
Damjan Čubraković

Primena kopolimera divinilbenzena i 2-akrilamido-2-metil-1-propan-sulfonske kiseline kao kiselog katalizatora u reakciji zaštite alkohola THP-om

Ispitivan je katalitički uticaj kopolimera 2-akrilamido-2-metil-1-propan-sulfonske kiseline (AMPS) i divinilbenzena (DVB) na reakciju zaštite benzilnih alkohola tetrahidropiranom. Polimer ima kiselu sulfonsku grupu, dok divinilbenzen služi kao binarni umreživač, povećavajući hidrofobnost polimera i njegovu specifičnu površinu. Istraživanje obuhvata sintezu navedenog polimera, optimizaciju količine katalizatora, ispitivanje reakcije na različitim supstituisanim benzil alkoholima i ispitivanje mogućnosti ponovne upotrebe katalizatora. Reakcija je praćena na 7 različitih supstrata. Razdvajanje polimera od reakcione smeše vršeno je centrifugom. Katalizator se pokazao kao efikasan za jednostavnije benzil alkohole, gde su prinosi iznosili 61-90%. Primećeno je da su reakcije na supstratima sa elektron-odvlačećim grupama, tj. na (4-nitrofenil)metanolu (75%) i na (4-hlorofenil)metanolu (75%), imale manji prinos nego reakcije na benzil alkoholu (90%) i (4-metilfenil)metanolu (87%), što je i očekivano, jer je hidroksilna grupa nukleofilnija usled pomeranja elektronske gustine prema elektron-odvlačećim grupama. Kod holesterola i vanilin alkohola katalizator je ostvario manje prinose, redom 12% i 23%. Dobijeni proizvodi su relativno velike čistoće, koji se ne moraju odvajati hromatografijom. Katalizator je moguće ponovo upotrebiti, uz prinos 72%, u odnosu na novi katalizator koji daje prinos 90%.

Uvod

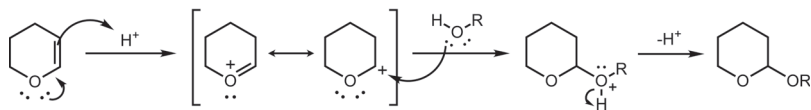
Heterogena kataliza se sve više primenjuje zbog jednostavnosti razdvajanja katalizatora od reakcione smeše, čime se dobija čistiji proizvod, u većem prinosu, dok se katalizator može regenerisati. Jedan od oblika heterogene katalize jeste solid-state kataliza, gde je katalizator čvrsta supstanca koja se iz reakcione smeše uklanja filtriranjem odnosno centrifugiranjem. U poslednje vreme sve više se koriste polimerni katalizatori, nastali polimerizacijom monomera sa željenim funkcionalnim grupama (Ross 2012).

Damjan Čubraković
(1999), Beograd,
učenik 4. razreda
Matematičke
gimnazije u Beogradu

MENTORI:

Miloš Pešić, master
hemičar, Hemijski
fakultet Univerziteta
u Beogradu

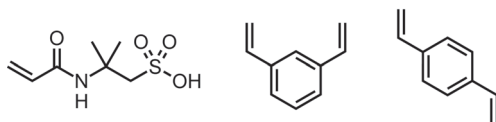
Pavle Kravljanić,
student Hemijskog
fakulteta Univerziteta
u Beogradu



Slika 1.
Mehanizam zaštite alkohola uz kiselinu i 3,4-dihidropiran

Tetrahidropirani (THP) etar je zaštitna grupa za alkohole koja je vrlo korišćena, pre svega zbog niske cene, lake zaštite, generalne stabilnosti prema većini nekiselih reagenasa, i jednostavnog uklanjanja zaštitne grupe. Iako ima manu da formira dodatni stereogeni centar u molekulu koji se štiti, i dalje se uveliko koristi. Skoro svaki kiseli reagens, ili reagens koji kiselinu proizvodi in situ, za uvođenje THP grupe (Wuts i Greene 2006) (slika 1).

Figure 1.
Mechanism of protection of alcohols using 3,4-dihydropyran in acidic conditions



Slika 2.
Strukture 2-akrilamido-2-metil-1-propansulfonske kiseline i divinilbenzena

Kopolimer 2-akrilamido-2-metil-1-propansulfonske kiseline (AMPS, slika 2) i divinilbenzena (DVB) ima karakteristike koje ga čine dobrim izborom za kiseli katalizator. AMPS sadrži kiselu sulfonsku grupu, dok DVB povećava hidrofobnost polimera i njegovu specifičnu površinu. Navedeni polimer (u drugom odnosu monomera) je do sada korišćen za apsorpciju rodamina B (Zhang *et al.* 2016).

Figure 2.
Structures of 2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid and divinylbenzene

Cilj ovog rada je ispitivanje katalitičkog uticaja novog kopolimera 2-akrilamido-2-metil-1-propansulfonske kiseline i divinilbenzena na reakciju zaštite benzilnih alkohola THP-om, tj. optimizacija količine katalizatora, ispitivanje reakcije na različitim supstratima, kao i ispitivanje mogućnosti ponovnog korišćenja katalizatora.

Materijal i metode

Korišćene su sledeće supstance: acetonitril (Centrohem), benzil-alkohol (Kemika), dihidropiran (Fluka), metilen-hlorid (Betahem), holesterol (Centrohem). Ostale supstance su preparati.

Za karakterizaciju jedinjenja korišćen je gasni hromatograf Agilent Technologies 7890 sa 240 Ion Trap masenim spektrometrom (EI, 70 eV, 40–1000 m/z) i sa VF5MS kolonom (30 m × 250 μm × 0.25 μm, sa helijumom kao nosećim gasom).

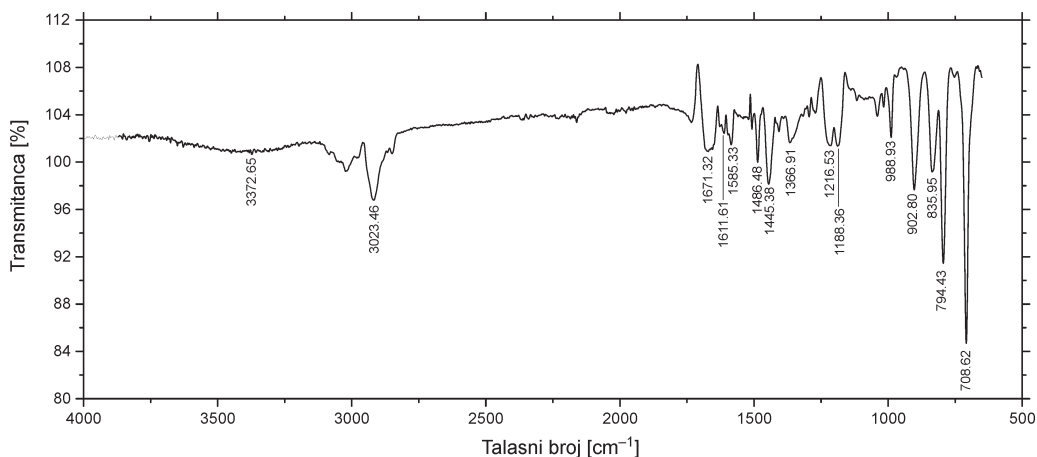
Sinteza polimera. U rastvor 2-akrilamido-2-metil-1-propansulfonske kiseline (854 mg, 4.12 mmol) i divinilbenzena (2348 μL, 16.48 mmol) u metilen-hloridu (34.4 mL) i toluenu (34.4 mL) dodat je AIBN (100 mg), i rastvor je mešan 12 h na 60°C. Nakon toga, reakciona smeša je centrifugirana 15 min na 10 000 × g i izdvojen je polimer.

Polimer je mešan sa metanolom 10 minuta, a zatim je centrifugiran 10 minuta na 10 000 s⁻¹, nakon čega je metanol uklonjen. Ova sekvenca ponovljena je četiri puta. Polimer je sušen 2 h na 70°C.

Opšti postupak protekcije alkohola. U rastvor alkohola (0.252 mmol, 1.0 ekv) i dihidropirana (57.5 μL , 0.63 mmol, 2.5 ekv) u metilen-hloridu (1 mL) dodat je polimer (50 mg), i smeša je mešana 1.5 h na sobnoj temperaturi (Bernady *et al.* 1979). Nakon toga reakciona smeša je dvaput centrifugirana na 14500 min^{-1} i talog je ispran etrom. Spojeni supernatanti su osušeni natrijum-sulfatom i upareni.

- 2-((4-metoksibenzil)oksi)tetrahidro-2H-piran (proizvod 2): uljasta bezbojna supstanca, 60.9 mg, prinos 61%, m/z: 221.9, 176, 122.1, 121.2
- 2-((4-hlorobenzil)oksi)tetrahidro-2H-piran (proizvod 3): uljasta bezbojna supstanca, 52.5 mg, prinos 75%, m/z: 190.9, 180, 145.1, 127.1, 125.2, 89.2, 85.3
- 2-((4-metilbenzil)oksi)tetrahidro-2H-piran (proizvod 4): uljasta bezbojna supstanca, 58.3 mg, prinos 87%, m/z: 209, 160, 145.1, 122.1, 106.1, 105.1, 85.3, 77.3, 67.2
- 2-((4-nitrobenzil)oksi)tetrahidro-2H-piran (proizvod 5): uljasta žuta supstanca, 61.9 mg, prinos 75%, m/z: 236, 220, 174, 136.1, 107.1, 91.1, 90.1, 89.1, 85.2, 78.2, 67.2, 55.1
- 2-[(β)-Holest-5-en-3-iloksi]tetrahidro-2H-piran (proizvod 6): beli kristali, 58.6 mg, prinos 11.58%.
- 4-(hidroksimetil)-2-metoksifenol (proizvod 7): uljasta bezbojna supstanca, 27.5 mg, prinos 22%, m/z: 238, 154.1, 138.2, 137.3, 123.5, 107.4, 94.3, 67.3

Optimizacija količine katalizatora. Reakcija je ponavljana sa 0.252 mmol benzil alkohola, sa različitim masama polimera (katalizatora), i upoređivan je prinos nakon 1.5 h. Korišćene su mase polimera 5, 10, 25, 35 i 50 mg.



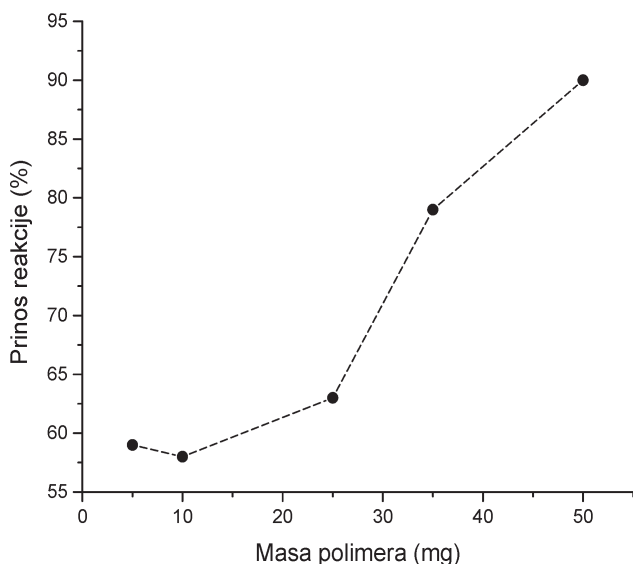
Slika 3. IR spektar dobijenog polimera

Figure 3. IR spectrum of the obtained polymer

Rezultati i diskusija

Analiza dobijenog polimera. Iz IR spektra sintetisanog polimera može se zaključiti da polimer sadrži sulfonsku grupu (1367 cm^{-1}) i monosupstituisanu amidnu grupu (1671 cm^{-1} , 3373 cm^{-1}) (slika 3).

Optimizacija količine katalizatora. Na slici 4 prikazan je grafik zavisnosti prinosa reakcije zaštite nakon 1.5 h, u zavisnosti od mase upotrebljenog katalizatora. Može se zaključiti da se povećanjem mase polimera povećava i brzina, tj. prinos reakcije nakon 1.5 h. Vidi se da se zadovoljavajući prinos dobija ako se za reakciju koja traje 1.5 h koristi 50 mg polimera, pa je ta masa korišćena za sve reakcije. Sa grafika (slika 4) takođe je jasno da se sa većom masom polimera ne bi značajno povećao prinos, već bi se dostigao plato.

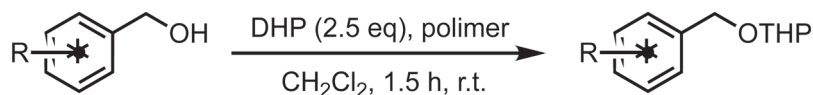


Slika 4. Zavisnost prinosa reakcije od mase korišćenog polimera

Figure 4. Dependence of yield on the mass of polymer

Ispitivanje reakcije na različitim supstratima. Reakcija je isprobana sa 7 različitih supstrata, od čega su njih 6 bili benzil alkoholi. Opšta shema reakcije prikazana je na slici 5, a prinosi su dati u tabeli 1.

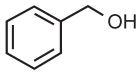
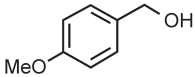
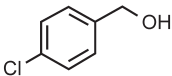
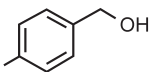
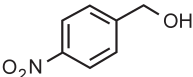
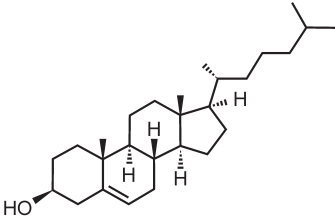
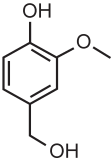
Prinosi za alkohole 1-5 bili su zadovoljavajući, kao što je i očekivano, jer su svi primeri bili benzilni alkoholi sa jednom -OH grupom. Zaštita holesterola (Tabela 1, 6) je bila neuspešnija, sa svega 12% prinosa. Razlog je najverovatnije to što hidroksilna grupa nije u benzilnom položaju kod holesterola. Vanilin alkohol (Tabela 1, 7) imao je manji prinos. Potvrda da



Slika 5. Opšta shema reakcije zaštite benzilnih alkohola

Figure 5. General scheme of the reaction of protection of benzylic alcohols

Tabela 1. Prinosi reakcije sa različitim alkoholima

Redni broj	Alkohol	Prinos
1		90%
2		61%
3		75%
4		87%
5		75%
6		12%
7		23%

je u slučaju vanilin alkohola došlo do reakcije benzilnog, a ne fenolnog položaja dobijena je na osnovu fragmentacije u masenom spektru.

Reakcije gde supstrati sadrže elektron-odvlačeće grupe, kao što su hlorno grupa (primer 3, 75%) i nitro grupa (primer 5, 75%), imale su manje prinose od reakcija sa benzil alkoholom (primer 1, 90%) i (4-metilfenil)metanolom (primer 4, 87%). Ovaj podatak je u skladu sa očekivanjima, jer je kod benzil alkohola sa elektron-odvlačećim grupama hidroksilna grupa manje nukleofilna, usled pomeranja elektronske gustine prema tim grupama.

Dobijeni proizvodi su visoke čistoće, što je potvrđeno pomoću GC-MS, pa se ne moraju prečišćavati hromatografijom.

Mogućnost ponovne upotrebe katalizatora. Kada je reakcija benzil alkohola (alkohola 1) ponovljena sa 50 mg već korišćenog katalizatora, dobijen je prinos 72%. Polimer se može koristiti više puta. Prinosi sa katalizatorom i sa regenerisanim katalizatorom razlikuju se za 18%, ali moguće je da je to posledica nedovoljnog ispiranja korišćenog polimera.

Zaključak

Kopolimer 2-akrilamido-2-metil-1-propansulfonske kiseline i divinil-benzena pokazao je dobru katalitičku aktivnost kod zaštite manjih supstituisanih benzil alkohola, dajući prinose oko 75%.

Dalje istraživanje bi bila analiza polimera, SEM mikroskopom, FTIR-om, kao i odgovarajućim titracijama, kako bi se dobio uvid u strukturu polimera, i time dalje objasnila efektivnost katalize. Takođe, imajući u vidu mali prinos kod zaštite holesterola, u daljem istraživanju moglo bi se ispitati da li se selektivno mogu zaštititi primarni alkoholi u prisustvu sekundarnih hidroksilnih grupa. Napokon, može se ispitati reakcija na alifatičnim primarnim alkoholima.

Literatura

- Bernady K. F., Floyd M. B., Poletto J. F., Weiss M. J. 1979. Prostaglandins and congeners. 20. Synthesis of prostaglandins via conjugate addition of lithium trans-1-alkenyltrialkylalanate reagents. A novel reagent for conjugate 1, 4-additions. *The Journal of Organic Chemistry*, **44** (9): 1438.
- Ross J. R. H. 2012. *Heterogeneous Catalysis: Fundamentals and Applications*. Elsevier
- Wuts P. G., Greene T. W. 2006. *Greene's protective groups in organic synthesis*. Wiley
- Zhang L., Gao H., Liao Y. 2016. Preparation and application of Poly (AMPS-co-DVB) to remove Rhodamine B from aqueous solutions. *Reactive and Functional Polymers*, **104**: 53.

Damjan Čubraković

Application of 2-Acrylamido-2-Methyl-1-Propanesulfonic Acid and Divinylbenzene Copolymer as an Acidic Catalyst in THP Alcohol Protection

The focus of this research is the catalytic effect of copolymer of 2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid (AMPS) and divinylbenzene (DVB) in a molar ratio of 1:4 on the reaction of protection of benzylic alcohols with tetrahydropyran (THP). This polymer has an acidic sulfonic acid, while divinylbenzene acts as a binary cross-linker, enhancing the hydrophobicity of the polymer and its specific surface area, which makes it a candidate for acidic catalysis. This research is composed of the synthesis of the said polymer, optimization of the amount of polymer used, testing the reaction with various substituted benzyl alcohols and testing the reusability of this catalyst. The reaction was conducted with 7 different substrates. Separation of the polymer from the reaction mixture was achieved by centrifuge. The catalyst showed significant activity with simpler benzyl alcohols, with yields in a range of 61-90%. It was observed that the reactions with substrates with electron-withdrawing groups (EWG), i.e. (4-nitrophenyl)methanol (75%) and (4-chlorophenyl)methanol (75%), had lower yields than the reactions involving phenylmethanol (90%) and (4-methylphenyl)methanol (87%), which was expected, because the hydroxyl group is more nucleophilic due to the shift of electron density towards electron-withdrawing groups. In reactions with cholesterol and vanillyl alcohol, the catalyst was not as effective, with yields 12% and 23%, respectively. The low yield of protected cholesterol can be explained by the fact that cholesterol is an aliphatic alcohol. Products were obtained in relatively high purity, and thus do not need to be purified by chromatography. The catalyst can be reused, in a yield of 72%, as opposed to the yield of 90% with the nonused polymer. This indicates that this catalyst is quite efficient and could be used for the protection of alcohols with THP, and also reused without losing efficiency.



Sinteza termosenzitivnih hidrogelova na bazi poli(*N*-izopropilakrilamida), inkapsulacija i praćenje kontrolisanog otpuštanja paracetamola

Ispitivana je potencijalna upotreba termosenzitivnih hidrogelova inkapsuliranih paracetamolom kao sistema za kontrolisano otpuštanje leka. Negativna termosenzitivnost hidrogelova iskorišćena je kao okidač za kontrolisano otpuštanje antipiretika. Sintetisani su negativno termosenzitivni hidrogelovi na bazi poli(*N*-izopropilakrilamida): poli(*N*-izopropilakrilamid) (PNIPA), interpenetrirajuća polimerna mreža poli(*N*-izopropilakrilamida) (IPN PNIPA) i poli(*N*-izopropilakrilamid) kopolimerizovan sa butil-metakrilatom (PNIPAcobMA). Ovi hidrogelovi su inkapsulirani paracetamolom i praćeno je kontrolisano otpuštanje paracetamola na temperaturama između normalne i povišene telesne temperature (od 36 do 42 stepena celzijusa). HPLC analizom kinetike otpuštanja leka potvrđeno je da PNIPA i PNIPAcobMA hidrogelovi nisu dovoljno termosenzitivni u željenom opsegu temperatura. Analizom kinetike otpuštanja leka kod IPN PNIPA hidrogelova uočena je odlična termosenzitivnost u uskom opsegu temperatura, i dobijena linearna zavisnost oslobođene koncentracije leka sa vremenom u prvom vremenskom periodu, koji je i ključan za njegovo delovanje. Ovo ukazuje da se IPN PNIPA hidrogelovi potencijalno mogu koristiti kao sistem za kontrolisano otpuštanje paracetamola.

Uvod

Paracetamol je lek koji se koristi za snižavanje povišene telesne temperature. Lek se uglavnom primenjuje tek kad se telesna temperatura poveća, što izaziva određeni period čekanja na njegovo dejstvo pod temperaturom, imajući na umu da se maksimalne koncentracije paracetamola u plazmi postižu nakon pola do dva sata. Takođe, primenjuje se i kada je povećanje telesne temperature usled bolesti očekivano, pre povišenja, da bi se izbegli simptomi bolesti, što može dovesti do nuspojava.

Moguće rešenje ovog problema je kontrolisano otpuštanje leka. Jedan od načina za takvo kontrolisanje je pomoću hidrogelova (Nazar 2012). Hidrogelovi su trodimenzionalne polimerne mreže koje mogu da upiju velike količine vode ili vodenih rastvora, čak do 90% njegove mase. Termosenzitivni hidrogelovi reaguju na promenu temperature zbog čega mogu imati široku primenu, poput kontrolisanog otpuštanja lekova. Postoje pozitivno i negativno termosenzitivni hidrogelovi. Naglo bubrenje ili odavanje vode pri promeni temperature dovodi i do otpuštanja supstance iz unutrašnjosti hidrogela. Negativno termosenzitivni hidrogelovi su oni koji se na višim temperaturama skupljaju i otpuštaju svoj sadržaj, a na nižim bubre (Qiu i Park 2001) (slika 1).

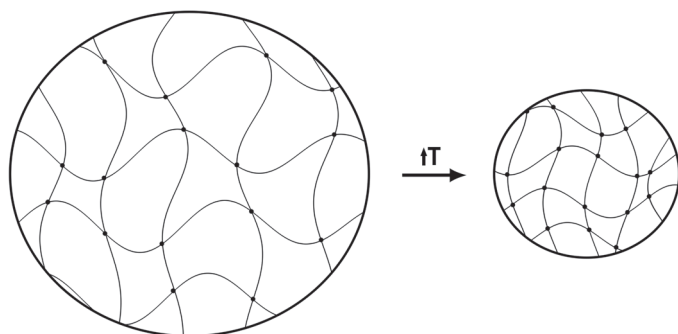
Cilj ovog rada je sinteza negativno termosenzitivnih hidrogelova i ispitivanje efikasnosti otpuštanja inkapsuliranog paracetamola na temperaturama između 36 i 42 stepena celzijusa.

Materijal i metode

Ovo istraživanje se sastoji iz sinteze tri tipa termosenzitivnih hidrogelova na bazi poli(*N*-izopropilakrilamida). Hidrogelovi su inkapsulirani paracetamolom, i posmatrano je kontrolisano

Dunja Arsenijević (2000), Beograd, učenica 3. razreda Treće beogradske gimnazije

MENTOR: Anamarija Nikoletić, student Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu



Slika 1. Shema otpuštanja lekova po sistemu prekidača (hidrogel se skuplja zbog povišenja temperature i dolazi do otpuštanja leka)

Figure 1. Scheme of on-off drug release system (hydrogel shrinks due to a rise in temperature causing drug release)

otpuštanje leka na temperaturama između telesne i povišene telesne temperature.

Neophodne hemikalije. Za potrebe ovog eksperimenta korišćene su sledeće hemikalije: *N*-izopropilakrilamid (NIPAm, Sigma Aldrich), *N,N'*-metilenbisakrilamid (MBAA, Sigma Aldrich), butil-metakrilat (BMA, sintetisan), amonijum-persulfat (APS, Sigma Aldrich), *N,N,N',N'*-tetrametiletilen diamin (TEMED, Sigma Aldrich).

Sinteza BMA. Butil-metakrilat je sintetisan dodavanjem 15 mL metilen-hlorida, 10 mL trietilamina i 4.9 mL butanola u balon koji je postavljen u ledeno kupatilo i ukapavano je 5 mL metakriloil-hlorida rastvoreno u 10 mL metilen-hlorida. Nakon 15 minuta balon je izvađen iz ledenog kupatila i sadržaj je mešan sat vremena na sobnoj temperaturi. Nakon toga je butil-metakrilat ekstrahovan iz smeše dodavanjem 10 mL vode i 10 mL HCl, organski sloj je osušen anhidrovanim Na₂SO₄. Nakon filtriranja, rastvor je uparen do suva, pri čemu je dobijen BMA.

Sinteza polimera

1. Sinteza PNIPAA-co-BMAm. U vijalici je rastvoreno 50 mg NIPAAm, 24 μL BMAm, 0.9 mg MBAAm i 0.9 mg APS sa 280 μL destilovane vode, i produvan je argon tokom 10 minuta. Nakon što je dodato 36 μL TEMED kao redoks inicijatora, polimerizacija je trajala 24 h na sobnoj temperaturi (Caykara *et al.* 2006). Dobijeni hidrogel je ispiran destilovanom vodom radi uklanjanja neizreagovanih monomer.

2. Sinteza PNIPAAm. U vijalicu je dodato 17 mg NIPAAm, 0.34 mg MBAAm (2% mase u odnosu na NIPAAm) i 0.2 mg APS. Razblaženi su sa 260 μL vode, i zatim je dodato 0.2 μL

TEMED. Kroz rastvor je produvan argon tokom 5 minuta i polimerizacija je trajala 3 h (Zhang *et al.* 2004). Ovaj postupak je ponovljen do dobijanja željenog broja hidrogelova.

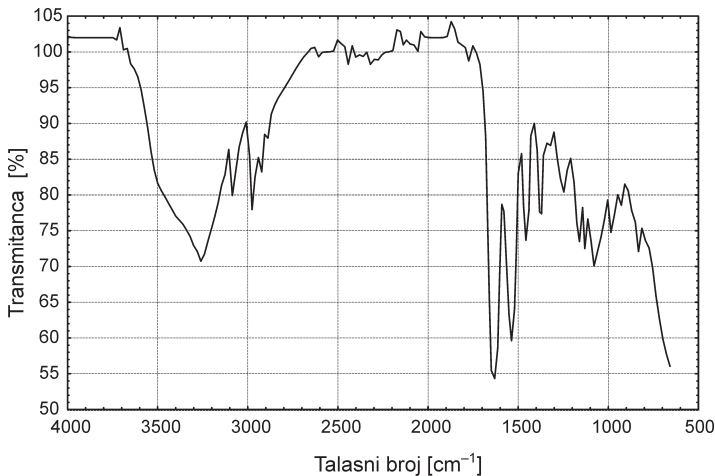
3. Sinteza IPN PNIPAA. Za sintezu IPN PNIPAA nastavljena je polimerizacija PNIPAA hidrogela. Nakon 3 h hidrogelovi su izvađeni iz vijalica i odvojeno postavljeni u čaše sa destilovanom vodom, i voda je menjana na svakih sat vremena tokom 5 h, da bi se sprali neizreagovali monomeri sa hidrogela, što je praćeno spektrofotometrijski (Thermo Scientific, Evolution 60 UV-Visible spectrophotometer), gde je posmatran nestanak pika kome pripada NIPAA. Kada se spektar uzorka poklapao sa slepom probom koju čini destilovana voda, nastavljena je dalja polimerizacija. Napravljen je monomerni rastvor tako što je u vijalicu dodato 0.75 mg NIPAAm i 0.15 mg MBAAm, i dodato je 220 μL vode. U ovaj rastvor su dodati mokri hidrogelovi, produvan je argon tokom nekoliko minuta, vijalice su zatvorene i odložene dok hidrogel nije upio većinu rastvora (najmanje 6 h). Zatim je u vijalice dodato 0.3 mg APS i 0.75 μL TEMED, produvan je argon kroz rastvor iznad hidrogela, i vijalica je zatvorena i odložena na 22 h. Hidrogelovi su potom izvađeni iz vijalica i postavljeni u vodu da se isperu od neizreagovanih hemikalija.

Kontrolisano otpuštanje leka. Hidrogelovi su nakon ispiranja izvađeni iz vode i tokom 5 h bili potopljeni u 10 mL rastvora paracetamola u fosfatnom puferu, čija je pH 7.4. Nakon toga hidrogelovi su isprani destilovanom vodom i potopljeni u 1 mL fosfatnog pufera u ependorfu, postavljenog u termostat. Ispitivano je otpuštanje paracetamola na 36, 38, 40, 41 i 42 stepena celzijusa. Uzeti su alikvoti datog rastvora na 5, 10, 15, 20, 30, 45 minuta, 1, 2 i 3 časa. Instrument

koji je korišćen za analizu uzoraka je HPLC hromatograf. Za HPLC je korišćena metoda koji ima sledeće parametre: Hypersil Gold kolonu (50 × 3 mm), protok od 1 mL/min, UV detekciju na 243 nm. Kao eluent upotrebljeni su voda i metanol (90 : 10).

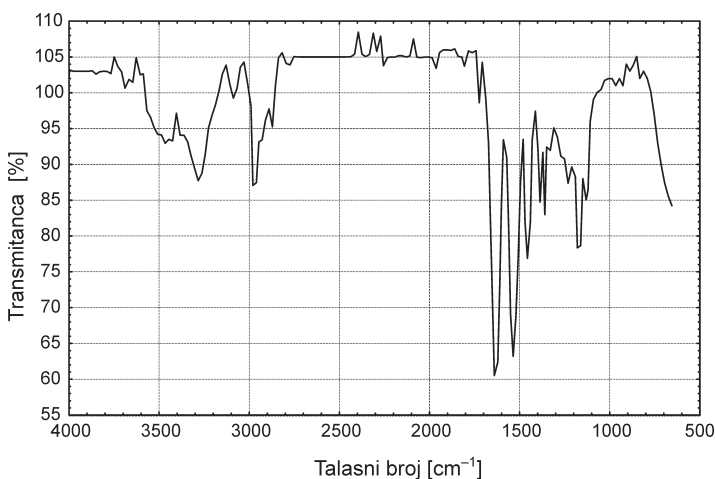
Rezultati

Nakon sušenja hidrogelova do konstantne mase, snimljeni su FTIR spektri (Thermo Scientific Nicolet iS10). Na slikama 2–4 prikazani su spektri PNIPA, PNIPAcOBMA i IPN PNIPA hidrogela. Svi FTIR spektri se poklapaju sa spektrima iz literature (Seddiki *et al.* 2012).



Slika 2. FTIR spektar PNIPA

Figure 2. FTIR spectrum of PNIPA



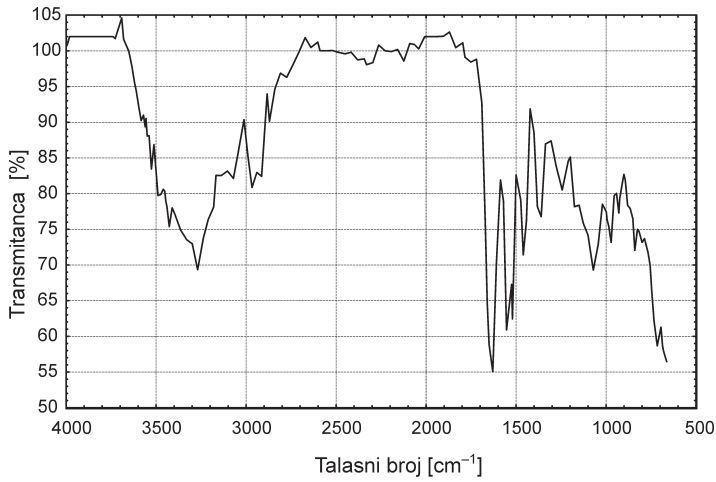
Slika 3. FTIR spektar PNIPAcOBMA

Figure 3. FTIR spectrum of PNIPAcOBMA

Otpuštanje paracetamola iz IPN PNIPA hidrogelova

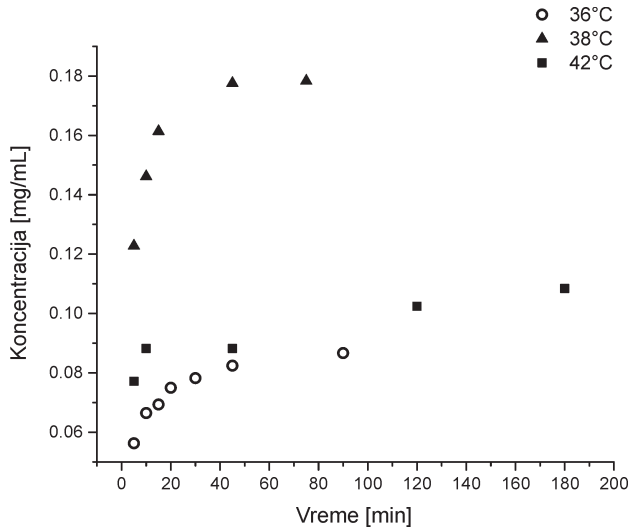
Prikazani su rezultati kontrolisanog otpuštanja paracetamola na temperaturama od 36, 38 i 42 stepena (slika 5). Sa datog grafika možemo videti da je zavisnost koncentracije otpuštenog leka od vremena linearna u prvom vremenskom periodu, koji je i ključan za efektivno dejstvo leka. Lek se postepeno oslobađa tokom vremena, i tek nakon jednog sata vrednost oslobođenog leka postaje konstantna.

Prikazana je srednja vrednost procenta otpuštenog paracetamola, na određenim temperaturama, za IPN PNIPA hidrogel (slika 6). Iz



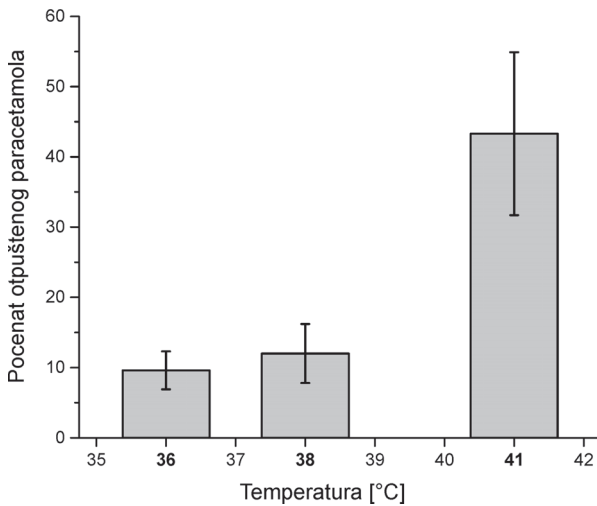
Slika 4. FTIR spektar IPN PNIPA

Figure 4. FTIR spectrum of IPN PNIPA



Slika 5. Prikaz kontrolisanog otpuštanja paracetamola na temperaturama od 36, 38 i 42 stepena

Figure 5. Controlled release of paracetamol at 36, 38 and 42 degrees



Slika 6. Srednja vrednost otpuštenog paracetmola za IPN PNIPA hidrogel (vertikalnim crtama je označena standardna devijacija)

Figure 6. Average value of released paracetamol from IPN PNIPA hydrogel (vertical bars denote standard deviation)

datih rezultata možemo da uočimo veliku promenu u otpuštanju paracetamola između 38 stepeni i 41 stepena, čime se dokazuje termosenzitivnost datog hidrogela. Eksperiment je ponovljen još 3 puta.

Otpuštanje paracetamola iz PNIPA hidrogelova

Ispitivana je i termosenzitivnost PNIPA hidrogelova za koji se pokazalo, u skladu sa literaturom, da se otpuštanje paracetamola ne menja sa porastom temperature u datom opsegu. Srednja vrednost promene procenta otpuštenog paracetamola iz PNIPA hidrogelova pri povišenju temperature, zasnovana na maksimalnoj vrednosti količine otpuštenog leka iznosi 0.45% (standardna devijacija je 0.32). Otpuštanje je praćeno na temperaturama od 36, 38 i 41 stepeni. Eksperiment je rađen u duplikatu.

Otpuštanje paracetamola iz PNIPAcobMA hidrogelova

Udeo otpuštenog paracetamola pri različitim temperaturama prikazan je u tabeli 1. U skladu sa time da PNIPA hidrogel nije termosenzitivan u datom opsegu temperatura, njegovom kopolimerizacijom očekivano je minimalno povećanje termosenzitivnosti.

Tabela 1. Procenat otpuštenog paracetamola iz PNIPAcobMA hidrogela

Temperatura	Udeo otpuštenog paracetamola (%)
36	4.6
38	5.5
41	8.3

Tabela 2. Masa otpuštenog paracetamola iz različitih hidrogelova na temperaturi od 41°C

Hidrogel	Masa otpuštenog paracetamola na 1 g hidrogela (mg)
PNIPA	2.7
PNIPAcobMA	6.4
IPN PNIPA	21.3

U tabeli 2 prikazane su mase otpuštenog paracetamola na 1 g hidrogela iz različitih tipova hidrogelova. Uočeno je da, u skladu sa najvećom osetljivošću na temperaturu, IPN PNIPA hidrogel otpušta najviše paracetamola.

Zaključak

IPN PNIPA hidrogelovi su pokazali odličnu termosenzitivnost i veliku razliku u koncentraciji otpuštenog leka u zavisnosti od toga da li je telesna temperatura povišena. Takođe, praćenjem otpuštanja na određene vremenske periode, uviđeno je da se lek otpušta kontinualno, čemu se teži kod kontrolisanog otpuštanja lekova. Da bi dati hidrogelovi mogli da imaju primenu u smanjivanju telesne temperature, potrebno je naredna istraživanja usmeriti ka ispitivanju maksimalne količine paracetamola hidrogel može da inkapsulira.


Literatura

- Caykara T., Kiper S., Demirel G. 2006. Thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylamide) hydrogels: Synthesis, swelling and interaction with ionic surfactants. *European Polymer Journal*, **42**: 348.
- Nazar H. 2012. Preparation and Evaluation of a Thermosensitive Hydrogel for the Nasal Delivery of Insulin. PhD thesis. University of Portsmouth, Winston Churchill Ave, Portsmouth PO1 2UP, UK
- Qiu Y., Park K. 2001. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **53**: 321.
- Seddiki N., Aliouche D. 2012. Synthesis, rheological behavior and swelling properties of copolymer hydrogels based on poly(N-isopropylacrilamide) with hydrophilic monomers. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, **27** (3): 447.
- Zhang X. Z., Wu D. Q., Chu C. C. 2004. Synthesis, characterization and controlled drug release of thermosensitive IPN-PNIPAAm hydrogels. *Biomaterials*, **25**: 3793.

Dunja Arsenijević

Synthesis of Poly(*N*-Isopropylacrylamide) Based Thermosensitive Hydrogels, Encapsulation with Paracetamol and Controlled Drug Release

The potential use of paracetamol encapsulated negatively thermosensitive hydrogels as a controlled drug release system was studied. Negative thermosensitivity was used as a trigger for controlled drug release of the antipyretic. Poly(*N*-isopropylacrylamide) based negatively thermosensitive hydrogels were synthesized: poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPA), interpenetrating polymer network poly(*N*-isopropylacrylamide) (IPN PNIPA) and poly(-isopropylacrylamide) copolymerized with butyl methacrylate (PNIPAcobMA). These hydrogels were encapsulated with paracetamol by placing

them in a paracetamol solution, and the drug defunded into the hydrogel. Controlled release of paracetamol was observed between regular and elevated body temperature, in the range between 36 and 42 degrees. Samples were taken at predetermined time periods for 3 h after the exposure of encapsulated hydrogels to different temperatures. By HPLC analysis of paracetamol samples released from PNIPA and PNIPAcobMA hydrogels, it was determined that they are not thermosensitive enough in the desired temperature range. By analysis of drug samples released from IPN PNIPA hydrogel, great thermosensitivity in a small temperature range was observed. Linear dependence of loaded drug concentration with time, in the first time period, crucial for its action, was proven. The results show that IPN PNIPA can be used as a drug release system, because the drug releases continually, while most of the drug is released in the first time period, by linear dependence, which is desired when forming these systems. 

Filip Koldžić

Sinteza i modifikovanje površinskog naelektrisanja nanočestica TiO_2 i ispitivanje njihovog dejstva na fotokatalitičku degradaciju katjonskih i anjonskih boja

U ovom istraživanju sintetisane su nanočestice titanijum-dioksida sol-gel metodom. Ispitan je njihov uticaj u prisustvu i odsustvu različitih jona na fotokatalitičku degradaciju katjonske i anjonske boje. Ispitan je uticaj fosfatnih, nitratnih i hidroksidnih jona. Kao katjonska boja korišćena je boja metil violet 6B, a kao anjonska – kongo crveno. Ispitivanje je vršeno praćenjem apsorbcije rastvora boja tokom ozračivanja UV svetlošću u prisustvu katalizatora. Kao izvor zračenja korišćena je živina UV lampa spektralnog opsega 340-400 nm. Dobijeni rezultati, u skladu sa pretpostavkom, ukazuju na to da je u prisustvu fosfatnih i hidroksidnih jona veći stepen degradacije katjonske boje, dok je u prisustvu nitratnih jona veći stepen degradacije anjonske boje, nego u odsustvu ovih jona. Najveći stepen degradacije boje metil violet (89%) je u prisustvu fosfata, dok je najveći stepen degradacije boje kongo crveno (80%) u prisustvu nitrata.

Uvod

Da bi supstanca bila boja, potrebno je da ima hromoforu (deo strukture koji apsorbuje u vidljivom delu spektra) i auksohromu koja pojačava dejstvo hromofora i pojačava vezivanje boje za odgovarajuću podlogu (Čorović 2011). Boje se mogu podeliti na katjonske i anjonske. Ukoliko je nakon disocijacije deo molekula sa

hromoforom i auksohromom pozitivno naelektrisan, boja je katjonska, u suprotnom je anjonska.

Metil violet je grupa triarilmetanskih boja koje se koriste u tekstilnoj industriji. U ovom istraživanju, korišćena je boja metil violet 6B (u daljem tekstu metil violet).

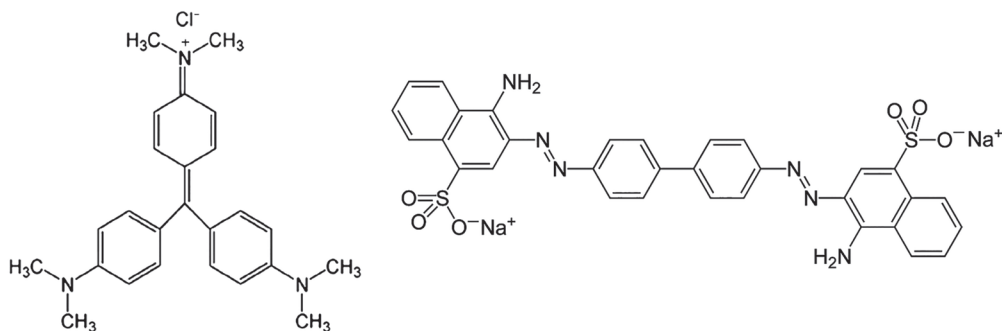
Kongo crveno je diazo boja koja se može koristiti kao pH indikator (menja boju iz crvene u plavu na pH 3.0–5.2). Međutim, retko se koristi zbog toga što je kancerogena (Wan Kamarudin *et al.* 2016).

Boje se koriste u industriji, kao što su tekstilna industrija, industrija hrane, industrija kože, industrija papira, štamparska industrija itd. Većina boja je opasna po životnu sredinu. Za uklanjanje boja primenjuju se različite metode, kao što su filtracija, jonska izmena, biosorpcija, elektrohemijaska degradacija, fotodegradacija itd.

Fotokatalitička degradacija je proces pri kom se jedinjenja razlažu u prisustvu svetlosti i katalizatora, poluprovodnika. Jedan od najčešće korišćenih poluprovodnika je titanijum-dioksid, koji se koristi u velikoj meri zbog svoje stabilnosti (Milosavljević 2016). Kod fotokatalitičke degradacije provodni elektroni i valentne šupljine se stvaraju kada se vodena suspenzija poluprovodnika zrači elektromagnetnim zračenjem, energije veće od energetskog razmaka valentne i provodne trake. Formirani slobodni elektroni mogu redukovati boju, i tako je degradirati. Kiseonik adsorbovan na površini poluprovodnika ili rastvoren u vodi, biva redukovan do superoksidnog radikal-anjona $\text{O}_2^{\cdot-}$. Fotogenerisane elektronske šupljine na površini poluprovodnika (h^+) mogu oksidovati organske molekule ili reagovati sa hidroksidnim jonima ili vodom prevodeći ih u OH^{\cdot} radikale. Mehanizam dejstva

Filip Koldžić (2001), Beograd, učenik 2. razreda Matematičke gimnazije u Beogradu

MENTOR: Momčilo Milosavljević, student Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu



Slika 1. Strukturne formule boja metil violet 6B (levo) i kongo crvenog (desno)

Figure 1. Structural formulas of methyl violet 6B (left) and congo red (right)

poluprovodnika kao fotokatalizatora pri razgradnji boja je (Mijin *et al.* 2006):

1. $\text{TiO}_2 + h\nu \rightarrow \text{TiO}_2 (e^- + h^+)$
2. $\text{TiO}_2 (h^+) + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{H}^+ + \text{OH}^*$
3. $\text{TiO}_2 (h^+) + \text{OH}^- \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{OH}^*$
4. $\text{TiO}_2 (e^-) + \text{O}_2 \rightarrow \text{TiO}_2 + \text{O}_2^{*-}$
5. $\text{O}_2^{*-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HO}_2^{*-}$
6. Boja + OH^* → proizvodi degradacije
7. Boja + h^+ → proizvodi oksidacije
8. Boja + e^- → proizvodi redukcije

Površinsko naelektrisanje poluprovodnika se može opisati fizičkom veličinom koja se naziva zeta potencijal. Ukoliko je zeta potencijal veći od 0 V, površina je pozitivno naelektrisana, i suprotno, ukoliko je zeta potencijal manji od 0 V, površina je negativno naelektrisana. Zbog delovanja privlačnih i odbojnih Kulonovih sila, anjonske boje će se bolje adsorbovati na površini koja je pozitivno naelektrisana, dok će se katjonske boje bolje adsorbovati na površini koja je negativno naelektrisana. Određene hemijske vrste, kao što su nitrati, fosfati i hidroksidni jon, mogu se adsorbovati na površini titanijum-dioksida, i tako uticati na njen zeta potencijal. Što je koncentracijama nitrata veća, zeta potencijal na površini titanijum-dioksida je pozitivniji (McFayden i Fairhurst 1993). S druge strane, što je koncentracija fosfata veća, zeta potencijal je negativniji (Chen *et al.* 2015). Pri nižim pH vrednostima zeta potencijal na površini titanijum-dioksida je pozitivan, dok je pri višim pH vrednostima negativan (Jin *et al.* 2017).

Cilj ovog istraživanja je sinteza nanočestica titanijum-dioksida i ispitivanje njihovog dejstva

na fotokatalitičku degradaciju katjonske (metil violet) i anjonske (kongo crveno) boje u prisustvu različitih hemijskih vrsta kojima se modifikuje naelektrisanje površine katalizatora.

Materijal i metode

Nanočestice TiO_2 sintetisane su sol-gel metodom. U 10 mL apsolutnog etanola (Fisher Chemical, p. a) rastvoreno je 10 mL glacijalne sirćetne kiseline (Kemika, p. a). Dobijeni rastvor je ohlađen do približno 0°C u ledenom kupatilu. U njega je polako, u kapima i uz konstantno mešanje, dodato 5 mL (0.017 mol) titanijum (IV)-izopropoksida (Acros Organic, p. a). U dobijeni rastvor je u kapima, uz konstantno snažno mešanje tokom 1 h, dodato 120 mL (6.667 mol) destilovane vode. Tom prilikom nastao je beli gel, koji se usled snažnog mešanja rastvorio. Nakon dodavanja vode, nastavljeno je sa mešanjem smeše tokom još 1 h dok se nije dobio potpuno bistar rastvor. Dobijeni rastvor je ostavljen na mračnom mestu tokom 12 h. Potom je sušen na 75°C tokom 14 h, kako bi se formirao gel. Gel je osušen na 100°C i dobijeni kristali su usitnjenju avanu. Dobijeni prah je žaren u pećnici na 500°C tokom 5 h i potom dodatno usitnjen u avanu.

Veličina sintetisanih nanočestica određena je pomoću SEM-a (TESCAN MIRA 3-xmu) na Tehnološko metalurškom fakultetu u Beogradu. Snimanja su vršena na uvećanjima 10, 50, 100 i 300 hiljada puta.

Pripremljeni su rastvori boja metil violet (Merck, p. a) i kongo crveno (Merck, p. a) u des-

tilovanoj vodi, koncentracija 20 ppm i 40 ppm, respektivno.

Ekspiriment je postavljen tako što je u čaše koje ne apsorbuju UV svetlost dodato po 20 mL rastvora boje i 20 mL destilovane vode. U reakcione smeše je dodato po 25.0 mg katalizatora (nanočestica TiO_2). Reakcione smeše su konstantno mešane. Reakcione smeše su ozračivane UV lampom (Philips TL 8W BLB). Kako bi se potvrdila validnost rezultata, sva merenja vršena su u triplikatu.

Prilikom ispitivanja fotokatalitičkog dejstva nemodifikovanih nanočestica TiO_2 , u reakcione smeše nisu dodavani dodatni reagensi.

Prilikom ispitivanja fotokatalitičkog dejstva komercijalnog titanijum-dioksida (P-25) uslovi su identični kao za nemodifikovane nanočestice TiO_2 . Fotokatalitičko dejstvo komercijalnog titanijum-dioksida (Merck, p. a) upoređeno je sa dejstvom sintetisanih nanočestica.

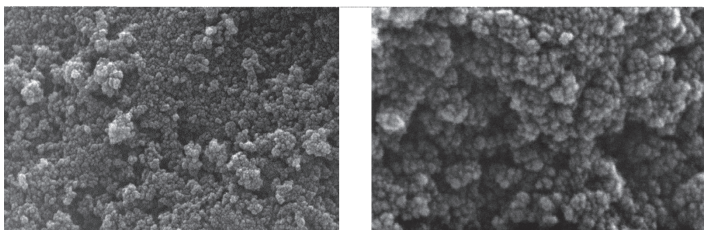
Ispitivan je uticaj fosfatnih, nitratnih i hidroksidnih jona u reakcionoj smeši na fotokatalitičku moć nanočestica TiO_2 . Prisustvo fosfata u reakcionoj smeši obezbeđeno je dodavanjem 0.5 mg ($4.17 \cdot 10^{-6}$ mol) natrijum-dihidrogenfosfata

(Centrohem, p. a) u svaku od čaša. Ukupna koncentracija fosfata u svakoj od reakcionih smeša je bila 10^{-4} mol/dm³. Prisustvo nitrata u reakcionoj smeši obezbeđeno je dodavanjem 34.0 mg ($4 \cdot 10^{-4}$ mol) natrijum-nitrata (Merck, p. a) u svaku od čaša. Ukupna koncentracija nitrata u svakoj od reakcionih smeša je bila 0.01 mol/dm³. Prisustvo hidroksidnih jona u reakcionoj smeši obezbeđeno je dodavanjem 1.16 mL (10^{-4} mol) standardnog rastvora natrijum-hidroksida (Lafoma Skopje, p. a), koncentracije 0.0864 mol/dm³, u svaku od čaša. Ukupna koncentracija hidroksidnih jona u svakoj od reakcionih smeša je bila 10^{-4} mol/dm³.

Uzorci su analizirani neposredno pre početka ozračivanja, nakon 1.5, 3, 4.5, 6, 9, 12, 15, 30, 45 i 60 min od početka ozračivanja. Uzimani su alikvoti od po 1 mL i centrifugirani (Mini Fuge Microspin) tokom 2 min pri intenzitetu sile od 10000 G, kako bi se taloženjem uklonio sav katalizator. Potom su alikvoti analizirani na UV-Vis spektrofotometru (Thermo Scientific Evolution 60S). Prvo su snimljeni spektri obe boje, kako bi se odredio maksimum apsorpcije.

Slika 2. Snimci sintetisanih nanočestica TiO_2 na SEM-u; uvećanje a) 10, b) 50, c) 100 i d) 300 hiljada puta

Figure 2. SEM scans of synthesised TiO_2 nanoparticles; magnificated a) 10, b) 50, c) 100 and d) 300 thousand times



c)

d)

Sve apsorbancije su snimane na tim talasnim dužinama (maksimumi apsorpcije).

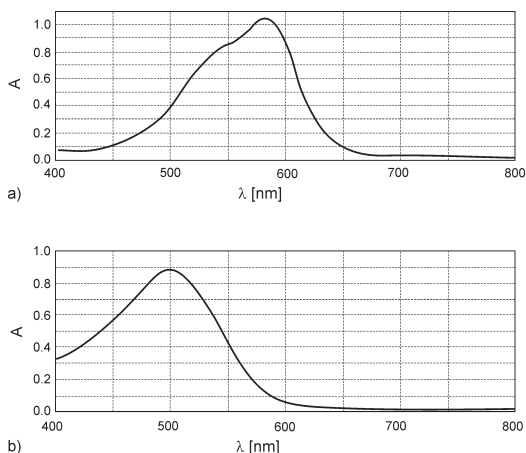
Procenat degradacije računat je prema sledećoj formuli:

$$\text{procenat degradacije} = \left(1 - \frac{A_{\text{trenutno}}}{A_{\text{početno}}} \right) \cdot 100\%$$

Rezultati i diskusija

Na osnovu SEM snimaka sintetisanih nanočestica, određeno je da je njihova veličina (19.2 ± 0.8) nm. Sintetisane nanočestice su sve približne veličine, što znači da je korišćena sol-gel metoda pogodna za njihovu sintezu. Oblik i veličina sintetisanih nanočestica odgovaraju literaturnim (Venkatachalam *et al.* 2007). Sintetisane nanočestice su nepravilnog, međusobno veoma sličnog oblika.

Radi određivanja maksimuma apsorpcije snimljeni su UV-Vis spektri boja metil violet i kongo crveno (slika 3). Maksimum apsorpcije za boju metil violet je na 584 nm, a za boju kongo crveno na 497 nm. Sva naredna snimanja apsorbcija vršena su na ovim talasnim dužinama.

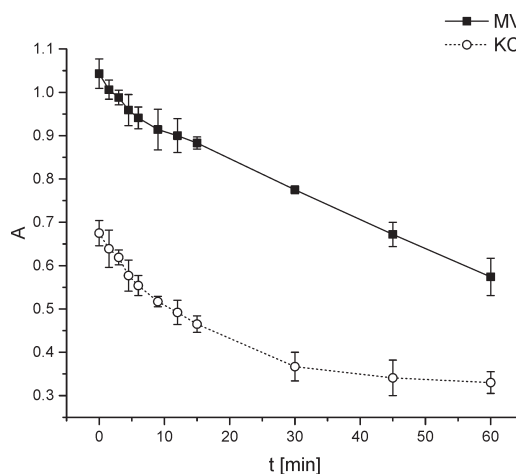


Slika 3. UV-Vis spektri boja metil violet (a) i kongo crveno (b)

Figure 3. UV-Vis spectra of methyl violet (a) and Congo red (b)

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva nemodifikovanih nanočestica

Sa grafika zavisnosti apsorbcije od vremena (slika 4) može se zaključiti da se sa vremenom apsorbcije rastvora obe boje smanjuju, što znači da dolazi do fotodegradacije boja. Na osnovu prvih 5 tačaka određeni su tangensi uglova nagiba linearizovanih grafika (predstavljaju brzine degradacije), i oni iznose 0.016 za MV i 0.020 za KC. Dakle, na osnovu nagiba grafika ne primećuje se značajna razlika u brzini procesa razgradnje ove dve boje pri ovim uslovima. Procenat degradacije za metil violet je 45%, dok je procenat degradacije za kongo crveno 51%, nakon 60 minuta ozračivanja.



Slika 4. Grafik zavisnosti apsorbcije rastvora boja metil violet (MV) i kongo crvenog (KC) od vremena ozračivanja

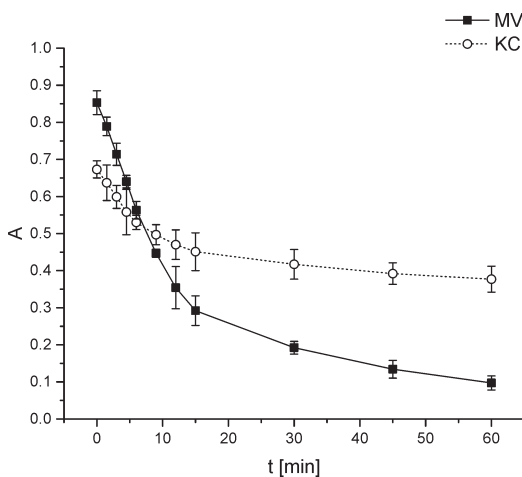
Figure 4. Dependence of absorbance of dye solutions on irradiation time; MV for methyl violet and KC for Congo red.

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva P-25 TiO₂

Tek nakon 30 minuta od početka ozračivanja dolazi do neznatne promene u apsorbcijama. To ide u prilog tome da su sintetisane čestice zapravo nanočestice, i da zbog veće površine imaju bolje fotokatalitičko dejstvo.

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva nanočestica TiO₂ u prisustvu fosfata

Sa grafika zavisnosti apsorbancije od vremena (slika 5) može se zaključiti da se apsorbancije rastvora obe boje smanjuju, što znači da dolazi do fotokatalitičke degradacije boja. Na osnovu prvih 5 tačaka sa ovog grafika određeni su tangensi uglova nagiba linearizovanih grafika (predstavljaju brzine degradacije), i oni iznose 0.049 za MV i 0.024 za KC. Procenat degradacije metil violeta je 89%, dok je procenat degradacije kongo crvenog 44% nakon 60 min ozračivanja. U prisustvu fosfata je površina titanijum-dioksida negativno naelektrisana, zbog čega deluju jače kulonove sile između površine katalizatora i boja (Chen *et al.* 2015). Između katjonske boje (metil violet) i površine katalizatora postoji jače privlačenje i bolja adsorpcija, zbog čega se lakše degradira. Sa druge strane, anjonska boja (kongo crveno) se odbija od površine katalizatora i zbog toga je stepen njene degradacije manji. Do potpune degradacije metil violeta pri ovim uslovima dolazi nakon 75 minuta od početka ozračivanja.

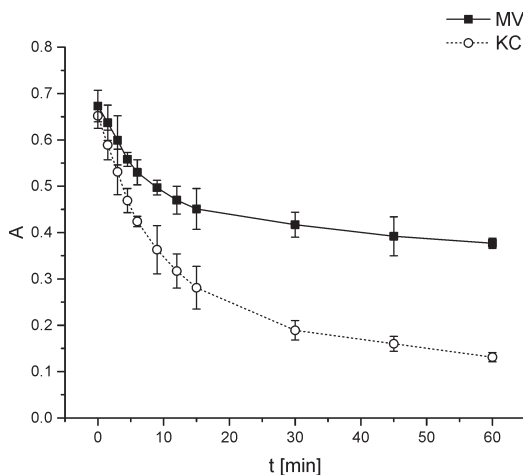


Slika 5. Grafik zavisnosti apsorbancija rastvora boja metil violet (MV) i kongo crvenog (KC) od vremena ozračivanja u prisustvu fosfata

Figure 5. Dependence of absorbance of dye solutions on irradiation time in presence of phosphate ions; MV for methyl violet and KC for congo red.

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva nanočestica TiO₂ u prisustvu nitrata

Sa grafika zavisnosti apsorbancije od vremena na slici 6 može se uočiti da apsorbancije rastvora boja opadaju sa vremenom, što znači da dolazi do fotokatalitičke degradacije boja. Tangensi uglova nagiba linearizovanih grafika određeni na osnovu prvih pet tačaka iznose 0.025 za MV i 0.038 za KC. Na osnovu nagiba može se zaključiti da je proces degradacije kongo crvenog znatno brži od procesa degradacije metil violeta, pogotovo u početku degradacije. Nakon 60 minuta od početka ozračivanja, procenat degradacije metil violeta iznosi 33%, dok je procenat degradacije kongo crvenog 80%. U prisustvu nitrata površina titanijum dioksida je slabo pozitivno naelektrisana (McFayden i Fairhurst 1993). Zbog toga je veća verovatnoća odbijanja katjonske boje (metil violet) od površine katalizatora i procenat njene degradacije se smanjuje. Za razliku od nje, anjonska boja (kongo crveno) će se dobro adsorbovati na površinu katalizatora i bolje degradirati, na šta ukazuje i procenat degradacije od 80% nakon 60 minuta. Do potpune degradacije kongo crvenog dolazi nakon 90 minuta od početka ozračivanja.

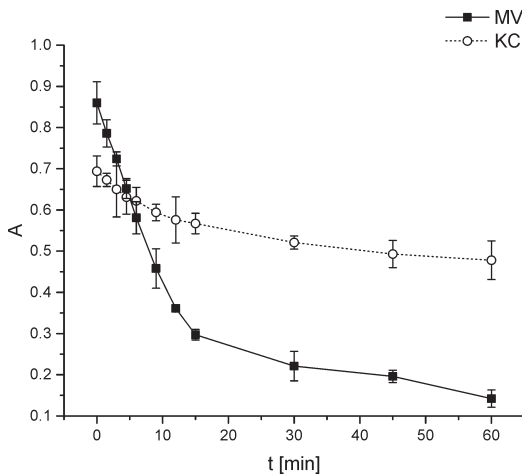


Slika 6. Grafik zavisnosti apsorbancija rastvora boja metil violet (MV) i kongo crvenog (KC) od vremena ozračivanja u prisustvu nitrata

Figure 6. Dependence of absorbance of dye solutions on irradiation time in presence of nitrate ions; MV for methyl violet and KC for congo red.

Ispitivanje fotokatalitičkog dejstva nanočestica TiO₂ u prisustvu hidroksidnih jona

Sa slike 7 može se zaključiti da se apsorbcije rastvora boja smanjuju sa vremenom, što znači da dolazi do fotokatalitičke degradacije boja. Tangensi uglova nagiba linearizovanih grafika iznose 0.046 za MV i 0.012 za KC, na osnovu čega se može zaključiti da je proces degradacije metil violeta značajno brži od procesa degradacije kongo crvenog, pogotovo na početku procesa. Procenat degradacije metil violeta pri ovim uslovima je 84%, dok je procenat degradacije kongo crvenog 31% nakon 60 minuta ozračivanja. U prisustvu hidroksidnih jona površina katalizatora je negativno naelektrisana i između nje i boja deluju jake Kulonove sile (Jin *et al.* 2017). Katjonska boja (metil violet) se snažno privlači sa površinom katalizatora i degradira. S druge strane, anjonska boja (kongo crveno) se obija od površine katalizatora i zbog toga je njen stepen degradacije smanjen. Do potpune degradacije metil violeta dolazi nakon 90 minuta od početka ozračivanja.



Slika 7. Grafik zavisnosti apsorbcija rastvora boja metil violet (MV) i kongo crvenog (KC) od vremena ozračivanja u prisustvu hidroksidnih jona

Figure 7. Dependence of absorbance of dye solutions on irradiation time in presence of hydroxide ions; MV for methyl violet and KC for congo red.

Zaključak

Sol-gel metodom su uspešno sintetisane nanočestice titanijum-dioksida. Sintetisne nanočestice su pokazale efikasno dejstvo na fotokatalitičku degradaciju katjonske (metil violet) i anjonske (kongo crveno) boje. Potvrđeno je da su nanočestice bolji katalizator za fotokatalitičku degradaciju boja od običnih čestica. Modifikovanje naelektrisanja površine katalizatora (TiO₂) različitim hemijskim vrstama, kao što su fosfatni, nitratni i hidroksidni joni, značajno utiče na fotokatalitičku degradaciju katjonskih i anjonskih boja pomoću ovog katalizatora. Najveći stepen degradacije za metil violet postignut je u prisustvu fosfata i on iznosi 89%, a za kongo crveno u prisustvu nitrata i on iznosi 80% nakon 60 minuta od početka ozračivanja.

Literatura

Chen M., Zhou K., Lu X., Li Y., Feng G., Xu X., *et al.* 2015. The aggregation and dispersion of anatase and rutile TiO₂ nanoparticles in the presence of phosphate. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24: 3205.

Čorović M. 2011. Ispitivanje katalitičkog dejstva ZnO, SnO₂ i njihovih kompozitnih smeša na fotokatalitičku degradaciju boje oranž II. *Petničke sveske*, 69: 379.

Jin B., Yao G., Wang X., Ding K., Jin F. 2017. Photocatalytic oxidation of glucose into formate on nano TiO₂ catalyst. *ACS Sustainable Chemistry*, 5: 6377.

McFayden P., Fairhurst D. 1993. Zeta potential of nanoceramic materials – measurements and interpretation. *Proceedings of British Ceramic Society*, 51: 175.

Mijin D., Jugurdžija M., Jovančić P. 2006. Photocatalytic degradation of synthetic dye under sunlight. *Hemijska industrija*, 61: 7.

Milosavljević M. 2016. Sinteza nanocevi niobijum (V)-oksida i nanocevi litijum-niobata, srebrom dopiranog niobijum (V)-oksida i ispitivanje njihovih fotokatalitičkih dejstava na kristal violetu. *Petničke sveske*, 75: 408.

Venkatachalam N., Palanichamy M., Murugesan V., 2007. Sol-gel preparation and characterization of alkaline earth metal doped nano TiO₂: Efficient photocatalytic degradation of 4-chlorophenol.


Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, **273** (1-2): 177.

Wan Kamarudin W. F., Rahman Donak M. N. A., Irwan Z., Donak A. A. 2016. Comparison study of Congo red dye degradation process using Fenton's reagent and TiO₂. *ARPJ Journal of Engineering and Applied Sciences*, **11** (9): 6176.

Filip Koldžić

Synthesis and Modification of Zeta Potential of TiO₂ Nanoparticles and Determination of their Influence on Photocatalytic Degradation of Cationic and Anionic Dyes

In this research, titanium-dioxide nanoparticles were synthesized by a sol-gel method. Their effect on photocatalytic degradation of

cationic and ionic dyes was investigated in the presence and absence of certain chemical species. The effects of phosphate, nitrate and hydroxide ions were investigated. Methyl Violet 6B was used as a model of cationic dye and Congo Red was used as a model of anionic dye. The investigation was carried out by monitoring the absorbance of dyes solutions during UV irradiation in the presence of the catalyst. A mercury UV lamp with a spectral range of 340-400 nm was used as the light source. The obtained results, in accordance with the hypothesis, suggest that in the presence of phosphate and hydroxide ions, a higher degradation degree was observed for cationic dye, while in the presence of nitrate ions, a higher degradation degree was observed for anionic dye. The highest degradation degree for Methyl Violet dye of 89% was observed in the presence of phosphate ions, while the highest degradation degree for Congo Red of 80% was observed in the presence of nitrate ions. 

Nove diazo boje na bazi barbiturne kiseline: sinteza i solvatohromizam

Sintetisane su heterociklične diazo boje opšteg naziva 5-((4-arildiazonil-1-fenil-3-metil-1H-pirazol-5-il)diazonil)-6-hidroksipirimidin-2,4(1H, 3H)-dion i ispitan uticaj rastvarača na njihove apsorpcione spektre (solvatohromizam). Sinteza svake boje izvršena je u tri koraka: azo kuplovanje arildiazonijum soli sa 3-aminokrotononitrilom, formiranje pirazolskog prstena sa fenilhidrazinom i azo kuplovanje sa barbiturnom kiselinom. Sintetisane boje razlikovale su se po jednom supstituentu: metil (3a), nitro (3b) i hlor (3c). Solvatohromizam sintetisanih boja ispitan je u dvanaest aprotičnih i pet protičnih organskih rastvarača upotrebom UV/Vis spektrofotometrije. Ispitan je uticaj kiselosti sredine na spektar boje 3b. Na osnovu dobijenih apsorpcijskih spektara upoređen je uticaj različitih rastvarača i supstituenata na solvatohromne karakteristike ispitivanih boja i izračunati regresioni koeficijenti Kamlet-Taftove solvatohromne jednačine. Izražen solvatohromizam zapažen je kod boje 3b, za razliku od jedinjenja 3a i 3c. Na osnovu regresionih koeficijenata solvatohromnih jednačina po LSER modelu dobijene su detaljnije informacije o interakcijama između molekula boja i rastvarača. Pokazano je da na spektar boje 3a dominantan uticaj ima kiselost rastvarača, kao i bipolarnost/polarizabilnost. U slučaju boje 3b vrednost koeficijenta koji određuje polarizabilnost rastvarača ima višestruko veću vrednost nego kod ostalih boja, što potvrđuje njen jak solvatohromizam. Baznost rastvarača može imati uticaj na spektar jedinjenja 3b, dok sva tri parametra utiču na spektar boje 3c sličnim intenzitetom.

Uvod

Azo boje predstavljaju organska jedinjenja koja sadrže azo grupu ($-N=N-$) i dobijaju se reakcijom diazonijum soli najčešće sa aromatičnim aminima i fenolima. Najveću primenu imaju u industriji boja, tekstila, hrane i lekova, a u hemiji i biologiji se uglavnom koriste kao indikatori. U takvim molekulima azo grupa predstavlja hromoforu, odnosno deo molekula koji apsorbuje vidljivu svetlost. Funkcionalne grupe sa slobodnim elektronskim parovima (na primer $-OH$, $-NH_2$, $-Cl$, kao i heteroatomi) koje su vezane za hromoforu predstavljaju auksohrome koje mogu da utiču na sposobnost hromofore da apsorbuje svetlost, tj. na intenzitet i talasnu dužinu apsorbovane svetlosti.

Značajan uticaj na apsorpciju svetlosti ima i medijum u kojem se boja nalazi. U zavisnosti od interakcija boje sa rastvaračem, dolazi do promena u apsorpciji vidljive svetlosti. Ova pojava se naziva solvatohromizam (engl. solvation – interakcija između rastvarača i rastvorene supstance, chromism – najčešće povratna promena boje supstance). Uticaj rastvarača na apsorpcijski spektar rastvorenog jedinjenja najpre zavisi od hromofore rastvorka i prirode elektronskih prelaza, od kojih su u slučaju solvatohromizma najznačajniji $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$, i apsorpcija putem razmene naelektrisanja. Izrazit solvatohromizam ispoljavaju samo oni π -elektronski sistemi kod kojih se raspodela naelektrisanja i dipolni moment u osnovnom stanju značajno razlikuju od onih u ekscitovanom stanju. Predznak solvatohromizma zavisi od razlike dipolnih momenata molekula u osnovnom i ekscitovanom stanju.

Igor Topalović (2000), Užice, Dimitrija Tucovića 44, učenik 3. razreda Uzičke gimnazije

MENTORI:

Jelena Stanić, student Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Katarina Postolović, student Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Kragujevcu

Ukoliko je dipolni moment ekscitovanog oblika veći od dipolnog momenta molekula u osnovnom stanju, onda dolazi do batohromnog pomeranja apsorpcionog spektra, i reč je o pozitivnom solvatohromizmu. Suprotno, ako je dipolni moment hromofore u osnovnom stanju veći od dipolnog momenta u ekscitovanom, tada dolazi do hipsohromnog pomeranja, i solvatohromizam je negativan (Reichardt i Welton 2011). Molekuli koji ispoljavaju solvatohromne karakteristike nalaze primenu u mnogim istraživanjima, kao što su hemijska i biološka testiranja na makrosistemima tipa membrane, u kojima polarnost igra značajnu ulogu (Marini *et al.* 2010).

Za proučavanje solvatohromnih karakteristika molekula predlagani su različiti matematički modeli. Najprihvaćeniji i najkorišćeniji je Kamlet-Taftov model solvatohromnih jednačina koji se bazira na linearnoj korelaciji solvatacionih energija (LSER) i dat je izrazom:

$$\tilde{\nu}_{\max} = \tilde{\nu}_0 + a\alpha + b\beta + s\pi^* \quad (1)$$

gde je: $\tilde{\nu}_{\max}$ talasni broj apsorpcionog maksimuma u datom rastvaraču (cm^{-1}), $\tilde{\nu}_0$ talasni broj apsorpcionog maksimuma u cikloheksanu kao referentnom rastvaraču (cm^{-1}), α mera kiselosti rastvarača, β mera baznosti rastvarača, π^* mera sposobnosti rastvarača da stabilizuje naelektrisanje ili dipol na osnovu svog dielektričnog efekta, dok su a , b i s regresioni koeficijenti (cm^{-1}). Vrednosti empirijskih parametara α , β i π^* rezultat su usrednjavanja višestrukih normalizovanih efekata rastvarača na mnoštvo svojstava koji su od njih zavisni. Kao referentni rastvarač dogovorom je odabran cikloheksan, dok parametri ostalih rastvarača uglavnom čine skalu od nula do jedan. Primenom višestruke linearne korelacije i regresione analize Kamlet-Taftovih solvatohromnih jednačina dobijaju se vrednosti regresionih koeficijenata a , b i s , na osnovu kojih se može zaključiti koje interakcije sa rastvaračem su dominantne, i do kakvih pomeranja dolazi u spektru. Negativne vrednosti regresionih koeficijenata ukazuju na batohromno pomeranje spektra, odnosno pomeranje ka većim talasnim dužinama, dok pozitivne vrednosti govore o hipsohromnom pomeranju, tj. pomeranju ka manjim talasnim dužinama (Reichardt i Welton 2011).

Cilj ovog rada bio je sinteza 5-((4-arildiazenil-1-fenil-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)diazenil) derivata barbiturne kiseline i ispitivanje uticaja rastvarača, supstituenata i kiselosti sredine na njihove apsorpcione karakteristike. Ispitivani supstituenti bili su nitro grupa (primer grupe sa slobodnim i delokalizovanim elektronima, tj. hromofore), hlor (grupa sa slobodnim elektronima, odnosno auksohroma) i metil grupa (grupa bez slobodnih elektrona). U cilju dobijanja detaljnijih informacija o interakcijama između molekula boja i rastvarača, istraživanje je obuhvatalo i matematičku obradu podataka pomoću LSER modela po Kamletu i Taftu.

Materijal i metode

Sinteza

Prilikom sinteze boja korišćene su sledeće hemikalije p. a. čistoće: *p*-toluidin (Acros), *p*-nitroanilin (Ciba), *p*-hloranilin (Fluka), natrijum-nitrit (Kemika), 3-aminokrotononitril (Acros), fenilhidrazin-hidrohlorid (Merck), anhidrovani fenilhidrazin (Kemika), barbiturna kiselina (Merck-Alkaloid), piridin (Lachner), koncentrovana hlorovodonična kiselina (Fisher), koncentrovana sirćetna kiselina (Fisher), natrijum-acetat (Merck), natrijum-hidroksid (Laphoma), kalijum-hidroksid (Zdravlje Leskovac), etanol (Zorka Pharma), *N,N*-dimetilformamid (Fisher). Procedure su preuzete iz literature (Karci 2005; Karci i Karci 2008) i modifikovane u zavisnosti od strukture jedinjenja. Brojevi od 1 do 3 označavaju određeni korak u sintezi, dok slova a, b i c predstavljaju različite supstituente. Stoga su konačni proizvodi označeni sa 3a, 3b i 3c.

1. Sinteza 3-imino-2-(2-(4-metilfenil)hidraziniliden)butanonitrila (1a). U koncentrovano HCl (30 mL) dodat je *p*-toluidin (3.21 g, 0.03 mol) i dobijena suspenzija je ohlađena na 0°C u ledenom kupatilu i mešana. Zatim je pripremljen rastvor natrijum-nitrita (2.07 g, 0.03 mol, 1 eq) u vodi (9 mL) i, nakon hlađenja do 0–5°C, polako ukapavan u suspenziju *p*-toluidina u HCl. Nakon dodavanja NaNO₂ dobijeni rastvor je mešan tokom 1 časa na 0°C. Pripremljen je rastvor 3-aminokrotononitrila (2.46 g, 0.03 mol, 1 eq) u 50% etanolu (30 mL) i natrijum-acetatu (6 g), ohlađen na 0°C i mešan. U ovaj rastvor je pažljivo ukapavan rastvor formi-

rane diazonijum soli. Vrednost pH reakcione smeše podešena je na 5–6 pomoću ohlađenog rastvora NaOH. Mešanje je nastavljeno tokom 4 časa na 0–5°C. Nakon toga, dodato je oko 100 mL hladne destilovane vode, istaloženi proizvod je proceden na vakuumu, ispran sa još malo vode, osušen i rekristalizovan iz etanola. Dobijen je žut praškasti proizvod u prinosu od 34%.

2. Sintaza 3-imino-2-(2-(4-nitrofenil)hidraziniliden)butanonitrila (1b). Primenjena je ista procedura kao i za sintezu jedinjenja 1a, s tim što je na početku odmeren *p*-nitroanilin (4.14 g, 0.03 mol). Nakon rekristalizacije reakcione smeše dobijen je smeđ praškasti proizvod (prinos 44%).

3. Sintaza 2-(2-(4-hlorfenil)hidraziniliden)-3-iminobutanonitrila (1c). Primenjena je procedura za sintezu 1a i 1b, osim što je polazno jedinjenje bio *p*-hloranilin (3.83 g, 0.03 mol). Nakon prečišćavanja dobijen je žutozelen praškasti proizvod u prinosu od 50%.

4. Sintaza 1-fenil-3-metil-4-((4-metilfenil)diazenil)-1*H*-pirazol-5-amina (2a). Fenilhidrazin-hidrohlorid (1.48 g, 0.0102 mol, 1 eq) je dodat u rastvor jedinjenja 1a (2.0489 g, 0.0102 mol) i piridina (0.6 mL) u apsolutnom etanolu (35 mL). Reakciona smeša je mešana i refluktovana na uljanom kupatilu tokom 4 časa i nakon toga je ohlađena na sobnu temperaturu. Istaloženi proizvod je odvojen dodatkom oko 50 mL destilovane vode, proceden na vakuumu, osušen i rekristalizovan iz etanola. Dobijeni su narandžasti kristali u prinosu od 60%.

5. Sintaza 1-fenil-3-metil-4-((4-nitrofenil)diazenil)-1*H*-pirazol-5-amina (2b). Anhidrovani fenilhidrazin (1.31 mL, 0.0133 mol, 1 eq) dodat je u rastvor jedinjenja 1b (3.0751 g, 0.0133 mol) i piridina (0.7 mL) u apsolutnom etanolu (40 mL). Dobijeni rastvor je refluktovan 4 časa i mešan, nakon čega je ohlađen na sobnu temperaturu. Dodato je oko 50 mL vode, proizvod je proceden na vakuumu, osušen i rekristalizovan iz etanola. Dobijen je crvenkastosmeđ praškasti proizvod (prinos 20%).

6. Sintaza 1-fenil-4-((4-hlorfenil)diazenil)-3-metil-1*H*-pirazol-5-amina (2c). Primenjena je ista procedura kao za sintezu jedinjenja 2b, s tim što su se razlikovale količine supstanci: anhidrovani fenilhidrazin (1.48 mL, 0.015 mol, 1 eq), jedinjenje 1c (3.3084 g, 0.015 mol), piridin

(0.8 mL), etanol (45 mL). Nakon rekristalizacije dobijen je žut proizvod u prinosu od 31%.

7. Sintaza 5-((1-fenil-3-metil-4-((4-metilfenil)diazenil)-1*H*-pirazol-5-il)diazenil)-6-hidroksipirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-diona (3a). U smešu koncentrovanih HCl i AcOH (13 mL, 1 : 1 v/v) dodato je jedinjenje 2a (1.7918 g, 6.15 mmol) i dobijena suspenzija je mešana na 0°C. U nju je zatim ukapavan ohlađeni (0–5°C) rastvor NaNO₂ (0.43 g, 6.15 mmol, 1 eq) u vodi (3 mL). Nastali rastvor je mešan tokom 1 časa na 0°C. Pripremljena je barbiturna kiselina (0.79 g, 6.15 mmol, 1 eq) u vodi (6 mL) i kalijum-hidroksidu (0.35 g, 6.15 mmol, 1 eq) i rastvor je ohlađen na 0°C. Rastvor nastale diazonijum soli je pažljivo ukapavan u rastvor barbiturne kiseline koji je mešan u ledenom kupatilu. Vrednost pH smeše je podešena na 5–6 pomoću ohlađenog rastvora KOH, nakon čega je mešanje nastavljeno tokom 4 h na 0–5°C. Dodato je oko 30 mL hladne destilovane vode i proizvod je proceden na vakuumu, ispran, osušen i rekristalizovan iz DMF-a i vode. Dobijeno je 257.1 mg narandžastog praškastog proizvoda (prinos 10%).

7. Sintaza 5-((1-fenil-3-metil-4-((4-nitrofenil)diazenil)-1*H*-pirazol-5-il)diazenil)-6-hidroksipirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-diona (3b). Primenjena je ista procedura kao za sintezu jedinjenja 3a, s tim što su se razlikovale količine odmerenih supstanci: 2b (0.8523 g, 2.64 mmol), HCl/AcOH (6 mL, 1:1 v/v), NaNO₂ (0.19 g, 2.64 mmol, 1 eq), barbiturna kiselina (0.34 g, 2.64 mmol, 1 eq), KOH (0.15 g, 2.64 mmol, 1 eq). Nakon što je reakciona smeša prečišćena dobijeno je 592.3 mg smeđeg praškastog proizvoda u prinosu od 49%.

8. Sintaza 5-((1-fenil-4-((4-hlorfenil)diazenil)-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)diazenil)-6-hidroksipirimidin-2,4(1*H*,3*H*)-diona (3c). Korišćena je ista procedura kao i za sintezu 3a i 3b s razlikom u količinama supstanci: 2c (1.4494 g, 4.65 mmol), HCl/AcOH (10 mL, 1:1 v/v), NaNO₂ (0.32 g, 4.65 mmol, 1 eq), barbiturna kiselina (0.60 g, 4.65 mmol, 1 eq), KOH (0.26 g, 4.65 mmol, 1 eq). Nakon rekristalizacije dobijeno je 407.9 mg narandžastog praškastog proizvoda (prinos 20%).

Ispitivanje solvatohromizma

Kako bi se ispitale solvatohromne karakteristike sintetisanih boja, pripremljeni su njihovi rastvori u 17 različitih organskih rastvarača.

Korišćeno je 12 aprotičnih (toluen, metilen hlorid, hloroform, dietil etar, tetrahidrofuran – THF, 1,4-dioksan, aceton, etil-acetat, acetonitril, *N,N*-dimetilformamid – DMF, piridin, dimetil sulfoksid – DMSO), odnosno pet protičnih rastvarača (metanol, etanol, 2-propanol, 2-metil-2-propanol, sirćetna kiselina). Takođe su pripremljena i dva rastvora boje 3b u metanolu, od kojih je jedan sadržao 0.1 mol/dm³ HCl, a drugi 0.1 mol/dm³ NaOH. Početni rastvori bili su koncentracije 5·10⁻⁴ mol/dm³, a potom su razblaživani 50 puta i snimani su UV/Vis spektri. Spektri su snimani pomoću UV/Vis spektrofotometra Thermo Scientific Evolution 60S u opsegu 200–800 nm sa rezolucijom od 2 nm u kvarcnim kivetama optičkog puta 1 cm.

Primena LSER modela. Radi izračunavanja vrednosti regresionih koeficijenata Kamlet-Taftove solvatohromne jednačine, primenjene su metode višestruke linearne korelacije i regresije. Vrednosti empirijskih parametara rastvarača preuzete su iz literature (Reichardt i Welton 2011). Značajnost dobijenih rezultata utvrđena je na osnovu F i G statističkih testova. Za sva izračunavanja korišćen je Microsoft Excel 2013.

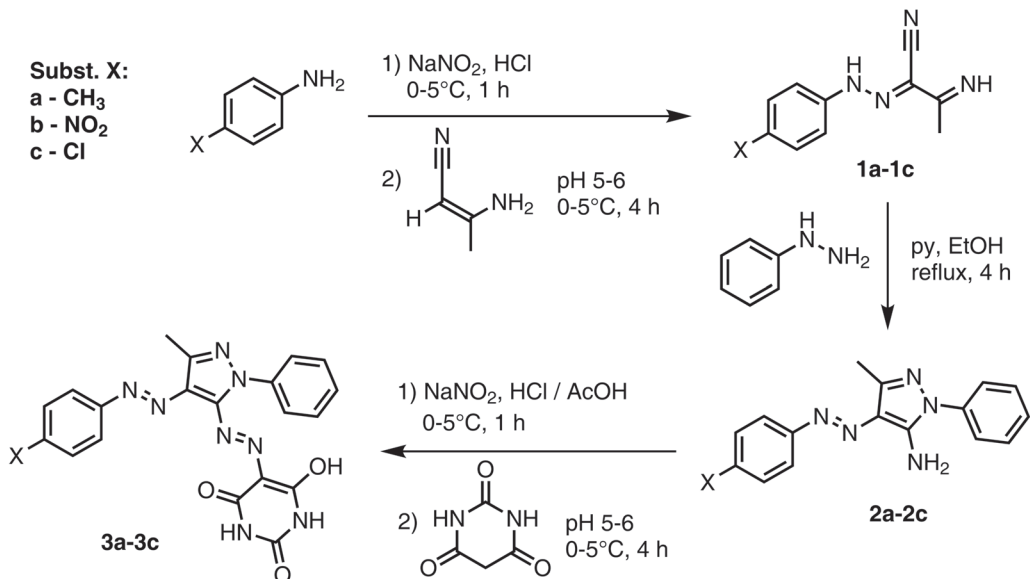
Rezultati i diskusija

Sinteza diazo boja 3a–3c

Shema po kojoj su boje sintetisane prikazana je na slici 1. U prvom koraku nastaje diazonijum so *p*-supstituisanog anilina, koja dalje podleže azo kuplovanju sa 3-aminokrotononitrilom, pri čemu se dobija jedinjenje 1. Potom dolazi do ciklizacije jedinjenja 1 fenilhidrazinom u prisustvu piridina i nastaje jedinjenje 2. U poslednjem koraku sinteze, jedinjenje 2 se diazotuje i reaguje sa baznim rastvorom barbiturne kiseline mehanizmom azo kuplovanja, nakon čega nastaje konačni proizvod 3.

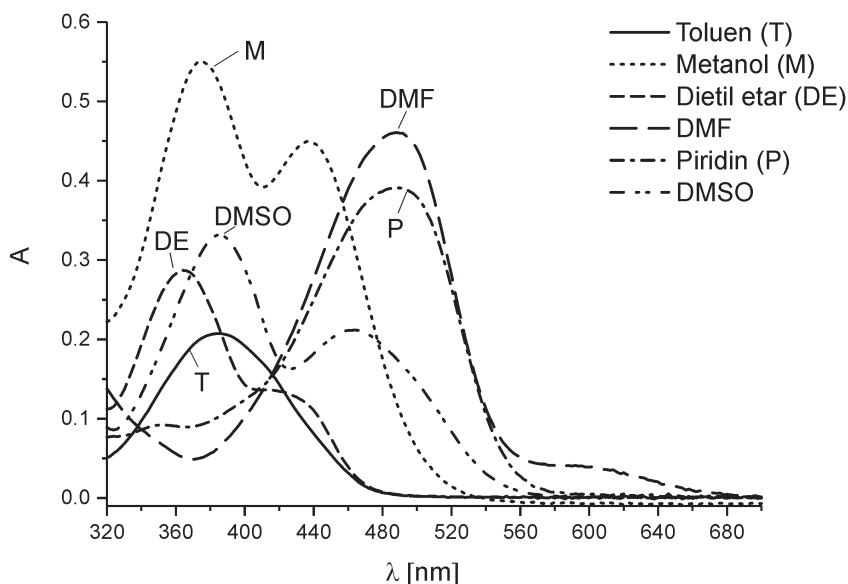
Solvatohromizam

Uticaj rastvarača i supstituenata. Uticaj rastvarača na UV/Vis spektar sintetisane boje 3b vrlo je izražen; apsorpcioni spektri ove boje prikazani su na slici 2. U većini rastvarača prvi apsorpcioni maksimum se nalazi u opsegu od 370 nm do 374 nm. Veće pomeranje ka crvenoj oblasti spektra prisutno je u DMSO u odnosu na metanol ($\Delta\lambda_{\max,1} = +11$ nm, $\Delta\lambda_{\max,2} = +28$ nm) i



Slika 1. Shema sinteze 5-((4-arildiazenil-1-fenil-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)diazenil) derivata barbiturne kiseline

Figure 1. Synthetic scheme of 5-((4-aryldiazenyl-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-5-yl)diazenyl) barbituric acid derivatives



Slika 2. UV/Vis spektri boje 3b u nekoliko rastvarača ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

Figure 2. UV/Visible spectra of dye 3b in several solvents ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

toluenu ($\Delta\lambda_{\text{max},1} = +12 \text{ nm}$), dok je hipsokromno pomeranje zapaženo kod dietil etra ($\Delta\lambda_{\text{max},1} = -10 \text{ nm}$, $\Delta\lambda_{\text{max},2} = -22 \text{ nm}$) i etil-acetata ($\Delta\lambda_{\text{max},1} = -10 \text{ nm}$) u odnosu na metanol. Kod dva rastvarača spektar jedinjenja ima dosta drugačiji oblik: apsorpcioni maksimum za DMF

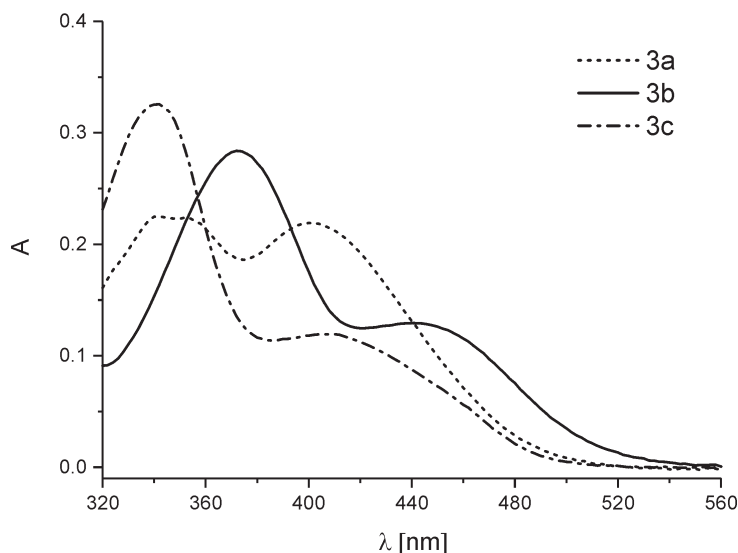
nalazi se na 488 nm, a za piridin na 490 nm. U tabeli 1 date su vrednosti prvih apsorpcionih maksimuma za sve tri boje.

Kod boje 3a ne dolazi do izraženijih pomeranja u spektru. Blago hipsokromno pomeranje se može primetiti u slučaju sirćetne kiseline, dok

Tabela 1. Prvi apsorpcioni maksimumi (nm) boja 3a, 3b i 3c u različitim rastvaračima

Boja	Rastvarač							
	Toluen	DCM	CHCl ₃	MeOH	EtOH	<i>i</i> -PrOH	<i>t</i> -BuOH	Et ₂ O
3a	353	352	350	346	347	346	346	348
3b	386	370	380	374	372	372	372	364
3c	348	346	346	340	342	342	342	344

	Rastvarač								
	THF	Dioksan	Aceton	AcOH	EtOAc	ACN	DMF	Py	DMSO
3a	352	350	350	342	349	350	360	350	354
3b	372	372	372	372	364	370	–	–	385
3c	346	346	344	341	344	342	346	349	346



Slika 3. UV/Vis spektri boja 3a–3c u etanolu ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

Figure 3. UV/Visible spectra of dyes 3a–3c in ethanol ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

je batohromno pomeranje prisutno kod DMF, a u manjoj meri i kod DMSO. Najveća razlika između apsorpcionih maksimuma iznosi 18 nm. Ni u slučaju boje 3c pomeranja nisu izražena. Do slabog hipsohromnog pomeranja spektra dolazi u sirćetnoj kiselini, acetonitrilu i alkoholima, dok se batohromno pomeranje od nekoliko nanometara javlja u slučaju kada se kao rastvarač koristi piridin. Maksimalna razlika apsorpcionih maksimuma iznosila je svega 9 nm.

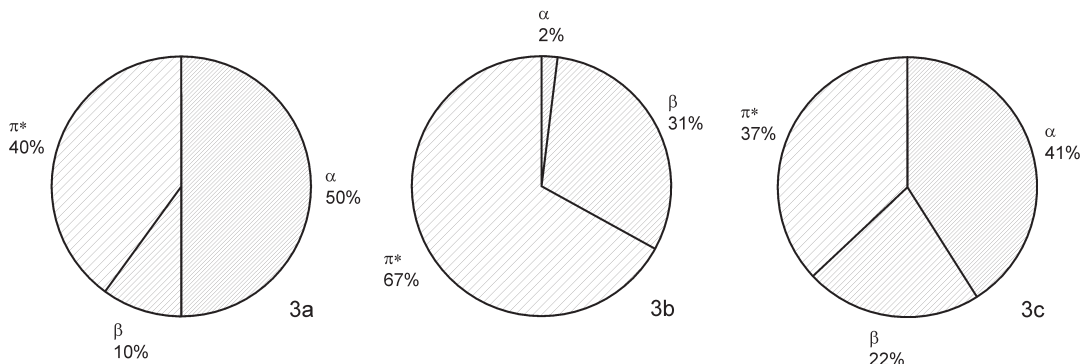
Na slici 3 se vidi da je kod 3b prisutno batohromno pomeranje u odnosu na spektre druge dve boje. Ovakvi rezultati se mogu objasniti time što nitro grupa jako utiče na dipolni moment i elektronske prelaze celokupnog molekula, što nije slučaj sa metil grupom i hlorom. Nitro grupa predstavlja jaku elektron-akceptorsku grupu, za razliku od metil grupe koja je slab elektron-donor, i hlora koji predstavlja slab elektron-akceptor. U tabeli 2 su navedeni regresioni koeficijenti solvatohromnih jednačina po LSER

modelu za prvi apsorpcioni maksimum ispitivanih jedinjenja i vrednosti F-testa za izvršenu regresionu analizu. Analizirana je korelacija između sledećih parametara: talasni broj apsorpcionog maksimuma u određenom rastvaraču (zavisna promenljiva), kiselost α , baznost β i bipolarnost/polarizabilnost π^* rastvarača (nezavisne promenljive). Regresioni koeficijenti označeni su sa a , b i s , respektivno, a rezultati su dati na pragu značajnosti od 1%. Nakon regresije, za sve tačke su određene rezidualne vrednosti i , na osnovu G-testa, odbačene su one tačke za koje je procenjeno da značajno odstupaju.

Na osnovu regresionih koeficijenata a , b i s dolazi se do zaključka da je solvatohromizam boja 3a–3c složen proces na koji utiče više od jednog parametra. U slučaju boje 3a, nešto značajniji parametar je kiselost rastvarača čijim povećanjem dolazi do hipsohromnog pomeranja spektra, dok se povećanjem polarizabilnosti može očekivati batohromno pomeranje. Kod

Tabela 2. Rezultati višestruke linearne regresije Kamlet-Taftove solvatohromne jednačine

Boja	$\tilde{\nu}_0$ (10^3 cm^{-1})	a (10^3 cm^{-1})	b (10^3 cm^{-1})	s (10^3 cm^{-1})	F
3a	28.68 ± 0.14	0.5 ± 0.1	0.11 ± 0.15	-0.41 ± 0.19	15.68
3b	28.30 ± 0.19	0.04 ± 0.12	-0.8 ± 0.3	-1.7 ± 0.3	19.33
3c	29.0 ± 0.1	0.39 ± 0.07	0.21 ± 0.11	-0.36 ± 0.14	21.36



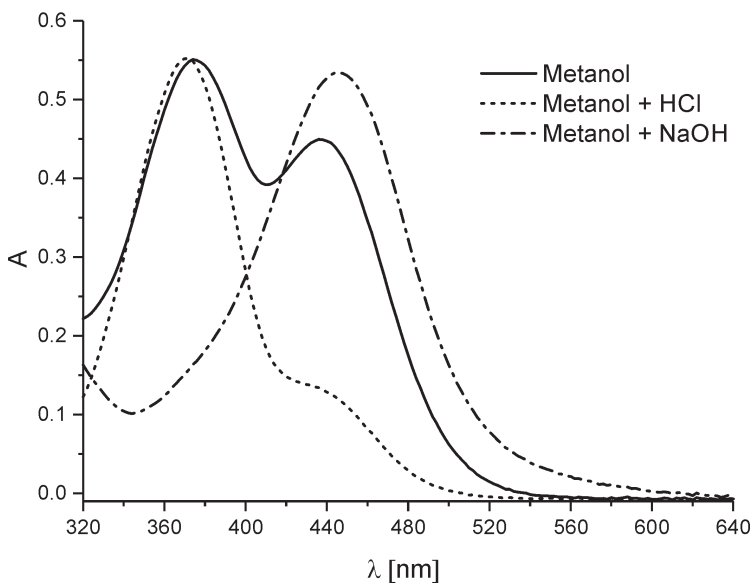
Slika 4. Procentni doprinosi solvatohromnih parametara α , β i π^*

Figure 4. Percentage contribution of the solvatochromic parameters α , β i π^*

boje 3b dominira koeficijent bipolarnosti/polarizabilnosti rastvarača s , i njegova vrednost je znatno veća u odnosu na vrednosti kod druge dve boje, što objašnjava jak solvatohromizam koji ispoljava. Povećanje polarizabilnosti i baznosti rastvarača dovodi do batohromnog pomeranja spektra, dok kiselost nema uticaj. U slučaju jedinjenja 3c sva tri parametra utiču na poziciju apsorpcionog maksimuma sličnim intenzitetom: povećanjem polarizabilnosti rastvarača trebalo bi da dolazi do batohromnog pomeranja, dok se

povećanjem kiselosti ili baznosti može očekivati hipsohromno pomeranje. Iz ovakvih zapažanja sledi da različiti supstituenti mogu značajno uticati na apsorpciona svojstva hromofore za koju su vezani.

Slika 4 prikazuje procentne doprinose empirijskih parametara rastvarača koji u suštini predstavljaju procentne udele apsolutnih vrednosti regresionih koeficijenata. Može se pretpostaviti da najjači solvatohromizam ispoljava boja 3b zbog dominantnosti jednog parametra. S



Slika 5. UV/Vis spektri boje 3b u metanolu, metanolu sa HCl i metanolu sa NaOH ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{HCl}} = c_{\text{NaOH}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$)

Figure 5. UV/Visible spectra of dye 3b in methanol, methanol with HCl and methanol with NaOH ($c \approx 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c_{\text{HCl}} = c_{\text{NaOH}} = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$)

druge strane, kod boje 3c bi se, imajući u vidu i predznake regresionih koeficijenata, očekivao najslabiji solvatohromizam zbog sličnih doprinosa pojedinačnih parametara, što se poklapa sa eksperimentalnim rezultatima.

Utica j kiselosti sredine. Još jedan od parametara koji može uticati na promenu apsorpcionog spektra jeste dodatak kiseline ili baze u rastvor analita, tj. promena pH vrednosti. Na slici 5 prikazani su spektri boje 3b u metanolu, metanolu sa HCl i metanolu sa NaOH koncentracija $2 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³. Pokazalo se da je boja 3b osetljiva na promenu pH vrednosti medijuma u kojem se nalazi. U slučaju dodatka kiseline, drugi apsorpcioni maksimum gubi na intenzitetu, na osnovu čega se pretpostavlja da je na nižim pH vrednostima dominantniji jedan oblik boje 3b. Pored toga, prisutno je i vrlo slabo hipsohromno pomeranje spektra, za samo nekoliko nanometara. Kod rastvora u koji je dodata baza prvi maksimum uopšte ne postoji, što bi značilo da je prisutan samo drugi oblik jedinjenja 3b, dok je pomeranje spektra blago bathohromno. Takođe, posmatranjem samih rastvora jasno su se mogle razlikovati njihove boje: rastvor u metanolu bio je narandžast, u metanolu sa HCl žut, a u metanolu sa NaOH tamnocrven.

Zaključak

Sintetisana su tri 5-((4-arildiazenil-1-fenil-3-metil-1*H*-pirazol-5-il)diazenil) derivata barbiturne kiseline sa različitim supstituentima i ispitane su im solvatohromne karakteristike. Pokazano je da boja 3b (koja kao varirani supstituent ima nitro grupu) poseduje izražen i pozitivan solvatohromizam u više organskih rastvarača: najintenzivnije bathohromno pomeranje primećeno je u slučaju piridina, dimetil sulfoksida i *N, N*-dimetilformamida, dok je hipsohromno pomeranje prisutno kod dietil etra. U slučaju jedinjenja 3a i 3c, čiji su varirani supstituenti metil grupa i hlor, solvatohromizam je slabo prisutan. Rezultati su u skladu sa strukturom boja, s obzirom na to da jak solvato-

hromizam ispoljava boja sa nitro supstituentom koji značajno utiče na sistem π -elektrona celog molekula. Regresioni koeficijenti Kamlet-Taftove solvatohromne jednačine za ispitivana jedinjenja dobijeni su metodom višestruke linearne korelacije i regresije. Na osnovu izračunatih vrednosti zaključeno je da na UV/Vis spektar boje 3a najveći uticaj ima kiselost, a zatim i bipolarnost/polarizabilnost rastvarača. U slučaju jedinjenja 3b polarizabilnost rastvarača ima daleko veći uticaj nego kod 3a i 3c. Pored bipolarnosti/polarizabilnosti, i baznost rastvarača ima uticaj na spektar 3b. Kod boje 3c sva tri parametra mogu uticati na njen spektar. Do promena u apsorpcionom spektru boje 3b dolazi i promenom pH vrednosti sredine.

Predlog za dalje istraživanje bio bi detaljnije ispitivanje uticaja pH vrednosti na ravnoteže između različitih oblika boje 3b i utvrđivanje tačnih struktura tih oblika radi njene potencijalne primene kao indikatora. Takođe bi se mogla ispitivati mogućnost kompleksiranja sintetisanih boja sa metalima pod pretpostavkom da bi različiti supstituenti mogli da utiču na konstante stabilnosti kompleksa. Kompleksi sa visokom konstantom stabilnosti i karakterističnim UV/Vis spektrima bi se mogli koristiti za spektrofotometrijsko određivanje metala u smeši ili pojedinačno.

Literatura

- Karci F. 2005. Synthesis of disazo dyes derived from heterocyclic components. *Coloration Technology*, **121** (5): 275.
- Karci F., Karci F. 2008. The synthesis and solvatochromic properties of some novel heterocyclic disazo dyes derived from barbituric acid. *Dyes and Pigments*, **77** (2): 451.
- Marini A., Munoz-Losa A., Biancardi A., Mennucci B. 2010. What is solvatochromism? *Journal of Physical Chemistry B*, **114** (51): 17128.
- Reichardt C., Welton T. 2011. *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. Wiley

New Barbituric Acid Disazo Dyes: Synthesis and Solvatochromism

In this paper three new 5-((4-aryldiazenyl-3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazol-5-yl)diazenyl) barbituric acid derivatives were synthesised and their solvatochromic properties were examined. The synthesis of each dye was performed in three steps: azo coupling of aryldiazonium salt with 3-aminocrotonitrile, forming of pyrazole ring with phenylhydrazine and azo coupling with barbituric acid, as shown in Figure 1. The synthesised compounds differed by one substituent: 3a (methyl), 3b (nitro) and 3c (chloro).

The solvatochromism of these dyes was examined in twelve aprotic and five protic solvents using UV/Visible spectrophotometry. The effect of medium acidity on the absorption spectrum of compound 3b was investigated as well.

Based on the obtained absorption spectra, the effects of various solvents and different substituents were compared and regression coefficients of Kamlet-Taft solvatochromic equations were calculated using multiple linear correlation and regression analysis. It was found that compound 3b has intensive solvatochromism, unlike dyes 3a and 3c, in which case solvents did not have significant influence on the absorption spectra. These observations, which are shown in Figures 2 and 3, and Table 1 as well, are in accordance with the dyes' structures.

Further, regression coefficients of solvatochromic equations based on linear solvation energies relationships (LSER) model provided detailed information on interactions between dyes and solvents. These results are presented in Table 2 and Figure 4. It was proved that solvent acidity has a major effect on the absorption spectrum of dye 3a as well as solvent dipolarity/polarisability. In case of compound 3b, the regression coefficient of solvent polarity had a significantly


Table 1. First absorption maxima (nm) of dyes 3a, 3b and 3c in different solvents

Dye	Solvent							
	Toluene	DCM	CHCl ₃	MeOH	EtOH	<i>i</i> -PrOH	<i>t</i> -BuOH	Et ₂ O
3a	353	352	350	346	347	346	346	348
3b	386	370	380	374	372	372	372	364
3c	348	346	346	340	342	342	342	344

Dye	Solvent								
	THF	Dioxane	Acetone	AcOH	EtOAc	ACN	DMF	Py	DMSO
3a	352	350	350	342	349	350	360	350	354
3b	372	372	372	372	364	370	–	–	385
3c	346	346	344	341	344	342	346	349	346

Table 2. Results of Kamlet-Taft's solvatochromic equation multiple linear regression

Dye	$\tilde{\nu}_0$ (10 ³ cm ⁻¹)	<i>a</i> (10 ³ cm ⁻¹)	<i>b</i> (10 ³ cm ⁻¹)	<i>s</i> (10 ³ cm ⁻¹)	F
3a	28.68 ± 0.14	0.5 ± 0.1	0.11 ± 0.15	-0.41 ± 0.19	15.68
3b	28.30 ± 0.19	0.04 ± 0.12	-0.8 ± 0.3	-1.7 ± 0.3	19.33
3c	29.0 ± 0.1	0.39 ± 0.07	0.21 ± 0.11	-0.36 ± 0.14	21.36

higher value than other parameters, which explains its strong solvatochromism. Solvent basicity also affects shifts of 3b's spectrum. Each of the three solvent parameters can have an influence on spectrum shifts of dye 3c to a similar extent, according to the regression values. It was also revealed that dye 3b is quite sensitive to the addition of acid and base to its methanolic solution (Figure 5) and the conclusion was reached that the change of pH influences the equilibrium among various forms of compound 3b. 

Jovan Baljak

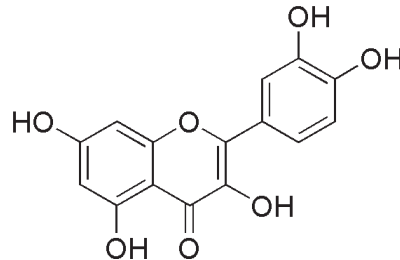
Voltometrijska metoda za određivanje kvercetina pomoću elektrode modifikovane provodljivim PANI polimerom

Cilj ovog istraživanja je razvijanje analitičke metode za određivanje koncentracije kvercetina. U ovu svrhu, kao radna elektroda, iskorišćena je platinska disk elektroda modifikovana provodljivim polimerom čime je povećana selektivnost prema kvercetinu. Sintetisan je provodljivi polimer polianilin (PANI) koji formira tanak sloj polimera na platinskoj disk elektrodi procesom ciklične voltametrije u rastvoru monomera anilina i dopanta. Polianilin (PANI) je dopiran sumpornom kiselinom (H_2SO_4). Tehnikom ciklične voltametrije dobijeni su kvalitativni podaci o elektrodama. Elektroda modifikovana polimerom ($PANI/H_2SO_4$) pokazuje veći voltametrijski odziv u rastvorima kvercetina nego u pozadinskom elektrolitu, dok nemođifikovana elektroda pokazuje isti voltametrijski odziv u rastvorima kvercetina u odnosu na pozadinski elektrolit. Stoga je elektroda modifikovana polimerom ($PANI/H_2SO_4$) pogodna za određivanje kvercetina u uzorcima, što je eksperimentalno potvrđeno u rasponu koncentracija od $1 \times 10^{-4} M$ do $1 \times 10^{-5} M$. Metodom kalibracione prave određena je koncentracija kvercetina u ekstraktu kantariona (*Hypericum perforatum*) u metanolu.

Uvod

Kvercetin se smatra pretečom i predstavnikom svih bioflavonoida. Hemijska struktura kvercetina je osnova i „skelet” većine drugih bioflavonoida, uključujući rutin, hesperidin i dr. Brojne lekovite biljke svoju aktivnost duguju

upravo kvercetinu. Kvercetin je dobar protivupalni agens jer direktno blokira nekoliko početnih nivoa upalnog procesa. Kvercetin blokira sintezu i oslobađanje histamina i drugih medijatora upale. Osim toga, dokazano je jak antioksidant i štiti LDL-holesterol od oksidacije, smanjujući na taj način opasnost od njegovog nakupljanja. Kvercetin sprečava zgrušavanje krvi, a time i stvaranje krvnih ugrušaka (Agarwal i Verma 2011.)



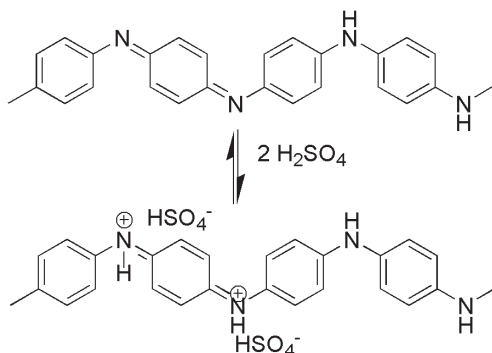
Slika 1. Kvercetin

Figure 1. Quercetin

Provodljivi polimeri su po svojoj strukturi dopirani polimeri s konjugovanim dvostrukim vezama. Mogućnost provodljivosti u ovim materijala potiče od konjugovanih dvostrukih veza koje se prostiru kroz čitavu strukturu polimernog lanca. Da bi se neutralni konjugovani polimeri preveli u provodljivo stanje potrebno je uvođenje slobodnih nosilaca naelektrisanja, tj. oksidacija ili redukcija polimera. Ovaj proces se naziva dopiranje polimera (Duić 1992).

Jovan Baljak (1999), Zvornik, Braće Obradovića 5, učenik 4. razreda JU SŠC „Petar Kočić” u Zvorniku

MENTOR: Nikola Obradović, dipl. hemičar



Slika 2. Jednačina reakcije oksidacije i redukcije PANI u PANI-H₂SO₄ sa imobilizacijom SO₄²⁻

Figure 2. Equation ox-red PANI in PANI-H₂SO₄ with immobilization SO₄²⁻

Polianilin (PANI) je provodljivi polimer u obliku emeraldin soli. Prednosti PANI u odnosu na ostale provodljive polimere su znatno niža cena, jednostavan način sinteze, stabilnost u atmosferskim uslovima, visoka električna provodljivost. Elektrohemijskom sintezom PANI polimera u toku redukcije privlači pozitivne jone M⁺ da bi izjednačio negativno naelektrisanje dopantnog jona SO₄²⁻. U toku oksidacije PANI će odbijati pozitivne jone M⁺, a dopantni jon SO₄²⁻ će ostati imobilisan. Polimer je dopiran sa H₂SO₄. (slika 2) (Cassignol *et al.* 1998)

Različite analitičke metode, poput HPLC i spektrofotometrijskih metoda, mogu biti korišćene u određivanju niskih koncentracija različitih analita, ali ove metode zahtevaju skupe instrumente i ne mogu se koristiti za in situ merenja. S druge strane, voltametrijom pravougaonih talasa (eng. square wave voltammetry, u daljem tekstu SWV) je pogodna metoda za određivanje zbog niske cene, visoke osetljivosti i jednostavnog rada. Ciklična voltometrija se koristi za kvalitativno ispitivanje elektroda modifikovane provodljivim polimerima.

Cilj ovog istraživanja je razvijanje analitičke metode za određivanje koncentracije kvercetina. U ovu svrhu, kao radna elektroda, iskorišćena je platinska disk elektroda modifikovana provodljivim polimerima čime je povećana selektivnost prema kvercetinu.

Materijal i metode

Elektrohemijska sinteza polimera. Sintetisan je provodljivi polimer PANI koji se formira kao tanak sloj polimera na elektrodi. Tako modifikovana elektroda se koristi za ispitivanje elektrohemijskog odziva prema kvercetinu. U elektrohemijsku ćeliju uređaja za cikličnu volta-

metriju (DY2000 Series Multichannel Potentiostat) preneto je 25 mL smeše za elektrohemijsku sintezu pripremljena u normalnim sudovima od 25.00 mL, pri moljskim odnosima anilina (Zorka Pharma) i sumporne kiseline (Fluka) 1 : 1 u 0.1 M rastvoru hlorovodonične kiseline (Zorka Pharma). Koncentracije sastojaka smeše su iznosile: 0.1 M anilina i 0.1 M sumporne kiseline. Kao radna elektroda je korišćena platinska disk elektroda (Pt). Pre upotrebe, elektroda je polirana sa dijamantskim pastama (Shuangxin) sukcesivno manje veličine (14 μm, 10 μm, 2.5 μm, 1 μm, 0.5 μm). Posle svakog koraka elektroda je isprana dejonizovanom vodom i obrisana vlažnom tkaninom. Odvojena je tkanina za svaku veličinu čestica. Za uklanjanje preostalih tragova materijala za poliranje elektrode su stavljene u ultrazvučno kupatilo 5 min. Na kraju elektrode su elektrohemijski očišćene u rastvoru sumporne kiseline (c = 0.5 M) na potencijulu +2.0 V 2 min. Zatim, snimljen je ciklični voltamogram 10 ciklusa na potencijalu od -0.23 V do 1.10 V pri brzini skeniranja 100 mV/s. Referentna elektroda koja je korišćena je Ag/AgCl (3M KCl). Kao pomoćna elektroda je korišćena platinska žica. PANI film je elektrohemijski sintetisan pomoću ciklične voltametrije, sa promenom potencijala od -0.2 V do 1.1 V u toku 15 ciklusa pri brzini skeniranja 50 mV/s. Nakon sinteze elektrode su čuvane u rastvoru 0.1M HCl (Wang i Levon 2012).

Ispitivanje elektrode modifikovane polimerom. Elektrode modifikovane PANI polimerom su korišćene za ispitivanje odziva prema kvercetinu. Snimljeni su ciklični voltamogrami i SW voltamogrami u rastvorima kvercetina (50% EtOH fosfatni pufer pH = 6.8) (Acros) različitih koncentracija (tabela 1) u koje je dodato 500 μL kalijum-heksacijanoferata K₃[Fe(CN)₆] (50 mM) (Alkaloid) kao medijator (Lei *et al.* 2005). Ciklični voltamogrami snimljeni su pri brzini ske-

niranja od 100 mV/s sa promenom potencijala od -1.00 do +1.00 V. Pre svakog snimanja rastvor u elektrohemijskoj ćeliji je deaerisan argonom 5 min. Kao radne elektrode su korišćene elektroda modifikovana PANI polimerom i nemodifikovana elektroda. Snimljeni su SW voltamogrami i konstruisana je kalibraciona prava.

Tabela 1. Koncentracija standardnih rastvora kvercetina

Broj rastvora	Koncentracija (mol/dm ³)
QV 1	1.0×10^{-3}
QV 2	5.0×10^{-4}
QV 3	2.5×10^{-4}
QV 4	1.0×10^{-4}
QV 5	5.0×10^{-5}
QV 6	2.5×10^{-5}
QV 7	1.0×10^{-5}

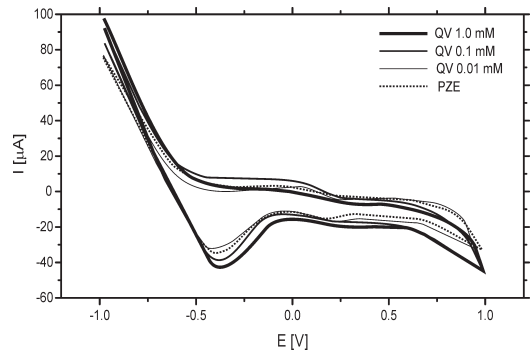
Određivanje kvercetina u uzorku. Kao uzorak je korišćena osušena biljka kantariona (*Hypericum perforatum*). Odmereno je 40 mg osušene i iseckane biljke. U uzorak je sipano 40 mL metanola (J. T. Baker) i sonifikovano je pola sata u ultrazvučnom kupatilu. Uzorak je profiltriran, a filtrat je uparen do suva i rastvoren u pozadinskom elektrolitu (50% EtOH fosfatni pufer pH = 6.8). Snimljen je SW voltamogram i izmerena jačina struje na potencijulu +0.55 V. Metodom kalibracione prave je određena koncentracija kvercetina u uzorku.

Rezultati i diskusija

Elektrohemijska sinteza polimera. Ciklični voltamogrami platinske elektrode uronjene u rastvor anilina/ H₂SO₄ se menjaju tokom svakog uzastopnog koraka (ciklusa) u sintezi. Razlika između prvog i drugog, zatim drugog i trećeg ciklusa, posledica je brzog nastanka dimera i trimera anilina. Mala razlika između susjednih ciklusa je posledica završetka sinteze filma. U sintezi polianilina dopiranog H₂SO₄ oksidacioni pik velikog inteziteta na potencijalu 0.80 V odgovara oksidaciji monomerne jedinice – anilina. Nastanak redoks aktivnih polimera na elektrodi je praćen pojavom dva redoks para: prvi (0.27V/0.11V) koji odgovara transformaciji leukoemeraldina u emeraldin so i drugi par

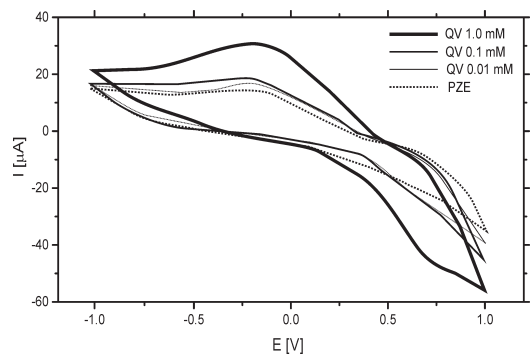
(0.56V/0.47V) koji odgovara transformaciji emeraldin soli u oksidovanu formu. Film je svetložute boje.

Ispitivanje elektrode modifikovane polimerom. Za kvalitativno ispitivanje elektroda snimljeni su ciklični voltamogrami pozadinskog elektrolita (50% EtOH fosfatni pufer pH = 6.8) i rastvora kvercetina 1, 4 i 7 (tabela 1) sa nemodifikovanom radnom elektrodom i sa elektrodom modifikovanom polimerom (PANI/H₂SO₄) pri brzini skeniranja 100 mV/s (slike 3 i 4).



Slika 3. Ciklični voltamogram pozadinskog elektrolita i rastvora kvercetina sa nemodifikovanom elektrodom

Figure 3. Cyclic voltammograms supporting electrolytes and quercetin scan with bare electrode



Slika 4. Ciklični voltamogram pozadinskog elektrolita i rastvora kvercetina sa Pt/PANI/H₂SO₄ elektrodom

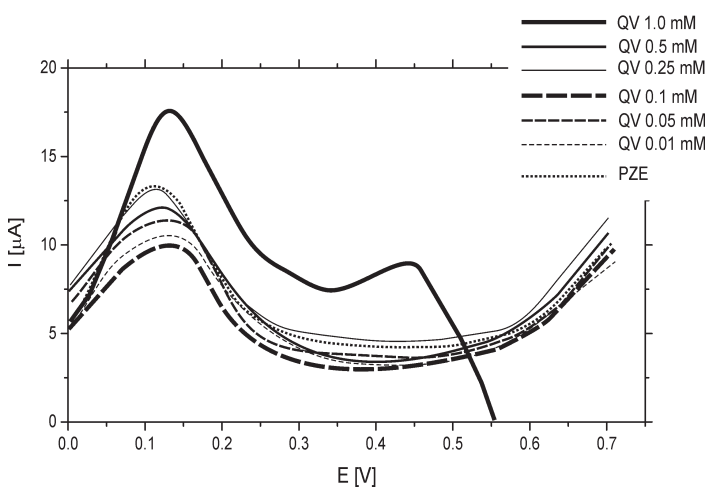
Figure 4. Cyclic voltammograms supporting electrolytes and quercetin scan with Pt/PANI/H₂SO₄ electrode

Na osnovu cikličnih voltamograma može se zaključiti da nemodifikovana elektroda pokazuje isti voltametrijski odziv za rastvore kvercetina i pozadinskog elektrolita, dok elektroda modifikovana polimerom (PANI/H₂SO₄) za koncentracije kvercetina od 1×10⁻³ M do 1×10⁻⁷ M pokazuje veći voltametrijski odziv u rastvorima kvercetina u odnosu na pozadinski elektrolit na potencijalima +0.55 V i -0.30 V na kojima dolazi do oksidacije i redukcije kvercetina. Koncentracija kvercetina je srazmerna voltametrijskom odzivu elektrode, tj. intezitet struje opada sa smanjenjem koncentracije rastvora.

Za kvantitativno određivanje kvercetina snimljeni su SW voltamogrami u pozadinskom elektrolitu i rastvorima kvercetina (tabela 1), na potencijalu od 0.7 V do -1.1 V, pri koraku po-

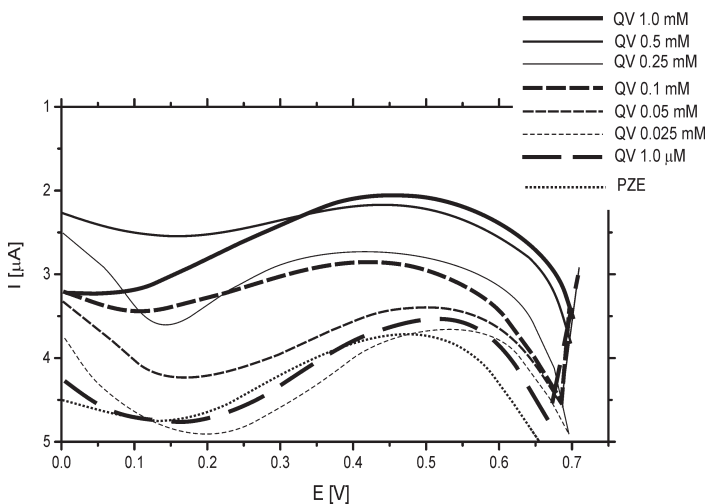
tencijala 0.007 V, pulsnoj amplitudi 0.120 V i frekvenciji 5 Hz sa nemodifikovanom elektrodom i elektrodom modifikovanom polimerom (PANI/H₂SO₄). SW voltamogrami su prikazani u oblasti potencijala od 0 V do 0.7 V (slike 5 i 6).

Na osnovu SW voltamograma može se zaključiti da nemodifikovana elektroda pokazuje iste voltametrijske odzive u rastvorima kvercetina koncentracije manje od 1×10⁻³ M i u pozadinskom elektrolitu. Elektroda modifikovana polimerom (PANI/H₂SO₄) pokazuje voltametrijske odzive srazmerne koncentraciji rastvora kvercetina na potencijalu +0.55 V, tj. intezitet struje opada sa smanjenjem koncentracije rastvora kvercetina. Na osnovu voltamograma konstruisana je kalibraciona prava. Kalibraciona prava je dobijena tako što je merena vrednost



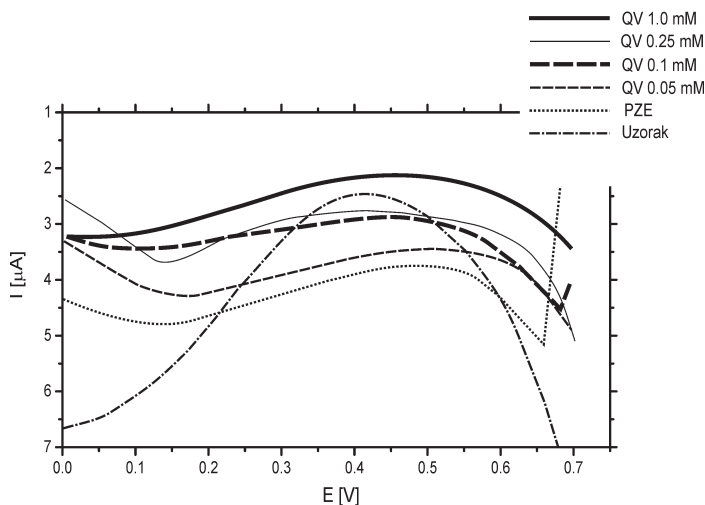
Slika 5. Voltamogrami pravouglanih talasa pozadinskog elektrolita i rastvora kvercetina sa nemodifikovanom elektrodom

Figure 5. Square wave voltammograms supporting electrolyte and quercetin scan with bare electrode



Slika 6. Voltamogrami pravouglanih talasa pozadinskog elektrolita i rastvora kvercetina sa Pt/PANI/H₂SO₄ elektrodom

Figure 6. Square wave voltammograms supporting electrolyte and quercetin scan with Pt/PANI/H₂SO₄ electrode



Slika 7. Voltamogram pravouglanih talasa uzorka snimljen sa Pt/PANI/H₂SO₄ elektrodom

Figure 7. Square wave voltammograms sample scan with Pt/PANI/H₂SO₄ electrode

inteziteta struje na potencijalu +0.55 V za svaki rastvor kvercetina i oduzeta vrednost inteziteta struje pozadinskog elektrolita, pa je napravljena zavisnost razlike struje od koncentracije. Kalibraciona prava je linearna u rasponu koncentracija od 1×10^{-4} M do 1×10^{-5} M. U rastvorima kvercetina koncentracija većih od 1×10^{-4} M dolazi do prezasićenja na elektrodi, a rastvori koncentracija manjih od 1×10^{-5} M pokazuju isti odziv kao pozadinski elektrolit (slika 6). Dobijena je jednačina prave:

$$y = (8920 \pm 540) x - (0.110 \pm 0.031)$$

i koeficijent determinacije iznosi $R^2 = 0.988$. Elektroda koja je modifikovana polimerom (PANI/H₂SO₄) pokazuje veći voltametrijski odziv od nemodifikovane elektrode i pogodna je za određivanje kvercetina u uzorcima u rasponu koncentracija od 1×10^{-4} M do 1×10^{-5} M.

Određivanje kvercetina u uzorcima. Nakon ekstrakcije, filtriranja i uparavanja metanola masa suvog ostatka uzorka je iznosila 0.0145 g. Suvi ostatak je rastvoren u pozadinskom elektrolitu (50% EtOH fosfatni pufer pH = 6.8) i snimljen je SW voltamogram sa elektrodom modifikovanom polimerom (PANI/H₂SO₄). SW voltamogrami su prikazani u oblasti potencijala od 0 V do 0.75V (slika 7).

Na osnovu SW voltamograma uzorka izmerena je vrednost jačine struje na potencijalu +0.55 V i iz razlike inteziteta struje u rastvoru uzorka i pozadinskom elektrolitu izražena je koncentracija kvercetina u uzorku metodom kalibracione prave za kvercetin. Koncentracija kvercetina u uzorku iznosi 1×10^{-4} M. U jednom gramu biljke kantariona (*Hypericum perforatum*) nalazi se 30.2 mg kvercetina.

bracione prave za kvercetin. Koncentracija kvercetina u uzorku iznosi 1×10^{-4} M. U jednom gramu biljke kantariona (*Hypericum perforatum*) nalazi se 30.2 mg kvercetina.

Zaključak

Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da nemodifikovana elektroda pokazuje isti voltametrijski odziv u rastvorima kvercetina i pozadinskom elektrolitu dok elektroda modifikovana polimerom (PANI/H₂SO₄) pokazuje veći voltametrijski odziv u rastvorima kvercetina nego u pozadinskom elektrolitu. Elektroda modifikovana polimerom PANI/H₂SO₄ je pogodna za određivanje kvercetina u uzorcima u rasponu koncentracija od 1×10^{-4} M do 1×10^{-5} M. Određena je koncentracija kvercetina u 40 mg uzorka biljke kantariona lat. *Hypericum perforatum* i iznosi 1×10^{-4} M. 1 g biljke sadrži 30.2 mg kvercetina. Predlog za dalje istraživanje je optimizacija elektrohemijske sinteze polimera, tj. promena koncentracije monomera i vrste dopanta, brzine skeniranja i broja ciklusa tokom ciklične voltametrije kao i polimerizacija u prisustvu kvercetina radi dobijanja molekulske obeležene provodljivog polimera.


Zahvalnost. Želeo bih da izrazim zahvalnost svom mentoru Nikoli Obradoviću, studentu master studija, na pomoći pri izboru teme, strpljenju, a takođe zbog pomoći pri radu i obradi rezultata.

Literatura

- Agarwal J., Verma D. L. 2011. Antioxidative Activity and Flavonoid Composition from *Lepidium sativum*. *Academia Arena*, **3** (3), 25.
- Cassagnol C., Olivier P., Ricard A. 1998. Influence of the dopant on the polyaniline moisture content effects on conductivity and thermal stability. *Applied Polymer Science*, **70**: 1567.
- Duić Lj. 1992. Vodjivi polimeri. *Polimeri*, **13**: 20.
- Lei C-X., Huc S-Q., Na Gao, Shena G-L., Yua G-L. 2004. An amperometric hydrogen peroxide biosensor based on immobilizing horseradish peroxidase to a nano-Au monolayer supported by sol-gel derived carbon ceramic electrode. *Bioelectrochemistry*, **65** (1): 33.
- Wang W., Levon K. 2012. Influence of Dopant on Electroactivity of Polyaniline. *Macromolecular Symposia*, **317-318** (1): 240.

Jovan Baljak

Voltammetric Method for Determination of Quercetin using PANI Conducting Polymer Modified Electrode

The aim of this study is the determination of quercetin in *Hypericum perforatum* by square-wave voltammetry, using a conducting polymer modified platinum disk electrode as the working electrode. The advantage of electrochemical methods lies in their simplicity, short time of analysis, and the fact they are less prone to matrix effects. Qualitative data about modified and bare electrodes was obtained via cyclic voltammetric experiments under the same experimental conditions, thus enabling comparison. The electrodes modified with the PANI/H₂SO₄ polymer showed a higher response in quercetin solutions than in the supporting electrolyte. Bare electrodes showed the same response in both quercetin solutions and the supporting electrolyte. The platinum disk electrode modified with PANI/H₂SO₄ polymer is suitable for the determination of quercetin in the concentration range of 1×10⁻⁴ M to 1×10⁻⁵ M. The quercetin concentrations were determined in *Hypericum perforatum*. 

Petar Kujučev

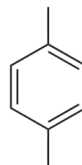
Sinteza *p*-ksilena iz 2,5-dimetilfurana i akrilne kiseline pomoću Luisovih kiselina

Ispitivan uticaj katalizatora sa različitim apsolutnim tvrdoćama katjona na efikasnost dobijanja *p*-ksilena od 2,5-dimetilfurana i akrilne kiseline. Postavljene su reakcije kod kojih je praćena promena prinosa *p*-ksilena i konverzije 2,5-dimetilfurana kroz vreme. Kod reakcije sa $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ kao katalizatorom ispitivan je i uticaj temperature i količine katalizatora na konverziju 2,5-dimetilfurana. Zapaženo je da je konverzija intermedijera u *p*-ksilen značajno sporijeg koraka od konverzije 2,5-dimetilfurana u intermedijere. Reakcije sa kristalohidratima nitrata (Al^{3+} , Mg^{2+} , Gd^{3+} , La^{3+}) i anhidrovanim nitratima (K^+ , Na^+) su imale zanemarljivo mali prinos *p*-ksilena, zbog čega nije bilo moguće utvrditi da li postoji uticaj apsolutne tvrdoće katjona na prinos. Reakcije sa $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ i poznatim Luisovim kiselinama AlCl_3 i $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ su imale značajno veći prinos, ali apsolutna tvrdoća katjona i prinosi ovih reakcija nisu uporedivi, jer se katalizatori međusobno razlikuju po anjonima i hidratisanosti. Kvantitativno je analizirana samo reakcija sa $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$. Prinos te reakcije iznosi 2%, ali pretpostavlja se da bi prinos bio veći da je upotrebljeno više katalizatora i da je reakcija trajala duže.

Uvod

Tereftalna kiselina je važna industrijska supstanca koja se koristi za dobijanje polietilen tereftalata (PET). PET je polimer od koga se prave predmeti sa kojima se susrećemo u svakodnevnom životu, kao što su plastične flaše, pakovanja

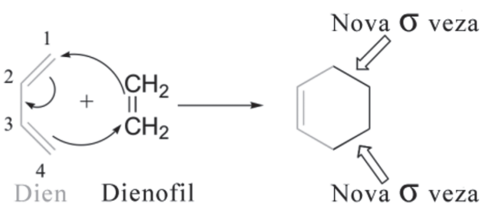
za hranu/kozmetiku, odeća (od sintetičkih vlakana), itd. Usled sve veće potražnje za PET-om, povećana je proizvodnja tereftalne kiseline iz *p*-ksilena (slika 1) naftnog porekla. Međutim, zalihe nafte se neprestano smanjuju zbog čega se mora razmišljati o alternativnim načinima dobijanja *p*-ksilena (Ni *et al.* 2017).



Slika 1. *p*-ksilen

Figure 1. *p*-xylene

U industriji se *p*-ksilen može sintetisati Diels-Alder-ovom reakcijom cikloadicije iz etena poreklom od bioetanola, i određenih diena (slika 2), često uz korišćenje zeolita kao katalizatora (Lyons *et al.* 2012). Takve reakcije se obično vrše pri visokim temperaturama i visokim pritiscima (preko 6 MPa), i mogu trajati preko 24 h (Cho *et al.* 2017), što često nije isplativo, jer zahteva veliki utrošak energije.



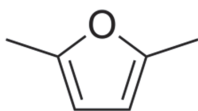
Slika 2. Diels-Alderova reakcija

Figure 2. Diels-Alder reaction

Petar Kujučev (2001), Beograd, Pariske komune 6, učenik 2. razreda Devete gimnazije „Mihailo Petrović Alas”

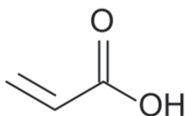
MENTOR: Pavle Kravljanac, student Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Nedavno je objavljeno istraživanje u kome je pri sobnoj temperaturi i atmosferskom pritisku sintetisan *p*-ksilen od 2,5-dimetilfurana (dien, slika 3) i akrilne kiseline (dienofil, slika 4). U tom istraživanju (Ni *et al.* 2017) je ispitivan uticaj različitih kombinacija jonskih tečnosti i katalizatora na efikasnost dobijanja *p*-ksilena od pomenutih reaktanata. Najbolje rezultate je dalo korišćenje jonske tečnosti 1-etil-3-metilimidazolium bis(trifluorometilsulfonil)imid kao medijuma i Sc(OTf)₃ kao katalizatora.



Slika 3. 2,5-dimetilfuran

Figure 3. 2,5-dimethylfuran



Slika 4. Akrilna kiselina

Figure 4. Acrylic acid

Za uspešnost ove reakcije poželjno da katalizator bude jaka Luisova kiselina, koja bi privukla elektron sa karbonilne grupe na akrilnoj kiselini (početak reakcije), dok je za jonsku tečnost poželjno da ostvaruje što više vodoničnih veza sa dienofilom (Earle *et al.* 1999; Ni *et al.* 2017). Takođe, zapažen je značaj fosforne kiseline u dehidraciji intermedijera, i pretpostavlja se da je voda iz 85% rastvora te kiseline dodatno doprinela stabilnosti prelaznog oblika akrilne kiseline, što se pozitivno odrazilo na prinos *p*-ksilena (Ni *et al.* 2017). Ovu pretpostavku opravdava više radova u kojima je ispitivan koristan efekat vode kao medijuma za Diels-Alder-ovu reakciju, usled formiranja već pomenutih vodoničnih veza (Fringuelli *et al.* 2001; Otto i Engberts 2000). Međutim, u samom radu nije uočeno da je sa porastom apsolutne tvrdoće katjona korišćenih Luisovih kiselina rastao i prinos Diels-Alder-ove reakcije (*p*-ksilen

i 2,5-dimetilbenzojeva kiselina), jer je kiseonik iz karbonilne grupe na akrilnoj kiselini tvrda Luisova baza (Ni *et al.* 2017; Pearson 1988).

Tabela 1. Apsolutna tvrdoća katjona triflata i prinos Diels-Alder-ove reakcije

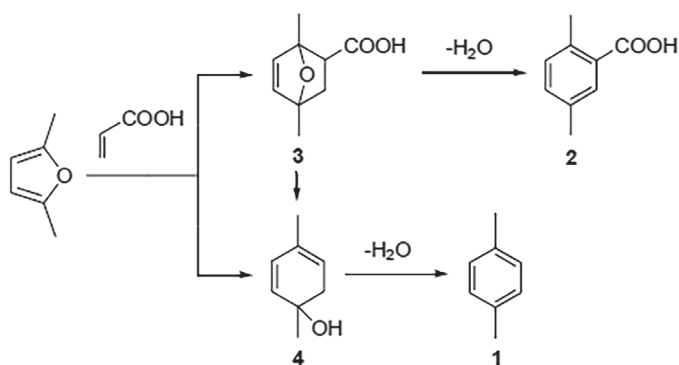
Katalizator	Katjon	Apsolutna tvrdoća (eV)	Prinos (mol%)
Sc(OTf) ₃	Sc ³⁺	24.36	48
Y(OTf) ₃	Y ³⁺	20.6	47
Yb(OTf) ₃	Yb ³⁺	15.39	46
Cu(OTf) ₂	Cu ²⁺	8.27	45

Pomenuto istraživanje (Ni *et al.* 2017) je obuhvatilo izvestan broj jonskih tečnosti kao medijuma i katalizatora. Novim istraživanjima je potrebno ispitati uticaj drugih medijuma i katalizatora u sintezi *p*-ksilena, kao i da li korišćenje tvrdih Luisovih kiselina kao katalizatora daje bolji prinos.

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje uticaja katalizatora različite apsolutne tvrdoće i vode kao medijuma na efikasnost dobijanja *p*-ksilena od 2,5-dimetilfurana i akrilne kiseline. Efikasnost dobijanja *p*-ksilena se odnosi na prinos, temperaturu i vreme trajanja reakcije. Poželjno je da prinos bude što veći, temperatura što bliža sobnoj, a vreme trajanja reakcije što manje.

Materijal i metode

Priprema reakcione smeše. U vijalicu od 8 mL je sipano 13.8 mmol akrilne kiseline (946 μL, 6.9 equiv), 2 mmol 2,5-dimetilfurana (216 μL, 1 equiv) i 0.1 mmol katalizatora (0.05 equiv) (Ni *et al.* 2017). Sve smeše su mešane na magnetnoj mešalici pri temperaturi od 60°C, izuzev smeše PK23 koja je zagrevana na 40°C. U smeše PK4, PK6, PK9, PK16, PK20 i PK22 su dodati određeni kokatalizatori (H₂O, 85% rastvor H₃PO₄, molekulska sita). U tabeli 2 navedeni su katalizatori redosledom kojim su korišćeni. Za prečišćavanje uzoraka reakcione smeše pravljene su male kolone (staklena Pasterova pipeta sa vatom pri dnu, ispunjena slojevima silika-gela i anhidrovanog Na₂SO₄, visina oko 1.5 cm). Po 50 μL smeše je preneto na kolone za prečišćavanje. Kolone su ispirane ciklopentanom, koji je prikupljan u vijalicama za GC/MS.



Slika 5. Proizvodi reakcije 2,5-dimetilfurana i akrilne kiseline u jonskoj tečnosti sa katalizatorom (Ni *et al.* 2017)

Figure 5. The products of the reaction between 2,5-dimethylfuran and acrylic acid in ionic liquid with catalyst (Ni *et al.* 2017)

Tabela 2. Imena reakcionih smeša i upotrebjene količine katalizatora

Reakc. smeša	Katalizator	Odnos masa/zapremina
Blank	Bez katalizatora	–
PK1	Gd(NO ₃) ₃ ×6H ₂ O	45.2 mg
PK2	Mg(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O	25.7 mg
PK3	Al(NO ₃) ₃ ×9H ₂ O	37.8 mg
PK4	Al(NO ₃) ₃ ×9H ₂ O ^[c]	37.9 mg
PK5	La(NO ₃) ₃ ×6H ₂ O	43.2 mg
PK6	La(NO ₃) ₃ ×6H ₂ O ^[c]	43.3 mg
PK7	Molekulska sita	102.3 mg
PK8	NaNO ₃	8.3 mg
PK9	NaNO ₃ ^[a]	8.6 mg
PK10	KNO ₃	10.2 mg
PK11	KClO ₄	13.9 mg
PK12	34% HCl	9.2 μL
PK13	LiCl	4.1 mg
PK14	MgCl ₂ ×6H ₂ O	20.6 mg
PK15	AlCl ₃	13.2 mg
PK16	AlCl ₃ ^[b]	12.8 mg
PK17; PK18	BF ₃ ×Et ₂ O	12.5 μL
PK19	AlCl ₃	13.5 mg
PK20	AlCl ₃ ^[b]	13.1 mg
PK21	BF ₃ ×Et ₂ O	12.5 μL
PK22	BF ₃ ×Et ₂ O ^[b]	12.5 μL
PK23	BF ₃ ×Et ₂ O ^[d]	12.5 μL
PKA-1	BF ₃ ×Et ₂ O	2.50 μL
PKA-2	BF ₃ ×Et ₂ O	4.95 μL
PKA-3	BF ₃ ×Et ₂ O	7.45 μL

PKA-4	BF ₃ ×Et ₂ O	9.90 μL
PKB-1	BF ₃ ×Et ₂ O	7.45 μL
PKB-2		
PKB-3		
PKB-4		
PKC-1	BF ₃ ×Et ₂ O	7.45 μL
PKC-2		
PKC-3		
PKC-4		
PKD-1	BF ₃ ×Et ₂ O	7.45 μL
PKD-2		
PKD-3		
PKD-4		

[a] Dodatak 100 μL H₂O; [b] Dodatak 68 μL 85% H₃PO₄; [c] Dodatak 100 mg molekulskih sita; [d] Reakcija se odvijala na 40°C.

Analiza uzoraka smeša na GC/MS. Analiza komponenti smeša je vršena na Agilent Technologies 7890A gasnom hromatografu sa Agilent Technologies 240 Ion Trap masenim spektrometrom (EI jonizacija, sa energijom elektrona od 70 eV, u opsegu 40-1000 m/z). Korišćena je VF5MS kolona (30 m × 250 μm × 0.25 μm) i helijum kao noseći gas pri protoku od 1 mL/min. Početna temperatura pećnice je bila 50°C, prvih 10 minuta temperatura se povećavala brzinom od 3°C/min, zatim se povećavala brzinom od 10°C/min do 300°C i na toj temperaturi je zadržana 15 min.

Priprema smeša za kvantitativnu analizu na GC/MS: Napravljen je rastvor 1,3,5-trimetrokisbenzena (TMB) u dihlormetanu (1.99 mg/L). Reakciona smeša je rastvorena u dihlormetanu u normalnom sudu od 5 mL. 800 μL rastvorene reakcione smeše i 250 μL rastvora TMB (1.99 mg/L) je pomešano i potom preneto na

kolonu za prečišćavanje. Kolona je ispirana dihlormetanom, koji je prikupljan u normalnom sudu od 5 mL. Tako dobijeni rastvor je sipan u vijalicu za GC/MS.

Rezultati i diskusija

Kvalitativne GC/MS analize

BLANK (10 h). Potvrđeno je da reaktanti bez katalizatora međusobno ne reaguju (Ni *et al.* 2017).

PK1 – PK13. *p*-ksilen je u svim slučajevima nastao u zanemarljivim količinama.

PK14 (3.5 h). $MgCl_2 \times 6H_2O$ – *p*-ksilen je nastao u maloj količini. Odnos površina 2,5-dimetilfurana i *p*-ksilena na hromatogramu je približan odnosu kod smeše PK19-2 ($AlCl_3$, 4.5 h).

PK15 (10 h). $AlCl_3$ – Nastao je *p*-ksilen, ali i intermedijeri (2,5-dimetilbenzojeva kiselina) (slika 6).

PK16 (12.5 h). $AlCl_3 + 85\% H_3PO_4$ – 2,5-dimetilfuran je skoro u potpunosti izreagovao, i nastalo je naizgled dosta *p*-ksilena. Ovo je donekle i očekivano, jer i sama 85% H_3PO_4 katališe ovu Diels-Alder-ovu reakciju, pored toga što kao dehidrataciono sredstvo pretvara intermedijere u *p*-ksilen (Ni *et al.* 2017).

PK17 (40 min), PK18 (18 h). $BF_3 \times Et_2O$ – Već posle 40 minuta od početka reakcije nastalo je malo *p*-ksilena, a nakon 18 h 2,5-dimetilfuran je potpuno izreagovao i nastalo je znatno više *p*-ksilena. Zaključeno je da se reakcija brže odvija sa $BF_3 \times Et_2O$ nego uz $AlCl_3$.

PK19, PK20, PK21, PK22 (2.5 h, 4.5 h, 7 h, 13.5 h). U ovom delu eksperimenta je praćena konverzija 2,5-dimetilfurana kroz vreme u smešama sa $AlCl_3$, $AlCl_3 + 85\% H_3PO_4$, $BF_3 \times Et_2O$ i $BF_3 \times Et_2O + 85\% H_3PO_4$. Uzorci smeša su uzimani u intervalima od 2.5 h, 4.5 h, 7 h i 13.5 h od početka reakcija (slike 7, 8 i 9).

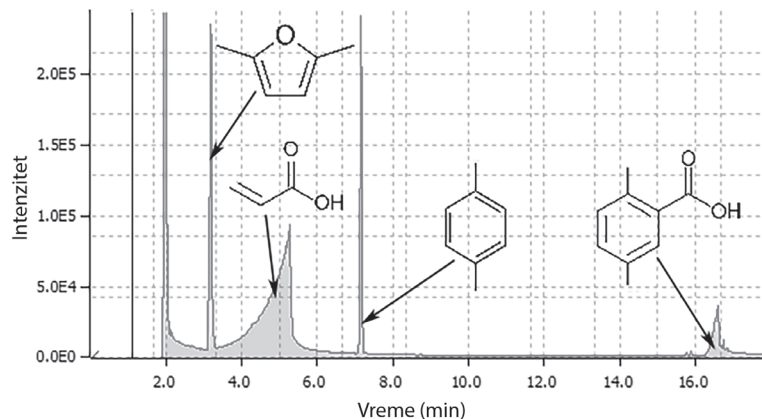
Na osnovu prethodnih hromatograma uočene su sledeće stvari. Ukoliko se pođe od pretpostavke da 2,5-dimetilfuran i *p*-ksilen imaju sličan odziv signala na GC/MS, na slici 8 se jasno može videti kako je brzina konverzije 2,5-dimetilfurana značajno veća od brzine nastajanja *p*-ksilena. Ovakva situacija se može javiti u sledeća dva slučaja:

1. 2,5-dimetilfuran biva konvertovan i u neke nusproizvode;
2. Konverzija 2,5-dimetilfurana u intermedijere je brža od konverzije tih intermedijera u *p*-ksilen.

Problem je u tome što se samo na osnovu slika 7 i 8 ne može potvrditi postojanje drugog slučaja, jer su i intermedijeri i nusproizvodi odsutni sa hromatograma, najverovatnije usled zadržavanja na koloni za prečišćavanje. Međutim, na slici 9 se može videti kako se količina *p*-ksilena povećava a da naizgled nijedna supstanca ne biva utrošena, što bi se upravo moglo objasniti postojanjem drugog slučaja.

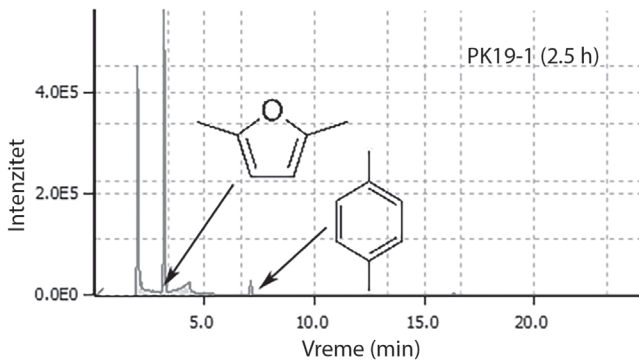
Dodatak 85% rastvora H_3PO_4 pospešuje konverziju intermedijera u *p*-ksilen i u smeši sa $AlCl_3$ i sa $BF_3 \times Et_2O$.

PK23 (3h, 4h). $BF_3 \times Et_2O$ (na 40°C) – Konverzija intermedijera je značajno usporena, što je logično jer je za dekarboksilaciju npr. 2,5-di-



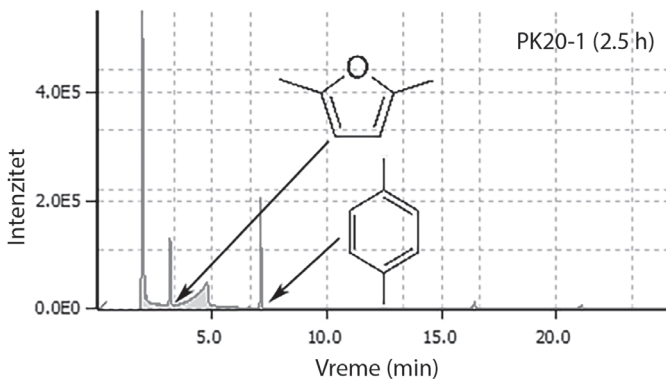
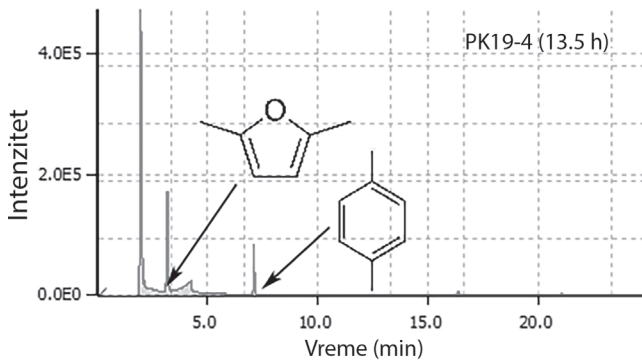
Slika 6. Gasni hromatogram uzorka smeše $AlCl_3$ rastvorenog u pentanu

Figure 6. The gas chromatogram of $AlCl_3$ mixture dissolved in pentane



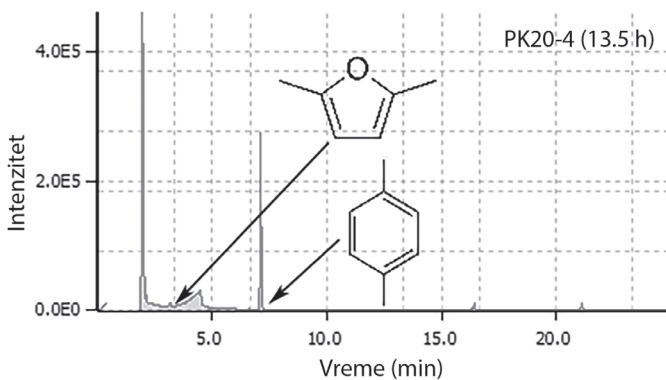
Slika 7. Gasni hromatogrami uzoraka smeše PK19 (AlCl_3) rastvorenih u ciklopentanu

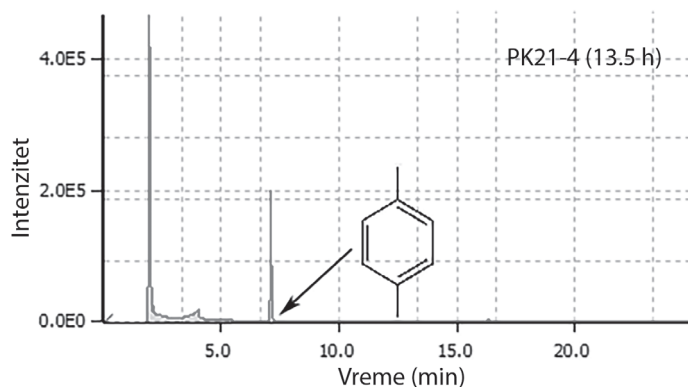
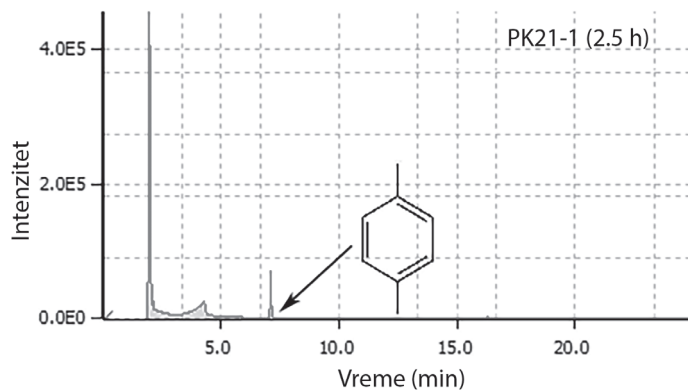
Figure 7. The gas chromatograms of PK19 mixture (AlCl_3) dissolved in cyclopentane



Slika 8. Gasni hromatogrami uzoraka smeše PK20 ($\text{AlCl}_3 + 85\% \text{H}_3\text{PO}_4$) rastvorenih u ciklopentanu

Figure 8. The gas chromatograms of PK20 mixture ($\text{AlCl}_3 + 85\% \text{H}_3\text{PO}_4$) dissolved in cyclopentane





Slika 9. Gasni hromatogrami uzoraka smeše PK21 ($\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$) rastvorenih u ciklopentanu

Figure 9. The gas chromatograms of PK21 mixture ($\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$) dissolved in cyclopentane

metilbenzojeve kiseline do *p*-ksilena poželjna što viša temperatura.

PKA (1h, 2.5h). Svrha ovog dela eksperimenta je bila odabir količine katalizatora za reakcionu smešu koja će biti kvantitativno analizirana. Odlučeno je da se koristi 0.03 equiv $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ (7.45 μL), jer je to najmanja količina katalizatora koja je potpuno konvertovala 2,5-dimetilfuran za 2.5 h.

Kvantitativna GC/MS analiza

Kao interni standard je korišćen 1,3,5-trimetoksibenzen (TMB). Postavljane su po četiri identične reakcije u grupi (PKB, PKC) čije smeše su obrađene na isti način, kako bi se ispitala reproducibilnost reakcije i procesa prečišćavanja.

PKD smeše (3h). Sve 4 smeše iz PKD grupe su pripremljene na isti način, sipajući po 0.03 equiv $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ (7.45 μL) u svaku. Nakon 3 sata od početaka reakcija, smeše su prečišćene po

proceduri za prečišćavanje PKC smeša, i potom su ti rastvori analizirani na GC/MS.

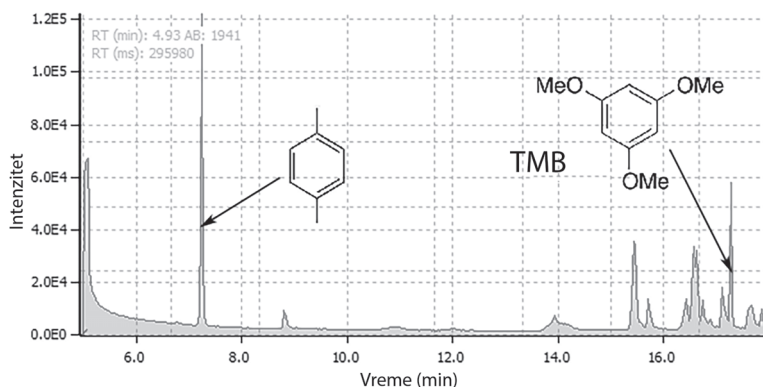
Korišćenje dihlormetana kao rastvarača je omogućilo da se na hromatogramu (slika 10) vide *p*-ksilen, TMB, ali i neki od intermedijera i nusproizvoda koji su bili zadržavani na koloni dok je ciklopentan korišćen kao rastvarač.

Za svaku od 4 PKD smeše je izračunat odnos površina *p*-ksilena i TMB na hromatogramu, a zatim je izračunata i srednja vrednost tog odnosa.

Izračunato je da je nastalo oko 0.04 mmol *p*-ksilena, što predstavlja prinos od 2%. Pretpostavlja se da je mogao da se dobije i značajno veći prinos, da je upotrebjeno 0.05 equiv ili više $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ umesto 0.03 equiv i da je reakcija ostavljena da traje duže.

Zaključak

U ovom radu je ispitivana upotreba različitih potencijalnih katalizatora u reakciji sinteze *p*-ksilena od 2,5-dimetilfurana i akrilne kiseline



Slika 10. Gasni hromatogram smeše PKD3 ($\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$) rastvorene u dihlormetanu

Figure 10. The gas chromatogram of PKD3 mixture ($\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$) dissolved in dichloromethane

pri temperaturi od 60°C . Utvrđeno je da reakcije sa kristalohidratima nitrata (Al^{3+} , Mg^{2+} , Gd^{3+} , La^{3+}) i anhidrovanim nitratima (K^+ , Na^+) imaju zanemarljivo mali prinos *p*-ksilena. U ovom slučaju nije bilo moguće utvrditi da li postoji uticaj apsolutne tvrdoće katjona na prinos, upravo zbog jako malih prinosa reakcija svih korišćenih nitrata. Reakcije sa poznatim Luisovim kiselinama AlCl_3 i $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ su naizgled imale veliki prinos *p*-ksilena nakon 13.5 h od početka reakcije. Reakcija sa $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ je nakon 3.5 h imala sličan prinos kao reakcija sa AlCl_3 nakon 4.5 h, pa se može pretpostaviti da bi i ona nakon 13.5 h imala veliki prinos. Međutim, apsolutna tvrdoća katjona i prinosi ovih reakcija nisu uporedivi, jer se katalizatori međusobno razlikuju po anjonima i hidratisanosti. Dodatak 85% rastvora H_3PO_4 u smeše sa AlCl_3 i $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ je dodatno poboljšao prinos, zato što 85% rastvor H_3PO_4 može samostalno da katališe reakciju, i zato što pospešuje konverziju intermedijera u *p*-ksilen. Zapaženo je da je konverzija intermedijera u *p*-ksilen značajno sporiji korak od konverzije 2,5-dimetilfurana u intermedijere, i da taj korak biva još više usporen pri nižim temperaturama (40°C). Takođe, i manja količina katalizatora dosta usporava taj korak. Nakon 3h reakcije na temperaturi od 60°C u reakcionoj smeši sa 0.03 equiv $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$, prinos *p*-ksilena je iznosio 2%. Pretpostavlja se da bi prinos bio veći da je upotrebljeno 0.05 ili više equiv $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ i da je reakcija trajala duže. U nekom narednom istraživanju bi se mogla izvršiti optimizacija uslova za reakcije sa $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$, AlCl_3 i $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ sa i bez dodatka 85% rastvora H_3PO_4 .

Zahvalnost. Zahvaljujem se mentoru Pavlu Kravljancu na pomoći i savetima oko realizacije projekta.

Literatura

- Cho H., Ren L., Vattipalli V., Yeh Y., Gould N., Xu B., Gorte R., Lobo R., Dauenhauer P., Tsapatsis M., Fan W. 2017. Renewable *p*-Xylene from 2,5-Dimethylfuran and Ethylene Using Phosphorus-Containing Zeolite Catalysts. *ChemCatChem*, **9** (3): 398.
- Earle M., McCormac P., Seddon K. 1999. Diels–Alder reactions in ionic liquids. *Green Chemistry*, **1** (1): 23.
- Fringuelli F., Piermatti O., Pizzo F., Vaccaro L. 2001. Recent Advances in Lewis Acid Catalyzed Diels–Alder Reactions in Aqueous Media. *European Journal of Organic Chemistry*, **2001** (3): 439.
- Lyons T., Guironnet D., Findlater M., Brookhart M. 2012. Synthesis of *p*-Xylene from Ethylene. *Journal of the American Chemical Society*, **134** (38): 15708.
- Ni L., Xin J., Dong H., Lu X., Liu X., Zhang S. 2017. A Simple and Mild Approach for the Synthesis of *p*-Xylene from Bio-Based 2,5-Dimethylfuran by Using Metal Triflates. *ChemSusChem*, **10** (11): 2394.
- Otto S., Engberts J. 2000. Diels–Alder reactions in water. *Pure and Applied Chemistry*, **72** (7): 1365.
- Pearson R. 1988. Absolute electronegativity and hardness: application to inorganic chemistry. *Inorganic Chemistry*, **27** (4): 734.

Petar Kujučev

Synthesis of *p*-xylene from 2,5-dimethylfuran and Acrylic Acid by Lewis Acids

The substance *p*-xylene is an important industrial chemical which is derived from petroleum, and is used for the production of polyethylene terephthalate (PET). Due to the constant depletion of petroleum reserves, numerous research studies aimed at obtaining *p*-xylene from biomass have been conducted. In one of the studies, it has been concluded that it is preferable for the catalyst to be a strong Lewis acid in the synthesis of *p*-xylene from 2,5-dimethylfuran and acrylic acid, both of which can be obtained from biomass. The results of that study indicate that the yield of the reaction increased with the increase of the absolute hardness of cations of used Lewis acids. However, this has not been studied further. With the aim of investigating this phenomenon, new reactions have been conducted with 2,5-dimethylfuran, acrylic acid and cata-

lysts with different absolute hardness of cations, where the change of *p*-xylene yield and the conversion of 2,5-dimethylfuran have been tracked over time. With $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ as the catalyst in the reaction, the effects of temperature and the amount of the catalyst on the conversion of 2,5-dimethylfuran were additionally examined. Only the reaction with the reduced amount of $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ was quantitatively analyzed. It was concluded that reactions with crystal hydrates of nitrates (Al^{3+} , Mg^{2+} , Gd^{3+} , La^{3+}) and anhydrous nitrates (K^+ , Na^+) have negligibly low *p*-xylene yield. In this case, it was not possible to determine whether the absolute hardness of cations affects the yield because of the low yields of all nitrates. Reactions with $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ and common Lewis acids AlCl_3 and $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ had a significantly higher yield. In spite of that, the absolute hardness of cations and the yields of these reactions are not comparable since the catalysts differ in anions and hydration. The yield of the reaction with the reduced amount of $\text{BF}_3 \times \text{Et}_2\text{O}$ is 2%. However, it is believed that a higher yield could be achieved if the reaction was prolonged and more catalyst was used.

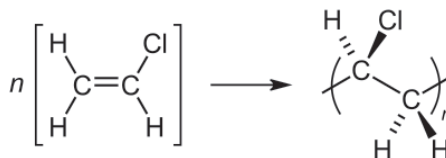


Ispitivanje migracije plastifikatora bis(2-etilheksil)-adipata iz polivinilhloridne (PVC) folije u sireve

Polivinilhloridna folija koja sadrži plastifikator bis(2-etilheksil)-adipat (DEHA) upotrebljava se za čuvanje hrane. Na osnovu strukture i nepolarosti molekula bis(2-etilheksil)-adipata, pretpostavilo se da će oni migrirati u masnu hranu. U radu je ispitivana migracija ovog plastifikatora u tri vrste sira različite masnoće. Eksperiment je izveden u duplikatu, a uzorci su analizirani svakodnevno tokom 10 dana. Migracija DEHA u sireve merena je pomoću gasno-masene hromatografije. Rezultati su upoređeni u odnosu na vreme tokom kojeg su uzorci bili umotani u foliju, kao i u odnosu na vrstu sireva. Procenat plastifikatora sadržanog u foliji je 7.6%. Zbog male osetljivosti instrumenta GC/MS, pojedine koncentracije migriralog plastifikatora nije bilo moguće odrediti, jer su koncentracije plastifikatora bile ispod granice detekcije. U siru deklarisanе masnoće od min 35% nije bilo moguće odrediti udeo plastifikatora sve do 10. dana. Nakon 10. dana dobijen je rezultat od 211 mg/kg. U siru deklarisanе masnoće min 45%, nakon 5. dana određene vrednosti pokazale su da se koncentracija plastifikatora povećava, uz odstupanja koja bi se mogu pripisati grešci tokom homogenizacije. Najveća koncentracija plastifikatora u siru zapažena je 8. dana (272 mg/kg). U siru deklarisanе masnoće min 48% najbolje je uočljiv pravilan porast koncentracije tokom vremena, počevši od 3. dana (220 mg/kg) do 10. (284 mg/kg). Takođe se može uočiti i umereno povećanje koncentracije između različitih vrsta sireva, u zavisnosti od masnoće.

Uvod

Polivinilhlorid (PVC) je polimer opšte formule $[-CH_2-CHCl-]_n$. Dobija se polimerizacijom vinilhlorida (slika 1).



Slika 1. Polimerizacija vinilhlorida

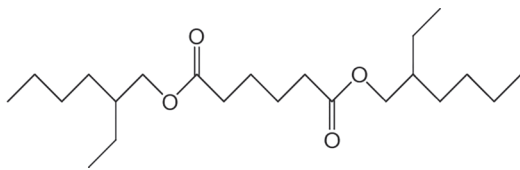
Figure 1. Polymerisation of vinyl chloride

Prednost ovog materijala u odnosu na druge jeste ta što je kompatibilan sa plastifikatorima i drugim aditivima, čime polivinilhlorid postaje mekši materijal i lakši za preradu. PVC folija se najčešće koristi za vakuumiranje i pakovanje hrane. Zbog male molekulske mase i pokretljivosti, plastifikatori imaju tendenciju da migriraju iz pakovanja u hranu, i tako postaju indirektni aditivi hrane (Petersen i Breindahi 1998; Goulas et al. 2000; Goluas et al. 2007). Plastifikator koji se najčešće dodaje ovoj foliji radi veće rastegljivosti je bis(2-etilheksil)-adipat (DEHA). To je estar adipinske kiseline i 2-etilheksanola; tečnog je agregatnog stanja, isparljivosti na 417°C, strukturne formule na slici 2.

Prema Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (International Agency for Research on Cancer – IARC), ovaj plastifikator ima kancerogeno dejstvo na miševе, ali ne dokazano i na ljude (IARC 2000). Međutim, dozvoljena količina ovog plastifikatora u hrani je određena na 60 mg/kg (CEC 1990).

Jovana Dinić učenica 2. razreda Gimnazije u Kruševcu

MENTOR: Miloš Pešić, Istraživačka stanica Petnica



Slika 2. Hemijska struktura DEHA

Figure 2. Chemical structure of DEHA

Cilj ovog istraživanja je određivanje količine plastifikatora bis(2-etilheksil)-adipata u sirevima koji se čuvaju u PVC foliji u zavisnosti od sadržaja masti i vremena izloženosti i upoređivanje sa dozvoljenim količinama.

Materijal i metode

Esterifikacija adipinske kiseline i 2-etilheksanola. U balonu od 250 mL pomešano je 1.51 g (0.01 mol) adipinske kiseline, 5 mL 99% 2-etilheksanola (0.03 mol), rastvarač toluen i 0.19 g monohidrata p-toluensulfonske kiseline (0.001 mol). Balon je povezan sa Dean-Starkovim nastavkom za koji je povezan kondenzator. Reakciona smeša je zagrevana u peščanom kupatilu, pri temperaturi rešoa 500°C tokom 20 h (temperatura u balonu iznosila je oko 110°C – temperatura ključanja toluena). Dobijena smeša prečišćena je od preostale kiseline ekstrakcijom sa 10% rastvorom natrijum-hidrogenkarbonata, nakon toga sušena anhidrovanim natrijum-sulfatom, pa potom ceđena. Zbog eventualnog viška rastvarača, smeša je uparavana na vakuum-uparivaču. Preostali 2-etilheksanol, koga zbog visoke tačke ključanja nije bilo moguće upariti, razdvojen je od sintetisanog bis(2-etilheksil)-adipata na gravitacionoj koloni. 15 g silika gela rastvoreno je u čistom petroletru koji je korišćen kao eluent, a kasnije je zamenjen smešom petrol etar (PE) / etil acetat (EtOAc) u odnosu 97 : 3. Frakcije sakupljane u epruветama analizirane su tankoslojnom hromatografijom (TLC) u eluentu PE/EtOAc 9 : 1. Sadržaji epruветe (za koje se analizom na TLC-u pokazalo da pored reaktanata sadrže i proizvod) upareni su do suva. Estar je okarakterisan na GC/MS-u, a korišćen za pripremanje standardnih rastvora različitih koncentracija. Konstruisana je kalibraciona kriva – zavisnost koncentracije DEHA od površine pika.

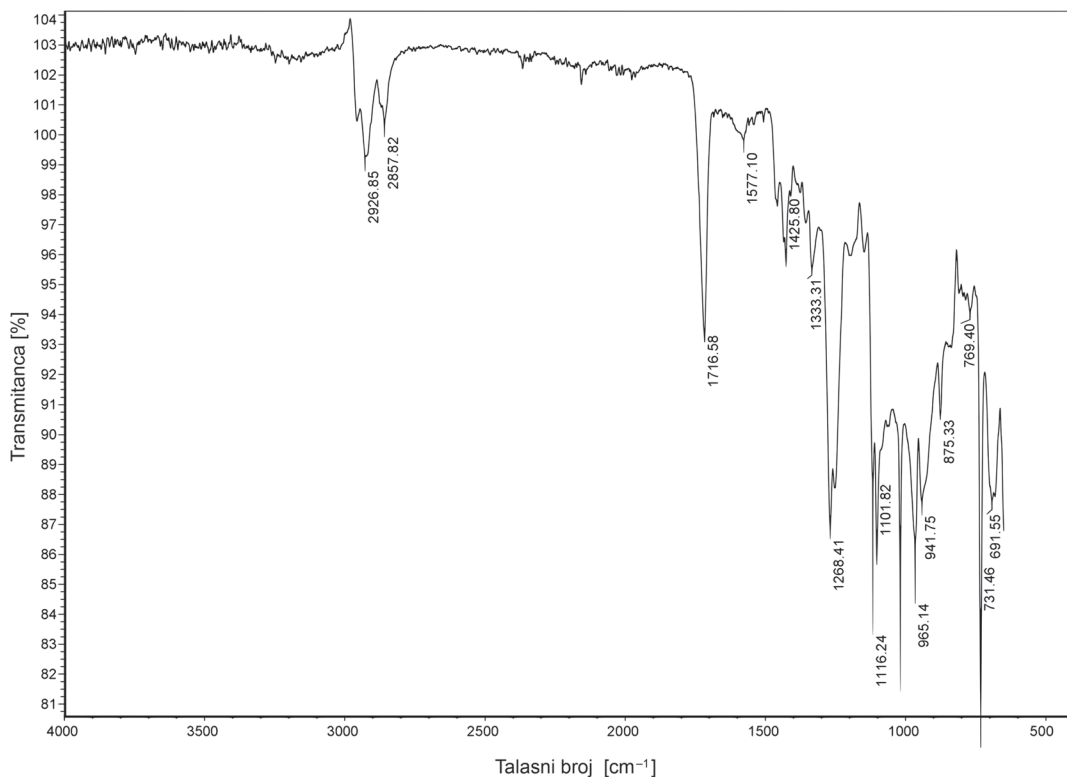
Priprema uzoraka za ispitivanje migracije. Tri vrste sira sa različitim procentima masnoće sečeni su na delove dimenzija (4×4×0.5) cm, a potom obmotani jednim slojem PVC-folije. Svi uzorci stajali su u frižideru na temperaturi 2±1°C. Po dva uzorka svake vrste sira ispitivana su svakodnevno, od prvog do desetog dana.

Priprema uzoraka za GC/MS analizu. Uzorci sira homogenizovani su u avanu. 250 mg sira ekstrahovano je sa 7 mL metanola i rastvarano u ultrazvučnom kupatilu 20 minuta. Rastvor je ostavljen na sobnoj temperaturi (25-30°C) u normalnom sudu od 10 mL koji je dopunjen metanolom do crte. Nakon toga dodat je anhidrovani natrijum-sulfat da bi se uklonila eventualna voda. Ekstrakti su procedeni na koloni (stacionarna faza vata i silika gel). Svi eksperimenti izvođeni su u duplikatu, radi validnosti rezultata. Na isti način pripremljen je i uzorak folije za ispitivanje udela plastifikatora, osim što nije bilo potrebe za homogenizacijom na početku (Chan i Shuang 2012).

Određivanje procenta masti u sirevima. 10 g sira usitnjeno je u avanu i dodato je 12 g anhidrovanog natrijum-sulfata. Kapsula sa uzorkom stavljena je u ekstraktor i postavljena je aparatura za ekstrakciju po Soksletu. Balon u koji je sipano 200 mL petroletra zagrevan je na približno 60°C tokom 8 h. Po završetku ekstrakcije balon je uparavan na vakuum-uparivaču do konstantne mase. Na osnovu razlike mase balona sa mastima iz uzorka i praznog balona, određen je procenat masti u sirevima (Soxhlet 1879).

Rezultati i diskusija

Utvrđivanje vrste folije. Prijanjajuće folije najčešće su polietilenske ili polivinilhloridne, pa je bilo potrebno utvrditi precizan sastav pre početka rada. Utvrđeno je da se radi o PVC foliji na osnovu sledećeg: trake na 2926 cm⁻¹ i 2857 cm⁻¹ potiču od istežućih vibracija C–H veza iz CHCl i CH₂, traka na 1425 cm⁻¹ potiče od deformacije CH₂, deformacija veze C–H iz CHCl daje traku na 1333 cm⁻¹, istežanje C–C veze daje traku na 1101 cm⁻¹, traka na 965 cm⁻¹ potiče od deformacionih vibracija CH₂ i istežanje veze C–Cl daje traku na 691 cm⁻¹. Dobijeni FTIR spektar (slika 3) usaglašen je sa podacima iz literature (Beltran i Marcilla 1997). Određeno je da se DEHA nalazi u foliji u masenom procentu od 7.6%.



Slika 3. IR spektar ispitivane folije

Figure 3. IR spectrum of the investigated cling film

Procenat masti u sirevima. Udeo masti koji je određen u trima ispitivanim vrstama sira prikazan je u tabeli 1. Očekivano, zbog različitog postupka određivanja masnoće u sirevima u odnosu na proizvođačku, dobijeni su različiti rezultati.

Tabela 1. Procenat masnoće u ispitivanim sirevima

Vrsta sira	Proizvođačka deklaracija *	Određeno**
1	min 35%	19%
2	min 45%	32%
3	min 48%	29%

* Udeo masti u suvoj materiji; ** udeo masti u ukupnoj masi sira

Analiza uzoraka na GC/MS. Izračunate koncentracije (mg/kg) date u tabeli 2 predstavljaju srednje vrednosti koncentracija iz dva odvojena uzorka. Predstavljani su samo rezultati čije koncentracije su bile u opsegu koncentracija 4.375–35 µg/mL, ostale vrednosti su bile ispod limita kvantifikacije.

U siru 1 moguće je bilo izračunati koncentraciju migriralog plastifikatora tek nakon 10. dana i ona je iznosila 211.2 mg/kg. Odstupanja u 8. i 10. danu za sir 2 predstavljaju moguću grešku u radu tokom homogenizacije. U siru 3 uočljiv je pravilan porast koncentracije plstifikatora u siru i razlika između 10. i 3. dana je 63.4 mg/kg. Isključujući pomenuta odstupanja u 8 i 10. danu drugog sira, može se zaključiti da je porast koncentracije uglavnom uniforman i u odnosu na povećanje masnoće sireva.

Tabela 2. Koncentracija DEHA u sirevima u za

Dan	Koncentracija (mg/kg)		
	Sir 1	Sir 2	Sir 3
3	–	–	220.56
4	–	–	223.9
5	–	210.1	242.6*
6	–	214.8	243.9
7	–	222.4*	264.9
8	–	272.1	269.4
9	–	260.6	210.7
10	211.2	210.7	283.9

Napomena: date srednje vrednosti određene su iz dva uzorka; jedino su vrednosti označene zvezdicom određene samo jednim uzorkom.

Zaključak

Visoke koncentracije bis(2-etilheksil)-adipata bile su određene u sva tri sira. U svim slučajevima je koncentracija plastifikatora bila veća od evropski dozvoljene granice od 60 mg/kg (CEC 1990). Faktori koji su uticali na migraciju plastifikatora su: udeo DEHA u foliji, temperatura skladištenja uzoraka i dodirna površina sa folijom. Količina plastifikatora koja je migrirala u sireve direktno je zavisila od dužine kontakta sa folijom i od masnoće sireva. Iz ovog istraživanja može se zaključiti da je potrebno smanjiti korišćenje polivinilhloridne folije za pakovanje i čuvanje masne hrane, poput sireva, zbog potencijalne opasnosti po zdravlje ljudi.

Literatura

Beltran M., Marcilla A. 1997. Fourier transform infrared spectroscopy applied to the study of PVC decomposition. *European Polymer Journal*, **33** (7): 1135.

Chan J., Shuang F. 2012. *Rapid, Sensitive, and Robust Detection of Phthalates in Food Using GC/MS or LC/MS*. Agilent Technologies

CEC (Commission of the European Communities) 1990. Commission Directive 90/128/EEC of 23 February 1990, relating to plastic materials and articles intended to come into contact with

foodstuffs. *The Official Journal of the European Union*, **L 75**: 19.

Goulas A. E., Anifantaki K. I, Kolioulis D. G, Kontominas M. G. 2000. Migration of di-(2-ethylhexyl) adipate plasticizer from food-grade polyvinylchloride film into hard and soft cheeses. *Journal of Dairy Science*, **83**: 1712.

Goulas A. E., Zygoura P., Karatapanis A., Georgantelis D., Kontominas M.G. 2007. Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study. *Food and Chemical Toxicology*, **45**: 585.

IARC 2000. Di(2-ethylhexyl) adipate. *International Agency for Research on Cancer (IARC) – Summaries & Evaluations*, **77**: 149.

Petersen J. H., Breindahl T. 1998. Specific migration of di-(2-ethylhexyl)-adipate (DEHA) from plasticized PVC film: results from an enforcement campaign. *Food Additives and Contaminants*, **15** (5): 600.

Soxhlet F. 1879. Die gewichtsanalytische Bestimmung des Milchfettes. *Dinglers Polytechnisches Journal*, **232**: 461.


Jovana Dinić

Investigation of Migration of Bis(2-ethylhexyl)-adipate from Polyvinyl Chloride (PVC) Cling Film into Cheeses

Polyvinyl chloride cling film containing plasticizer bis(2-ethylhexyl)-adipate (DEHA) is used for wrapping food and the migration of this plasticizer into three types of cheese with different percentage of fat was investigated. The experiment was carried out in duplicate and samples were examined after one-day time intervals, within 10 days. The migration of DEHA into cheese was analyzed on GC/MS and the results were compared depending on how long the samples had been wrapped in cling film, as well as among the cheese types. The percentage of plasticizer in the cling film is 7.6 %. Because of the sensitivity of the GC/MS, it was not possible

to determine some concentrations of plasticizer which migrated, as they were smaller than the smallest concentration from the calibration line. In cheese with the smallest amount of fat (min 35%), the concentrations could not be detected until the 10th day. After 10 days of exposure to the cling film, the result was 211.2 mg/kg. In cheese with min 45% of fat, values after the 5th day showed that the concentration of plasticizer is growing, with smaller deviations that could be ascribed to homogenization mistakes. The larg-

est concentration was detected after the 8th day (272.1 mg/kg). In cheese with min 48 % of fat, the concentration growth is best noticeable, starting from the 3rd day (220.5 mg/kg) to the 10th (283.9 mg/kg). Also, minimal growth in concentration is visible between different types of cheese, in the function of fat percentage.

Based on the structure and non-polarity of the molecule bis(2-ethylhexyl)-adipate, it was assumed that it would migrate into fatty foods, which was shown in this experiment. 

Dobijanje sorbenata sa potencijalnom primenom u ekstrakciji diosgenina pomoću čvrste faze

Diosgenin je steroidni sapogenin od velikog farmaceutskog značaja. Koristi se u terapijama teških oboljenja kao što su karcinomi dojke, grlića materice, prostate, pojedinih oblika leukemije, koristi se u terapiji neplodnosti. Diosgenin je i prekursor za dobijanje drugih značajnih steroidnih jedinjenja, kao što je na primer dehidroepiandrosteron, koji se koristi u terapijama Alchajmerove bolesti, lupusa, dijabetesa i mnogih drugih bolesti. U ovom radu je napravljeno 7 polimernih sorbenata koji se međusobno razlikuju po sastavu i porogenima u kojima je vršena njihova sinteza. Funkcionalni monomeri prilikom sinteza su bili metakrilna kiselina, 4-vinilpiridin i dietilaminoetil-metakrilat, a neki sorbenti su sintetisani bez funkcionalnog monomera. Umreživači su bili etilenglikol-dimetakrilat i divinilbenzen. Kao rastvarači su korišteni acetonitril i 2-propanol. Ispitivanje vezivanja diosgenina za dobijene sorbente vršeno je iz različitih smeša rastvarača. Smeše rastvarača iz kojih je ispitivano vezivanje bile su: smeše acetonitrila i vode u zapreminskim odnosima 9/1 i 8/2 i smeše metanola i vode u zapreminskim odnosima 9/1 i 8/2. Vezivanje diosgenina za dobijene sorbente poređeno je sa vezivanjem diosgenina za komercijalni sorbent – kopolimer stirena i divinilbenzena. Vezivanje diosgenina za dobijene sorbente bilo je najveće iz smeše metanola i vode u odnosu 8/2. Četiri od 7 sorbenata vezuju diosgenin više od komercijalnog sorbenta pri istim uslovima, dok najveće vezivanje pokazuje sorbent poli(divinilbenzen) koji je sintetisan u acetonitrilu – 93%.

Uvod

Diosgenin je steroidni sapogenin (struktura prikazana na slici 1), koji se dobija kao ekstrakt iz krtole biljaka porodice Dioscoreaceae. Na našem podneblju raste biljka *Trigonella foenum graecum* (narodni naziv – piskavica), koja u svom hemijskom sastavu sadrži diosgenin (Mahato *et al.* 1982).

Diosgenin ima veliki hemijski i medicinski značaj: prekursor je za dobijanje mnogih steroidnih jedinjenja poput progesterona, estrogena, testosterona, dehidroepiandrosterona (DHEA) i drugih (Waller i Yamasaki 1995). U medicini može da se koristi kao alternativa za estrogen, u lečenju neplodnosti, pomaže u lečenju osteoporoze, pomaže kod bolesti žučne kese, u lečenju reumatoidnog artritisa, itd. Utvrđeno je da diosgenin ima i pozitivno dejstvo u lečenju karcinoma (Raju i Mehta 2009). Do sada su utvrđeni pozitivni efekti u lečenju karcinoma dojke, prostate, jajnika i pojedinih oblika leukemije. Novi rezultati istraživanja o antitumorskom dejstvu diosgenina izlaze svakodnevno, zbog čega se u diosgeninu vidi veliki potencijal u budućem lečenju tumora (Moalic *et al.* 2001).

Diosgenin se inače dobija ekstrakcijom korena pojedinih divljih biljaka iz porodice Dioscoreaceae, koje rastu u Južnoj Americi i Africi. Prirodni diosgenin je veoma skup, i u našu zemlju se mora uvoziti. Delovanje i upotreba diosgenina se posle novih istraživanja sve više šire, zbog čega i potražnja za diosgeninom sve više raste, a samim tim raste i njegova cena (Bogdanović 2016).

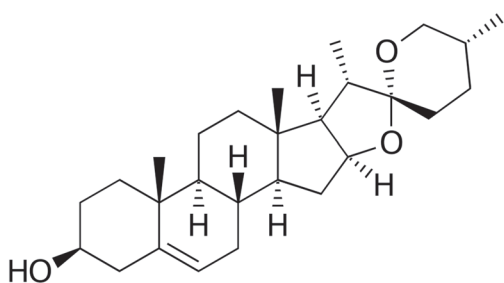
Cilj rada je sinteza polimernih sorbenata pogodnih za sorpciju diosgenina, kao i optimizacija uslova pri kojima se diosgenin najbolje vezuje za sorbent. Sintetisan sorbent se može upotrebiti pri izolovanju diosgenina iz biljke koja uspeva na našoj teritoriji.

Stefan Ugrinov (1999), Sakule, učenik 4. razreda Medicinske škole Zrenjanin

MENTORI:

Miloš Pešić, Istraživačka stanica Petnica

Miljana Todorov, Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu



Slika 1. Struktura diosgenina

Figure 1. Structure of diosgenin

Pomoću polimernih sorbenata diosgenin se može ekstrahovati i u veoma malim količinama, što je značajno jer u piskavici, biljci koja raste na našem podneblju, diosgenina ima u malim količinama, tako da bi se diosgenin mogao ekstrahovati i proizvoditi i u našoj zemlji. Dobijeni diosgenin bi bio značajno jeftiniji, ne bi se čekalo na porudžbine iz inostranstva, a biljka iz koje bi se ekstrahovao je komercijalno dostupna kod nas i proizvodi se na Institutu „Dr Josif Pančić” u Pančevu.

Polimerni sorbenti se takođe mogu upotrebljavati i za ispitivanje sadržaja diosgenina u lekovima u kojima se on nalazi kao jedan od aktivnih principa, kao i prilikom drugih ispitivanja sadržaja diosgenina.

Materijal i metode

1. Sinteza polimernih sorbenata – sintetisano je 8 polimernih sorbenata različitog hemijskog sastava (Huck i Bonn 2000).

2. Određivanje rastvarača i ispitivanje vezivanja diosgenina za polimerni sorbent – ispitivanje je vršeno za 8 sintetisanih sorbenata i poređeno je sa vezivanjem diosgenina za komercijalno dostupni polimerni sorbent – kopolimer stirena i divinilbenzena. Ispitivanje je rađeno sa rastvorom diosgenina u različitim rastvaračima, kako bi se utvrdilo iz kog rastvarača se postiže najbolje vezivanje.

3. Visoko efikasna tečna hromatografija (HPLC) – pravljenje metode za analizu uzoraka diosgenina nakon ispitivanja vezivanja za polimerni sorbent.

Sinteza polimernog sorbenta (opšti postupak). U staklenu vijalicu zapremine 10 mL doda se rastvarač u kome se vrši polimerizacija – porogen, umreživač i funkcionalni monomer, nakon čega se smeša homogenizuje u ultrazvučnom kupatilu. Iz homogene smeše ukloni se kiseonik, uvođenjem argona u reakcionu smešu i sud u toku 5 minuta. Nakon stvaranja inertne atmosfere za polimerizaciju, smeši se doda inicijator polimerizacije – azobisisobutironitril (AIBN). Staklena vijalica se zatvori i dodatno osigura parafilmom, kako bi se osigurala inertnost atmosfere reakcionog suda. Reakciona smeša se postavlja u uljano kupatilo na 65°C i polimerizacija traje 16 h.

Nakon završene polimerizacije staklena vijalica se lomi, sintetisani polimer se usitnjava u avanu sa tučkom. Usitnjeni polimerni sorbent se ispira kako bi se uklonili neizreagovali reaktanti i eventualne nečistoće.

Ispiranje se vrši tako što se usitnjeni polimer prenese u plastične kivete od 15 mL i doda 10 mL metanola. Smeša polimera i metanola se mučka 10 minuta na rotatoru, nakon čega se smeša centrifugira na 10 500 rpm tokom 10 minuta. Posle centrifugiranja odvoji se supernatantni rastvor i procedura se ponovi još četiri puta. Nakon poslednjeg ispiranja polimer se prenese na sahatno staklo i ostavlja se da se suši preko noći na sobnoj temperaturi.

Sintetisano je 7 polimernih sorbenata koji se međusobno razlikuju po hemijskom sastavu i rastvaračima u kojima je vršena njihova sinteza. Hemijski sastav sintetisanih polimernih sorbenata i rastvarači u kojima je vršena polimerizacij prikazani su u tabeli 1. Funkcionalni monomeri prilikom sinteza su bili metakrilna kiselina (MAA), 4-vinil-piridin (4-VP), 2-(dimetilamino)etil metakrilat (DAEM), a pojedini sorbenti su sintetisani bez funkcionalnog monomera. Umreživači su bili etilenglikol-dimetakrilat (EGDMA) i divinilbenzen (DVB). Kao rastvarači su korišteni acetonitril i 2-propanol (Fontanals *et al.* 2003).

Odabir rastvarača i ispitivanje vezivanja diosgenina za sintetisane sorbente (opšti postupak). U ependorf zapremine 1.5 mL izmeri se 30 mg polimernog sorbenta i doda 300 μ L rastvora diosgenina koncentracije 10^{-4} M. Rastvor diosgenina se priprema u različitim smešama rastvarača kako bi se utvrdila smeša iz koje se postiže najveće vezivanje diosgenina za

Tabela 1. Hemijski sastav sintetisanih sorbenata

Oznaka polimera	Funkcionalni monomer	Umreživač	Rastvarač
P1	–	EGDMA	2-propanol
P2	DAEM	EGDMA	acetonitril
P3	DAEM	EGDMA	2-propanol
P4	–	EGDMA	acetonitril
P5	MAA	DVB	acetonitril
P6	4-VP	DVB	acetonitril
P7	–	DVB	acetonitril

polimerni sorbent. Smeše rastvarača iz kojih je ispitivano vezivanje bile su: smeše acetonitrila i vode u zapreminskim odnosima 9/1 i 8/2 i smeše metanola i vode u zapreminskim odnosima 9/1 i 8/2. Za sve sintetisane sorbenata kao i za komercijalno dostupni sorbent vršena su po dva ispitivanja sa svakim od rastvarača diosgenina.

Ependorf sa polimernim sorbentom i rastvorom diosgenina mučka se na rotatoru tokom 2 h, nakon čega se smeša centrifugira u minicentrifugi na 15000 rpm, nakon centrifugiranja supernatantni rastvor se prenese u ependorf zapremine 0.5 mL i postupak centrifugiranja se ponovi. Po završetku centrifugiranja supernatantni rastvor se prenese u staklenu vijalicu za analizu HPLC-om, kako bi se utvrdila koncentracija diosgenina zaostalog u rastvoru nakon ispitivanja vezivanja i kako bi se ta koncentracija uporedila sa početnom koncentracijom rastvarača diosgenina.

Metoda HPLC analize. Uređaj koji je korišten za hromatografiju jeste HPLC hromatograf – Agilent Technologist 1260 Infinity, sa UV detektorom (DAD) – Agilent Technologist 1260. Eluiranje je vršeno izokratski, korišćena mobilna faza je bila smeša acetonitril/voda u

odnosu 85/15 (V/V) sa protokom mobilne faze od 1 mL/min; zapremina injektovanog uzorka bila je 5 μ L, a detekcija je vršena na 200 nm. Temperatura kolone bila je 25°C, a retenciono vreme za diosgenin, pri ovoj metodi iznosilo je oko 1.35 minuta.

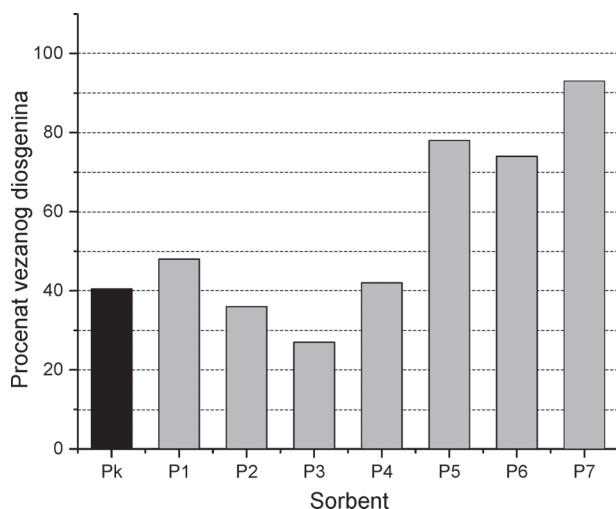
Rezultati i diskusija

Odabir rastvarača. Za ispitivanje vezivanja diosgenina, neophodan je rastvarač koji veoma dobro rastvara diosgenin, u ovom slučaju to su bili metanol i acetonitril. Između polimernog sorbenta i molekula diosgenina javljaju se gotovo isključivo nepolarne interakcije, koje se prilikom vezivanja mogu pospešiti dodatkom polarnošču rastvarača, što se postiže dodatkom male količine vode. Prilikom određivanja odnosa rastvarača i vode vodilo se računa da ne dođe do taloženja diosgenina usled smanjene rastvorljivosti prouzrokovane dodatkom vode, što bi dovelo do taloženja diosgenina, a ne do vezivanja za sorbent.

Ispitivano je vezivanje diosgenina iz četiri smeše rastvarača, rezultati vezivanja prikazane su u tabeli 2. Smeša rastvarača iz kojih

Tabela 2. Rezultati vezivanja diosgenina iz različitih smeša rastvarača (%)

	ACN/H ₂ O = 9/1	ACN/H ₂ O = 8/2	MeOH/H ₂ O = 9/1	MeOH/H ₂ O = 8/2
P1	0	6	6	48
P2	1	13	17	36
P3	6	11	8	27
P4	8	13	20	42
P5	20	32	38	78
P6	16	21	35	74
P7	9	52	67	93



Slika 2. Procenat vezanog diosgenina iz metanola/vode 8/2 (0.1 mM) za sorbente

Figure 2. Percentage of bound diosgenin from methanol/water 8/2 solution (0.1 mM) to sorbents

je postignuto najbolje vezivanje diosgenina za polimerni sorbent, jeste smeša metanola i vode u zapreminskom odnosu 8/2. Imajući u vidu da je vezivanje najveće u najmanje polarnom rastvaraču, može se zaključiti da su interakcije između diosgenina i polimera pre svega hidrofobne interakcije, što je i bila početna hipoteza. Pokazano je da je vezivanje diosgenina za sorbente iz smeše acetonitrila i vode mnogo manje nego iz smeša metanol/voda.

Rezultati vezivanja diosgenina za sintetisane polimerne sorbente (P1-P7), kao i rezultat vezivanja diosgenina za komercijalno dostupni sorbent (Pk – Amberlite XAD7) prikazani su na slici 1. Iz table 2 se može uočiti da 4 od 7 sintetisanih sorbenata vezuju diosgenin u većoj meri u odnosu na komercijalni sorbent. Najviše diosgenina u poređenju sa svim ostalim sorbentima vezuje sorbent P7, koji je vezao 93% diosgenina od ukupne količine diosgenina u početnom rastvoru.

Zaključak

Sintetisano je 7 polimernih sorbenata slobodno-radikalnom polimerizacijom. Sintetisani sorbenti su kopolimeri etilenglikol-dimetakrilata ili divinilbenzena sa nekoliko funkcionalnih monomera (metakrilna kiselina, 4-vinilpiridin i dietilaminoetil-metakrilat). Ispitano je vezivanje diosgenina za dobijene polimere iz smeša metanola i vode kao i acetonitrila i vode u zapreminskim odnosima 9/1 i 8/2. Pokazano je da je za sorpciju diosgenina najbolje primeniti smešu

metanola i vode u odnosu 8/2. Najviše diosgenina vezao je homopolimer divinilbenzena sintetisan u acetonitrilu (P7) i to čak 93% iz rastvora diosgenina koncentracije 0.1 mM u smeši metanola i vode 8/2. Veće vezivanje diosgenina od komercijalnog sorbenta pokazuju i ostali polimeri koji u svom sastavu imaju divinilbenzen (P5 i P6) kao i homopolimer etilenglikol-dimetakrilata (P1), 78, 74 i 48%, respektivno.

Literatura

- Mahato S. B., Ganguly A. N., Sahu N. P. 1982. Steroid Saponins. *Phytochemistry*, **21** (5): 959.
- Waller G., Yamasaki K. (ed.) 1995. *Saponins used in traditional and modern medicine*. Springer
- Moalic S., Liagre B., Corbiere C., Bianchi A., Dauça M., Bordji K., Beneytout J. 2001. A plant steroid, diosgenin, induces apoptosis, cell cycle arrest and COX activity in osteosarcoma cells. *FEBS Letters*, **506**: 225.
- Raju J., Mehta R. 2009. Cancer Chemopreventive and Therapeutic Effects of Diosgenin, a Food Saponin. *Nutrition and Cancer*, **61**: 27.
- Bogdanović M. A. 2016. Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik (IV)-oksidom. doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11000 Beograd

Huck C., Bonn G. 2000. Recent developments in polymer-based sorbents for solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, **885**: 51.

Fontanals N., Marcé R. M., Galia M., Borrull F. 2003. Preparation and characterization of highly polar polymeric sorbents from styrene-divinylbenzene and vinylpyridine-divinylbenzene for the solid-phase extraction of polar organic pollutants. *Journal of polymer science*, **41**: 1927.

Stefan Ugrinov

Obtaining Sorbents with a Potential Application in Solid-Phase Extraction of Diosgenin

Diosgenin is a steroid sapogenin of great pharmaceutical significance. It is used in therapies of many serious diseases such as breast cancer, cervical cancer, prostate cancer, certain forms of leukemia, as well as infertility therapy. Also, diosgenin is a precursor for the production of other significant steroidal compounds such as dehydroepiandrosterone used in therapies of Alzheimer's disease, diabetes, lupus and many more diseases. In this study, 7 polymeric sorbents were made which differed by composi-

tion and the porogens used in their synthesis. The functional monomers during synthesis were methacrylic acid, 4-vinylpyridine, diethylaminoethyl-methacrylate. Some of the sorbents were synthesized without functional monomers. Crosslinkers during synthesis were ethylene glycol dimethacrylate and divinylbenzene. As a porogen acetonitrile and 2-propanol were used. Diosgenin binding assays for the obtained sorbents were carried out in a mixture of acetonitrile and water in 9/1 and 8/2 solvent ratios and in a mixture of methanol and water in 9/1 and 8/2 solvent ratios. Diosgenin binding to the obtained sorbents was compared with diosgenin binding to the commercial sorbent – poly(styrene-co-divinylbenzene). Binding to the obtained sorbents was the highest from the mixture of methanol and water in a 8/2 solvent ratio. Four of the 7 sorbents bind diosgenin better than commercial sorbent under the same conditions, while the highest binding is achieved by the sorbent of poly(divinylbenzene) which was synthesized in acetonitrile – 93%.

Diosgenin binding sorbents could potentially be used in the extraction of diosgenin from different plant species containing diosgenin. Also, they could be used in the analysis of drugs with diosgenin. The results of this study opens the space for the optimization of the conditions of solid-phase extraction with poly(divinylbenzene) as the solid sorbent. 