monoklóramin bomláskinetikája lúgos közegben

TDK-DOLGOZAT

Szabó Mária

II. éves vegyész MSc hallgató

Témavezető:

Dr. Fábián István
egyetemi tanár

Debreceni Egyetem
Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék

2014

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Irodalmi áttekintés.....	5
3. Célkitűzések.....	7
4. Kísérleti körülmények.....	8
4.1 Felhasznált vegyszerek ²	8
4.1.1 Kloridmentes nátrium-hipoklorit oldat előállítása ²	8
4.1.2 A NaOCl-oldat kloridion-mentességének ellenőrzése ²	9
4.1.3 A NaOCl-oldat hipoklorit- és NaOH-tartalmának meghatározása.....	9
4.2 Mérésekhez használt műszerek, számítógépes programok.....	10
5. Eredmények és értelmezésük.....	11
5.1 Előkísérletek.....	11
5.2 Mátrix-ranganalízis.....	12
5.3 A kinetikai görbék elemzése.....	14
5.4 A reakciósebesség függése a hidroxidion-koncentrációtól.....	16
5.5 NMR-vizsgálatok.....	17
5.6 Tömegspektrometriás kísérlet.....	21
5.7 Mechanizmus.....	22
6. Összefoglalás.....	23
7. Irodalomjegyzék.....	24
8. Köszönetnyilvánítás.....	25

1. Bevezetés

Hipoklórossav és aminos csoportot tartalmazó vegyületek közötti reakció klóraminokat eredményez. Ezen vegyületcsalád kémiája két területen különösen érdekes. Környezetkémiai szempontból fontos, hogy a vízkezelési eljárások során a vízben lévő ammóniából illetve szerves aminokból könnyen képződnek a klóraminok. Ezek másodlagos fertőtlenítőszer, baktériumok elpusztítására alkalmasak, tehát ez a fajta oxidáció pozitív hatású.

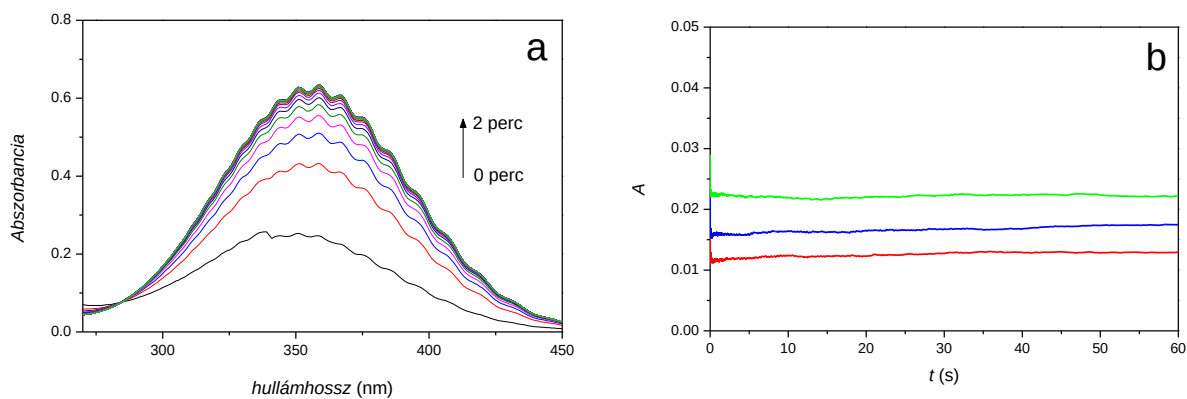
A klóraminoknak biológiai szempontból is kiemelkedő jelentősége van. A szervezetben kloridion és hidrogén-peroxid myelo-peroxidáz enzim által katalizált reakciójában hipoklórossav keletkezik, ami erőteljes oxidálószer révén könnyen reagál aminosavakkal és fehérjékkel. Az ilyen módon képződött klóraminok képesek a sejtfalon áthatolni és ott oxidatív stresszt kiváltani. Egyes irodalmi adatok szerint az élő szervezetben képződő klóraminok közül a glicin-klóramin áthatolóképessége a legnagyobb.¹ Ez a fajta oxidáció negatív hatást fejt ki.

Számos kutatás folyik a klóraminok hatásmechanizmusával illetve reakcióival kapcsolatban, ám kevesen foglalkoznak a bomlási folyamatok vizsgálatával.

Analitikai eljárásokban a hipoklórossav-glicin reakciót a HOCl maszkírozására is felhasználják. Például jodometriás meghatározások során a klór-dioxid és a hipoklórossav ugyanúgy reagál a jodidionnal. Egymás melletti meghatározásuk ezzel a módszerrel maszkírozás nélkül nem lehetséges. A maszkírozást akkor is fel lehet használni, amikor a HOCl köztiterméként jelenik meg egy reakciórendszerben és a cél az, hogy ez az intermediér ne tudja továbbvinni a folyamatot, hanem szelektíven egy gyors reakcióban vegyen részt a glicinnel. A piroszölősav és klorition között lejátszódó reakcióban vált fontossá számunkra a köztitermék felhalmozódásának ilyen módon történő gátlása.²

Ebben a reakciórendszerben intermediéreként jelenik meg a HOCl. A köztitermék és a klorition közötti reakció eredményezi valójában a terméket, ami a klór-dioxid. A ClO₂ spektruma intenzív és széles hullámhossztartományt fed át ($\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$), így a reaktánsok koncentrációjának változását fotometriásan nem tudjuk követni, ezért fontossá vált, hogy a klór-dioxid képződését megakadályozzuk. Ez lehetőséget adott arra, hogy a reagensek közötti közvetlen reakciót a ClO₂ zavaró hatása nélkül tanulmányozzuk. Amint az az 1. ábrán látható, a piroszölősav – klorition közötti reakcióban néhány percen belül

intenzív klórdioxid-képződés figyelhető meg. Glicin hozzáadásával a klórdioxid képződése meggátolható (1. b. ábra).



1.ábra A piroszőlősav – klorit ion reakcióban tapasztalt spektrális változás²

a. Glicin hozzáadása nélkül

b. Glicin jelenlétében

$$\lambda = 355 \text{ nm}; 360 \text{ nm}; 365 \text{ nm};$$

$$[\text{Gly}] = 0,2 \text{ M}; [\text{ClO}_2^-] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ M}; [\text{Pyr}] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ M};$$

$$\text{pH} = 2,64; T = 25 \pm 0,1 \text{ } ^\circ\text{C}; I = 1,0 \text{ M};$$

2. Irodalmi áttekintés

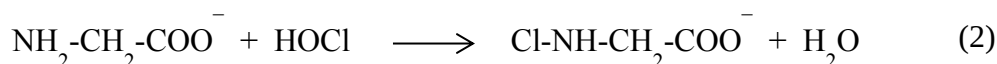
Ivóvíz- és szennyvíztisztítási eljárásokban klórt és/vagy hipoklórossavat használnak fertőtlenítőszerként. Ha a kezelt víz ammóniát tartalmaz, akkor az oxidatív közegben mono-, di-, vagy triklóramin képződése mehet végbe az adott koncentrációviszonyoktól, illetve a pH-tól függően.

Savas körülmények között a triklóramin irreverzibilisen bomlik, a reakció nitrogénázt és hipoklórsavat eredményez. Ezt nevezik törésponti klórozásnak.³



Az aminosavak és fehérjék aminos csoportjaik révén alkalmasak klóraminok képzésére. Ekkor a szubsztrátumtól függően különböző termékek képződnek.

A glicin-monoklóramin (MCG) a HOCl és glicin reakciójából képződik. Korábbi irodalmi eredmények szerint a termék a glicin deprotonált és a HOCl protonált formája közötti reakcióban képződik.⁴



Pszeudo elsőrendű körülmények között a sebességi együtthatót ez az összefüggés írja le⁴:

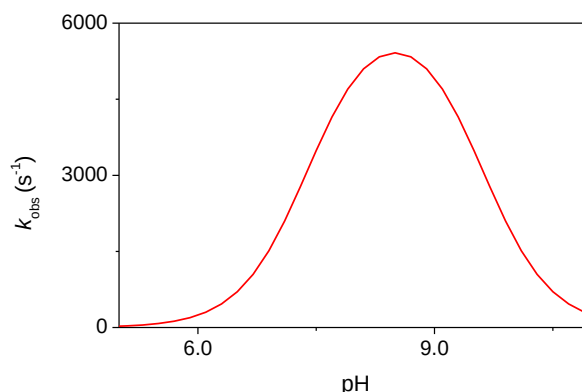
$$k_{obs} = k \frac{K_{a2} [\text{H}^+]}{(K_{a2} + [\text{H}^+])(K_c + [\text{H}^+])} C_{\text{Gly}} \quad (3)$$



$$k = 5,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}, K_{a2} = 2,51 \times 10^{-10}, K_c = 3,98 \times 10^{-8}$$

Ezt felhasználva a sebességi együttható pH-függését szimuláltuk. A 2. ábrán jól látszik, hogy a MCG képződése rendkívül gyors, az adott körülmények között stopped-

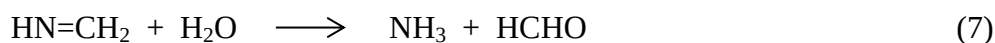
flow módszerrel sem mérhető, azaz a reaktánsok elegyítésekor pillanatszerűen képződik a monoklóramin.



2.ábra Az MCG-képződés pszeudo elsőrendű sebességi együtthatójának pH-függése a (3) egyenlet alapján
[Gly] = 0,01 M

Korábban behatóan tanulmányozták az úgynevezett transzklórozási reakciókat, melyek során egy hipoklórossavból és aminből elsődlegesen képződött klóramin egy másik vegyületet klóroz. E reakció jelentőségét az adja, hogy biológiai hatásukat tekintve a klóraminok eltérő sajátságúak és a transzklórozással képződő vegyület biológiai aktivitása nagyobb lehet, mint a primer folyamatban képződött klórvegyületé. Ez a jelenség is arra utal, hogy a klóraminok további reakcióinak kiemelt jelentősége van mind környezeti kémiai, mind pedig biológiai szempontból.¹ Hasonló problémát vet fel a klóraminok bomlási reakciója is, hiszen az azokban képződő termékeknek meghatározó jelentősége lehet a klóraminokhoz rendelhető élettani hatások értelmezésében.

Az aminosavakból képződő klóraminok bomlási folyamataira csak korlátozott irodalmi adataink vannak. Az MCG bomláskinetikáját Margerum és munkatársai részletesen tanulmányozták és a folyamatot a következő reakcióegyenletekkel írták le.^{5,6}



Termékként formaldehidet és glioxilsavat, valamint ammóniát azonosítottak. Megállapították, hogy a reakció egyszerű elsőrendű kinetikával leírható, azonban a kinetikai görbék elején szisztematikus eltérést tapasztaltak, amit a glicin-diklóramin (DCG) megjelenésével magyaráztak.

3. Célkitűzések

Korábbi irodalmi eredmények szerint az MCG bomlási sebessége pH-függő, enyhén lúgos közegben viszonylag stabil oldat állítható elő belőle. Ugyanakkor a pH növelésével csökken az MCG stabilitása. Ezt saját előzetes kísérleti adataink is alátámasztják. A MCG-vel folytatott kísérletekhez jól ismert összetételű, stabil törzsoldatra van szükség. Munkám célja annak vizsgálata, hogy lúgos közegben hogyan történik a MCG bomlása, milyen köztitermékek és termékek képződnek. További célom a reakció kinetikai jellemzése, a részletes mechanizmus feltárása.

4. Kísérleti körülmények

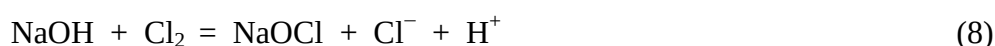
4.1 Felhasznált vegyszerek²

A kísérletek során *a.lt.* minőségű glicint (*Sigma-Aldrich*) használtunk. A méréseket 1,0 M-os ionerősség mellett végeztük, amit nátrium-perkloráttal állítottunk be. A nátrium-perklorátot perklorásvából (*VWR*) illetve kristályvízmentes nátrium-karbonátból (*Reanal*) állítottunk elő. Az alkalmazott módszer részletes leírása megtalálható az irodalomban.⁷ Minden kísérletben kloridmentes nátrium-hipoklorit oldatot használtunk, mely előállítását a továbbiakban részletezem. A jodometriás titrálások elvégzéséhez KI-ot (*VWR*) és vízmentes Na₂CO₃-ot (*Reanal*) használtunk segédreagensként. A lúgosság mértékét minden esetben pontos koncentrációjú NaOH-oldattal állítottuk be.

Az oldatok készítéséhez *MILLI-Q RG (Millipore)* típusú rendszerrel előállított, háromszor ioncserélt és ultraszűrt vizet desztilláltunk.

4.1.1 Kloridmentes nátrium-hipoklorit oldat előállítása²

NaOCl-oldatot egyszerűen klórgáz NaOH-ba történő bevezetésével állíthatunk elő, a következő egyenlet alapján:

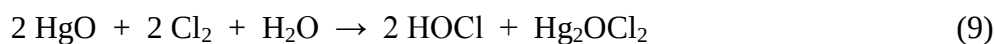


Az oxiklór vegyületek reakcióiban a kloridion fontos szerepet játszik, jelenlétében a kinetikai sajátságok értelmezése nehézkessé válik, ahogyan az már az irodalomból is ismert.⁸ Emiatt kloridmentes nátrium-hipoklorit oldat előállítására volt szükség.

Egy frakcionáló lombikban 35-40 g sárga higany-oxidot 300 ml vízben szuszpendáltunk folyamatos kevertetés mellett. Közben klórgázt vezettünk a rendszerbe közepes áramlási sebesség mellett 6-7 órán keresztül. A szuszpenzió eleinte egyre feketébb lett, majd kifehéredett. Ekkor a klóráramot megszüntettük és 5g higany-oxidot adtunk az oldathoz a felesleg klór eltávolítására. Argon gázzal kifúvattuk a képződött Cl₂O-ot 0,4 mol/dm³ koncentrációjú NaOH-oldatba, jeges hűtés mellett. Lényeges, hogy az oldat pH-ja ne csökkenjen jelentős mértékben, emiatt azt többször ellenőriztük. Erre azért volt szükség,

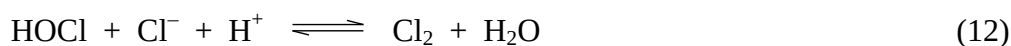
mert a hipoklórossav 8-9-es pH alatt autokatalitikus folyamatban viszonylag gyorsan elbomlik.⁹

Az előállítás reakcióegyenletei az alábbiak:



4.1.2 A NaOCl-oldat kloridion-mentességének ellenőrzése²

Az előállított oldat kloridion-mentességéről spektrofotometriás méréssel bizonyosodtunk meg. Egy tandemküvetta egyik felébe 1000 µl 2 mM koncentrációjú hipoklórossavat, míg a másikba 1000 µl 0,2 M koncentrációjú HClO₄-oldatot pipettáztunk. Az oldatok keverése előtt, illetve azt követően is vettünk fel spektrumot. Tekintve, hogy a törzsoldat lúgos kémhatású, az első spektrumban 292 nm-es abszorpciós maximumnál található az OCl⁻ forma fényelnyelése, míg a másik spektrumban, ha kloridion nincs jelen, akkor 234 nm-es maximummal jelenik meg a HOCl elnyelése. Ha az oldat Cl⁻-tartalmú, akkor a (12) egyensúly a klórképződés irányába tolódik el, ami miatt a második spektrumon a Cl₂ elnyelése 324 nm-es fényelnyelési maximumnál megjelenik. A klórnak nagy a moláris abszorpciós koefficiense, így már kis kloridion koncentráció is biztonsággal kimutatható.



4.1.3 A NaOCl-oldat hipoklorit- és NaOH-tartalmának meghatározása

A nátrium-hipoklorit oldat OCl⁻-koncentrációját jodometriás titrálás alapján számoltuk. A meghatározás egyenletei a következők:





Az NaOCl-ben lévő lúgtartalmat sav-bázis titrálással határoztuk meg peklórsav mérőoldat segítségével. Ekkor két ekvivalencia pontot kapunk, melyek közül az elsőhöz tartozó fogyásértékből számolhatjuk az OH^- -koncentrációt. Ebből a titrálásból visszaellenőrizhető az OCI^- mennyisége is, ami a két ekvivalenciapont különbségéből számolható. A kétfajta analitikai módszerrel meghatározott hipokloriton-koncentráció 1 % belül megegyezik.

4.2 Mérésekhez használt műszerek, számítógépes programok

Az előkísérleteket *Schimadzu UV-1800* típusú spektrofotométerrel végeztük. Az így kapott adatokat Microsoft Excel és OriginPro 8.6 programok segítségével értékeltük ki.

A titrálásokat és a pH-mérést *Metrohm 785 DMP Titrino* automata titrátorral, valamint *Metrohm 6.0451.100* jelű kombinált platina- és *Metrohm 6.0262.100* típusú kombinált üvegelektóddal végeztük.

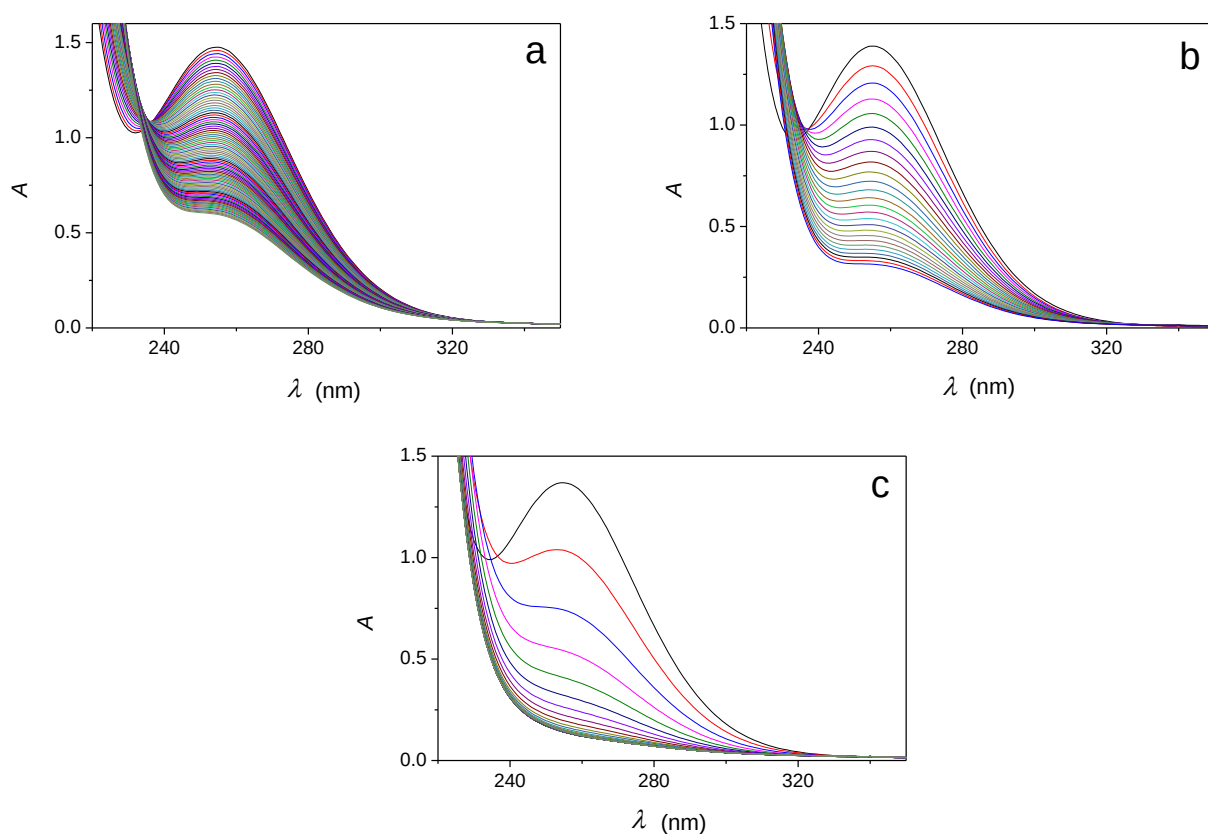
Az NMR-vizsgálatokat *Bruker DRX-400 MHz* spektrométerrel végeztük. A berendezés BT1000 hőmérséklet szabályzóval és 5 mm-es z grad BBI fejjel felszerelt. Az NMR-kísérletekből kapott mérési eredményeket WinNMR és MestReNova programok segítségével elemeztük.

A mátrix-ranganalízishez Matlab, a kinetikai görbék illesztéséhez OriginPro 8.6 programot használtunk.

5. Eredmények és értelmezésük

5.1 Előkísérletek

A 3. ábrán 255 nm-en az abszorpciós maximum a glicin-monoklóraminhoz rendelhető, így a spektrális változás az MCG bomlásának a következménye. Ezen a hullámhosszon az abszorbancia monoton csökken, ám kisebb hullámhosszakon ez a monotonitás egyre inkább megváltozik, ami összetett kinetikára utal. Az időfüggő spektrális változások jellege a 9 – 12 pH tartományban megegyezik, különbség csak a reakciósebességben tapasztalható.



3. ábra A MCG bomlásához rendelhető spektrális változás különböző pH-kon

pH= 9,84 (a); 10,30 (b); 11,65 (c)

$t = 16 \text{ h}$; $[\text{MCG}] = 4,00 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{felelsleg}} = 3,60 \times 10^{-2} \text{ M}$;

$T = 25 \pm 0,1 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $I = 1,0 \text{ M}$

5.2 Mátrix-ranganalízis

A mátrix-ranganalízis egy olyan módszer, mely segítségével a fényelnyelő részecskék száma meghatározható a spektrofotometriás mérésekből kapott adatok alapján.¹⁰

Az eljárás során az eltérő körülmények (pl. pH, koncentráció) között felvett időfüggő spektrumsorokat azonos hullámhossztartományban egy mátrixba rendezzük, ami csak abszorbananciákat tartalmaz. Az így kapott mátrix sajátértékeit a Matlab program segítségével meghatározzuk. A színes részecskék száma a nem nulla sajátértékek számával egyezik meg. Gyakorlatban problémát okoz, hogy a kísérleti hibát is színes részecskéként kezeli a módszer, ezért az értékek monoton csökkenő tendenciát mutatnak, ám soha nem válnak nullává. A kapott sajátértékeket a Matlab program sorrendbe állítja és a valódi elnyelő részecskéket úgy állapítjuk meg, hogy az egyes értékek közötti különbségeket vizsgáljuk.

A különböző pH-n felvett időfüggő spektrális változásokra számolt sajátértékeket az 1. táblázat mutatja be. A táblázatban piros szín jelöli a valódi színes részecskékhez rendelhető sajátértékeket.

1. táblázat: Az MCG bomlása során tapasztalt spektrális változások mátrix-ranganalízise különböző pH-knál

pH	12.15	11.65	10.30	9.84	összes
1	15.59	40.30	30.03	68.08	123.05
2	5.140	8.224	5.761	9.942	27.56
3	0.039	0.192	0.098	0.081	1.791
4	0.013	0.086	0.023	0.021	0.796
5	0.007	0.031	0.011	0.018	0.311
6	0.004	0.020	0.009	0.011	0.063
7	0.004	0.017	0.005	0.010	0.038

Az MRA módszerrel kapott eredmények azt mutatják, hogy minden vizsgált pH-n három színes részecske van. Az első három sajátértéket követően ugyanis csak kismértékű változás tapasztalható, így azok az értékek mérési hibához rendelhetők. A színes

részecskék egyike a glicin-monoklóramin, a további eredmények igazolni fognak egy köztterméket, illetve a harmadik fényelnyelő részecske a reakcióban keletkezett termék.

Az összes kifejezés minden vizsgált pH-n együttesen történő analízist jelenti.

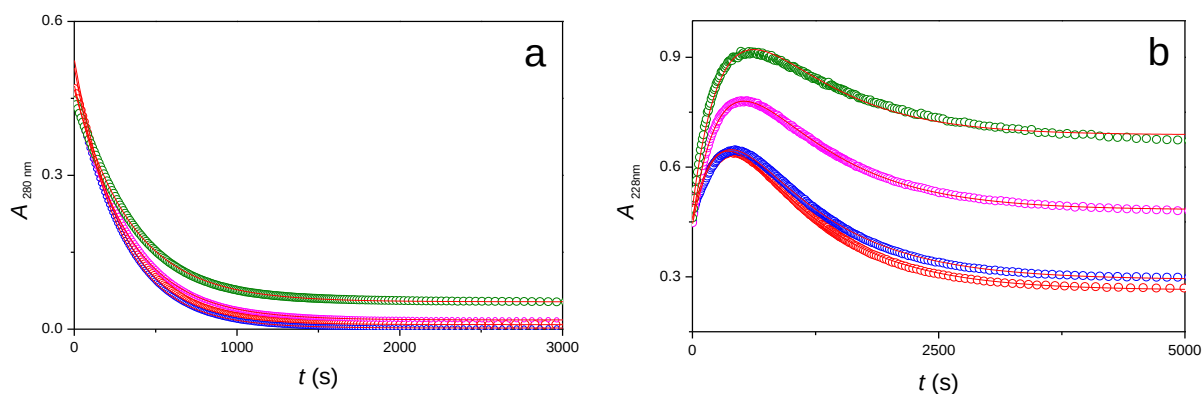
5.3 A kinetikai görbék elemzése

A kinetikai görbéket vizsgálva azt látjuk, hogy 280 nm-en egyszerű exponenciális lefutása van a reakciónak (4.a ábra). Ez nyilván a MCG bomlásának felel meg. Kisebb hullámhosszakon (240 nm alatt) a kinetikai görbék megváltoznak. 228 nm-en jól látszik, hogy szélsőértéke van a görbéknek (4.b ábra), ami egyértelműen köztitermék megjelenésére utal. Margerum és munkatársai ezt a jelenséget tévesen a DCG megjelenésével magyarázták. Valójában a két exponenciális tag összegével leírható kinetikai görbék két konszekutív elsőrendű reakciólépésre utalnak.

A kinetikai görbék illesztéséből kapott sebességi együtthatók értéke közel van egymáshoz: $k_1 = (3,2 \pm 0,3) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$; $k_2 = (1,2 \pm 0,1) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, ami bizonytalanná teszi 228 nm-en a két exponenciális tag együttes illesztését. Emiatt a sebességi állandók becslését úgy végeztük, hogy először 280 nm-en egyszerű exponenciális függvénnyel (15) illesztettük a görbéket, ebből megkaptuk a k_1 sebességi együtthatót. Ezt követően ezt az értéket rögzített adatként használtuk a 228 nm-en történő illesztéshez (16). Így kaptuk meg a k_2 sebességi együtthatót.

$$A = A_0 e^{-k_1 t} + A_\infty \quad (15)$$

$$A = A_1 e^{-k_1 t} + A_2 e^{-k_2 t} + A_\infty \quad (16)$$



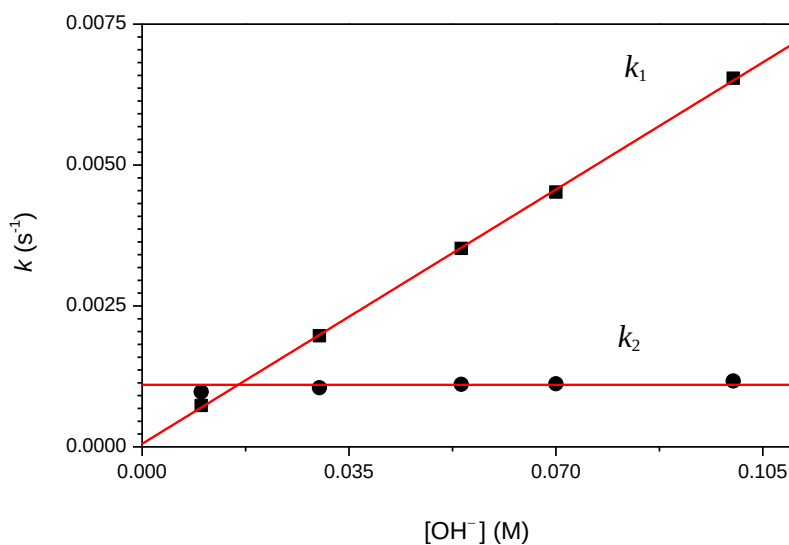
4. ábra Különböző glicin-felesleg alkalmazása mellett mért (diszkrét pontok) és illesztett (folytonos vonal) kinetikai görbék 280 nm-en (a) és 228 nm-en (b)

[MCG]= 3,00 mM; [Gly]_{fel.} = $1,50 \times 10^{-3} \text{ M}$; $3,00 \times 10^{-3} \text{ M}$; $1,20 \times 10^{-2} \text{ M}$; $2,70 \times 10^{-2} \text{ M}$,
pH = 12,73; $T = 25 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$; $I = 1,0 \text{ M}$

Az itt szereplő kinetikai görbéket állandó MCG-koncentráció mellett, de eltérő glicin-felesleget alkalmazva vettük fel. Érdekes, hogy a k_1 és k_2 nem függ a glicin mennyiségétől, mégis azt látjuk, hogy a végabszorbanciát befolyásolja, hogy milyen körülmények között tanulmányozzuk a reakciót. Ebből arra következtettünk, hogy a két elsőrendű lépés után olyan más folyamatok is lejátszódnak, melyek függenek a glicinfeleslegtől.

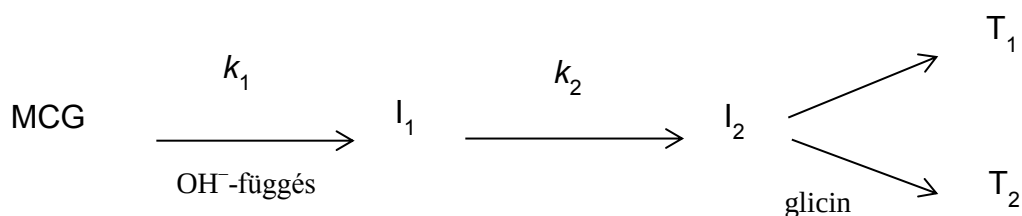
5.4 A reakciósebesség függése a hidroxidion-koncentrációtól

A sebességi együtthatók hidroxidion-koncentrációtól való függése azt mutatja, hogy a k_1 -gyel jelölt folyamat lineárisan függ az alkalmazott $[\text{OH}^-]$ -től, míg a k_2 -vel jelzett reakciólépés teljesen független ettől. (5. ábra)



5. ábra A pszeudo elsőrendű sebességi együtthatók függése a hidroxidion-koncentrációtól

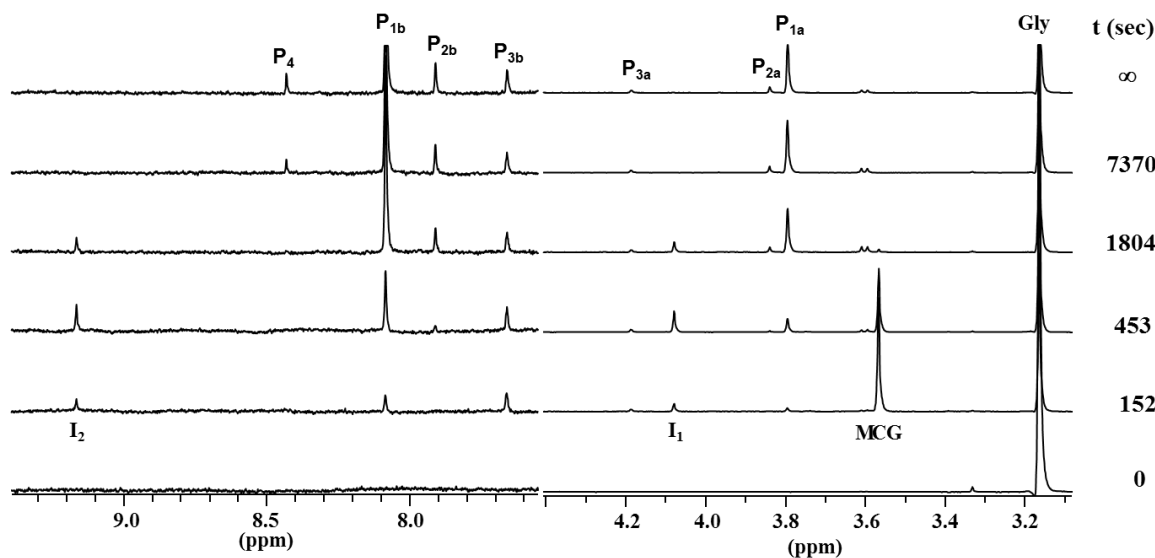
A MCG bomlását az eddigi eredmények alapján az 1. sémában bemutatott modell alapján értelmezhetjük:



1. séma

5.5 NMR-vizsgálatok

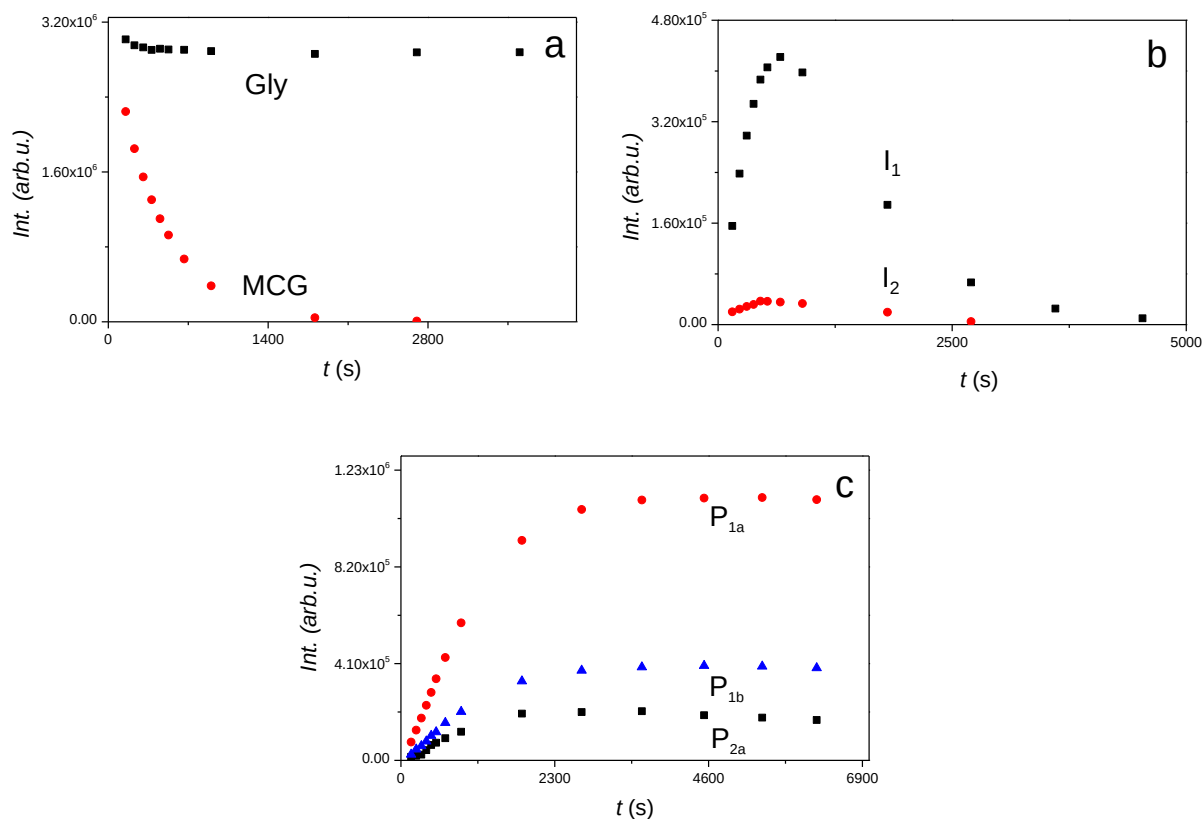
Tekintve, hogy a spektrofotometriás mérésekből nem tudtuk meghatározni a termékeket, illetve közttermékeket, NMR-méréseket végeztünk. Időfüggő ^1H -NMR spektrumok láthatók a 6. ábrán. A glicin és a monoklóramin 3,16 illetve 3,57 ppm-nél megjelenő jelei könnyen azonosíthatók.



6. ábra ^1H -NMR-spketrumok a reakcióidő függvényében

$[\text{MCG}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{fel.}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $\text{pH} = 12,73$; 400 MHz ; $T = 298 \text{ K}$

Vizsgáltuk a kapott jelek intenzitásának változását az idő függvényében. A MCG teljesen elbomlik a folyamatban 2600 s körül. A glicin mennyisége egy kezdeti csökkenést követően állandó értéken marad. Ezt mutatja a 7.a ábra. Amint az a 7.b ábrán látható, a 4,08 és 9,1 ppm-nél mért jelek intenzitása egy kezdeti növekedést követően csökken. Ez a kinetikai profil egyértelműen intermedierekhez rendelhető. A 7.c ábra a termékek jelének időbeli változását mutatja. A vártan megfelelően ezek a jelek telítési görbeszerűen változnak.

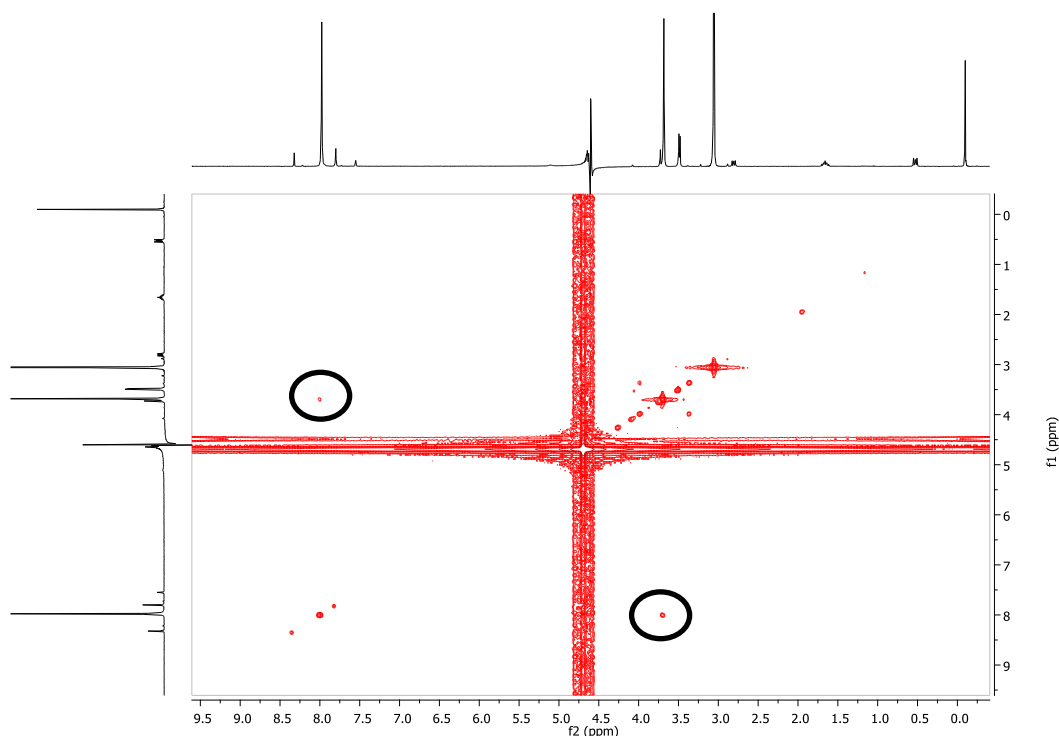


7. ábra Az MCG bomlása során az ^1H NMR-jelek intenzitásának időfüggése
 $[\text{MCG}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{fel.}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $\text{pH} = 12,73$; 400 MHz ; $T = 298 \text{ K}$

Sikerült megállapítanunk független kísérletekkel, hogy a P_{3a} és P_{3b} jelű csúcsok a glioxilsav és glicin között végbemenő reakcióban képződnek. Ezek a jelek a glicinfeleslegtől függően változnak. A képződött vegyület mennyisége a főtermék mennyiségéhez képest lényegesen kisebb. Így azt gondoljuk, hogy ez egy melléktermék, mely mennyisége az alkalmazott koncentrációviszonyoktól függ.

További kísérletekkel igazoltuk, hogy a P_4 termék a hangyasav, mely erősen lúgos közegben formiátionként van jelen a reakciórendszerben.

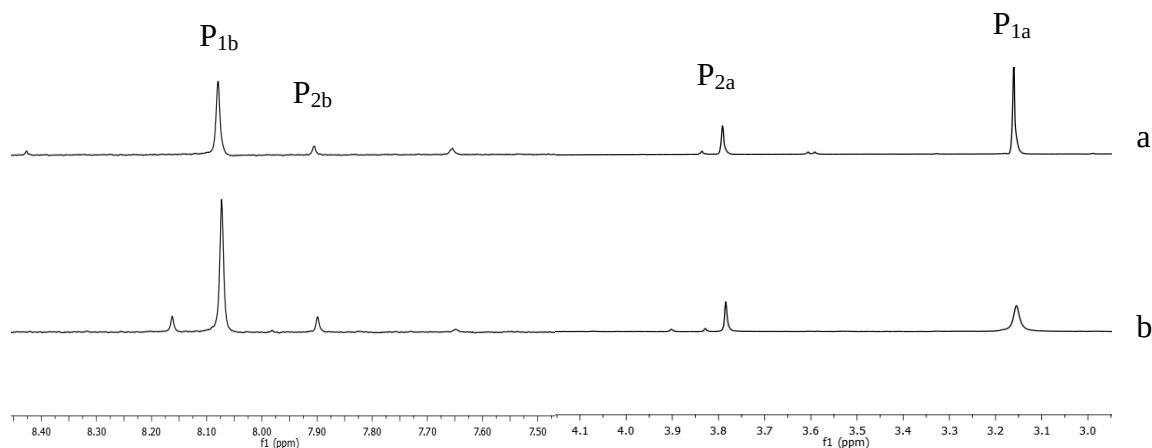
2D-NMR módszerek segítségével igazoltuk, hogy az azonos számozású csúcsok azonos molekulákhoz tartoznak.



8.ábra Az ^1H -NMR mérésekből kapott jelek közötti korreláció a COSY spektrumban
[MCG] = $1,00 \times 10^{-2}$ M; [Gly]_{fel.} = $1,00 \times 10^{-2}$ M; pH= 12,73; 400 MHz; $T = 298$ K

A legnagyobb intenzitású jelek a reakció lejátszódásakor P_{1a} és P_{1b} . Ezen csúcsok közötti korrelációt mutatja a COSY spektrum (8. ábra), bizonyítva, hogy ezek a jelek egy részecskéhez tartoznak.

Kísérletesen bizonyítottuk, hogy a főtermék jeleit a formaldehid és a glicin-monoklóramin között végbemenő folyamat eredményezi. A 9. ábrán az (a) spektrum a formaldehid-MCG reakcióban azonnal képződött termékhez tartozó csúcsokat mutatja, míg a (b) spektrumon a kinetikai vizsgálatok végállapotában kapott jeleket látjuk. Ez alapján egyértelmű hozzárendelést végezhetünk.



9. ábra A termékhez és annak izomerjéhez tartozó jelek az ^1H -NMR spektrumban

a. a formaldehid és MCG közötti reakcióban

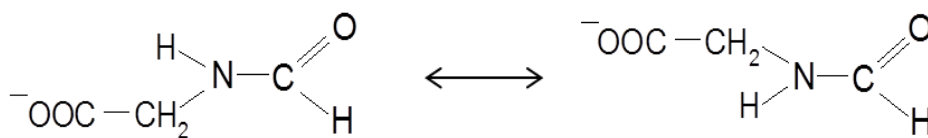
$[\text{HCHO}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{MCG}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{fel.}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $\text{pH} = 12,73$;

400 MHz ; $T = 298 \text{ K}$

b. a MCG bomlási reakciójának végállapotában

$[\text{MCG}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{fel.}} = 1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$; $\text{pH} = 12,73$; 400 MHz ; $T = 298 \text{ K}$

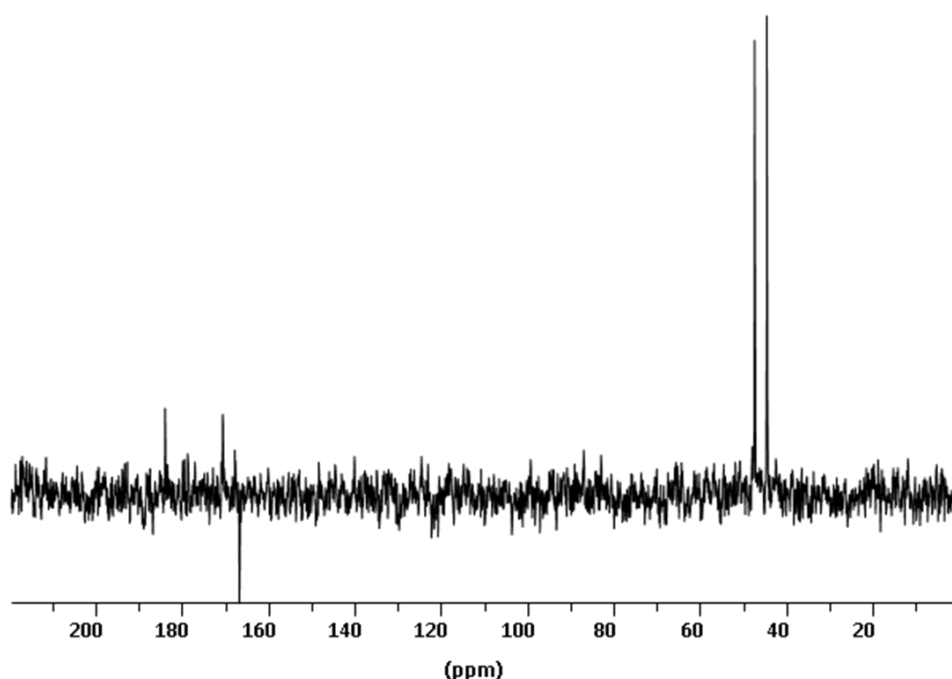
Feltételezésünk szerint a főtermék az N-formilglicin. Ehhez a molekulához rendeljük a P_{1a} (3,80 ppm) és P_{1b} (8,08 ppm) jelű csúcsokat az időfüggő NMR-spektrumban (6. ábra). Megjelenik ennek a molekulának az izomerje is (10. ábra), ami a P_{2a} (3,84 ppm) és P_{2b} (7,91 ppm) kis intenzitású jeleket eredményezi. Ez összhangban van a korábbi irodalmi eredményekkel.¹¹ Az izomerek aránya: 90:10.



10. ábra A feltételezett főtermék és izomerjének szerkezete

A ^{13}C -NMR spektrumban az alifás tartományban két jelet látunk (11. ábra). Ezek közül az egyik (45 ppm) a feleslegben lévő glicin metilén-csoportjától származik, míg a másik jel (50 ppm) a termékhez tartozó CH_2 -csoport jele. Fordított fázissal az a karbonil

szénatom jelenik meg, amelyhez egyetlen hidrogénatom kapcsolódik. Ez a termékben lévő formilcsoportot bizonyítja. A további két jel magasabb kémiai eltolódásnál a glicin, illetve a termék karboxilcsoportjában lévő karbonil szénhez tartozik. Ezek az eredmények is megegyeznek az irodalomban közöltekkel.¹¹



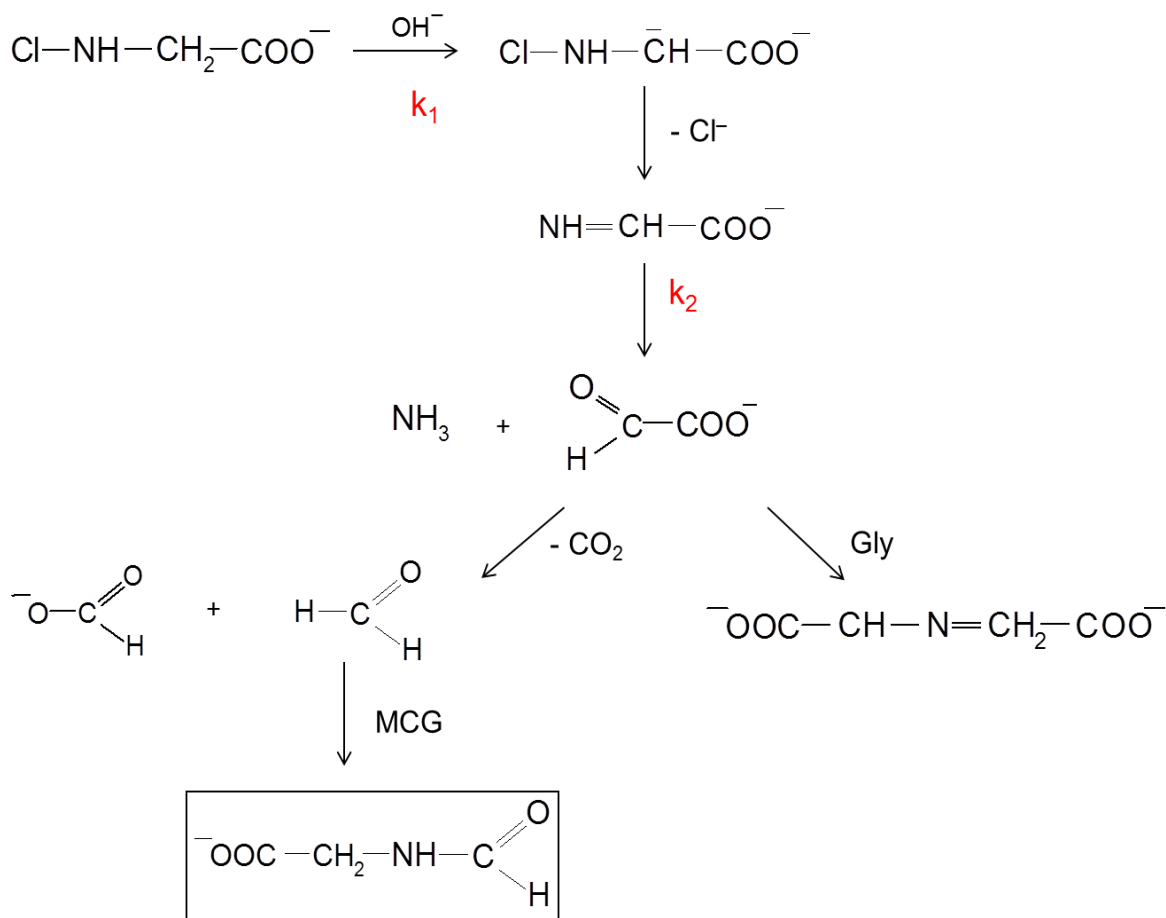
11.ábra ^{13}C -NMR spektrum a reakció végállapotában

$[\text{MCG}] = 0,10 \text{ M}$; $[\text{Gly}]_{\text{fel.}} = 0,05 \text{ M}$; $\text{pH} = 12,73$; 400 MHz ; $T = 298 \text{ K}$

5.6 Tömegspektrometriás kísérlet

Az NMR kísérletek mellett tömegspektrometriás mérést is végeztünk. Miután lejátszódott a reakció, a terméket analizáltuk. A tömegspektrumban 74 m/z értéknél jelenik meg a feleslegben lévő glicin, illetve 102 m/z értéknél látjuk a termék jelét negatív ionmódban. Ez is alátámasztja azt, hogy a termék az N-formilglicin. Di Mauro és munkatársai pozitív ionmódban a 103 m/z értéknél kapott jelet azonosították N-formilglicinként.¹¹

5.7 Mechanizmus



2. séma

A reakció feltételezett mechanizmusát a 2. séma mutatja be. A folyamat első lépése a kísérletek alapján hidroxidion-katalizált. Ekkor a MCG deprotonálódása következik be. A képződött dianion természetesen nem stabil, pillanatszerűen tovább alakul iminné. Ez viszonylag lassan ammóniára és glioxilsavra bomlik. A folyamat közben, illetve a reakció lejátszódásakor is ki tudtuk mutatni az ammóniát Nessler-Winkler reagens segítségével.

A glioxilsav mennyiségének egy része formiátiónná illetve formaldehiddé bomlik spontán dekarboxileződést követően. A formaldehid gyors reakcióban a MCG-nel a főterméket, az N-formilglicint eredményezi. A glioxilsav reagálhat emellett a glicinnel és így képződik a melléktermék.

Az intermedierek a formaldehid (I₂) illetve az imin (I₁).

6. Összefoglalás

Munkánk során erősen lúgos közegben vizsgáltuk a glicin-monoklóramin bomlásának kinetikáját és mechanizmusát.

A spektrofotometriás kísérletek során azt tapasztaltuk, hogy amíg a MCG abszorpció maximumán monoton csökken az abszorbancia, addig kisebb hullámhosszakon előbb nő majd csökken az abszorbancia. Ez összetett kinetikai jelenségre utal.

A kinetikai görbéket elemezve kisebb hullámhosszakon köztitermék megjelenését figyelhetjük meg. A kinetikai görbék -két konszekutív elsőrendű folyamatot feltételezve- jól illeszthetők két exponenciális függvény összegével. Az illesztéssel kapott sebességi együtthatók az alkalmazott glicin-feleslegtől függetlenek, ám a végső abszorbancia jelentősen függ a reaktánsok koncentrációarányától. Ez arra utal, hogy a sebességmeghatározó lépések után egy glicinfeleslegtől függő gyors reakció is lejátszódik.

NMR vizsgálatokkal detektáltuk a reakcióban résztvevő anyagfajtákat, valamint a jelek intenzitásának változását is követtük az idő függvényében. Sikerült meghatároznunk az intermedierek és termékek szerkezetét, majd a reakció mechanizmusát is fel tudtuk állítani.

Független kísérletekkel igazoltuk és alátámasztottuk, hogy a folyamat végterméke az N-formilglicin.

7. Irodalomjegyzék

- (1) Pullar J. M., Vissers M. C. M., Winterbourn C. C. *IUBMB Life*, **2000**, 50, 259
- (2) Szabó, M. *A piroszőlősav és klorition közötti redoxireakció kinetikája*; Debreceni Egyetem **2013**
- (3) White, G. C. *Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants*; Van Nostrand Reinhold: New York, **1992**.
- (4) Armesto. X.L.; Canle L. M., García M. V.; Losada M.; Santaballa, J. A., *J. Chem. Kin.* **1994**, 26, 1135.
- (5) Hand, V.C.; Snyder M. P.; Margerum, D.W. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 4022.
- (6) Stanbro, W. D.; Smith, W.D. *Environ. Sci Technol.* **1979**, 13, 446.
- (7) Gordon, G.; Tewari, P. H. *J. Phys. Chem.* **1966**, 70, 200.
- (8) Gordon, G.; Kieffer, R. G.; Rosenblatt, D. H. *In Progress in Inorganic Chemistry*; Lippard, S. J.; Ed.; Wiley-Interscience: New York, **1972**; 15, 201
- (9) Adam, L. C.; Fábián, I.; Suzuki, K.; Gordon, G. *Inorg. Chem.***1992**, 31, 3534.
- (10) Peintler, G., Nagypál, I., Jancsó, A.; Epstein, I.R.; Kustin, K.; *J.Phys Chem. A.* **1997**. 101, 8013.
- (11) Saladino, R.; Crestini, C., Neri, V.; Ciciriello, F., Constanzo, G., Mauro E. D.; *ChemBioChem* **2006**, 7, 1707.

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Fábíán Istvánnak, hogy a kutatáshoz minden szükséges feltételt biztosított.

Az NMR-méréseket Dr. Baranyai Zsolt végezte, ezúton köszönöm meg a segítségét, mellyel a kutatómunkám haladását elősegítette.

Az anyagi támogatásért köszönetet mondok az alábbi pályázatoknak:
OTKA: NK105156; ENVIKUT: TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0043.