
Lazar Vuković

Sinteza i primena polimera na bazi 4-vinilpiridina ili alilamina kao sorbenata pri HPLC/MS analizi atrazina i terbutilazina u jabukama i paradajzu

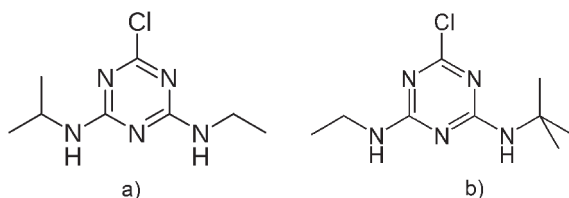
Sintetisana su četiri polimera koristeći alilamin (AA) ili 4-vinilpiridin (4VP) kao monomere i etilenglikol-dimetakrilat (EGDMA) ili divinilbenzen (DVB) kao umreživače. AA i 4VP mogu da ostvaruju međumolekulske interakcije sa molekulima ugljenih hidrata i masnih kiselina, te je potencijalno moguća njihova primena kao sorbenata za solid-phase ekstrakciju pri analizi pesticida pošto ove grupe jedinjenja predstavljaju smetnju pri instrumentalnom određivanju pesticida. Kao najbolji polimer za sorbent je odabran polimer napravljen od 4VP i EGDMA koji apsorbuje najmanje atrazina i terbutilazina iz rastvora, a vezuje ugljene hidrate i masne kiseline. GC/MS analizom je pokazano da ovaj polimer vezuje 80% ugljenih hidrata iz jabuke, tj. 70% ugljenih hidrata i 30% masnih kiselina iz paradajza. Određivani su atrazin i terbutilazin u jabukama i paradajzu pomoću HPLC/MS, u tri koncentracije (10, 50 i 75 ng/g) i relativne greške određivanja iznose od 5 do 15% za atrazin u jabukama, 2 do 26% za terbutilazin u jabukama, 1 do 10% za atrazin u paradajzu i 8 do 23% za terbutilazin u paradajzu. Iz ovih rezultata zaključeno je da se sintetisani polimer može koristiti kao sorbent pri analizi odabranih pesticida u paradajzu i jabukama, pri čemu je korišćenje polimera višestruko jeftinije od komercijalnih sorbenata.

Uvod

Pesticidi su hemijska sredstva koja se koriste za zaštitu biljaka, životinja i ljudi od dejstva nepovoljnih biotičkih faktora (štetočina, parazita, insekata, mikroorganizama, korova, biljnih bolesti). Ove supstance danas imaju sve širu primenu zbog toga što se povećava broj ljudi koji žive u uslovima hronične nestašice hrane, pa se njihovom upotrebom povećava prinos gajenih biljaka i dalje štite prehrambeni proizvodi. Pored svoje očigledne korisnosti, pesticidi mogu imati i nepovoljan sporedni uticaj na različite organizme i čoveka. Zbog toga se njihova upotreba zakonski ograničava, a količina u hrani i zemljištu stalno nadzire. Po hemijskom sastavu mogu biti elementi (sumpor), neorganska jedinjenja (plavi kamen, fosfiti zemno-

Lazar Vuković
(2000), Požega, Bana
Milutina bb, učenik 1.
razreda Gimnazije
„Sveti Sava” u
Požegi

MENTOR: Miloš
Pešić, ISP



Slika 1.
a) atrazin
b) terbutilazin

Figure 1.
a) atrazine
b) terbutylazine

alkalnih metala, polisulfidi) i organska jedinjenja u koja spada najveći broj pesticida (Krsmanović *et al.* 1987).

Atrazin (2-hlor-3-etilamino-6-izopropilamino-1,3,5-triazin) i terbutilazin (2-terc-butilamino-4-hlor-6-etilamino-1,3,5-triazin) su herbicidi iz grupe triazina (slika 1). To su selektivni i totalni herbicidi za suzbijanje korova u fazi klijanja, na koje deluju preko korena (oba) i listova (samo atrazin). Oni inhibiraju fiksaciju CO₂, transport elektrona, a na taj način i fotosintezu. U neotpornim biljkama se akumuliraju i dovode do hloroze i uginuća, dok ih otporne biljke metabolišu. Atrazin spada u IV grupu otrova, a terbutilazin u III, na osnovu prosečne smrtno doze u mg/kg telesne mase mužjaka pacova. U ljudskom organizmu najveći deo unesenih atrazina i terbutilazina i njihovih metabolita izlučuje se sa mokraćom ili fecesom u roku od 24–48 h (Janjić 1996). Akutno su toksični, a hronična izloženost može izazvati poremećaje u endokrinom sistemu i sistemu organa za razmnožavanje, ali i druge tegobe. Njihova karcinogenost kod ljudi nije dokazana (ATSDR 2003). Oba herbicida su veoma štetna za životnu sredinu, naročito vodene organizme. U našoj zemlji maksimalna dozvoljena koncentracija atrazina u voću i povrću iznosi 0.05 mg/kg, dok za terbutilazin iznosi 0.1 mg/kg (Janjić 1996).

Određivanje količine pesticida u uzorku voća vrši se u nekoliko faza: ekstrakcija uzorka, prečišćavanje ekstrakta i hromatografska analiza (GC/MS ili HPLC/MS). Ekstrakcija uzoraka najčešće se vrši nekim organskim rastvaračem. Za prečišćavanje ekstrakta mogu se koristiti kolone za solid-phase ekstrakciju, kao i kertridži za disperzivnu SPE. Sorbenti koji se nalaze u kolonama ili kertridžima mogu da adsorbuju pesticide, ili druge neželjene supstance koje se nalaze u ekstraktu (SZZZ 1989). Na ovaj način uklanjaju se pre svega šećeri i masti koji nisu poželjni u HPLC/MS i GC/MS sistemu jer ometaju detekciju i mogu oštetiti sam uređaj. Neki od čestih sorbenata su različite modifikacije silika gela, PSA (primary secondary amine), SAX (strong anion exchange) i dr. (Lehotay *et al.* 2002; Shia *et al.* 2008; Schultz *et al.* 2012).

Cilj ovog rada je sinteza polimera koji bi zamenili komercijalne kolone i kertridže za prečišćavanje ekstrakata voća i povrća solid-phase ekstrakcijom.

Materijal i metode

Sinteza polimera. Odabrani su monomeri koji u sebi sadrže amino-grupe (alilamin) i piridil-grupe (4-vinilpiridin), za koje je pretpostavljeno da će ostvarivati različite međumolekulske interakcije (vodonične veze, π - π i

jonske interakcije) sa molekulima masnih kiselina i ugljenih hidrata. Sintetisana su četiri polimera kombinacijom monomera (alilamina i 4-vinilpiridina) i umreživača (divinilbenzena i etilen-glikol-dimetakrilata).

Monomeri i umreživači pomešani su u molarnom odnosu 1 : 5 tako da se dobije 3 g polimera. Sastav polimera prikazan je u tabeli 1. Dodato je po 30.0 mg inicijatora azobisisobutironitrila (AIBN) i 2.000 mL metanola.

Tabela 1. Sastav sintetisanih polimera

Polimer	Monomer	Odmerena zapremina monomera (μL)	Umreživač	Odmerena zapremina umreživača (μL)
1	Alilamin	315	Divinilbenzen	3020
2	4-vinilpiridin	430	Divinilbenzen	2825
3	Alilamin	215	EGDMA	2700
4	4-vinilpiridin	295	EGDMA	2580

Da bi se uklonio kiseonik koji inhibira polimerizaciju, suspenzije su stavljene u ultrazvučno kupatilo na 10 min, a onda su zagrevane u uljanom kupatilu na 60°C 12 h. Dobijeni polimeri su sprášeni tučkom u avanu. Isprani su tri puta sa po 6 mL metanola tako što su smeše polimera i metanola vorteksovane 15 min, centrifugirane 10 min na 10 000 obrtaja, a nakon toga supernatanti odliveni. Nakon trećeg ispiranja ostavljeni su da se suše na sahatnom staklu oko 12 h, a posle toga su izmereni.

Ispitivanje najniže koncentracije atrazina koja može biti kvantifikovana na HPLC/MS-u. Na HPLC-u ispitivana je detekcija atrazina u rastvorima u metanolu koncentracija 10, 5 i 1 μg/mL. Nakon toga je na MS-u ispitivana najniža koncentracija koju maseni spektrometar može da detektuje i koju je moguće kvantifikovati. Analiziran je rastvor najniže detektovane koncentracije više puta, sa različitim injektovanim zapreminama i različitim mobilnim fazama, kako bi se optimizovala metoda.

Utvrđivanje količine atrazina koju apsorbuju polimeri i komercijalni sorbenti. Ispitivano je koliko atrazina apsorbuju polimeri iz rastvora koncentracija 1 μg/mL i 50 ng/mL u ACN i CH₃OH. Na 50.0 mg (±0.1 mg) polimera dodato je 1.000 mL rastvora, smeše su vorteksovane 5 min i centrifugirane 5 min na 10 000 obrtaja/min. Supernatant je odvojen za HPLC/MS analizu. Analizirani su i sami rastvori kao negativna kontrola. Pored sintetisanih polimera apsorpcija atrazina analizirana je i kod dva komercijalna kertridža, Agilent Bond Elut 5982-5456, koji sadrži 400 mg PSA, 400 mg ugljenika, 400 mg C18EC silika-gela i 1200 mg MgSO₄ (u daljem tekstu sorbent 5456) i Agilent Bond Elut 5982-4956, 150 mg C18 silika-gela i 900 mg MgSO₄ (u daljem tekstu sorbent 4956). Svakim kertridžom prečišćeno je 8.0 mL rastvora koncentracija 1 μg/mL i 50 ng/mL. Kivete sa sorbentima i rastvorima su ručno mučkane 1 min, a zatim centrifugirane 5 min na 10 000 obrtaja/min. Supernatant je analiziran pomoću HPLC/MS.

Određivanje količine ugljenih hidrata i masnih kiselina iz jabuka i paradajza koju apsorbuje polimer i komercijalni kertridži pomoću GC/MS. Ekstrakti su pripremljeni tako što su plodovi homogenizovani u blenderu, a po 15.0 g (± 0.1 g) je odmereno za ekstrakciju. Dodato je 50 μL rastvora atrazina koncentracije 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$, a samleveni plodovi su ekstrahovani sa 15.0 mL 1% rastvorom CH_3COOH u acetonitrilu (V/V). Ekstrakti su sušeni sa po 6.0 g MgSO_4 i 1.5 g CH_3COONa . Smeše su ručno mučkane 1 min, a potom centrifugirane 5 min na 4000 obrtaja/min. Supernatant sirovog ekstrakta je osušen i odliven za analizu.

Sirovi ekstrakti jabuke i paradajza su analizirani pomoću GC/MS da bi se utvrdilo koliko su prečišćeni polimerom 4, sorbentom 4956 i amino kolonama. Korišćene su amino-koline Waters Sep-Pak Light NH_2 koje sadrže 130 g sorbenta (modifikovani silika-gel sa aminopropil-grupama). Za 400 mg (± 1 mg) polimera 4 i 1.2 g MgSO_4 odvojeno je 6.0 mL ekstrakta, a za jedan kertridž 4956 8.0 mL. Nakon vorteksovanja 1 min i centrifugiranja 5 min na 4000 obrtaja/min odliven je supernatant prečišćenog ekstrakta za analizu. Kroz amino-kolonu propušteno je oko 2 mL ekstrakta koji je dodatno sušen koristeći MgSO_4 (Schultz *et al.* 2012). Dodatna priprema za GC/MS analizu uključuje derivatizaciju reagensom BSTFA (N, O-bistrimetilsililtrifluoroacetamid), tako što se na 50 μL prečišćenog (ili sirovog) ekstrakta dodaje 150 μL BSTFA. Potom se takvi ekstrakti zagrevaju na 60°C 30 min, a nakon toga mogu se analizirati gasnom hromatografijom. Korišćeni su Agilent Technologies 7890A GC System, Agilent Technologies 240 Ion Trap GC/MS i kolona Agilent J&W VF-5ms Capillary GC Column. Korišćena je sledeća metoda: injektovana zapremina od 10 μL , temperatura inleta 250°C, početna temperatura kolone 40°C koja se povećava 7°C/min i dostiže maksimalnu temperaturu 310°C na kojoj ostaje još 10 min.

HPLC/MS analiza atrazina i terbutilazina. Korišćeni su Agilent Technologies 1260 infinity HPLC, Agilent Technologies 6130 Quadrupole LC/MS i kolona ZORBAX Eclipse XD8-C18 Rapid Resolution HT, veličine 4.6 \times 50 mm, veličine čestica 1.8 μm . Korišćena metoda za HPLC/MS analizu podrazumeva – protok 0.500 mL/min, vreme 6 min, rastvarači acetonitril i voda (na početku u odnosu 1 : 1, onda se udeo acetonitrila povećava i u petom minutu dostiže 100%, a zatim ispiranje traje još 1 minut samo acetonitrilom), injektovana zapremina 10 μL , temperatura kolone 25°C, a na masenom spektrometru praćena je masa molekula 216.10, dok je jonizacija vršena elektrosprejom. Ekstrakcija je vršena isto kao i za GC/MS, ali sa različitim koncentracijama pesticida tako što su dodavane različite zapremine rastvora – 10, 50 ili 75 μL rastvora atrazina ili terbutilazina u metanolu koncentracije 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$, odnosno ista zapremina metanola za negativnu kontrolu. Za prečišćavanje polimerom odvajano je 1.500 mL ekstrakta na 100.0 mg (± 0.1 mg) polimera 4 i 300 mg MgSO_4 . Za amino-kolone i Agilent Bond Elut 5982-4956 napravljena su po dva ekstrakta za jabuku i paradajz. U jedan je dodato po 50 μL rastvora atrazina i terbutilazina koncentracija 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dok je drugi bio blank. Amino-kolonama prečišćavano je 1.5 mL ekstrakta koji je naknadno sušen MgSO_4 , a za Agilent Bond Elut 5982-4956 odvajano je 8.0 mL ekstrakta. Nakon centrifugi-

ranja odlivano je po 700 μL supernatanta za HPLC/MS analizu. Analizirani su i sirovi ekstrakti bez pesticida i sa koncentracijom 50 ng/mL koji su prethodno osušeni dodatno magnezijum-sulfatom. Koncentracije su određivane pomoću kalibracione prave koja je konstruisana analiziranjem po 9 rastvora atrazina i terbutilazina koncentracija od 1 do 100 ng/mL.

Rezultati i diskusija

Sinteza polimera. Sintetisano je četiri polimera u prinosima od 37-79%. Mase i prinosi dobijenih polimera su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Mase dobijenih polimera i prinosi reakcija polimerizacije

Polimer	Masa polimera (g)	Prinos reakcije (%)
1	1.4295	48
2	1.1244	37
3	2.1236	71
4	2.3790	79
4 (ponovljeno)	6.0682	100

Prinosi reakcija su niski u odnosu na očekivane, usled gubitaka pri usitnjavanju i ispiranju polimera. Ponovnom sintezom polimera 4 i pažljivijim radom, dobijen je prinos od 100%.

Ispitivanje najniže koncentracije atrazina koja može biti kvantifikovana na HPLC/MS-u. Utvrđeno je da je najniža koncentracija koja se može kvantifikovati pomoću masenog spektrometra 2.5 ng/mL, uz injektovanu zapreminu od 10 μL . Rastvor ove koncentracije je analiziran injektujući različite zapremine i ustanovljeno je da površina ispod pika linearno zavisi od injektovane zapremine, što je očekivano. Najbolji rezultati su dobijeni koristeći smešu vode i acetonitrila kao mobilnu fazu.

Utvrđivanje količine atrazina koju apsorbuju polimeri i komercijalni sorbenti. U tabelama 3 i 4 vide se rezultati testiranja apsorpcije atrazina sa 4 polimera i dva komercijalna sorbenta. Korišćeni su acetonitril i metanol kao rastvarači i rastvori koncentracija 1 $\mu\text{g/mL}$ i 50 ng/mL. HPLC/MS analiza vršena je za svaki od uzoraka dvaput.

Iz rezultata se vidi da od sintetisanih polimera četvrti i drugi najmanje apsorbuju atrazin. Polimer 2 ima velike standardne devijacije između rezultata (najveća čak 11%), pa ti rezultati nisu veoma pouzdani. Naravno treba istaći da je pri koncentraciji 50 ng/mL koristeći polimer 4 ostvaren odziv od 100% sa standardnom devijacijom od samo 0.3% što je veoma dobar rezultat, pogotovo pri ovako niskoj koncentraciji. Na osnovu toga, ispitivanja su nastavljena sa polimerom 4. Od dva komercijalna sorbenta manje atrazina apsorbuje Agilent Bond Elut 4956, te je on i dalje korišćen kao pozitivna kontrola.

Tabela 3. Koncentracije neapsorbovanog atrazina u rastvorima u acetonitrilu nakon prečišćavanja sorbentima

Polimer / sorbent	Rastvor 1 µg/mL		Rastvor 50 ng/mL	
	koncentracija (µg/mL)	procenat	koncentracija (ng/mL)	procenat
Polimer 1 u ACN	0.96±0.12	96±12	45.6±0.8	91.2±1.6
Polimer 2 u ACN	1.01±0.11	101±11	47.8±1.7	96±3
Polimer 3 u ACN	0.77±0.03	77±3	40.09±0.07	80.2±0.1
Polimer 4 u ACN	0.93±0.03	93±3	50.02±0.16	100.0±0.3
Agilent Bond Elut 4956 u ACN	0.99±0.01	99.1±0.6	47±2	95±5
Agilent Bond Elut 5456 u ACN	0.84±0.01	83.6±1.4	41.3±1.3	83±3

Tabela 4. Koncentracije neapsorbovanog atrazina u rastvorima u metanolu nakon prečišćavanja sorbentima

Polimer / sorbent	Rastvor 1 µg/mL		Rastvor 50 ng/mL	
	koncentracija (µg/mL)	procenat	koncentracija (ng/mL)	procenat
Polimer 1 u CH ₃ OH	0.78±0.03	78±3	45±1	90±2
Polimer 2 u CH ₃ OH	0.93±0.06	93±6	48.75±0.03	97.5±0.1
Polimer 3 u CH ₃ OH	0.78±0.02	78.4±1.8	39.3±0.5	79±1
Polimer 4 u CH ₃ OH	0.94±0.01	93±3	51.4±1.9	103±4

Određivanje količine ugljenih hidrata i masnih kiselina koju apsorbuju polimer i komercijalni kertridži iz jabuka i paradajza pomoću GC/MS. Analizirani su prečišćeni i neprečišćeni ekstrakti jabuke i paradajza bez dodavanja pesticida. Rezultati koji predstavljaju srednju vrednost dve analize vide se u tabeli 5.

Tabela 5. Količina ugljenih hidrata i lipida koja je ostala u ekstraktima nakon prečišćavanja

Sorbent	Procenat ugljenih hidrata u odnosu na:		Procenat masnih kiselina u odnosu na neprečišćen ekstrakt paradajza
	neprečišćen ekstrakt jabuke	neprečišćen ekstrakt paradajza	
Polimer 4	21±4	29±7	70±10
Amino-kolona	11±8	24.0±0.8	140±20
Sorbent 4956	80±30	88±4	100±20

Iz rezultata GC/MS analize može se uočiti da se ekstrakt najbolje prečišćava od ugljenih hidrata koristeći amino-kolone (apsorbovano oko 89%), nešto lošije polimerom 4 (apsorbovano oko 79%), dok sorbent 4956 apsorbuje veoma malo šećera (oko 20%). Masne kiseline ni jedan od sorbenata ne apsorbuje naročito dobro (razlog tome može biti njihova veoma niska koncentracija), ali se ipak najbolje pokazao polimer 4 (apsorbovano oko 30%).

HPLC/MS analiza atrazina i terbutilazina. Pomoću HPLC/MS analizirana je koncentracija atrazina i terbutilazina u sirovim i ekstraktima prečišćenim amino-kolonama, sorbentom 4956 i polimerom 4, i to u četiri ponavljanja. Za svako ponavljanje konstruisana je kalibraciona prava preko koje je određivana koncentracija pesticida u svakom uzroku. Rezultati ovih analiza vide se u tabelama 6–9.

Tabela 6. Koncentracije atrazina u ekstraktima jabuke

Analizirani ekstrakti jabuke	Dodata koncentracija rastvora atrazina (ng/mL)	Koncentracija atrazina (ng/mL)	Standardna devijacija u merenju (ng/mL)
Sirovi ekstrakt bez rastvora pesticida	0	0	
Sirovi ekstrakt sa rastvorom pesticida	50	51.5	2.8
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	10	10.5	0.8
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	50	57.6	5.8
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	75	82.6	10.3
Ekstrakt prečišćen sorbentom 4956	50	48.3	2.7
Ekstrakt prečišćen amino-kolonom	50	49.6	3.4

Tabela 7. Koncentracije terbutilazina u ekstraktima jabuke

Analizirani ekstrakti jabuke	Dodata koncentracija rastvora atrazina (ng/mL)	Koncentracija atrazina (ng/mL)	Standardna devijacija u merenju (ng/mL)
Sirovi ekstrakt bez rastvora pesticida	0	0	
Sirovi ekstrakt sa rastvorom pesticida	50	56.0	3.8
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	10	7.2	0.6
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	50	51.2	3.3
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	75	85.1	8.5
Ekstrakt prečišćen sorbentom 4956	50	46.8	3.0
Ekstrakt prečišćen amino-kolonom	50	47.5	2.0

Tabela 8. Koncentracije atrazina u ekstraktima paradajza

Analizirani ekstrakti paradajza	Dodata koncentracija rastvora atrazina (ng/mL)	Koncentracija atrazina (ng/mL)	Standardna devijacija u merenju (ng/mL)
Sirovi ekstrakt bez rastvora pesticida	0	0	
Sirovi ekstrakt sa rastvorom pesticida	50	45.3	5.9
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	10	9.9	1.5
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	50	50.6	4.7
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	75	82.3	7.2
Ekstrakt prečišćen sorbentom 4956	50	39.7	7.0
Ekstrakt prečišćen amino-kolonom	50	41.8	6.7

Tabela 9. Koncentracije terbutilazina u ekstraktima paradajza

Analizirani ekstrakti paradajza	Dodata koncentracija rastvora atrazina (ng/mL)	Koncentracija atrazina (ng/mL)	Standardna devijacija u merenju (ng/mL)
Sirovi ekstrakt bez rastvora pesticida	0	0	
Sirovi ekstrakt sa rastvorom pesticida	50	47.5	6.4
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	10	7.7	1.2
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	50	46.1	5.9
Ekstrakt prečišćen polimerom 4	75	72.8	7.3
Ekstrakt prečišćen sorbentom 4956	50	39.5	6.0
Ekstrakt prečišćen amino-kolonom	50	43.4	3.6

Korišćena koncentracija za analize sa svim sorbentima je 50 ng/mL, jer je to koncentracija koja je ustanovljena kao zakonska granica za atrazin. Sa polimerom 4 rađene su dodatne analize na koncentracijama od 10 i 75 ng/mL da bi se mogle uporediti tačnosti merenja. Polimer 4 samo u slučaju prečišćavanja ekstrakta jabuke sa atrazinom u koncentraciji 50 ng/mL ima veću standardnu devijaciju i neprecizniji rezultat u odnosu na neprečišćen ekstrakt, dok je u ostalim slučajevima određivanje pesticida preciznije u prečišćenim ekstraktima. Pri koncentraciji 10 ng/mL polimer 4 beleži lošije rezultate i manje standardne devijacije u analizi terbutilazina u poređenju sa atrazinom, dok veće standardne devijacije ostvaruje u prečišćenim ekstraktima paradajza nasuprot ekstraktima jabuke. Pri koncentraciji od 75 ng/mL određivanje pesticida nije naročito precizno sa standardnim devijacijama između rezultata od 7 do 10 ng/mL, koje su nešto manje kada su u pitanju ekstrakti paradajza. Sorbent 4956 u ekstraktima jabuke daje relativno tačne rezultate, preciznije od sirovog ekstrakta, dok je koncentracija

očitanu posle čišćenja ekstrakata paradajza znatno manja od očekivane i sa velikim standardnim devijacijama (7 i 6 ng/mL). Prečišćavanje ekstrakata paradajza amino-kolonom daje niže rezultate od sirovog ekstrakta i veće standardne devijacije u poređenju sa ekstraktima jabuke, dok gledajući pesticide veće standardne devijacije amino-kolona ostvaruje prečišćavajući ekstrakte sa atrazinom.

Treba naglasiti da HPLC/MS sistem koji je korišćen nije sasvim pogodan za preciznu kvantifikaciju ovih rezultata, i da se analize pesticida u voću i povrću uglavnom rade pomoću odgovarajućeg gasnog hromatografa koji nije bio dostupan u ovom slučaju.

Kada su preračunati troškovi za prečišćavanje ekstrakta polimerom 4, sorbentom 4956 i amino-kolonom, podrazumevajući da je način određivanja pesticida isti u sva tri slučaja i da je jedina razlika sorbent, dobijen je rezultat da je prečišćavanje iste zapremine ekstrakta polimerom 4 nešto više od dva puta jeftinije nego sorbentom 4956 i preko 10 puta jeftinije u odnosu na amino-kolone.

Zaključak

Sintetisana su 4 polimera za koje je pretpostavljeno da ostvaruju međumolekulske interakcije sa ugljenim hidratima i masnim kiselinama. Prinosi reakcija polimerizacije bili su 37–79%, dok je ponovnom sintezom polimera 4 dobijen teorijski prinos. Od četiri sintetisana polimera, utvrđeno je da polimer u čijem su sastavu 4-vinilpiridin i EGDMA apsorbuje najmanje količine atrazina. GC/MS analizom utvrđeno je koliko odabrani polimer i komercijalni sorbenti apsorbuju ugljenih hidrata i masnih kiselina. U toj analizi za polimer su dobijeni sledeći rezultati – apsorbovano je 80% ugljenih hidrata iz jabuke i 70% iz paradajza, dok je za masne kiseline iz paradajza ostvaren rezultat od oko 30%. Ispitivanjem pomoću HPLC/MS upoređivane su koncentracije pesticida u prečišćenim i neprečišćenim ekstraktima jabuke i paradajza. Utvrđeno je da tretiranje polimerom 4 poboljšava preciznost kvantifikacije koncentracije pesticida u većini slučajeva, osim u slučaju atrazina u ekstraktu jabuke. Amino-kolona i sorbent 4956 ostvaruju dobre rezultate u prečišćavanju ekstrakta jabuke, dok se posle prečišćavanja ekstrakata paradajza u njihovom slučaju očitava niža koncentracija pesticida od one u neprečišćenom ekstraktu, kao i veće standardne devijacije. Iz ovih rezultata se može reći da je upotreba polimera koji se sastoji od 4-vinilpiridina i EGDMA kao sorbenta za SPE pesticida moguća. Izračunato je da je cena prečišćavanja iste zapremine ekstrakta ovim polimerom manja više od dva puta od cene prečišćavanja sorbentom 4956 i preko 10 puta od cene prečišćavanja amino-kolonom.

Literatura

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 2003. *Toxicological profile for atrazine*. U. S. department of health and public services
- Fu R. 2008. *Analysis of atrazine in drinking water at the ppb level using new Agilent reversed phase LC columns*. Agilent technologies
- Janjić V. 1996. *Triazinski herbicidi*. Beograd: Institut za istraživanja u poljoprivredi
- Krsmanović V., Pfenđ P., Vitorović D. 1987. *Primenjena hemija*. Beograd: Naučna knjiga
- Lehotay S., Schenck F., Vega V. 2002. Comparison of solid-phase extraction sorbents for cleanup in pesticide residue analysis of fresh fruits and vegetables. *Journal of separation science*, **25**: 883.
- SZZZ (Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu) 1989. *Pesticidi u hrani (standardne metode za određivanje pesticida u namirnicama)*. Beograd: Privredni pregled
- Shia J., Young M., Diehl D. 2008. *Multi-residue analysis of pesticides in fruits using DisQuE, a dispersive solid-phase extraction kit*. Milford (Massachusetts): Waters corporation
- Schultz D., Stevens J., Zhao L. 2012. *Analysis of pesticide residues in apple using Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC kits by GC/MS*. Agilent technologies

Lazar Vuković

Synthesis of Polymers Based on Allylamine or 4-vinylpyridine and Their Use as Sorbents in HPLC/MS Analysis of Atrazine and Terbutylazine in Apples and Tomatoes

Four polymers were synthesized using allylamine (AA) or 4-vinylpyridine (4-VP) as monomers and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) or divinylbenzene (DVB) as crosslinking agents. AA and 4VP can engage in intermolecular interactions with the functional groups of carbohydrates and fatty acids. Seeing that these classes of compounds can obstruct the instrumental analysis of pesticides, AA and 4VP can possibly be used in solid-phase extraction of pesticides. The polymer consisting of 4VP and EGDMA was chosen to be tested as a sorbent, because it absorbed the smallest amount of atrazine and terbutylazine from solutions. It was deter-

mined by GC/MS that the chosen polymer absorbs 90 percent of carbohydrates from the apple extract, along with 70 percent of carbohydrates and 30 percent of fatty acids from the tomato extract. Atrazine and terbuthylazine were determined in apples and tomatoes, in three different concentrations (10, 50 I 75 ng/g) and the measurement errors were 5 to 15 percent for atrazine in apple, 2 to 26 percent for terbuthylazine in apple, 1 to 10 percent for atrazine in tomato, and 8 to 23 percent for terbuthylazine in tomato. Considering these results, it was concluded that the synthesized polymer can be used as a sorbent in solid-phase extraction of the chosen pesticides in tomatoes and apples, and using the polymer for this purpose is much cheaper than using commercial sorbents.



Analiza titelskog lesa i ispitivanje njegovih sorpcionih svojstava jonima teških metala Pb^{2+} i Cd^{2+}

Uzorak stene sa Titelskog brega je podvrgnut silikatnoj analizi. Na uzorku je praćena zavisnost sorpcije jona olova i kadmijuma od vremena sorpcije i pH vrednosti. Rezultati silikatne analize pokazuju da stena sa Titelskog brega sadrži: 58% SiO_2 , 14% Al_2O_3 , TiO_2 i P_2O_5 , 5% gvožđa, 0,06% MnO , 5,4% CaO , 1,6% Na_2O , 1,9% K_2O i 1,2% H_2O . Nakon 90 minuta od početka sorpcije, les je adsorbovao 52% jona olova i 95% jona kadmijuma iz njihovih rastvora, a 65% jona olova i 54% jona kadmijuma iz rastvora u kome je bilo jona oba metala (pH vrednost nije merena). Efikasnost sorpcije je ispitivana na pH vrednostima 3,0, 4,0 i 5,0. Za jone olova sorpcija se pokazala najefikasnijom na pH 4 (84%), a za jone kadmijuma na pH 5 (54%), zavisno od kontaktnog vremena. Sorpcija jona olova iz zajedničkog rastvora bila je najefikasnija na pH 4 (91%), a za jone kadmijuma na pH 5 (91%). Titelski les se pokazao kao bolji sorbent kadmijuma iz vodenog rastvora, dok je na optimalnoj pH vrednosti efikasnija sorpcija jona olova.

Uvod

Olovo i kadmijum su hemijski elementi okarakterisani velikim kancerogenim dejstvom. Osim toga što su kancerogeni, olovo negativno utiče i na nervni i reproduktivni sistem čoveka, kao i na bubrege, dok dugotrajna izloženost kadmijumu štetno utiče na bubrege, jetru, kosti i krv (Sheng *et al.* 2004). Oba metala se koriste u raznim granama industrije, kao što je metalo-

prerađivačka industrija, proizvodnja boja, keramike, celuloze i papira, municije, baterija (Argun *et al.* 2007). Otpadne vode ovih industrija često sadrže povećane količine ova dva metala. Zbog velike postojanosti u životnom okruženju, ovi metali mogu iz otpadnih voda da zagade pijaću vodu, kao i u vodu korišćenu za navodnjavanje, preko kojih dospevaju u žive organizme, gde se akumuliraju i stvaraju neželjene efekte po zdravlje (Sari *et al.* 2007).

Za prečišćavanje otpadnih voda od teških metala koriste se razne tehnike, kao što je taloženje, jonoizmenjivanje, filtracija i adsorpcija jona. Korišćenje većine ovih tehnika ograničava njihova visoka cena, komplikovano izvođenje i nemogućnost korišćenja pri jako niskim koncentracijama metala. Prednost adsorpcije se ogleda u tome što je nezahtevna, jeftina i efikasna tehnika, zbog čega se sve češće koristi u procesima prečišćavanja otpadnih voda. Kao sorbent koristi se aktivni ugalj, zeolit, glina, piljevina. Korišćenje gline u ovim procesima uslovljeno je njenom sposobnošću vezivanja jona metala. Mehanizam adsorpcije zavisi od sastava i strukture gline. Joni teških metala mogu biti adsorbovani uspostavljanjem jon-dipol interakcija sa delovima minerala gline, kao i jonskom izmenom (Bhattacharyya i Gupta 2008). Na sam proces adsorpcije značajno utiče pH vrednost rastvora, jer upravo od pH vrednosti zavisi naelektrisanje površine gline i naelektrisanje jona.

Cilj ovog rada jeste utvrđivanje sastava stene sa Titelskog brega i ispitivanje efikasnosti sorpcije jona teških metala Pb^{2+} i Cd^{2+} ovom stenom u zavisnosti od vremena i pH vrednosti sredine.

Miona Tomić (2000), Leskovac, Janka Veselinovića 5, učenica 1. razreda Gimnazije Leskovac

Hana Čížik (2000), Kovačica, Janka Čmelika 101, učenica 2. razreda Gimnazije „Mihajlo Pupin” u Kovačici

MENTORI:

Jelena Gajić, student 1. godine Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Nikola Obradović, student 3. godine Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Materijal i metode

Analiza stene

Uzorak lesa je uzorkovan na dva mesta na Titeleskom bregu. Oba uzorka su mehanički zdrobljena, pomešana u odnosu 1:1 i nakon toga prosejana kroz sito veličine otvora 0.063 mm. Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu stene korišćen je prethodno pripremljen i prosejan uzorak sušen dva sata na 120°C. Rendgenskom fluorescentnom spektrometrijom (EDXRF-om) analizirane su tri probe ovako pripremljenog lesa. Kvantitativna analiza stene je rađena standardnom metodom za analizu silikatnih stena (Kolthoff i Sandell 1951; Milovanović *et al.* 1980).

Razlaganje silikata. U platinski lončić je omereno 0.5000 g uzorka gline i 4.5000 g smeše natijum-karbonata (Alkaloid Skoplje) i kalijum-karbonata (Centrohem) (u masenom odnosu 1 : 1). Smeša je homogenizovana i žarena do potpunog stapanja silikata (do crvenog usijanja lončića).

Određivanje silicijuma. Kolač formiran na dnu lončića je prenesen u porcelansku šolju ispiranjem lončića dejonizovanom vodom i razblaženom hlorovodoničnom kiselinom (1 : 100). Lončić je stavljen u istu porcelansku šolju i zagrevan uz povremeno dodavanje 20 mL koncentrovane hlorovodonične kiseline (Centrohem), radi potpunog rastvaranja kolača. Lončić je ispran iznad porcelanske šolje malom porcijom dejonizovane vode. Rastvor u šolji je uparen do suva, a suvi ostatak je dodatno sušen u sušnici na 110°C. Posle sušenja, ostatak u šolji je pokvašen koncentrovanom hlorovodoničnom kiselinom (Centrohem) i rastvoren u 100 mL dejonizovane vode uz mešanje i zagrevanje. Topla smeša je filtrirana i talog silicijumove kiseline je ispiran razblaženom hlorovodoničnom kiselinom (1 : 100) i dejonizovanom vodom. Postupak taloženja i ceđenja silicijumove kiseline je ponovljen sa filtratom. Oba taloga su prenesena u izmeren platinski lončić (m_L) i žarena do postizanja konstantne mase (m_1). U lončić je dodato 1.0 mL koncentrovane sumporne i 3.0 mL koncentrovane fluorovodonične kiseline (Merck). Smeša je zagrevana do suva i žarena do postizanja konstantne mase (m_2). Masa silicijum dioksida je izračunata iz razlike mase lončića sa silicijum di-

oksidom i mase lončića posle tretiranja silicijum dioksida fluorovodoničnom kiselinom:

$$m(\text{SiO}_2) = m_1 - m_2$$

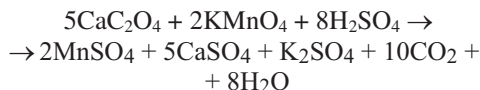
Određivanje sume oksida. Suma oksida (R_2O_3) predstavlja zbir masa oksida aluminijuma (Al_2O_3), gvožđa (Fe_2O_3), titana (TiO_2) i fosfora (P_2O_5). Određuje se iz filtrata, zaostalog posle ceđenja silicijumove kiseline, taloženjem određenih elemenata u obliku hidratiranih oksida. U filtrat je dodavan razblaženi amonijak (1 : 1) uz zagrevanje. Izdvojen talog je filtriran, ispran 2% rastvorom amonijum hlorida (Zorka Šabac) i spran sa filter papira toplom razblaženom hlorovodoničnom kiselinom (1 : 1) u istu čašu u kojoj je taložen. Ponovljen je postupak taloženja i ceđenja hidratiranih oksida amonijakom. Talog je prenet u isti platinski lončić, koji je korišćen za određivanje silicijum dioksida i žaren do postizanja konstantne mase (m_3). Masa sume oksida je izračunata iz razlike mase lončića sa oksidima i mase lončića:

$$m(\text{R}_2\text{O}_3) = m_3 - m_L$$

Određivanje ukupnog gvožđa. U lončić sa talogom je dodato 3.0000 g kalijum hidrogensulfata (Merck). Lončić je žaren dok se smeša nije stopila i nakon hlađenja zagrevan u razblaženoj hlorovodoničnoj kiselini (1 : 4) do rastvaranja stopljene smeše. Rastvor je prenet u normalan sud, koji je potom dopunjen do crte a gvožđe određeno pomoću atomske apsorpcione spektrometrije (Thermo S-Series AA spectrometer).

Određivanje kalcijuma. Kalcijum je određen iz filtrata zaostalog posle ceđenja taloga sume oksida taloženjem u obliku kalcijum oksalata. U filtrat je dodato 5.0 mL koncentrovane hlorovodonične kiseline. Rastvor je zagrevan uz dodavanje 50 mL rastvora amonijum oksalata (Merck), u kome je bilo 3.0 g oksalata. Smeša je ostavljena da stoji sat vremena. Izdvojen talog je filtriran, ispran 0.1% rastvorom amonijum oksalata i nakon toga spran sa filter papira razblaženom hlorovodoničnom kiselinom (1 : 4) u čašu u kojoj je taložen oksalat. Ponovljen je postupak taloženja i filtriranja kalcijum oksalata. Talog je rastvoren u razblaženoj sumpornoj kiselini (1 : 8) i titrovan standardnim rastvorom kalijum-permanganata (Centrohem) koncentracije 0.0203 mol/dm³.

Oksalatni jon reaguje sa permanganatnim jonom prema jednačini:



Na osnovu utrošene zapremine standardnog rastvora kalijum permanganata izračunata je masa kalcijum-oksida iz izraza:

$$m(\text{CaO}) = \frac{5}{2}c(\text{KMnO}_4) \cdot V(\text{KMnO}_4) \cdot M(\text{CaO})$$

Određivanje natrijuma i kalijuma. U porcelansku šolju je odmereno 0.500 g uzorka stene, 0.5000 g amonijum-hlorida i 4.0000 g kalcijum karbonata. Smeša je homogenizovana, prekrivena i žarena do usijanja šolje. Ohlađena smeša je rastvorena u vodi i filtrirana. Filtrat je razblažen i analiziran plamenofotometrijski (Thermo S-Series AA spectrometer).

Određivanje mangana. U platinski lončić je odmereno 0.5000 g uzorka stene, dodato je 1.0 mL koncentrovane sumporne i 3.0 mL koncentrovane fluorovodonične kiseline. Smeša je zagrevana do suva. Još dva puta je u lončić dodato 2.0 mL sumporne kiseline i upareno do suva. Talog je rastvoren u razblaženoj sumpornoj kiselini (1 : 5) i filtriran. Filtrat je razblažen i analiziran atomskom apsorpcionom spektrometrijom.

Sorpcija jona olova i kadmijuma

U toku eksperimenta korišćen je $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Hizip; p. a.) i $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (Zorka Šabac; p. a.). Uzorci $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ i titel'skog lesa sušeni su 90 min na 100°C.

Praćenje efikasnosti sorpcije tokom vremena. Pripremljena su po dva rastvora jona olova i kadmijuma početne koncentracije 200 ppm i po jedan rastvor ovih metala početne koncentracije 50 ppm. Pripremljen je i rastvor u kome je bilo i jona kadmijuma i jona olova ukupne koncentracije 50 ppm. U svaki od rastvora dodato je po 50.0 mg titel'skog lesa. Pri konstantnom mešanju rastvora, uzimani su alikvoti od 3 mL na 2, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 80, 90 minuta, zatim su centrifugirani 5 minuta brzinom 6000 obrtaja u minuti. Aparatura korišćena za konstantno mešanje sastoji se od magnetne mešalice čiji je magnet stavljen u čaše od 200 mL u kojima se nalazi po 100 mL rastvora jona olova odnosno jona kad-

mijuma. Broj obrtaja je podešen na 300 u minuti. Nakon centrifugiranja filtrati su razblaženi i analizirani na atomskom apsorpcionom spektrofotometru (Thermo S-Series AA spectrometer).

Praćenje efikasnosti sorpcije u zavisnosti od pH vrednosti. Pripremljeno je šest rastvora jona olova i deset rastvora jona kadmijuma koncentracije 100 ppm. Podešavana je pH vrednost ovih rastvora i napravljena su po dva rastvora jona olova pH vrednosti 3.0, 4.0 i 5.0 i po dva rastvora jona kadmijuma pH vrednosti 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 i 7.0. Ispitivanje je rađeno na nižim pH vrednostima kako ne bi došlo do taloženja hidroksida. Pripremljeno je i šest rastvora u kojima je bilo i jona olova i jona kadmijuma ukupne koncentracije 100 ppm. U po dva rastvora podešena je pH vrednost 3.0, odnosno 4.0 i 5.0. U svaki od ovih rastvora dodato je po 25.0 mg titel'skog lesa i nakon 10 min konstantnog mešanja korišćenjem iste aparature kao i u prvoj proceduri utvrđena je efikasnost sorpcije titel'skim lesom.

Praćenje efikasnosti sorpcije na optimalnoj pH vrednosti tokom vremena. Pripremljena su tri rastvora jona olova i tri rastvora jona kadmijuma početne koncentracije 50 ppm. Rastvorima olova podešena je pH vrednost 4.0, a rastvorima kadmijuma pH 5.0. Ove pH vrednosti pokazale su se kao najpogodnije za najefikasniju sorpciju (tabela 3). U rastvore olova dodato je po 100.0 mg lesa, a kadmijuma po 50.0 mg. Uzimani su alikvoti ovih rastvora od 3 mL nakon 2, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 80, 90 min konstantnog mešanja. Alikvoti su na isti način kao i ranije centrifugirani, filtrati su razblaživani i snimljeni na atomskom apsorpcionom spektrofotometru.

Rezultati i diskusija

Kvalitativna analiza stene. EDXRF spektri tri rađene probe se preklapaju, što ukazuje na relativno identičan kvalitativni sastav proba. Na osnovu rezultata je zaključeno da je uzorak homogen i time pogodan za dalja ispitivanja.

Kvantitativna analiza stene. Rezultati silikatne analize uzorka stene sa Titel'skog brega su prikazani u tabeli 1. Određivani elementi čine 88% mase uzorka. Magnezijum-oksid i oksidi neodređenih elemenata, koji se u stenama nalaze u veoma malim količinama, čine ostalih 12% mase uzorka.

Tabela 1. Hemijski sastav uzorka

Oksid	Maseni udeo (%)
SiO ₂	58.22
R ₂ O ₃	19.28
ukupno gvožđe	5.00
MnO	0.06
MgO	nije određivan
CaO	5.38
Na ₂ O	1.58
K ₂ O	1.88
H ₂ O ⁻	1.23
Ukupno	87.63

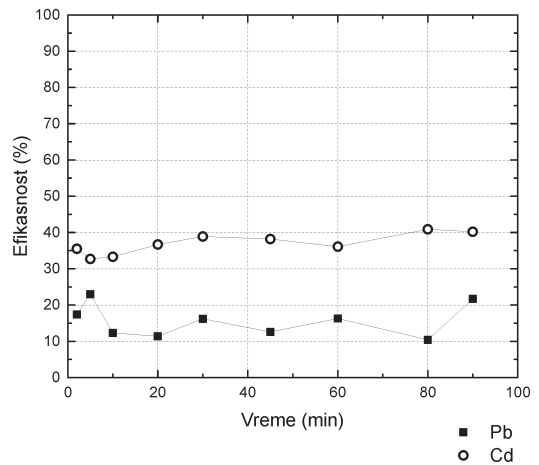
Efikasnost sorpcije. Efikasnosti sorpcije jona olova i kadmijuma iz rastvora pripremljenih više puta biće prikazane u vidu srednjih vrednosti radi veće preciznosti.

Praćenjem efikasnosti sorpcije ustanovljeno je da ona varira tokom vremena. Efikasnost sorpcije jona olova nakon prvog merenog kontaktnog vremena (2 min) iznosila je 17%, a efikasnost sorpcije jona kadmijuma 36% iz njihovih rastvora početne koncentracije 200 ppm pomoću 50.0 mg lesa. Nakon poslednjeg kontaktnog vremena (90 min) efikasnost sorpcije jona olova iznosila je 22%, a jona kadmijuma 40% (slika 1). Ustanovljeno je da je efikasnija sorpcija jona kadmijuma.

Efikasnost sorpcije jona olova iz rastvora početne koncentracije 50 ppm pomoću 50.0 mg titelskog lesa nakon 2 min od početka procesa sorpcije iznosila je 34%, a jona kadmijuma 94%, dok je efikasnost sorpcije jona olova nakon 90 min od početka procesa sorpcije 52%, a jona kadmijuma 95% (slika 2). I pri ovako pripremljenom rastvoru ispostavilo se da je efikasnija sorpcija jona kadmijuma.

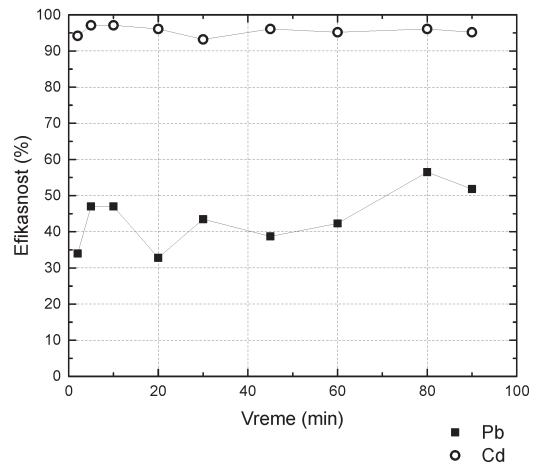
Efikasnost sorpcije jona olova iz rastvora u kome je bilo i olova i kadmijuma ukupne početne koncentracije 50 ppm pomoću 50 mg titelskog lesa iznosila je 62%, a jona kadmijuma 55% nakon 2 min od početka procesa sorpcije, a 65% jona olova i 54% jona kadmijuma nakon 90 min (slika 3). Ovde se sorpcija jona olova pokazala efikasnijom.

Varirana je pH vrednost kako bi se utvrdila najpogodnija za sorpciju jona olova i kadmijuma titelskim lesom. Iz rastvora početne koncen-



Slika 1. Efikasnost sorpcije jona olova i kadmijuma u zavisnosti od kontaktnog vremena sorbenta i jona iz njihovih odvojenih rastvora koncentracije 200 ppm

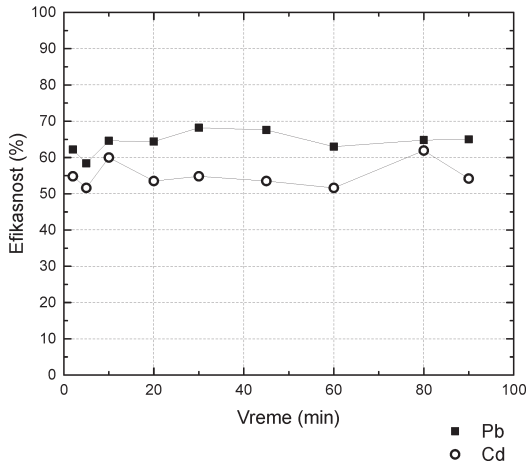
Figure 1. Sorption efficiency of lead and cadmium ions, depending on the contact time between sorbent and ions, from separated solutions with a concentration of 200 ppm



Slika 2.

Efikasnost sorpcije jona olova i kadmijuma u zavisnosti od kontaktnog vremena sorbenta i jona iz njihovih zasebnih rastvora koncentracija 50 ppm

Figure 2. Sorption efficiency of lead and cadmium ions, depending on contact time between sorbent and ions, from separated solutions with a concentration of 50 ppm



Slika 3. Efikasnost sorpcije jona olova i kadmijuma u zavisnosti od kontaktnog vremena iz njihovog zajedničkog rastvora koncentracije 50 ppm

Figure 3. Sorption efficiency of lead and cadmium ions, depending on contact time between sorbent and ions, from the same solution with a concentration of 50 ppm

tracije 100 ppm najefikasnija sorpcija jona olova jeste na pH 4 (25%), a jona kadmijuma na pH 7 (84%) pomoću 25.0 mg lesa (tabela 2).

Tabela 2. Efikasnost sorpcije jona olova i kadmijuma u zavisnosti od pH vrednosti

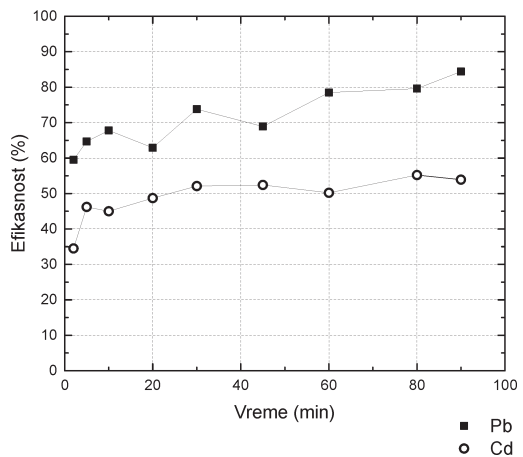
pH vrednost	Efikasnost sorpcije jona olova (%)	Efikasnost sorpcije jona kadmijuma (%)
3	11.3	73.8
4	24.8	68.9
5	21.1	78.5
6	–	79.6
7	–	84.4

Iz rastvora u kome je bilo i jona olova i jona kadmijuma ukupne početne koncentracije 100 ppm ponovo se pokazalo da je sorpcija jona olova, pomoću 25.0 mg titelskog lesa, najefikasnija na pH vrednosti 4, dok se sorpcija jona kadmijuma pokazala najefikasnijom na pH 5, pa je ona i korišćena u nastavku projekta (tabela 3).

Tabela 3. Efikasnost sorpcije jona olova i kadmijuma iz njihovog zajedničkog rastvora u zavisnosti od pH vrednosti

pH vrednost	Efikasnost sorpcije jona olova (%)	Efikasnost sorpcije jona kadmijuma (%)
3	10.5	83.2
4	91.2	61.3
5	18.4	91.0

Kako bi se ustanovilo da li je sorpcija efikasnija ukoliko se podesi i pH vrednosti i prati se kroz vreme, napravljeni su rasvori olova na pH 4.0 i kadmijuma na pH 5.0 i sorpcija se pokazala najefikasnijom posle najdužeg merenog kontaktnog vremena (90 min), 84% za jone olova i 54% za jone kadmijuma (slika 4). Ovim je ustanovljeno da promena pH vrednosti pozitivnije utiče na sorpciju jona olova od sorpcije jona kadmijuma.



Slika 4. Efikasnost sorpcije jona olova na pH 4.0 i jona kadmijuma na pH 5.0 u zavisnosti od kontaktnog vremena sorbenta i jona

Figure 4. Sorption efficiency of lead ions on pH value 4.0 and cadmium ions on pH value 5.0, depending on contact time between sorbent and ions

Zaključak

Rezultati silikatne analize pokazuju da stena sa Titelskog brega sadrži: 58% SiO₂, 14% oksida Al₂O₃, TiO₂ i P₂O₅, 5.0% gvožđa, 0.06% MnO, 5.4% CaO, 1.6% Na₂O, 1.9% K₂O i 1.2% H₂O. Na osnovu dobijenih rezultata o sorpciji olova i kadmijuma može se zaključiti da se les može koristiti kao ekonomičan sorbent ova dva metala. Najefikasnija sorpcija jona olova iz vodenog rastvora iznosila je 57%, dok je najefikasnija sorpcija kadmijuma iznosila 96% (pH vrednost nije merena). Iz rastvora oba metala sorpcija olova sa iznosom od 65% se pokazala efikasnijom u odnosu na sorpciju kadmijuma, koja je iznosila 54%. Prilikom variranja pH vrednosti sredine, utvrđeno je da je optimalna pH vrednost za sorpciju olova 4, dok je optimalna pH za sorpciju kadmijuma 5. Na optimalnim pH vrednostima najefikasnija sorpcija olova iznosi 84%, a kadmijuma 54%. Upoređivanjem se dolazi do zaključka da je sorpcija jona kadmijuma efikasnija od sorpcije jona olova pri zanemarenoj pH vrednosti, dok je sorpcija jona olova efikasnija od sorpcije jona kadmijuma na optimalnoj pH vrednosti. Na osnovu podataka o sorpciji jona ova dva metala, može se pretpostaviti da titelski les adsorbuje i jone drugih teških metala.

Literatura


- Argun M. E., Dursun S., Ozdemir C., Karatas M. 2007. Heavy metal adsorption by modified oak sawdust: Thermodynamics and kinetics. *Journal of hazardous materials*, **141**: 77.
- Bhattacharyya K. G., Gupta S. S. 2008. Adsorption of a few heavy metals on natural and modified kaolinite and montmorillonite: a review. *Advances in colloid and interface science*, **140**: 114.
- Kolthoff I. M., Sandell E. B. 1951. *Anorganska kvantitativna analiza*. Zagreb: Školska knjiga
- Milovanović G., Nikolić V., Pastor T., Pfendt L., Todorović M. 1980. *Praktikum – analiza prirodnog i tehničkog materijala*. Beograd: Stručni klub „Sima Lozanić”

Sari A., Tuzen M., Citak D., Soylak M. 2007. Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies of adsorption of Pb (II) from aqueous solution onto Turkish kaolinite clay. *Journal of hazardous materials*, **149**: 283.

Sheng P. X., Ting Y. P., Chen J. P., Hong L. 2004. Sorption of lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms. *Journal of colloid and interface science*, **275**: 131.

Miona Tomić and Hana Čižik

Analysis of Titel Hill Loess and Its Adsorption Abilities for Heavy Metal Ions Pb²⁺ and Cd²⁺

A sample of a rock from Titel hill was analyzed using silicate analysis. The aim was to follow the efficiency of the sorption ratio depending on time of sorption and pH value. Ion concentration of lead and cadmium before the start of sorption was determined and it was measured during the sorption process and after this process. Results of the silicate analysis show that the sample contains: 58% SiO₂, 14% Al₂O₃, TiO₂ and P₂O₅ oxides, 5.0% of iron, 0.06% MnO, 5.4% CaO, 1.6% Na₂O, 1.9% K₂O and 1.2% H₂O. Loess from Titel adsorbed 52% of lead ions and 95% of cadmium ions out of their solutions 90 minutes after the beginning of sorption, and 65% of lead ions and 54% of cadmium ions from the solution where ions from both metals were present (pH value was not measured). In terms of pH value measurement, the most efficient sorption of lead ions proved to be at pH 4 (91%), and the cadmium ions at pH 5 (91%). The Titel loess proved to be a better sorbent for cadmium ions from aqueous solution, while at an optimal pH value it sorbed lead ions more effectively. 

Sinteza nanocevi niobijum(V)-oksida i nanocevi litijum-niobata, srebrom dopiranog niobijum(V)-oksida i ispitivanje njihovih fotokatalitičkih dejstava na kristal violetu

Ispitivan je uticaj katalizatora na bazi niobijuma na fotokatalitičku degradaciju boje kristal violet i upoređena njihova fotokatalitička aktivnost sa titanijum(IV)-oksidom. Katalizatori na kojima su vršena ispitivanja bili su niobijum(V)-oksid, nanocevi niobijum(V)-oksida, nanocevi litijum-niobata, srebrom dopiran niobijum pentoksid i titanijum dioksid. Ispitivanje se vršilo praćenjem promene absorbance vodenog rastvora boje u koju su bili dodati fotokatalizatori i ozračivani UV svetlom. Kao izvor zračenja koristila se UV lampa. Dobijeni rezultati ukazuju na to da se litijum-niobat najbolje pokazao u razgradnji kristal violeta. Podaci takođe ukazuju na to da su svi dobijeni katalizatori bolji od najčešće korišćenog katalizatora titanijum dioksida.

Uvod

Niobijum(V)-oksid je termodinamički najstabilniji predstavnik svih niobijumovih oksida. Predmet je od interesa za istraživanje jer ima široku primenu u katalizama, Li-jonskim baterijama i detektorima. Od posebnog značaja su njegove nanostrukture, kao što su nano sfere, nano šipke i nano pojasevi. Prilikom formiranja nanočestica povećava se aktivna površina niobijum pentoksida, samim tim i njihova fotokatalitička aktivnost (Zhou *et al.* 2008).

Fotokatalitička degradacija je proces u kome se organska jedinjenja razlažu u prisustvu svetla i poluprovodnika. Jedan od najviše korišćenih poluprovodnika u industriji je titanijum(IV)-oksid. U poluprovodnike spada i niobijum pentoksid.

Proces razlaganje počinje zračenjem poluprovodnika elektromagnetnim zračenjem koje ima energiju veću od energetskog razmaka poluprovodnika. Tada elektroni prelaze iz valentne trake u provodnu traku. Prilikom prelaza elektrona u valentnoj traci ostaje pozitivno naelektrisana šupljina (h^+). Tako se stvaraju provodni elektroni i valentne šupljine. Fotodegradacija se najčešće izvodi u vodenoj sredini, u suspenziji poluprovodnika u vodi (Ćorović 2011):

1. $Nb_2O_5 + h^+ (UV) \rightarrow Nb_2O_5(e^- + h^+)$
2. $Nb_2O_5(h^+) + H_2O \rightarrow Nb_2O_5 + H^+ + OH^*$
3. $Nb_2O_5(h^+) + OH^- \rightarrow Nb_2O_5 + OH^*$
4. $Nb_2O_5(e^-) + O_2 \rightarrow Nb_2O_5 + O_2^*$
5. $O_2^* + H^+ \rightarrow HO_2^*$
6. Organski molekul + OH^* →
→ proizvodi degradacije
7. Organski molekul + h^+ →
→ proizvodi oksidacije
8. Organski molekul + e^- → proizvodi redukcije

Šupljine mogu reagovati sa vodom ili OH^- i dati OH^* , dok elektroni mogu reagovati sa bojom i redukovati ih (Houas *et al.* 2001).

U proizvodnji poluprovodnika dopiranje se koristi kao postupak kojim se strani joni ciljano unose u njegovu strukturu. Dopiranjem se dobijaju nova svojstva poluprovodnika, i tako može da se poboljša fotokatalitička aktivnost (Rauf *et al.* 2011).

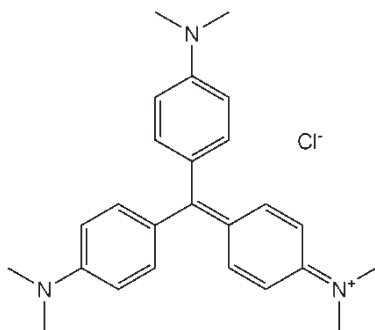
Momčilo Milosavljević (1998), Klek, Spasoja Spaića 32, učenik 3. razreda Zrenjaninske gimnazije

MENTORI:

Miloš Pešić, ISP

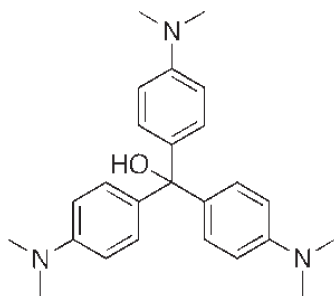
Ilija Bobinac, Tehnološki fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Kristal violet je boja koja se koristi u mikrobiologiji za bojenje Gram-pozitivnih bakterija. Iako se više ne koristi kao lek, i dalje se nalazi na listi lekova Svetke zdravstvene organizacije. Kristal violet se koristi u tekstilnoj industriji. Boja se primenjuje uglavnom u štamparskoj industriji i u za izradu mastila za naliv pera. Dokazano je da kristal violet ima toksičan efekat na miševе i pacove (Hodge *et al.* 1983).



Slika 1. Strukturna formula boje kristal violet

Figure 1. Structural formula of crystal violet dye



Slika 2. Strukturna formula karbinolnog oblika boje kristal violet, koj se javlja u baznoj sredini

Figure 2. Structural formula of carbinol form of crystal violet dye, which forms in basic environment

U baznoj sredini kristal violet (slika 1) prelazi u svoj karbinolni oblik (slika 2), koji je bezbojan, zato što hidroksilni nukleofilno napadaju centralni elektrofilan ugljenikov atom. Cilj rada je da se ispita fotokatalitičko dejstvo nanocevi niobijum pentoksida, nanocevi litijum-niobata i srebrom dopiranog niobijum pentoksida na boju kristal violet.

Materijal i metode

Sinteza nano tuba. Kao polazno jedinjenje za sintezu nanotuba niobijum(V)-oksid korišćena je niobijumska kiselina. Jedna od standardnih procedura za dobijanje niobijumske kiseline je da se niobijum pentoksid (Merck) prethodno rastvori u odgovarajućoj količini fluorovodonične kiseline. Količina fluorovodonične kiseline zavisi od temperature na kojoj je niobijum pentoksid dobijen. Rastvor niobijuma i fluora se potom razblaži sa 50% (zapreminskih) rastvorom etanola. pH rastvora se zatim podesi na 9.0 koristeći vodeni rastvor amonijaka. Tako se dobija beli talog niobijumske kiseline, koji se potom filtrira i ispira smešom vode i etanola sa ciljem da se otklone svi F-joni. Talog se zagreva na 80°C tokom 6 sati, nakon čega se zagreva na 580°C stepeni u pećnici tokom 6 sati. Potom se hladi na vazduhu do sobne temperature (Zhou *et al.* 2008).

Sinteza nanotuba litijum-niobata. Sinteza nanotube litijum niobata vršena je tako što su nanotube žarene sa litijum-hidroksidom u mase-nom odnosu 11 : 1. Žarenje je vršeno na 500°C tokom 4 sata. Dobijeni katalizator je hlađen na sobnoj temperaturi (Zielinska *et al.* 2013).

Dopiranje niobijum(V)-oksida. Da bi se dopirao niobijum(V)-oksid srebrom, koristi se metoda mokre impregnacije. Srebro-nitrat se prvo rastvara u vodi. U rastvor se zatim dodaje niobijum(V)-oksid. Potom se rastvor zagreva tri sata na 80 stepeni uz mešanje. Nakon toga materijal je sušen na 100°C tokom 10 sati, pa je zagrevan na 500°C tokom 3 sata, i zatim se hladio na sobnoj temperaturi. Procenat srebra koji je dodat iznosi 2%, međtim postoji mogućnost da se svo srebro nije ugradilo u niobijum(V)-oksid (Collazzo *et al.* 2012).

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva na kristal violetu. Prvi korak je pravljenje rastvora kristal violeta koncentracije 12 µM. Iz dobijenog rastvora uzimani su uzorci od 25 mL u koje je dodavano po 0.0150 g katalizatora. Dobijene suspenzije ozračivane su pod UV svetlom uz mešanje. Fotokatalitička degradacija odvijala se pod UV svetlom (Philips TUV 30W/G30 T8 UV-c Hg). Čaše u kojima se odvijala fotokatalitička degradacija napravljene su od PYREX stakla, jer PYREX staklo ne absorbuje UV svetlo. Alikvoti

su uzimani nakon 5, 10, 20, 30, 40 i 55 min od početka reakcije. Alikvoti su potom centrifugirani na 14 500 obrtaja/min tokom 5 min i merena im je apsorbancija.

Ispitani katalizatori su bili nanotube niobijum(V)-oksid, nanotube litijum-niobata, srebrom dopiran niobijum(V)-oksid, titan(IV)-oksid i niobijum(V)-oksid. Niobijum(V)-oksid je služio kao kontrola, dok je titanijum(IV)-oksid korišćen u svrhe upoređivanja sintetisanih katalizatora sa komercijalnim. Svako merenje je vršeno tri puta i kao tačka na grafiku uzeta je srednja vrednost.

Karakterizacija. Korišćena je skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM), na uređaju JSM-6460LV, JEOL na Prirodnomatematickom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu. Karakterizovani su nanocevi Nb_2O_5 , nanocevi $LiNbO_3$, Nb_2O_5/Ag i Nb_2O_5 prah iz koga su sintetisani ostali katalizatori.

Rezultati i diskusija

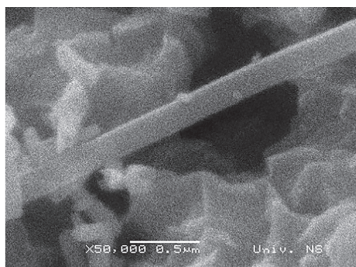
Karakterizacija katalizatora

Na slici 3 su prikazane SEM slike korišćenih katalizatora. Kod litijum-niobata i nanocevi niobijum(V)-oksida može se primetiti prisustvo nanocevi, ali one ne preovlađuju. Veličina nanocevi je ista kod litijum-niobata i niobijum(V)-oksida i iznosi od 55 do 122 nm, što je u skladu sa referentnim radovima (Zhou *et al.* 2008), a jedina razlika je ta što u referentnim radovima preovlađuju nanocevi, dok ovde to nije slučaj. Mogući razlog za to je verovatno odnos etanola i vode kojim je razblaživana suspenzija niobijumske kiseline, jer se u referentnom radu navodi da je dobijeno više nanotuba kad je korišćen veći procenat etanola u smeši za razblaživanje. Kod niobijum(V)-oksida i niobijum(V)-oksida dopiranog srebrom ne primećuje se prisustvo nanocevi. To se poklapa sa njihovim fotokatalitičkim sposobnostima.

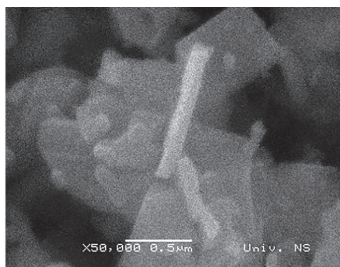
Slika 4 prikazuje nanocevi litijum-niobata i nanocevi niobijum(V)-oksida. Nanotube su istih dimenzija i razlika u fotokatalitičkoj aktivnosti ne može se tražiti u strukturi katalizatora.

Fotodegradacija kristal violeta

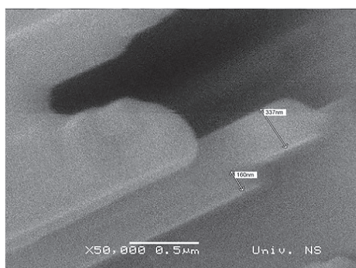
Zavisnost stepena degradacije od vrste korišćenog katalizatora prikazana je na slici 5. Iz dobijenih podataka zaključuje se da se kao najbolji katalizator u razgradnji boje pokazao liti-



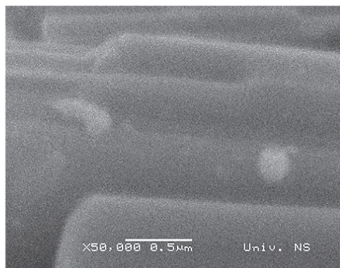
A) Nanocevi $LiNbO_3$



B) Nanocevi Nb_2O_5



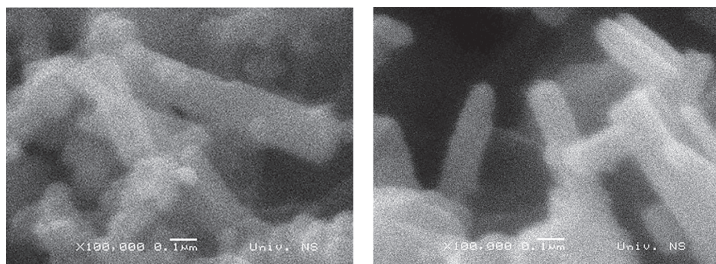
C) Nb_2O_5



D) Nb_2O_5 dopiran srebrom

Slika 3. SEM slike korišćenih katalizatora sa uvećanjem od 50 hiljada puta

Figure 3. SEM images of used catalysts, magnified 50 thousand times



A) Nanocevi Nb₂O₅

B) Nanocevi LiNbO₃

Slika 4. SEM slike nanocevi litijum-niobata i niobijum(V)-oksida sa uvećanjem od 100 hiljada puta

Figure 4. SEM images of lithium niobate nanotubes and niobium(V)-oxide, magnified 100 thousand times

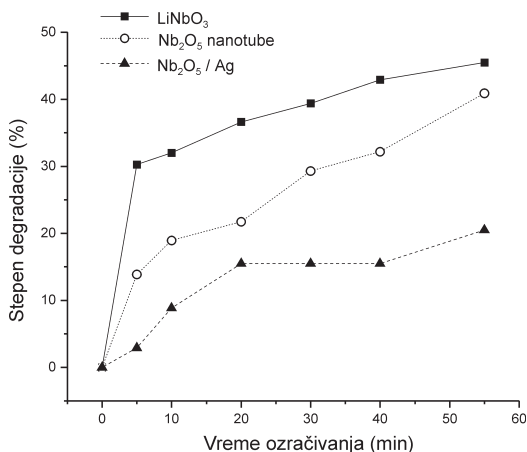
jum niobat, potom nanotube Nb₂O₅ pa srebrom dopiran Nb₂O₅. Ispitan je takođe uticaj TiO₂ i čistog Nb₂O₅. U slučaju TiO₂ i Nb₂O₅ nije došlo do promene absorbance u datim uslovima, tj. nije izmerena degradacija boje. Razlog tome je da je korišćeno suviše malo katalizatora po jedinici zapremine. Iz toga sledi da su sintetisani katalizatori bolji od polaznog katalizatora i da su efikasniji od titanijum dioksida koji se koristi u industriji u svrhe fotodegradacije.

Promena fotokatalitičke aktivnosti kod Nb₂O₅/Ag u odnosu na čist niobijum(V)-oksid, upućuje da je dopiranje uspelo, dok se iz povećanja fotokatalitičke aktivnosti nanocevi nio-

bijum (V)-oksida, u odnosu na nemoifikovan Nb₂O₅, zaključuje da je došlo do povećanja aktivne površine i stvaranje nanocevi. Razlog za povećanje fotokatalitičke aktivnosti kod nanocevi litijum-niobata upućuje da je i njihova sinteza, takođe uspeła. Jedno od mogućih razloga je to da je suspenzija litijum-niobata blago bazna i da je pH na površini litijum-niobata iznad tačke nultog naelektrisanja. Tačka nultog naelektrisanja je pH vrednost na kome je površinski naboj jednak nuli. Ako se poluprovodnik nalazi u sredini koja je iznad tačke nultog naelektrisanja, imaće negativno naelektrisanu površinu. Pošto je kristal violet katjonska boja, u vodi disosuje na pozitivne jone, i stvoriće se privlačna sila između negativno naelektrisanog poluprovodnika i pozitivno naelektrisanu boje. Ovaj proces doprinosi boljoj apsorpciji boje na poluprovodnik i brže degradacije (Guilard *et al.* 2003).

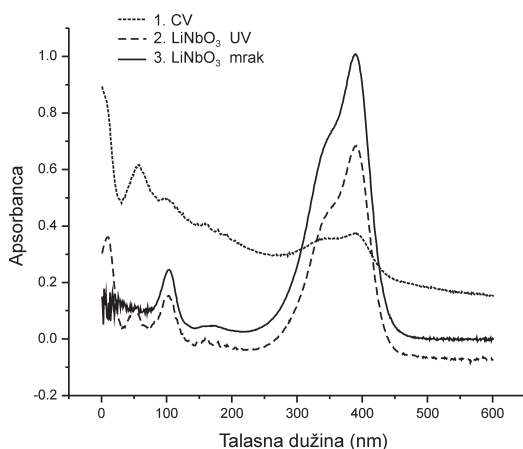
Drugi mogući razlog je taj da je deo kristal violeta prešao u karbinolni oblik, koji je bezbojan. Dokaz za to je što se prilikom ostavljanja u mraku preko noći, rastvor kristal violeta obezboji. Da bi se ispitalo šta se desilo snimljen je spektar kristal violeta nakon stajanja preko noći sa litijum-niobatom.

Sa spektara prikazanih na slici 6 može se zaključiti da boja nije prešla u karbinolni oblik. To se zaključuje na osnovu apsorpcionih maksimuma, koji se nisu pomerili nakon stajanja u mraku (uporediti krive 3 i 2). Da je boja promenila oblik došlo bi do pomeranja apsorpcionog pika sa 590 nm ka nižim talasnim dužinama, što se dešava kod kristal violeta u baznoj sredini (Adams i Rosenstein 1914). Još jedan mogući razlog je taj da je preko noći LiNbO₃ adsorbovao jedan deo boje.



Slika 5. Uticaj sintetisanih katalizatora na stepen degradacije kristal violeta u zavisnosti od vremena ozračivanja

Figure 5. Influence of synthesised catalysts on the degradation of crystal violet as a function of irradiation time



Slika 6. Spektri kristal violeta pre degradacije (1), tokom degradacije (2) i nakon stajanja u mraku (3) u suspenziji LiNbO_3

Figure 6. UV/Vis spectrum of crystal violet before degradation (1), during degradation (2) and after staying in the dark (3) in a suspension of LiNbO_3

U tabeli 1 prikazan je procenat degradirane boje nakon 55 min.

Tabela 1. Stepen degradacije za svaki katalizator nakon 55 min

Vrsta katalizatora	Procenat degradacije nakon 55 min
Niobijum(V)-oksid	nije primećena promena
Titanijum(IV)-oksid	nije primećena promena
Litijum-niobat	45.5
Srebrom dopiran niobijum(V)-oksid	22.9
Nanotube niobijum(V)-oksida	40.9

Zaključak

Kao najbolji katalizator u reakciji fotodegradacije kristal violeta pokazale su se nanotube litijum niobata. Svi sintetisani katalizatori pokazali su se boljim i od komercijalnog TiO_2 i od početne

supstance Nb_2O_5 . Time se zaključuje da je modifikacija dala pozitivni rezultat. Trebalo bi ispitati katalizatore na anjonskim bojama, da bi se ispitala apsorpcija anjonskih boja na katalizatorima, pogotovo, nano tubama litijum niobata. Potrebno je ispitati i apsorpciju anjonskih boja na katalizatorima, i to pogotovo nano tubama litijum-niobata.

Literatura

Adams E. Q., Rosenstein L. W. 1914. The colour and ionization of crystal violet. *Journal of the American chemical society*, **36** (7): 1452.

Collazzo G. C., Paz D. S., Jahn S. L., Carreno N. L. V., Folleto E. L. 2012. Evaluation of niobium oxide doped with metals in photocatalytic degradation of leather dye. *Latin American applied research*, **42** (1): 51.

Ćorović M. 2011. Ispitivanje katalitičkog dejstva ZnO , SnO_2 i njihovih kompozitnih smeša na fotokatalitičku degradaciju boje oranž II. *Petničke sveske*, 69: 379.

Guillard C., Lachheb H., Houas A., Ksibi M., Elaloui E., Herrmann J-M. 2003. Influence of chemical structure of dyes, of pH and of inorganic salts on their photocatalytic degradation by TiO_2 comparison of the efficiency of powder and supported TiO_2 . *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **158**: 27.

Houas A., Lachheb H., Ksibi M., Elaloui E., Guillard C., Herrmann J-M. 2001. Photocatalytic degradation pathway of methylene blue in water. *Applied Catalysis B: Environmental*, **31**: 145.

Hodge H. C., Indra J., Drobeck H. P., Duprey L. P., Tainter M. L. 1983. Acute oral toxicity of methylrosaniline chloride. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **22** (1): 1.


Rauf M. A., Meetani M. A., Hisaindee S. 2011. An overview on the photocatalytic degradation of azo dyes in the presence of TiO_2 doped with selective transition metals. *Desalination*, **276**: 13.

Zielinska B., Janus M., Kalenczuk R. J. 2013. Preparation, characterization and photocatalytic activity of $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{LiNbO}_3$ composite. *Central European Journal of Chemistry*, **11** (6): 920.

Zhou Y., Quie Z., Lu M., Zhang A., Ma Q. 2008. Preparation and spectroscopic properties of Nb_2O_5 nanorods. *Journal of Luminescence*, **128** (8): 1369.

Momčilo Milosavljević

Synthesis of Niobium(V)-Oxide
Nanotubes, Lithium-Niobate
Nanotubes and Silver Doped
Niobium(V)-Oxide and
Determination of Their Influence on
the Photocatalytic Degradation of
Crystal Violet

The aim of this research was to determine the effect of catalysts based on niobium on the photocatalytic degradation of crystal violet dye. Catalysts used include niobium(V)-oxide, lithium-niobate nanotubes, silver doped niobium(V)-oxide and titanium(IV)-oxide. Determination of photocatalytic degradation was done on an aqueous solution of crystal violet, which contained catalyst. The source of irradiation was UV light. Results show that lithium-niobate is proven to be the most effective catalyst in the degradation of crystal violet. Data also show that all synthesized catalyst prove to be better in degradation than titanium(IV)-oxide, which is currently the most commonly used for that purpose. 

Ispitivanje stabilnosti kompleksa cink(II) i bakar(II) sa feofitinom *a* u zavisnosti od pH vrednosti

Ispitivana je i upoređivana stabilnost kompleksa bakra(II) i cinka(II) sa feofitinom a u vodenim rastvorima različitih pH vrednosti. Ispitivanje je vršeno u cilju određivanja uticaja pH vrednosti na degradaciju ovih kompleksa, što dovodi do oslobađanja Cu^{2+} i Zn^{2+} jona koji u određenim koncentracijama mogu imati negativne efekte na organizam. Stabilnost kompleksa je ispitivana praćenjem promena u UV-Vis spektrima ovih jedinjenja u rastvorima različitih pH vrednosti. U jako kiseljoj sredini (pH 1 i 2) oba kompleksa se degradiraju posle nekoliko sati, dok se u slabo kiseljoj sredini (pH 3) degradira samo kompleks cinka što pokazuje da je kompleks bakra stabilniji na ovoj pH vrednosti. Nije primećena razgradnja kompleksa u baznoj sredini (pH 8.5).

Uvod

Biljni pigmenti su hemijske supstance koje daju boju biljnim ćelijama, što je rezultat selektivne apsorpcije svetlosti različitih talasnih dužina. Uloga i funkcija svakog biljnog pigmenta je različita. Zeleni pigmenti, hlorofili, zajedno sa karotenoidima, učestvuju u fotosintezi kao sakupljači svetlosti. Fotosinteza je proces kojim se obezbeđuje energija i hranljive materije neophodne za život biljke. Pigmenti grupe flavonoida značajno povećavaju uspešnost reprodukcije, tako što svojim bojama privlače oprašivače koji raznose polen. Pigmenti se dele u grupe na osnovu hemijske strukture i funkcije, a najveće grupe biljnih pigmentata su karotenoidi (beta-karoten,

likopen), porfirini (hlorofil *a* i *b*, feofitin *a* i *b*), flavonoidi (flavonoli i flavanoni) i fikobilini.

Feofitin *a* (Pheo) je tamno zeleni pigment koji pripada grupi porfirina i zajedno sa hlorofilima i karotenoidima učestvuje u procesu fotosinteze. Iako feofitin *a* nije jedan od najzastupljenijih biljnih pigmentata u svežim biljkama, količina ovog pigmenta znatno se povećava termičkom obradom biljaka, jer nastaje kao jedan od produkata degradacije najzastupljenijeg biljnog pigmenta, hlorofila *a* (slika 1). Feofitin *a* (slika 2) sastoji se iz porfirinskog prstena, nezasićene makrociklične hemijske strukture koja sadrži četiri pirolova prstena povezana atomima ugljenika, esterifikovanog alkoholima fitolom i metanolom. Feofitin *a* je slične strukture kao i hlorofil *a*, s razlikom da feofitin *a* ne sadrži Mg^{2+} kao centralni metalni jon, već sadrži dva atoma vodonika.

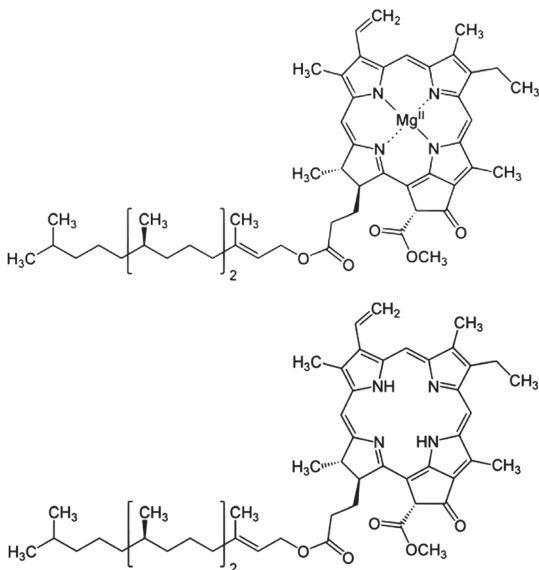
Zbog četiri atoma azota s unutrašnje strane porfirinskog prstena, feofitin *a* gradi kovalentno koordinovane veze gde se ponaša kao tetradentatni ligand.

Pored toga što se hlorofil *a* raspada tokom termičke obrade, feofitin *a* nastaje i prilikom degradacije hlorofila *a* u sredinama niske pH vrednosti. Sa porastom koncentracije H_3O^+ jona u rastvoru hlorofila *a*, stabilnost kompleksa opada, zato što hidronijum joni teže da protonuju atome azota u porfirinskom prstenu. Pošto jon magnezijuma gradi slabe koordinovane veze sa ligandima dolazi do raskidanja veze (Zvezdanović *et al.* 2012), a Mg^{2+} jon se kvantitativno zamenjuje jonima vodonika, čime nastaje feofitin *a*.

Neki od jona metala koji se mogu kompleksirati feofitinom *a* su Cu^{2+} i Zn^{2+} . Kompleksi feofitina *a* i Cu^{2+} , čija je veličina slična veličini Mg^{2+} jona koji se prirodno nalazi u hlorofilu, koriste se kao polusintetske zelene boje za hranu, odobrene od strane Evropske Unije, i u njima se nalazi do 8% bakar-feofitina *a* (www.fao.org). Derivati hlorofila *a* koji su rastvoreni u vodi se oralno upotrebljavaju kao antimutagena sredstva, jer imaju sposobnost vezivanja kancerogenih sup-

Aleksa Mijatović (2000), Kotraž, učenik 2. razreda Srednje škole „Dragačevo” u Guči

MENTOR: Filip Đurković, student Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu



Slika 1.
Struktura hlorofila *a*

Figure 1.
Structure of chlorophyll *a*

Slika 2.
Struktura feofitina *a*

Figure 2.
Structure of pheophytin *a*

stanci, kao što su policiklični aromatični ugljovodonici, čime smanjuju njihove toksične efekte na organizam (Linus Pauling Institute). Proces poboljšanja zelene boje konzerviranog povrća bazira se na formiranju kompleksa cink(II) i feofitina *a*. Povrće konzervirano na ovaj način prvi put predstavljeno je u SAD 1990 godine (Fennema 1996).

Da bi kompleksi dospeli u organizam oralnim putem, oni moraju proći kroz želudac, koji luči digestivnu tečnost čija je pH vrednost u opsegu od 1.5 do 3.5. Ova pH vrednost je verovatno dovoljno niska da bi destabilizovala komplekse feofitina *a* sa jonima bakra i cinka i pri tom oslobodila ove jone, koji u određenim koncentracijama imaju toksične efekte na organizam. Preporučena dnevna doza cinka je 11 mg kod muškaraca, odnosno 8 mg kod žena, a preporučena dnevna doza bakra i kod muškaraca i kod žena je 900 µg. Toksične doze cinka su od 150 do 500 mg dnevno, dok je toksična doza bakra preko 12 mg dnevno. Povećana koncentracija jona Zn^{2+} nepovoljno utiče na memoriju i ubrzava razvoj Alchajmerove bolesti, dok povećana koncentracija Cu^{2+} jona dovodi do kognitivnih oštećenja i mentalnih disfunkcija, takođe povezanih s Alchajmerovom bolešću (Rani i Yadav 2015).

Kako se ovi kompleksi degradiraju u želucu, potrebno je odrediti dnevne količine boja koje se

mogu uneti u organizam, a da ne dođe do trovanja. Takođe, potrebno je odrediti pH vrednost hrane prilikom čije proizvodnje se koriste ove boje da ne bi došlo do degradacije kompleksa i gubitka boje pre nego što dospe u naš organizam.

Cilj ovog rada je određivanje pH vrednosti na kojima se kompleksi Zn^{2+} i Cu^{2+} sa feofitinom *a* degradiraju i poređenje stabilnosti ovih kompleksa.

Materijal i metode

Ekstrakcija feofitina *a*. Zaleđeni spanać mase 800 g stavljen je u vodu i smeša je zagrevana uz povremeno mešanje dok nije proključala. Smeša je dekantovana, a dobijeni materijal je prebačen u avan gde je dodat pesak, radi finijeg usitnjavanja, a potom i smeša 1000 mL metanola i 110 mL dietiletra. Sadržaj avana je prebačen u erlenmajer od 3 L, u koji je dodato i 280 mL 1M HCl, da bi se dobio feofitin *a*, što je uočeno potamnjenjem boje. Pigmenti su ekstrahovani sa po 200 mL petroletra, sve dok organski sloj postaje intenzivno maslinasto zelen prilikom ekstrakcije. Ekstrakti su spojeni u balon u koji je dodata dovoljnja količina bezvodnog natrijum-sulfata radi sušenja. Potom je ekstrakt profiltriran i uparen do suva na vakuum uparivaču. Ekstrakt je čuvan u frižideru.

Hromatografsko razdvajanje biljnih pigmenta. Pigmenti su razdvojeni hromatogra-

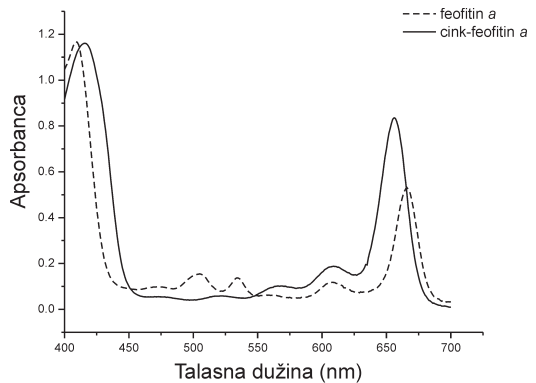
fijom na koloni na stubu silika-gela mase 40 g. Ekstrakt je rastvoren u malo eluenta (petroleter / aceton 4/1) i nanet na kolonu. Nakon hromatografskog razdvajanja ekstrakta, TLC analizom utvrđeno je u kojim se frakcijama nalazi feofitin *a*. Kako je TLC analiza pokazala da se ni u jednoj frakciji nije nalazio čist feofitin *a*, hromatografija je ponovljena, ali samo za frakcije koje sadrže feofitin *a*. Te frakcije su sipane u jedan balon i koncentrovane na vakuum uparivaču.

Kao eluent korišćena je smeša petroletra i etil-acetata. Izvršena je TLC analiza da bi se utvrdilo koji je odnos rastvarača najpogodniji za razdvajanje i njom je utvrđeno da je najbolji odnos petroletra i etil-acetata 8/2. Pigmenti iz smeše su razdvojeni hromatografijom na koloni na stubu silika-gela mase 20 g. Tamnozeleno frakcije spojene su u jedan ekstrakt i uparene do suva na vakuum uparivaču. Deo ekstrakta rastvoren je u acetonu i snimljen je UV-vis spektar ovog rastvora. Poređenjem UV-vis spektra ekstrakta sa već poznatim spektrom čistog feofitina *a* u acetonu, potpunim poklapanjem dokazano je da je dobijena supstanca feofitin *a*. Masa dobijenog feofitina *a* iznosila je 228.8 mg.

Sinteza cink-feofitina *a* (ZnPheo). U trogri balon je dodato 59.7 mg Pheo, 2.2 mL acetatnog pufera (pH = 5), 17.7 mg cink-acetata dihidrata i 22 mL metanola. Sinteza se odigrala u atmosferi argona na temperaturi od 40°C tokom 1 h (Nurhayati i Suendo 2015), a po završetku sinteze reakciona smeša je uparena do suva na vakuum uparivaču. Poređenjem UV-Vis spektara feofitina *a* i reakcione smeše pokazano je da je Zn²⁺ jon uspešno kompleksiran feofitinom *a*. Kao rastvarač i kao slepa proba korišćen je metanol. Dobijeno je ukupno 43.7 mg Zn-feofitina *a*.

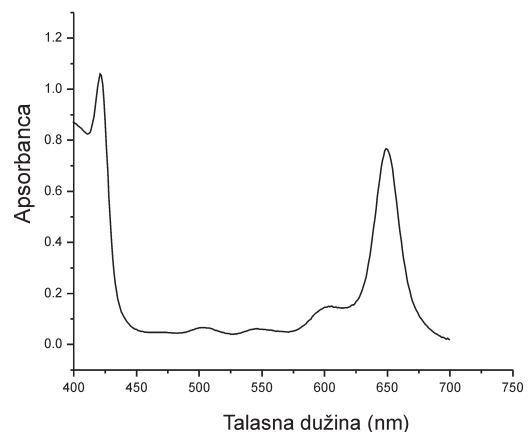
Sinteza bakar-feofitina *a* (CuPheo). U trogri balon dodaje se 40 mL etanola, 0.0655 g feofitina *a*, 0.01879 g bakar(II)-sulfata pentahidrata, 2 mL vode i reakcija se održava na 40°C. Nakon reakcije vrši se ekstrakcija CuPheo petroleptom, 5 puta sa po 30 mL uz dodatak dovoljne količine anhidrovanog natrijum-sulfata radi sušenja. Potom se ovaj rastvor uparava. Poređenjem UV-vis spektra dobijenog jedinjenja u dietil-etu sa već poznatim spektrom CuPheo utvrđeno je da je dobijena supstanca bakar-feofitin *a*. Ukupno je dobijeno 70.6 mg CuPheo.

pH degradacija ZnPheo i CuPheo. Određivanje stabilnosti kompleksa CuPheo i ZnPheo u vodenim rastvorima različitih pH vrednosti izvedeno je spektrofotometrijski, praćenjem promena spektara kompleksa u rastvorima pH vrednosti 1, 2, 3, 4.75 i 8.5. Spektri su snimani u vremenskim intervalima od 10, 20, 30, 60, 120 i 240 minuta nakon mešanja rastvora odgovarajuće pH vrednosti i rastvora kompleksa.



Slika 3. UV-vis spektri feofitina *a* i cink-feofitina *a* u acetonu

Figure 3. UV-vis spectrums of pheophytin *a* and zinc-pheophytin *a* in acetone



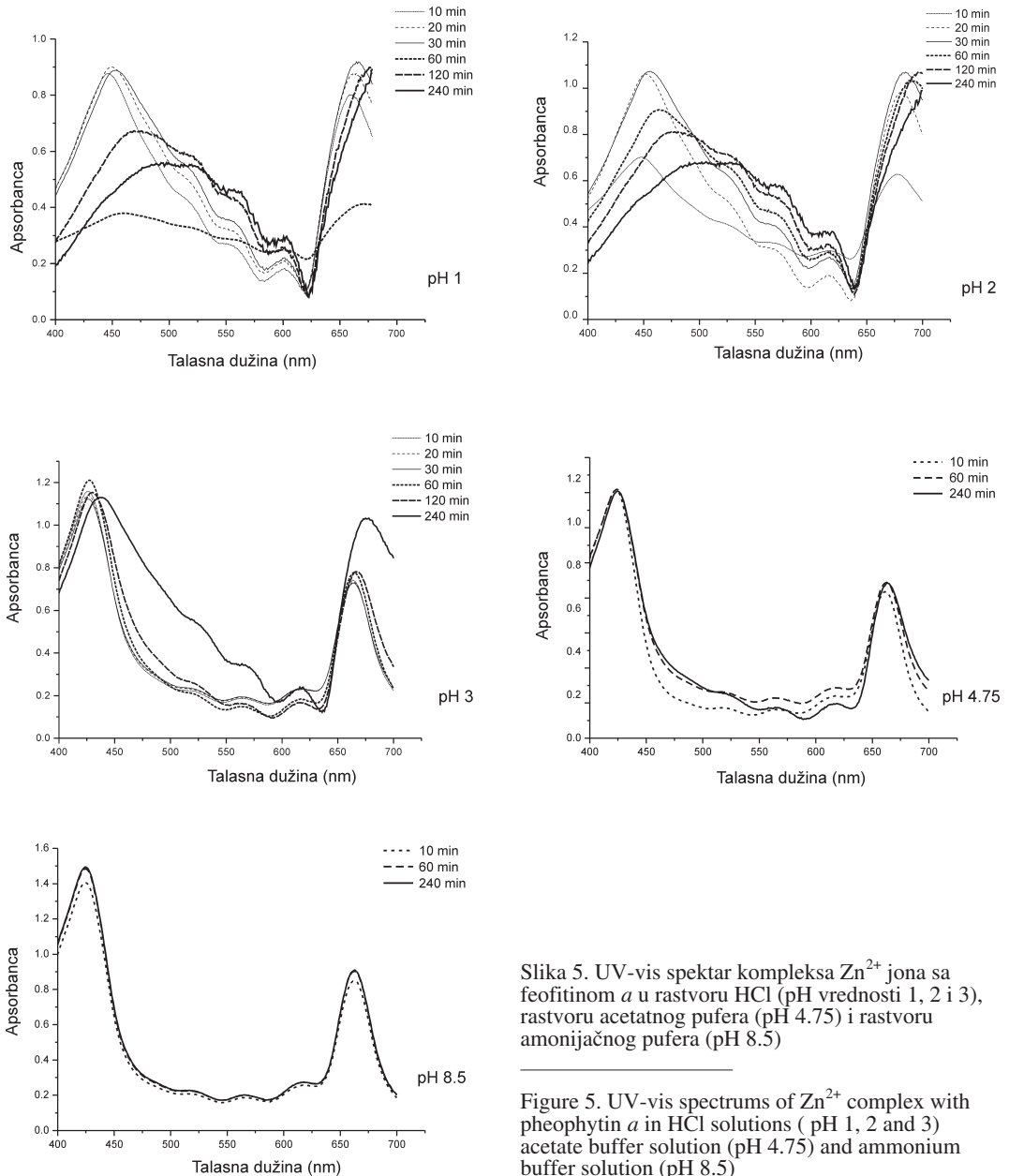
Slika 4. UV-vis spektar CuPheo u dietil etru

Figure 4. UV-vis spectrum of copper-pheophytin *a* in diethyl-ether

Napravljeni su rastvori HCl pH vrednosti 1, 2 i 3, acetatni pufer pH vrednosti 4.75 i amonijačni pufer pH vrednosti 8.5. Snimani su UV-vis spektri od 400 do 700 nm, a zatim upoređeni, da bi se videlo kada se kompleksi degradiraju. Sva spektrofotometrijska merenja vršena su na spektrofotometru Thermo Scientific Evolution 60 s.

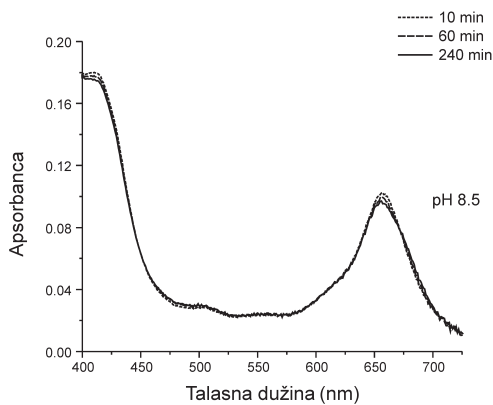
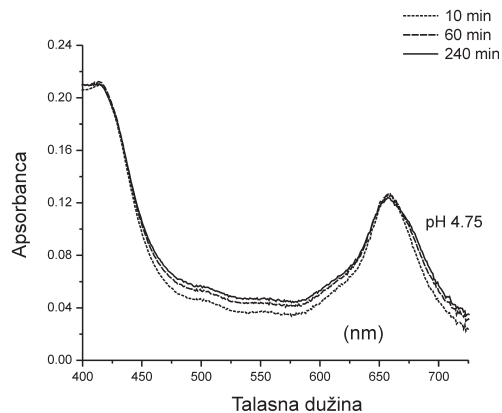
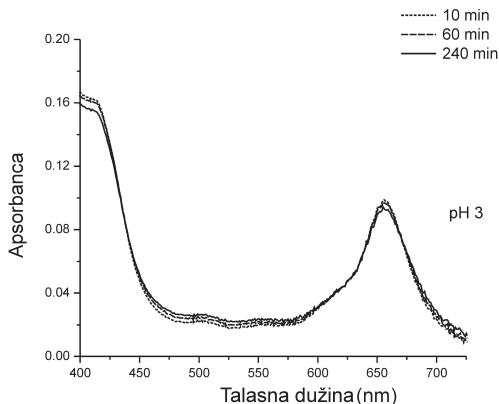
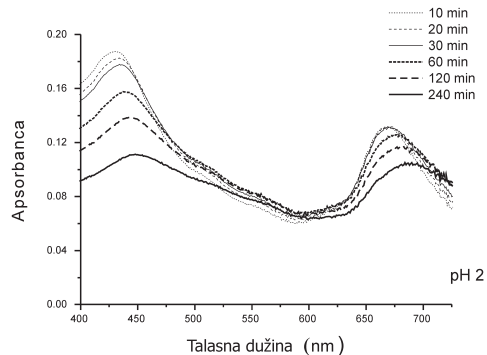
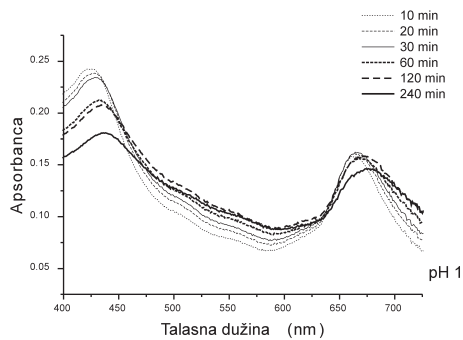
Rezultati

Spektar feofitina *a* u acetonu sniman je na talasnim dužinama od 400 do 700 nm, i njegovim poklapanjem sa spektrom iz literature dokazano je da je dobijena supstanca upravo feofitin *a*. Spektri ZnPheo i feofitina *a* u acetonu (slika 3) su



Slika 5. UV-vis spektar kompleksa Zn²⁺ jona sa feofitinom *a* u rastvoru HCl (pH vrednosti 1, 2 i 3), rastvoru acetatnog pufera (pH 4.75) i rastvoru amonijačnog pufera (pH 8.5)

Figure 5. UV-vis spectrums of Zn²⁺ complex with pheophytin *a* in HCl solutions (pH 1, 2 and 3) acetate buffer solution (pH 4.75) and ammonium buffer solution (pH 8.5)



Slika 6. UV-vis spektar kompleksa feofitina *a* sa Cu^{2+} jonom u rastvoru HCl (pH vrednosti 1, 2 i 3), rastvoru acetatnog pufera (pH 4.75) i rastvoru amonijačnog pufera (pH 8.5)

Figure 6. UV-vis spectrums of Cu^{2+} complex with pheophytin *a* in HCl solutions (pH 1, 2 and 3) acetate buffer solution (pH 4.75) and ammonium buffer solution (pH 8.5)

upoređeni, čime je dokazano da je dobijena supstanca cink-feofitin *a*.

Spektar CuPheo u dietil etru (slika 4) poklapa se sa spektrom bakar-feofitina *a* iz literature, što je dokaz da je kompleks bakra sintetisan.

pH degradacija cink-feofitina *a* prikazana je na slici 5, a pH degradacija bakar-feofitina *a* na slici 6.

Zaključak

Ispitana je stabilnost kompleksa cinka(II) i bakra(II) sa feofitinom *a* na pH vrednostima 1, 2, 3, 4.75 i 8.5. Na osnovu promene u spektrima zaključeno je da sa smanjenjem pH vrednosti opada stabilnost oba kompleksa, odnosno da

dolazi do degradacije kompleksa na pH vrednostima 1 i 2, dok se na pH vrednosti 3 samo kompleks cink-feofitina *a* potpuno degradira nakon 240 minuta. Iz toga sledi da je kompleks bakar-feofitina *a* manje osetljiv na kiselu sredinu od cink-feofitina *a*. Kompleks bakra(II) sa feofitinom *a* se potencijalno može upotrebljavati u proizvodnji hrane, pošto je pokazao dovoljnu stabilnost na pH vrednostima iznad 3.

Literatura

Fennema O. R. 1996. *Food chemistry*. New York: Marcel Dekker

Linus Pauling Institute. Chlorophyll and chlorophyllin. Dostupno na: <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/phytochemicals/chlorophylls/>

Nurhayati N., Suendo V. 2015. Isolation of chlorophyll *a* from spinach leaves and modification of center ion with Zn^{2+} : Study on its optical stability. *Jurnal Matematika & Sains*, **16** (2): 65.

Rani V., Yadav U. 2015. *Free radicals in human health and disease*. Springer

www.fao.org. Chlorophylls, copper complexes: <http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/additive-129-m1.pdf>

Zvezdanović J. B., Marković D. Z., Milenković S. M. 2012. Zinc(II) and copper(II) complexes with pheophytin and mesoporphyrin and their stability to UV-B irradiation: Vis spectroscopy studies. *Journal of Serbian Chemical Society*, **77** (2): 187.

Aleksa Mijatović

Determination of Stability of Copper(II) and Zinc(II) Complexes with Pheophytin *a* Depending on pH Value

Pheophytin *a* was extracted from frozen spinach. The procedure of synthesis of copper and zinc complexes with Pheophytin *a* is described. The stability of copper and zinc complexes with Pheophytin *a* in solutions of different pH value was observed and compared. The purpose of the observation was to discover how pH value affects the degradation of complexes and the release of Cu^{2+} and Zn^{2+} ions which may be harmful in certain concentrations. The stability of complexes was determined by observation of changes in absorption graphs of water solutions of complexes at certain pH value. The very acidic medium (pH 1 and pH 2) degraded both complexes, but the weakly acidic one (pH 3) degraded only the zinc complex, which shows that the copper complex is more stable. Alkaline solutions (pH 8.5) did not degrade any of these complexes. 