

Srpsko hemijsko društvo  
Serbian Chemical Society



XLIX savetovanje  
SRPSKOG HEMIJSKOG DRUŠTVA

# KNJIGA RADOVA

49<sup>th</sup> Meeting of  
the Serbian Chemical Society

# Proceedings

Kragujevac, 13-14. maj 2011.  
Kragujevac, May 13-14, 2011

54(082)(0.034.2)

66(082)(0.034.2)

СРПСКО хемијско друштво (Београд). Саветовање (49 ; 2011 ; Крагујевац)

Knjiga radova [Elektronski izvor] = Proceedings / XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva, Kragujevac, 13-14. maj 2011. = XLIX Meeting of the Serbian Chemical Society, Kragujevac, May 13-14, 2011 ; [organizator] Srpsko hemijsko društvo = [organized by] The Serbian Chemical Society ; [urednici, editors Živoslav Tešić, Miloš Đuran, Aleksandar Dekanski]. – Beograd : Srpsko hemijsko društvo = Serbian Chemical Society, 2011 (Beograd : Razvojno-istraživački centar grafičkog inženjerstva TMF). – 1 elektronski optički disk (CD-ROM) ; 12 cm

Sistemska zahteva: Nisu navedeni. - Nasl. sa naslovnog ekrana. –  
Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tekst ćir. i lat. - Tiraž 200. -  
Bibliografija uz većinu radova. - Abstracts. - Registar.

ISBN 978-86-7132-046-7

1. Српско хемијско друштво (Београд)

a) Хемија - Зборници b) Технологија - Зборници

COBISS.SR-ID 183592972

XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva, Kragujevac, 13-14. maj 2011.

**KNJIGA RADOVA**

49<sup>th</sup> Meeting of the Serbian Chemical Society, Kragujevac, Serbia, May 13-14, 2011

**PROCEEDINGS**

**Izdaje / Published by**

**Srpsko hemijsko društvo / Serbian Chemical Society**

Karnegijeva 4/III, Beograd, Srbija, tel./fax: 011 3370 467; [www.shd.org.rs](http://www.shd.org.rs), E-mail: [Office@shd.org.rs](mailto:Office@shd.org.rs)

**Za izdavača / For Publisher**

**Ivanka POPOVIĆ, predsednik Društva**

**Urednici / Editors**

**Živoslav TEŠIĆ**

**Miloš ĐURAN**

**Aleksandar DEKANSKI**

**Dizajn, slog i kompjuterska obrada teksta / Design, Page Making and Computer Layout**

**Aleksandar DEKANSKI**

**Tiraž / Circulation**

**200 primeraka / 200 Copy**

**Umnožavanje / Copying**

**Razvojno-istraživački centar grafičkog inženjerstva TMF - Karnegijeva 4/III, Beograd, Srbija**

ISBN 978-86-7132-046-7

**XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva finansijski je pomoglo  
49<sup>th</sup> Meeting of the Serbian Chemical Society is financially supported by**

## **Ministarstvo za prosvetu i nauku Republike Srbije**



Ministry of Education and Science of Republic of Serbia

# Sadržaj / Contents

## PLENARNA PREDAVANJA / PLENARY LECTURES

<b>Ruthenium anticancer drugs</b> .....	<b>2</b>
<i>Enzo Alessio, Ioannis Bratsos, Teresa Gianferrara</i>	
<b>Green chemistry: recent results in the development of agricultural films and pots from waste polysaccharides</b> .....	<b>3</b>
<i>Mario Malinconico</i>	
<b>Oblici (specije) arsena u vodi - razdvajanje, pretkoncentrovanje i određivanje</b> .....	<b>5</b>
<i>Ljubinka V. Rajaković</i>	
<b>Arsenic Species in Water - Separation, Preconcentration and Determination</b>	

## PREDAVANJA PO POZIVU / INVITED LECTURES

<b>Enzimsko procesovanje alergena hrane</b> .....	<b>10</b>
<i>Dragana J. Stanić-Vučinić</i>	
<b>Enzymatic processing of food allergens</b>	
<b>The interacion of transition metal complexes with phospholipids and enzymes involved in phospholipid metabolism</b> .....	<b>11</b>
<i>Tina Kamčeva, Bojana Damnjanović, Maja Radisavljević, Iva Vukićević, Živadin Bugarčić, Jürgen Arnhold, Marijana Petković</i>	
<b>Interakcija kompleksa prelaznih metala sa fosfolipidima i enzimima uključenim u metabolizam fosfolipida</b>	

## SAOPŠTENJA / CONTRIBUTIONS

### ANALITIČKA HEMIJA / ANALYTICAL CHEMISTRY

<b>Keto-enol Tautomerism of Aryldiketo Acids in Aqueous Solution: NMR Spectroscopy and Cyclic Voltammetry Study</b> .....	<b>16</b>
<i>Tatjana Ž. Verbić, Mire Zloh, Dalibor M. Stanković, Milica N. Sentić, Dragan D. Manojlović, Ivan O. Juranić</i>	
<b>Proučavanje keto-enolne tautomerije arildiketo kiselina u vodenoj sredini upotrebom NMR spektroskopije i ciklične voltametrije</b>	
<b>Isotopic fingerprinting of metals by MALDI TOF MS</b> .....	<b>21</b>
<i>Tina T. Kamčeva, Maja Radisavljević, Iva Vukićević, Bojana Damnjanović, Milovan Stoiljković, Marijana Petković</i>	
<b>Izotopski „otisak prsta“ metala upotrebom MALDI TOF MS</b>	
<b>Određivanje Ag<sup>+</sup> i Cl<sup>-</sup> jona u uzorcima ekoloških voda primenom jednostavnog poli(vinil hlodid-ko-vinil acetat)/srebro potenciometrijskog senzora</b> .....	<b>25</b>
<i>D. M. Sejmanović, B. B. Petković, M. V. Budimir, S. P. Sovilj, V. M. Jovanović</i>	
<b>Determination of Silver and Chloride Ions in Environmental Water Samples by Simple PVCAC/Ag Potentiometric Sensor</b>	
<b>Ravnoteže kompleksiranja Gd(III)-jona sa nekim fluorohinolonima</b> .....	<b>29</b>
<i>Ivan Ž. Jakovljević, Ivan Lazarević, Ljubinka Joksović, Andrija Ćirić, Ratimir Jelić, Predrag Đurđević</i>	
<b>Complex formation equilibria between Gd(III)-ion and some fluoroquinolones</b>	
<b>HPLC Determination of Tetracycline in Human Control Serum</b> .....	<b>33</b>
<i>S. Sunarić, R. Pavlović, S. Mitić, A. Pavlović, S. Tošić</i>	
<b>HPLC određivanje tetraciklina u humanom kontrolnom serumu</b>	

<b>Adsorption of pesticides onto the carbonized short hemp fibers activated with potassium hydroxide</b> .....	<b>37</b>
<i>Marija M. Vukčević, Marina Radišić, Ana Kalijadis, Biljana Babić, Biljana Pejić, Zoran Laušević, Mila D. Laušević</i>	
<b>Adsorpcija pesticida na karbonizovanim kratkim vlaknima konoplje aktiviranim kalijum hidroksidom</b>	
<b>Termohromno ponašanje i termodinamika hlora kompleksa kobalta(II) u smeši amonijum-nitrat – formamid</b> .....	<b>42</b>
<i>Sanja D. Dožić, Milan B. Vraneš, Slobodan B. Gadžurić</i>	
<b>Termochromic Behaviour and Thermodynamic of Cobalt(II) Chloro Complexes in Ammonium Nitrate – Formamide Mixture</b>	
<b>Računarsko modelovanje humane krvne plazme</b> .....	<b>46</b>
<i>Ivan T. Lazarević, Ivan Jakovljević, Andrija Ćirić, Ratomir Jelić, Milena Jelikić-Stankov, Predrag Đurđević</i>	
<b>Computer modeling of human blood plasma</b>	
<b>FIZIČKA HEMIJA / PHYSICAL CHEMISTRY</b>	
<b>Određivanje prividnih i parcijalnih molarnih zapremina u sistemu amonijum-nitrat – N,N-dimetilformamid</b> .....	<b>50</b>
<i>Milan Vraneš, Sanja Dožić, Sanja Čalasan, Slobodan Gadžurić</i>	
<b>Apparent and Partial Molar Volumes in Ammonium Nitrate – N,N-Dimethylformamide Mixture</b>	
<b>Membranska pertrakcija lutecijuma u kontaktoru sa jednom kapilarnom membranom: uticaj zapremine akceptora na efikasnost procesa</b> .....	<b>55</b>
<i>Ksenija R. Kumrić, Jelena S. Đorđević, Tatjana M. Trtić-Petrović</i>	
<b>Membrane pertraction of lutetium with a single hollow fibre membrane: influence of the acceptor volume on the process efficiency</b>	
<b>ELEKTROHEMIJA / ELECTROCHEMISTRY</b>	
<b>Uticaj vrste polimera na oblik i veličinu nanočestica srebra dobijenih elektrohemijском sintezom</b> .....	<b>60</b>
<i>Ž. Jovanović, J. Stojkowska, A. Krklješ, N. Bibić, B. Obradović, Z. Kačarević-Popović, V. Mišković-Stanković</i>	
<b>The effect of polymer type on the size and shape of electrochemically synthesized Ag nanoparticles</b>	
<b>ATR-FTIR i XRD analiza kompozitnih hidroksiapatit/lignin prevlaka dobijenih postupkom elektroforetskog taloženja</b> .....	<b>64</b>
<i>Sanja Eraković, Đorđe Veljović, Papa Diouf, Tatjana Stevanović, Miodrag Mitrić, Đorđe Janačković, Vesna Mišković-Stanković</i>	
<b>ATR-FTIR and XRD evaluation of composite hydroxyapatite/lignin coatings obtained by electrophoretic deposition method</b>	
<b>UV-Vis spectroelectrochemical study of substituted 4–oxothiazolidine derivatives in aprotic medium</b> .....	<b>68</b>
<i>Isidora Cekić-Lasković, Dragica M. Minić, Rade Marković, Elena Volanschi</i>	
<b>ULj -VID spektroelektrohemijско proučavanje supstituisanih 4–oksotiazolidinskih derivata u nevedenoj sredini</b>	
<b>Volfram-karbid kao nosač nanočestica Pt u elektrohemijскоj oksidaciji metanola</b> .....	<b>72</b>
<i>M.D. Obradović, B.M. Babić, N.V. Krstajić, S.Lj. Gojković</i>	
<b>Tungsten carbide as support of Pt nanoparticles in electrochemical methanol oxidation</b>	
<b>Koroziona stabilnost prevlaka viniltrioksosilana na aluminijumu u rastvorima NaCl</b> .....	<b>76</b>
<i>Željka S. Jovanović, Ingrid Milošev, Radmila M. Jančić-Heinemann, Jelena B. Bajat, Vesna B. Mišković-Stanković</i>	
<b>Corrosion stability of Vinyltriethoxysilane Coatings on Aluminium in Sodium Chloride Solutions</b>	

## HEMIJSKO INŽENJERSTVO / CHEMICAL ENGINEERING

<b>Segregacija u fluidizovanom sloju voda-polidisperzna smeša čestica .....</b>	<b>80</b>
<i>Mihal M. Đuriš, Zorana Lj. Arsenijević, Željko B. Grbavčić, Radmila V. Garić-Grulović</i>	
<b>Segregation in fluidization bed water-polydisperse particle mixtures</b>	
<b>Modeling of the kinetics of aqueous Pb sorption on synthetic and natural apatite .....</b>	<b>85</b>
<i>Tatjana Kaluđerović Radoičić, Slavica Raičević</i>	
<b>Modelovanje kinetike sorpcije olova na prirodnom i sintetičkom apatitu</b>	
<b>Prenos toplote zid-pseudofluid u vertikalnom toku tečnost krupne čestice .....</b>	<b>89</b>
<i>Radmila V. Garić-Grulović, Željko B. Grbavčić, Nevenka M. Bošković-Vragolović, Zorana Lj. Arsenijević</i>	
<b>Wall-to-pseudofluid heat transfer in vertical flow of liquid coarse particles</b>	
<b>Ravnoteža tečnost-tečnost u vodenim rastvorima tečnih polietilen glikola sa toluenom.....</b>	<b>94</b>
<i>Gorica Ivaniš, Jelena Vuksanović, Zoran Višak, Emila Živković, Nikola Grozdanić, Mirjana Kijevčanin</i>	
<b>Liquid-Liquid Equilibria in Aqueous Solution of Liquid Polyethylene Glycol and Toluene</b>	
<b>Temperature influence on change of thermodynamic and transport properties of the binary systems containing dimethylphthalate (or dimethyladipate) and alcohols.....</b>	<b>98</b>
<i>Andjela Knežević-Stevanović, Divna Bajić, Jovan Jovanović, Dušan Grozdanić, Ivona Radović, Slobodan Šerbanović, Mirjana Kijevčanin</i>	
<b>Uticaj temperature na promenu termodinamičkih i transportnih osobina binarnih smeša dimetilftalata (ili dimetiladipata) i alkohola</b>	

## NAUKA O MATERIJALIMA / MATERIALS SCIENCE

<b>Mechanical and optical properties of composite material poly (methyl methacrylate)-bismuth-silicon-oxide .....</b>	<b>103</b>
<i>Ivana M. Radović, Dušica B. Stojanović, Petar S. Uskoković, Slobodanka N. Kostić, Milka M. Jakovljević, Vesna J. Radojević and Radoslav R. Aleksić</i>	
<b>Mehanička i optička svojstva kompozitnog materijala poli (metilmetakrilat)-bizmut-silicijum-oksidi</b>	

## METALURGIJA / METALLURGY

<b>Investigation of archaeometallurgical findings from Šetaće and Paulešti localities near Bor .....</b>	<b>107</b>
<i>Dragana Živković, Nada Štrbac, Miroslav Sokić, Velibor Andrić, Branka Andjelić, Igor Jovanović, Marija Jovičić, Dušica Nikolić</i>	
<b>Ispitivanje arheometalurških nalaza sa lokaliteta Šetaće i Paulešti u okolini Bora</b>	
<b>Fazne promene tokom oksidacije halkopiritnog i polimetaličnog koncentrata ležišta "Rudnik" .....</b>	<b>111</b>
<i>Miroslav Sokić, Nada Štrbac, Branislav Marković, Vladislav Matković, Dragana Živković, Ivan Mihajlović, Ljubiša Balanović, Aleksandra Mitovski</i>	
<b>Phase changes during oxidation of chalcopyrite and polimetalic concentrate from the ore body "Rudnik"</b>	

## HEMIJA ŽIVOTNE SREDINE / ENVIRONMENTAL CHEMISTRY

<b>Decolorization of the textile dye Reactive Blue 19 by the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process .....</b>	<b>115</b>
<i>Miljana D. Radović, Jelena Z. Mitrović, Ivana S. Kostić, Danijela V. Bojić, Branislava D. Kocić, Aleksandar Lj. Bojić</i>	
<b>Dekolorizacija tekstilne boje Reactive Blue 19 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> procesom</b>	
<b>Depozit hlorporifosa u zasadu višnje i šljive .....</b>	<b>118</b>
<i>Bojana, D. Špirović, Milica M. Mojašević, Vesela Ž. Karan, Majda E. Milak, Nenad D. Tamaš</i>	
<b>Chlorpyrifos deposit in sour cherry and plum orchards</b>	
<b>Kvalitet vode Dunava, Donjeg Podunavlja, u periodu od 1999. do 2009. godine .....</b>	<b>122</b>
<i>Rodoljub D. Čučulović, Ana A. Čučulović, Dejan P. Marković, Dragan A. Marković</i>	
<b>Water quality of the Danube, the Lower Danube, in the period 1999. by 2009.</b>	

<b>A proper evaluation of interaction between solvent and thiophene from the middle distillation fraction of oil through extraction .....</b>	<b>126</b>
<i>Yana K. Koleva and Yordanka Ts. Tasheva</i>	
<b>Primena unapređenih oksidacionih postupaka, AOP-a, za uklanjanje boje Ractive black 5 iz vode .....</b>	<b>129</b>
<i>Milica N. Sentić, Goran Roglić, Dragan Manojlović, Jelena Nešić, Biljana Dojčinović</i>	
<b>The application of advanced oxidation processes, AOPs, for removing Reactive black 5 dye from the water</b>	
<b>Concentration levels of POPs in the biotic material in Novi Sad, Serbia .....</b>	<b>133</b>
<i>Tamara Vukavić, Mirjana Vojinović Miloradov, Ivana Mihajlović, Maja Turk Sekulić, Jelena Radonić</i>	
<b>Koncentracioni nivoi perzistentnih organskih polutanata u biotskom materijalu u Novom Sadu, Srbija</b>	
<b>BIOHEMIJA / BIOCHEMISTRY</b>	
<b>Poređenje kolorimetrijskog i masenospektrometrijskog esreja za određivanje aktivnosti pankreasne fosfolipaze A<sub>2</sub> .....</b>	<b>137</b>
<i>Iva A. Vukićević, Tina Kamčeva, Maja Radisavljević, Marijana Petković</i>	
<b>Comparison of colorimetric and mass spectrometric assays to determine the activity of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub></b>	
<b>Modeling Dopamine D2 Receptor Second Extracellular Loop .....</b>	<b>141</b>
<i>Vladimir Šukalović, Jelena Penjišević, Goran Roglić, Deana Andrić, Vukić Šoškić, Slađana Kostić-Rajačić</i>	
<b>Modelovanje druge ekstracelularne petlje dopaminskog D2 receptora</b>	
<b>Termodinamička analiza razvijanja izoformi eksterne invertaze .....</b>	<b>146</b>
<i>Uroš Ž. Andjelković, Jurij Lah</i>	
<b>Thermodynamic analysis of unfolding of external invertase isoforms</b>	
<b>BIOTEHNOLOGIJA / BIOTECHNOLOGY</b>	
<b>Karakterizacija lipaze iz <i>Candida utilis</i> dobijene tehnikom gajenja na čvrstoj podlozi korišćenjem uljane pogače maslina kao supstrata .....</b>	<b>151</b>
<i>Omar Ali Saied moftah, Sanja Grbavčić, Nevena D. Luković, Milena G. Žuža, Dejan I. Bezbradica, Zorica D. Knežević-Jugović</i>	
<b>Characterization of <i>Candida utilis</i> lipase produced by solid state fermentation using olive oil cake as a substrate</b>	
<b>Delimično prečišćavanje prirodnih koagulanata iz zrna pasulja primenom hromatografije sa izmenom jona na IRA 900 .....</b>	<b>155</b>
<i>Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, Jelena M. Prodanović, Mile T. Klašnja, Dragana V. Kukić</i>	
<b>Partial purification of natural coagulants obtained from common bean seeds by ion exchange chromatography on IRA 900</b>	
<b>HEMIJA I TEHNOLOGIJA MAKROMOLEKULA / CHEMISTRY &amp; TECHNOLOGY OF MACROMOLECULES</b>	
<b>Uticaj sastava hidrogelova na bazi hitozana na kontrolisano otpuštanje diazepama, paracetamola i diklofenaka .....</b>	<b>159</b>
<i>M. Lučić, N. Milosavljević, S. Grujić, M. Laušević, M. Kalagasidis Krušić</i>	
<b>Chitosan hydrogels for controlled drug release of diazepam, paracetamol and diclofenac</b>	
<b>NEORGANSKA HEMIJA / INORGANIC CHEMISTRY</b>	
<b>Inhibitorski efekat kompleksa platine (II) na fosfolipazu A<sub>2</sub> .....</b>	<b>163</b>
<i>Maja Radisavljević, Tina Kamčeva, Iva Vukićević, Ilija Brčeski, Živadin D. Bugarčić, Marijana Petković</i>	
<b>Inhibitory effect of platinum (II) complexes on phospholipase A<sub>2</sub></b>	

**ORGANSKA HEMIJA / ORGANIC CHEMISTRY**

<b>Kinetic and mechanism of the addition of piperidine and benzylamine to the aroylacrylic acid phenylamides.....</b>	<b>167</b>
<i>Ilija N. Cvijetić, Maja D. Vitorović-Todorović, Ivan O. Juranić, Đura Nakarada, Milica Radulović, Branko J. Drakulić</i>	
<b>Кинетика и механизам адисије пиперидина и бензиламина на фениламиде ароилакрилних киселина</b>	

**TEKSTILNO INŽENJERSTVO / TEXTILE ENGINEERING**

<b>Uticaj selektivne TEMPO-oksидacije na mehanička svojstva vlakana pamuka.....</b>	<b>172</b>
<i>Jovana Ž. Milanović, Mirjana Kostić, Biljana Pejić, Petar Škundrić</i>	
<b>Influence of selective TEMPO-oxidation on mechanical properties of cotton fibers</b>	
<b>Biosorpcija jona Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> i Pb<sup>2+</sup> kratkim vlaknima konoplje: Matematički model.....</b>	<b>176</b>
<i>Biljana M. Pejić, Marija Vukčević, Ivana Pajić-Lijaković, Mirjana Kostić, Jovana Milanović, Petar Škundrić</i>	
<b>Biosorption of Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> i Pb<sup>2+</sup> ions by short hemp fibers: Mathematical model</b>	
<b>Uticaj hemijskog modifikovanja na električnu otpornost pamučnih pređa.....</b>	<b>180</b>
<i>Ana D. Kramar, Koviljka Asanović, Jovana Milanović, Mirjana Kostić</i>	
<b>Influence of chemical modification on electrical resistance of cotton yarns</b>	
<b>Adsorpciono ponašanje direktne boje na pamuku u vodi bez drugih dodataka.....</b>	<b>184</b>
<i>Danica Šaptović, Medina Honić-Avdović, Predrag Ranđelović, Slađana Jovanović, Dragan Đorđević</i>	
<b>Adsorption behavior of direct dye on cotton in water without other auxiliaries</b>	
<b>Uticaj prisustva nanočestica srebra na antibakterijsku aktivnost i obojenje pamučne tkanine.....</b>	<b>189</b>
<i>Vesna M. Lazić, Zoran V. Šaponjić, Vesna V. Vodnik, Suzana I. Dimitrijević, Petar M. Jovančić, Jovan M. Nedeljković, Maja M. Radetić</i>	
<b>The influence of silver nanoparticles on antibacterial activity and color of cotton fabric</b>	

**KERAMIKA / CERAMISC**

<b>Sinterabilnost kordijeritnih prahova sintetizovanih koloidnim sol-gel postupkom.....</b>	<b>193</b>
<i>Noshat M. El Buaishi, Violeta M. Arsovski, Đorđe N. Veljović, Jasmina S. Kovrlija, Đorđe T. Janačković, Rada D. Petrović</i>	
<b>Sinterability of Cordierite Powders Synthesized by Colloidal Sol-Gel Method</b>	

**NASTAVA HEMIJE / CHEMICAL EDUCATION**

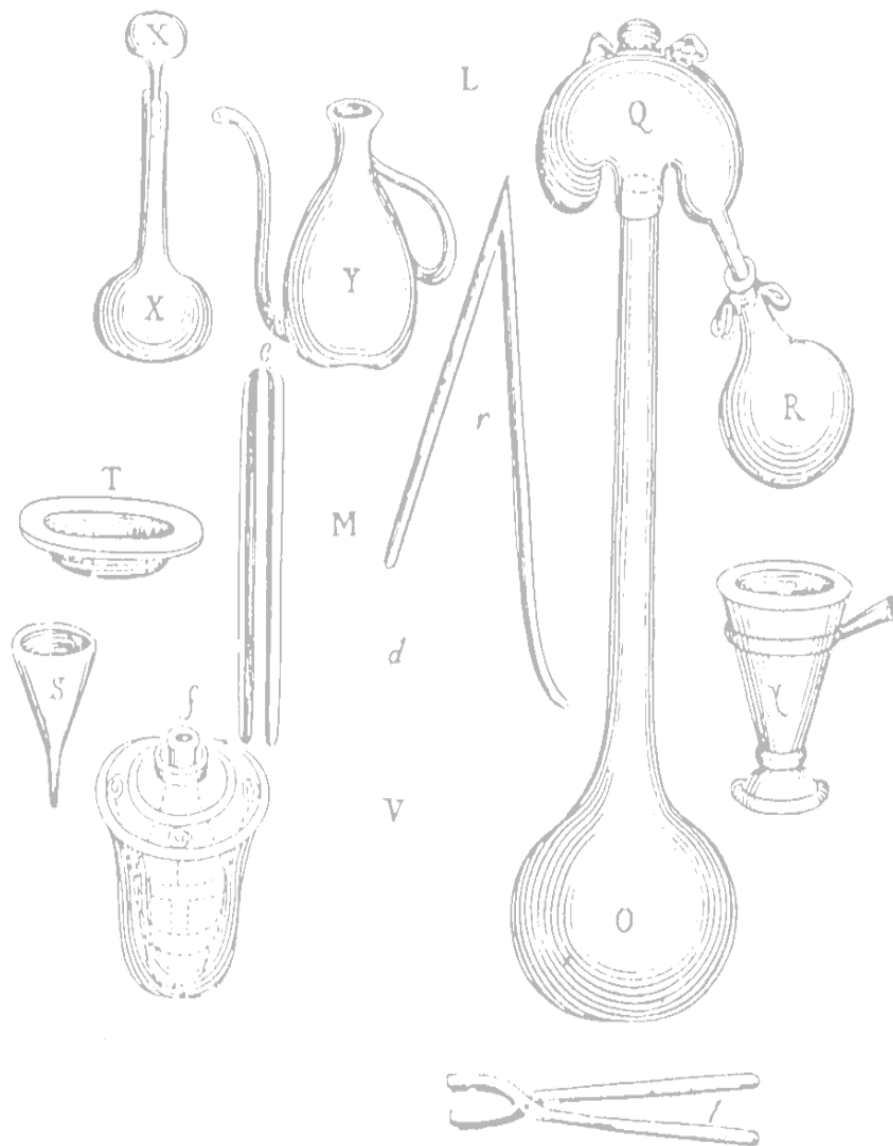
<b>У свету хемије ученика седмог разреда.....</b>	<b>198</b>
<i>Борис Пејин, Гордана Јовић, Љиљана Вуковић, Јасминка Королија</i>	
<b>In a chemistry world of seventh-grade primary school students</b>	
<b>Осмаци као наставници на првом часу хемије у основној школи.....</b>	<b>201</b>
<i>Борис Пејин, Љубинка Пешић-Илић, Љиљана Бошковић, Василије Планић, Јасминка Королија</i>	
<b>Eighth-grade students as teachers on a first chemistry class in primary school</b>	
<b>Открића хемичара у блиској будућности која би одушевила основце.....</b>	<b>205</b>
<i>Борис Пејин, Гордана Јовић, Љиљана Вуковић, Јасминка Королија</i>	
<b>The discoveries of chemists in near future which would delight primary school students</b>	

<b>INDEX AUTORA / AUTHOR INDEX.....</b>	<b>210</b>
---	------------



# Plenarna predavanja

## Plenary Lectures



## Ruthenium anticancer drugs

Enzo Alessio, Ioannis Bratsos, Teresa Gianferrara

*Department of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Trieste,  
Via L. Giorgieri 1, 34127 Trieste, Italy (alessi@units.it)*

Cisplatin is one of the most used anticancer agents and is present in a large number (>50%) of chemotherapy regimens. The extraordinary and long-term research activity focused on metal-based anticancer compounds was inspired by the great efficacy of cisplatin in testicular cancer treatment, where cure rates around 80% are obtained. In addition to cisplatin, two other platinum drugs are at present in worldwide clinical use: carboplatin and oxaliplatin, approved by FDA in 1989 and 2002, respectively.

The major limitations of such Pt drugs are a narrow range of activity (they are scarcely active against a number of malignancies with high social incidence), severe toxic side-effects, and intrinsic or acquired tumor resistance observed during treatment.

Soon after the serendipitous discovery of the antitumor activity of cisplatin in 1969, much of the early research effort was carried out on murine tumors, aimed at identifying the structure-activity relationships of platinum compounds. In parallel and subsequently, mechanistic investigations performed in mammalian cells led to the identification of DNA as pharmacological target of cisplatin.

These results induced the hope of repeating that clinical success in other solid tumors, exploiting also compounds of metals different from platinum. In principle, non-platinum compounds may be expected to have anticancer activity and toxic side-effects markedly different from those of Pt drugs for a number of obvious reasons: their different coordination geometries, binding preferences, and ligand-exchange rates are likely to lead to different mechanism(s) of action and, as a consequence, to different biological properties.

Among the several metal compounds that have been investigated for anticancer activity, those of ruthenium occupy a prevalent position.

Indeed, since several years the authors have been involved in the development of Ru-dmsO complexes, many of which were shown to possess anticancer activity<sup>1,2</sup>. The most advanced representative in this series is the Ru(III) compound NAMI-A which is selectively active against metastases of solid tumors. NAMI-A has successfully accomplished a phase 1 clinical study on humans and is undergoing a phase 1-2 combination study.

After a general introduction<sup>3</sup>, the lecture will give an update of the clinical status of NAMI-A and then will focus on new classes of Ru compounds that were developed more recently in the attempt to find new antitumor active species and establish some general structure-activity relationships<sup>4</sup>.

1. E. Alessio, G. Mestroni, A. Bergamo, G. Sava, G. *Curr. Topics Med. Chem.* **2004**, *4*, 1525–1535.
2. I. Bratsos, T. Gianferrara, E. Alessio, C. G. Hartinger, M. A. Jakupec, B. K. Keppler in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, E. Alessio ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2011, pp. 151-174.
3. T. Gianferrara, I. Bratsos, E. Alessio *Dalton Trans.*, **2009**, 7588-7598.
4. T. Gianferrara, A. Bergamo, I. Bratsos, B. Milani, C. Spagnul, G. Sava, E. Alessio *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4678-4690.

## Green chemistry: recent results in the development of agricultural films and pots from waste polysaccharides

Mario Malinconico

*Institute on Polymer Chemistry and Technology, National Research Council, Via Campi Flegrei, 34 – 80078 Pozzuoli, Italy – Tel. 00390818675212, FAX 00390818675230, E-mail: mali@ictp.cnr.it*

### Abstract

The increasing demand for mulching and solarization in agriculture is posing serious problems of environmental concerns. Practically all these films are collected by the farmers and left on the ground borders to be incinerated. The same collection by the farmer is difficult; these films being thinner and damaged, their removal through automatic means is almost impossible. The research has focused on an innovative approach where a sort of sprayable water-based varnish is applied on soil. Such varnish, made of biodegradable polysaccharides mixture, contains biodegradable plasticizers to allow the film to remain elastic for the time needed. Moreover, a set of fibrous natural fillers have been tested, which can be mixed in the varnish or can be preventively applied on soil. The agronomic performances have been measured, together with mechanical properties and degradation behavior. The results seem to confirm the technical feasibility of such approach in developing a sustainable plasticulture.

### Introduction

The use of plastics in agriculture causes the bulky problem of the waste disposal<sup>1</sup>. The growing interest in environmental protection has been orienting research to the development of coatings based on biodegradable and renewable agricultural raw materials. The introduction of waterborne spray formulation of biodegradable polymers can be a solution because the disposal of biodegradable spray mulching coatings could be accomplished by incorporating them into soil by tilling the field at the end of cultivation. The lecture examines the main results obtained during applications in field of water solution of natural biodegradable polymers sprayed on the cultivation area in order to form a mulch coating. Aim of the research is to evaluate the functionality, the mechanical and the physical properties of biodegradable spray for mulching coatings during two years crop cultivation cycles. The spray coatings were especially formulated to meet the requirement for installation, duration according to type and time of cultivation, safe disposal directly into the cultivation soil upon milling. Physical properties were investigated by means of laboratory tests. Radiometric analysis, SEM analysis, mechanical tensile tests and infrared reflectance spectroscopy were executed on the biodegradable spray coatings samples in order to evaluate the coating properties.

### Results and Discussion

Several cultivation tests were carried out in order to evaluate the functionality of innovative spray mulching coatings during 2007 and 2008. The choice of polysaccharides has been done on the basis of their properties to gellify either by physical cross-linking or in view of their ability to chelate bivalent cations like Ca<sup>++</sup> from soil. Coatings based on guar gum and locust bean resins PSS20 (Protective Surface System) from Polysaccharides Industries, Sweden, and on alginate solution were used for soil mulching; in some cases fibrous fillers were added to increase the mulching effect and the strength of the coatings. PSS20 was a blend of polysaccharides (5 % water solution) and glycerol (10% water solution) coming from Leguminosae applied in different way: without any other addition, with carbon black, mixed with paper pulp fibre, mixed with polysaccharide gel fibre. The alginate based solution was a blend of sodium alginate (2.0 % water solution), extracted from brown seaweed, hydroxyethylcellulose (1.0 % water solution), polyglycerol plasticizer (3% water solution), natural plasticizers<sup>2</sup>. The alginate solution was applied alone with a black filler based on natural charcoal (Fig. 1) and in conjunction with pulverized seaweed and fine bran of wheat (Fig. 2).

All the blends, if necessary mixed with a filler, were distributed by an airbrush using a high pressure spray machine directly on the soil or on the growing media, prepared carefully in order to prevent holes and cracks of the spray coatings, which would have facilitated weed development.

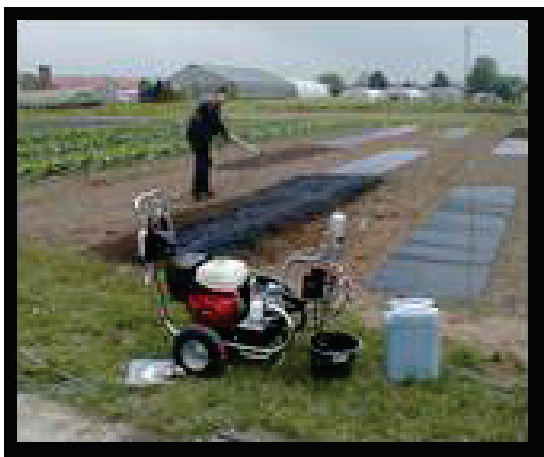


Figure 1. Spray application of a black polysaccharide based film



Figure 2. Spray application of a neutral polysaccharide based film on a bed of pulverized fibers

The use of spray coatings did not require any particular change in the common agronomical practices. After the crop cycle (strawberries), the spray biodegradable coatings remained on the soil together with crop residues until the tilling when the coatings were shattered together with plants. The end products of the coatings underwent a biodegradation process, due to the microorganisms present in the soil. Experimental data of biodegradation tests performed in soil showed that after 70 days the biodegradation is about 50% in quite all samples<sup>3</sup>.

The experimental field tests carried out during the research for two years in Italy highlighted several positive results. Even if the spray coatings presented cracks on the surface within the first month from the execution, the coatings continued to satisfy their mulching function up to harvesting (Fig. 3). By analysing the useful lifetime, the radiometric performance, the mechanical behaviour, the agronomic results and the degradation rate of the biodegradable film residues buried after harvesting, it is possible to assume that the new water born generation spray coatings showed a good functionality.



Figure 3. Final appearance of the testing area at harvesting time

## Conclusion

The results obtained highlighted that the innovative spray coatings can promote sustainable agriculture, environmentally friendly agricultural practices and the use of non-oil renewable raw materials for the mulching realization.

## REFERENCES

1. D. Briassoulis, An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agricultural films, *J. of Polym. and the Environment* **12** (2004) 65-81
2. R. Russo, M. Malinconico, G. Santagata, Effect of cross-linking with calcium ions on the physical properties of Alginate films, *Biomacromolecules*, **8** (2007).3193-3197
3. G. Scarascia-Mugnozza, E. Schettini, G. Vox, B. Immirzi, M. Malinconico, S. Pagliata, "Mechanical properties decay and morphological behaviour of biodegradable films for agricultural mulching in real scale experiment". *Polymer Degradation and Stability*, **91** (2006) 2801

## Oblici (specije) arsena u vodi - razdvajanje, pretkoncentrovanje i određivanje

Ljubinka V. Rajaković

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11 Beograd, Srbija*

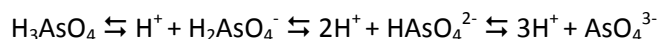
### Izvod

U radu je razvijen jednostavan postupak za razdvajanje i određivanje neorganskog (iAs) i organskog arsena (oAs) kao i njihovih oblika u prirodnim vodama. Za razdvajanje As(III) od As(V), koji reprezentuju iAs oblike arsena u prirodnim vodama, ispitana je i primenjena hromatografska kolona sa jako baznom anjonskom smolom (JBAS) za koju se, ukoliko je pH vrednost vode podešena na vrednosti niže od 8, vezuju samo jonski oblici As(V). Molekulski oblici As(III) ostaju u propuštenom rastvoru u kome se može odrediti njihova koncentracija. Za pripremu uzoraka vode u cilju pretkoncentrisanja i određivanja tragova arsena u vodi, ispitane su hibridne smole, HY, u kojima je integrisana aktivna komponenta (hidratiran gvožđe(III)-oksid, tip-HY-Fe, i srebro-hlorid, tip-HY-AgCl) kojom se favorizuje pored jonske izmene adsorpcija i hemisorpcija, a time i vezivanje svih oblika arsena u vodi. Hibridne smole su efikasne u širokom opsegu pH vrednosti od 5,00 do 11,00. U radu su ispitani uticaji svih parametara koji utiču na vezivanja arsenovih vrsta u šaržnom i protočnom sistemu. Primenom standardnih analitičkih postupaka, definisani su postupci za razdvajanje, koncentrisanje i određivanje neorganskih i organskih oblika arsena u vodi. Za određivanje koncentracije arsena u vodi ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) primenjene su ICP-MS i AAS-GH metode.

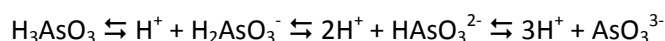
Ključne reči: arsen, specijacija, separacija, pretkoncentrisanje, jonska izmena, hibridne smole.

### Uvod

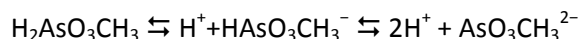
Hemija arsena u prirodnim vodenim sistemima je veoma složena. Ako je prisutan u vodi, arsen se nalazi u obliku neorganskih i organskih kiselina. Koji će oblici kiselina (molekulski ili jonski) i koje će oksidaciono stanje (trovalentno ili petovalentno) biti dominantno, zavisi od pH vrednosti i redoks uslova koji vladaju u vodenom sistemu. U površinskim vodama, gde vladaju oksidacioni uslovi zbog stalnog kontakta sa kiseonikom iz vazduha, dominiraju ravnotežni oblici petovalentnog arsena, As(V):



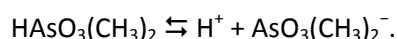
U umereno redukcionim uslovima dominiraju ravnotežni oblici trovalentnog arsena, As(III):



U neutralnim uslovima As(V) se nalazi isključivo u jonskom obliku:  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  i  $\text{HAsO}_4^{2-}$  -jona, dok je As(III) u obliku molekula  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ . U podzemnim vodama arsen se nalazi u oba valentna oblika. Organski arsen (oAs) se retko nalazi u prirodnim vodama, ali ukoliko je prisutan (usled antropološkog zagađenja i transformacije neorganskog arsena mikroorganizmima) nalazi se u obliku monometil arsenove kiseline:

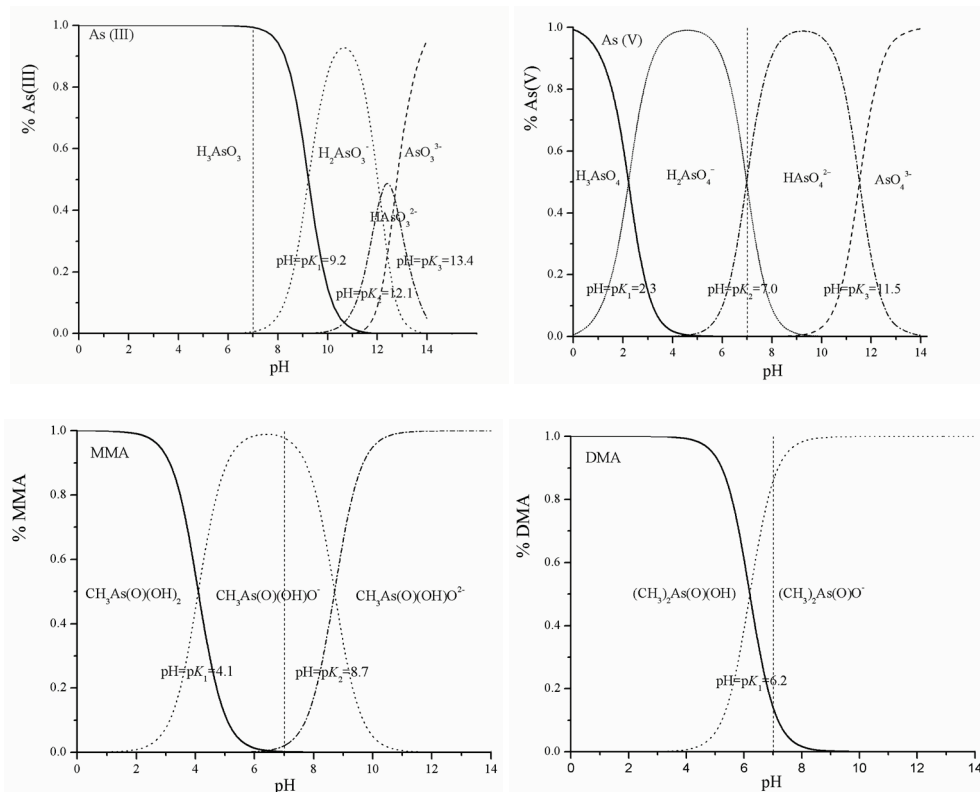


ili u obliku dimetil arsenove kiseline:



Na Slici 1 prikazana je zavisnost predominacije molekula i jona arsenovih jedinjenja (koja se mogu naći u prirodnim vodama) od pH vrednosti vode<sup>1</sup>.

Toksičnost jedinjenja arsena u vodi opada u nizu: neorganski As(III) > organski As(III) > neorganski As(V) > organski As(V)<sup>2</sup>. Upravo zbog različite toksičnosti arsenovih jedinjenja korisno je, a ponekad i neophodno poznavati koncentracije pojedinih vrsta. Oblici petovalentnog arsena prisutni u prirodnim vodama (dominantno  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  i  $\text{HAsO}_4^{2-}$ -joni), mikrobiološkom aktivnošću se redukuju u arsenitnu kiselinu,  $\text{H}_3\text{AsO}_3$ .



Slika 1. Oblici (specije) arsena u vodi u zavisnosti od pH vrednosti vode

Arsenitna kiselina se dalje pod dejstvom algi i mikroorganizama naizmenično oksiduje, redukuje i metiluje do metilarisinske kiseline, a zatim se kao metabolit prevodi u arsenofosfolipide koji se sedimentirani u školjkama i oklopima transformišu do arsenobetaina, najčešćeg oblika arsena u morskim organizmima. Arsen se iz organizma izlučuje u obliku dimetilarsenoil etanola<sup>2</sup>. Nezagađena (pijaća) voda sadrži arsen u opsegu od 1 do 10  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ , pri čemu može dostići vrednosti od 100 i 500  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  u oblastima gde su prisutne sulfidne rude i rudnici<sup>2</sup>. Od strane EPA (Environmental Protection Agency, Agencija za zaštitu životne sredine) i WHO (World Health Organisation, Svetska Zdravstvena Organizacija)<sup>3</sup> preporučeno je da vrednost arsena u vodi za piće ne prelazi 10  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Otpadne vode iz industrije mogu da sadrže velike koncentracije arsena i ako neprečišćene dospeju u prirodne recipijente, mogu da nanese ogromne štete živim organizmima<sup>4</sup>. Smrtna doza arsen(III)-oksida (arsenika) za čoveka prosečne mase iznosi 65 mg, bilo da je količina uzeta odjednom ili više puta u manjim količinama<sup>2</sup>.

### Eksperimentalni deo

Koncentracije arsena određene su primenom ICP-MS tehnike<sup>1</sup> (Agilent Technologies 7500), a neke koncentracije su dodatno proverene primenom AAS-GH tehnike<sup>1</sup> (Perkin Elmer Analyst 200, MHS 15). Obe metode imaju visoku osetljivost (granica osetljivosti od 1 nm/L do 1  $\mu\text{g}/\text{L}$ ). Standardni rastvori arsena (III, V) pripremljeni su od Fluka standardnih rastvora. Početna koncentracija arsena, neorganskog i organskog, u ispitivanim standardnim rastvorima bila je u opsegu od 100 – 500  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

Jonska izmena i sorpcija arsena iz model vodenih rastvora arsena ispitana je u šaržnom i protočnom sistemu. Ispitani su sledeći materijali: 1) JBAS, jako bazna anjonska smola, Lewatit MonoPlus M 500, gel tip, Bayer; 2) HY-Fe, hibridna smola sa gvožđe(III)-hidroksidom, komercijalni proizvod Bayer-a pod nazivom FO36, i 3) HY-AgCl, hibridna smola sintetizovana u laboratoriji TMF-a s aktivnim srebro-hloridom. pH vrednost vode podešavana je rastvorima 0,1 M HCl ili 0,1 M NaOH.

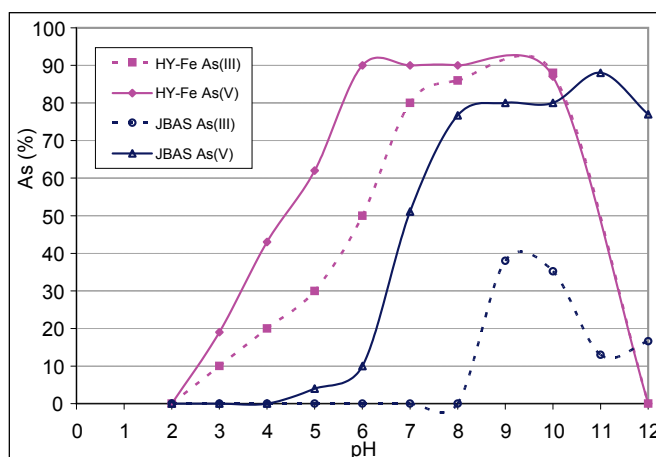
### Rezultati i diskusija

Eksperimenti su koncipirani tako da se definišu dva analitička postupka:

postupak razdvajanja arsenovih vrsta pomoću JBAS-a u cilju razdvajanja i analitičkog određivanja As(III) i As(V) vrsta, i postupak pretkoncentrisanja (vezivanja) svih arsenovih jedinjenja u cilju određivanja ukupne koncentracije arsena u vodi.

Uticaj pH vrednosti, kao najvažnijeg faktora na formiranje molekulskih ili jonskih oblika u vodi i najuticajnijeg na proces vezivanja za smolu ispitana je u šaržnom sistemu za sva tri materijala. Rezultati ispitivanja prikazani su na

Slici 2. Rezultati s hibridnom smolom tipa HY-AgCl bili su analogni onima koji su dobijeni sa smolom tipa HY-Fe tako da su na dijagramu prikazani rezultati samo za JBAS i HY-Fe.

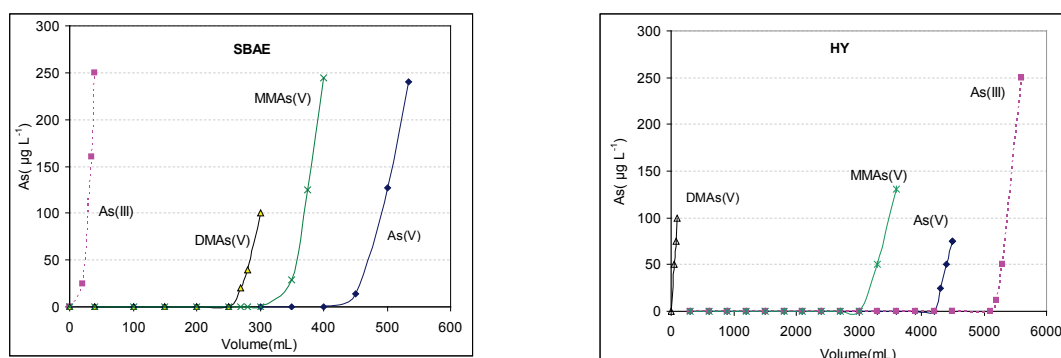


Slika 2. Zavisnost efikasnosti jonske izmene arsena (III, V) na JBAS i HY-Fe od pH vrednosti vode  
 Uslovi:  $C_{As} = 100,0 \text{ mg/L}$ ;  $m_{smole} = 1,0 \text{ g}$ ;  $t = 20^\circ\text{C}$ ;  $V = 100 \text{ mL}$ ;  $\tau = 60 \text{ min}$ ;  $w = 150 \text{ o/m}$

Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 2 može se zaključiti sledeće: razdvajanje As(III) i As(V), kao reprezentativnih vrsta neorganskog arsena (iAs), pomoću JBAS je moguće jednostavnom regulacijom pH vrednosti rastvora. U oblasti pH vrednosti od 0-8, As(III) se nalazi u molekulskom obliku i ne vezuje se za JBAS. As(V) koji se nalazi u obliku jona (u neutralnim rastvorima dominiraju  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  i  $\text{HAsO}_4^{2-}$ -joni), vezuju se jonskom izmenom za smolu.

simultano vezivanja As(III) i As(V) na hibridnim smolama moguće je ostvariti u širim oblastima pH vrednosti vode, od 4 do 11. Ovaj rezultat ukazuje da se arsen i u molekulskom i u jonskom obliku vezuje (procesom adsorpcije) na gvožđe(III)-hidroksidu kao aktivnoj komponenti hibridne smole. Ukoliko se koristi hibridna smola tipa HY-AgCl, dolazi do hemisorpcije jer se arsenova jedinjenja vezuju za smolu,  $\text{R-AgCl}$ , gradeći teško rastvorna jedinjenja,  $\text{R-Ag}_3\text{AsO}_3$ ,  $\text{R-Ag}_3\text{AsO}_4$ .

Rezultati ispitivanja uticaja i značaja pH vrednosti vode na procese jonske izmene i sorpcije arsena na jonoizmenjivačkim i hibridnim smolama u protočnom sistemu potvrdila su saznanja dobijena u šaržnom sistemu. U protočnom sistemu je, pored mogućnosti vezivanja i selektivnog razdvajanja iAs, ispitana i mogućnost razdvajanja organskih vrsta arsena (oAs). Kao reprezentativna oAs u radu su ispitana dva jedinjenja: monometilarsenat, MMAs(V) i dimetilarsenat, DMAs(V). Ukoliko se u vodi pojave oblici oAs oni se nalaze u obliku metilovanih oblika petovalentnog arsena, međutim oAs se retko nalazi u prirodnim vodama, a ako se akcidentno i pojave nalaze se u tragovima. Na Slici 3 prikazani su rezultati razdvajanja i vezivanja iAs: As(III) i As(V) kao i metilovanih organskih jedinjenja petovalentnog arsena, MMAs(V) i DMAs(V).



Slika 3. Krive proboga za neorganska, iAs, i organska jedinjenja arsena, oAs, u dejonizovanoj vodi  
 Uslovi:  $C_{As(III)} = C_{As(V)} = C_{MMAs(V)} = C_{DMAs(III)} = 5.000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7,5$ ,  $m_{smole} = 6,0 \text{ g}$ ,  $Q = 1,66 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\text{EBV} = 12,5 \text{ mL}$ ,  $n = 3$

Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 3 može se zaključiti sledeće: JBAS je efikasna za vezivanje obe vrste oAs, a od iAs vezuje samo As(V). Maksimalna efikasnost jonske izmene ovih vrsta utvrđena je u neutralnim rastvorima što je u skladu s činjenicom da se i oAs oblici i As(V) u tim uslovima nalaze u jonskom obliku. As(III), kao molekulski oblik se ne vezuje za smolu čime je i u protočnom sistemu potvrđena mogućnost razdvajanja i direktnog određivanja As(III) oblika u vodi;

Hibridne smole, i HY-Fe i HY-AgCl vezuju sve oblike arsena izuzev DMAs(V). Ova činjenica se može pripisati prostornom efektom u toku adsorpcije, druga metil grupa smanjuje prostornu kompatibilnost sa raspoloživom površinom smole koja je već pokrivena aktivnim agensima.

Na osnovu ukupnih rezultata utvrđen je postupak za razdvajanje i koncentrovanje arsenovih jedinjenja u protočnom sistemu. Detaljni postupak je opisan u prethodnim radovima<sup>1</sup>. Primenom standardnih analitičkih postupaka, (analizom standardnih rastvora arsena, analizom sertifikovanih referentnih materijala, primenom metode standardnog dodatka) provereni su i definisani postupci za razdvajanje, koncentrovanje i određivanje neorganskih i organskih oblika arsena u vodi. Postupci su primenjeni u analizi arsenovih jedinjenja u bunarskim vodama sa područja Vojvodine (Obrovac, Zrenjanin, Palić).

### Zaključak

Cilj ispitivanja u ovom radu bio je da se detaljno ispita mogućnost selektivnog razdvajanja arsenovih oblika u vodi primenom jonoizmenjivačkih i hibridnih smola. Ispitana su tri tipa jonoizmenjivačkih smola: JBAS i HY-Fe i HY-AgCl. Utvrđeno je da se primenom jednostavne hromatografske kolone ispunjene smolom tipa JBAS može primeniti postupak za razdvajanje As(III) od svih drugih oblika arsena i vodi, neorganskih i organskih. U neutralnim vodenim rastvorima (što odgovara pH vrednostima vode za piće) za JBAS se vezuju samo As(V) oblici, kapacitet smole za vezivanje As(V) iznosi najmanje 370 µg/g. Simultani procesi sorpcije, hemisorpcije i jonske izmene na hibridnim smolama manje zavise od pH vrednosti vode. Kapaciteti hibridnih smola, i HY-Fe i HY-AgCl, u postupku vezivanja iAs i oAs su visoki, najmanje 4000 µg/g, što je osnova za primenu hibridnih smola u postupku pripreme uzoraka vode (koncentrisanja svih arsenovih jedinjenja) i snižavanje praga osetljivosti metoda za određivanje tragova arsena u vodi.

### LITERATURA

1. N.B. Issa, V.N. Rajaković-Ognjanović, B.M. Jovanović, Lj.V. Rajaković, *Anal. Chim. Acta*, **673** (2010) 185.
2. V.L. Vukašinović-Pešić, M. Đikanović, N.Z. Blagojević, Lj.V. Rajaković, *Chem. Ind. and Chem. Eng. Quarterly*, **11** (1) (2005) 44.
3. World Health Organization, *Arsenic in Drinking Water*, Geneva, (2001) Fact sheet 210
4. V.N. Rajaković, Lj.V. Rajaković, *Hem. Ind.*, **7-8**, (2003) 307.

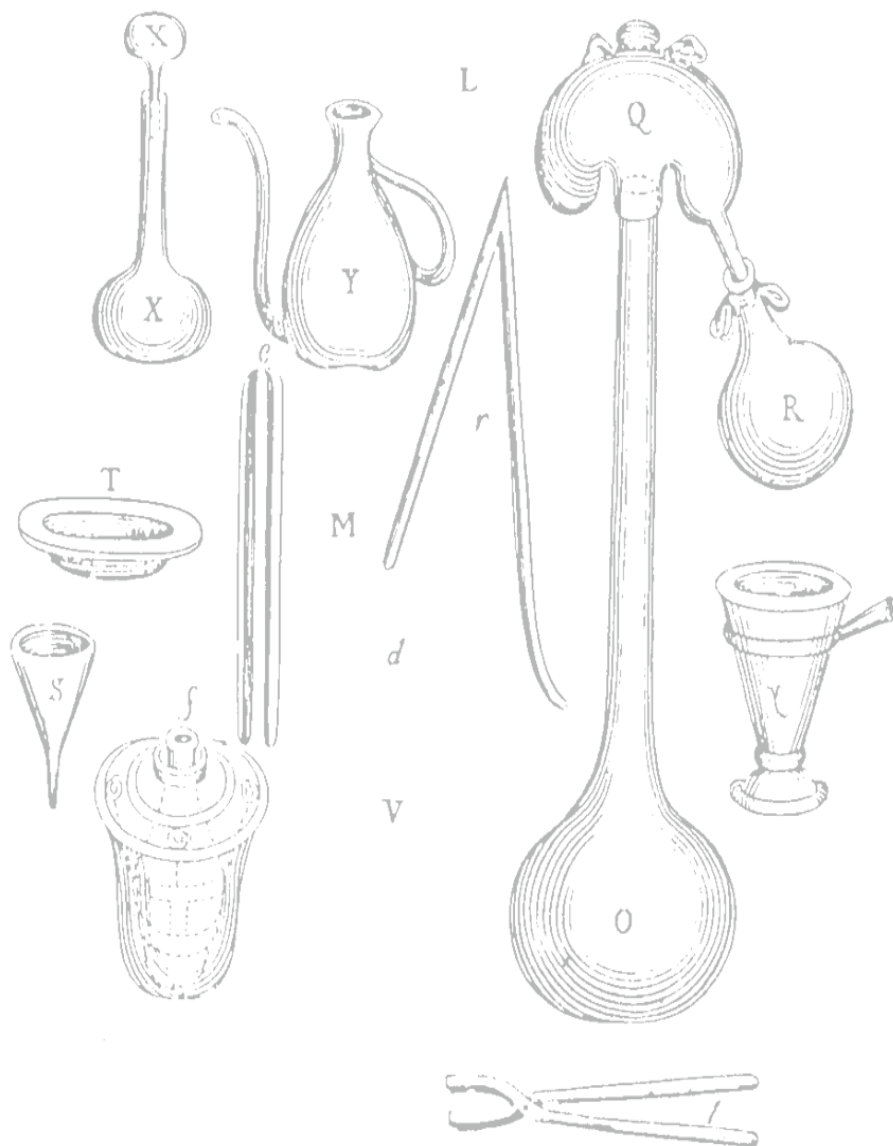
### Arsenic Species in Water - Separation, Preconcentration and Determination

*A simple method for separation and determination of inorganic arsenic (iAs) species in natural and drinking water was developed in this work. Procedures for sample preparation, separation of As(III) and As(V) species and preconcentration of total iAs on fixed bed columns were defined. A strong base anion exchange (SBAE) resin and two hybrid (HY) resins (HY-Fe and HY-AgCl) were utilized. The governing factors for ion exchange/sorption of arsenic on resins in a batch and a fixed bed flow system were analysed and compared. Acidity of water, which plays an important role in control of the ionic or molecular forms of arsenic species was beneficial for separation: by adjusting pH values less than 8.00, SBAE resin separates As(V) and As(III) in water, by retaining As(V) and allowing As(III) to pass through. Sorption activity of hydrated iron oxides particles integrated in HY resin was beneficial for bonding of all arsenic species in a wide range of pH values from 5.00 to 11.00. Validation of methods was established through basic analytical properties. ICP-MS and AAS-HG techniques were applied as analytical methods for the determination of arsenic concentration in water.*



# Predavanja po pozivu

## Invited Lectures



## Enzimsko procesovanje alergena hrane

Dragana J. Stanić-Vučinić

*Hemijski fakultet, Beograd, Srbija*

Danas više od 4% humane populacije u razvijenim zemljama pati od alergije na hranu. Premda je striktno izbegavanje uzročnika alergije najbolji način sprečavanja alergijske reakcije, sveprisutna upotreba hrane, kao što su mleko, kikiriki i soja, u prehrambenoj industriji aleričnim osobama znatno otežava izbegavanje slučajnog unosa alergena hrane. Ova činjenica nameće potrebu za iznalaženjem procesujućih metoda koje imaju za cilj da smanjenje alergenog potencijala hrane i kreiranje hipoalergenih prehrambenih proizvoda. Enzimске modifikacije molekula alergena mogu promeniti njihovu strukturu i onemogućiti vezivanje IgE antitela za konformacione ili linearne epitope. Najčešće korišćeni enzimi za smanjenje alergenosti prehrambenih proizvoda su proteaze, koje fragmentacijom alergena daju hipoalergene hidrolizate. Promena strukture alergena može se postići i njegovom polimerizacijom primenom enzima koji katalizuju unakrsno povezivanje proteina. Trenutno se u prehrambenoj industriji u cilju usavršavanja različitih funkcionalnih atributa hrane koriste transglutaminaze, za koje je pokazano da su efikasane i u smanjenju imunoreaktivnosti alergena hrane. Veliki potencijal imaju i okidaze, kao što su peroksidaze i polifenol okidaze koje, pored polimerizacije, mogu katalizovati i uvođenje malih molekula u strukturu polimernog alergena i tako maskirati vezujuća mesta IgE antitela. U budućnosti enzimске metode za modifikaciju prehrambenih alergena moći će da se primene i u razvoju bezbednih, a efikasnih, preparata za imunoterapiju alergija na hranu.

## Enzymatic processing of food allergens

Today more than 4 % of human population in industrialized countries suffers of food allergy. While strict avoidance is the best way to prevent allergic reaction, the ubiquitous use of food such as milk, peanuts and soy in the food industry makes it very hard for allergic individuals to avoid accidental ingestion. Therefore there is growing demand for methods aimed to reduce allergenic potential of food products and create hypoallergenic food. Enzymatic modification of allergen molecule may alter its structure and obstruct binding of IgE antibodies to conformational or linear epitopes. The most frequent used enzymes for reducing food allergenicity are proteases leading to allergen fragmentation resulting in hypoallergenic hydrolysates. Altering the structure of proteins can be attained by polymerization of allergens by usage of enzymes catalyzing protein cross-linking. Presently, microbial transglutaminase, utilized in the food industry to modify various functional attributes of food, was shown to be efficient in reducing immunoreactivity of food allergens. High potential have also oxidases, like peroxidase and polyphenol oxidases, beside cross-linking able to introduce small molecule into polimerized allergen structure and mask IgE antibody binding sites. In the future enzymatic methods for modification of food allergen have potential in development of safe, but efficient, preparations for immunotherapy of food allergies as well.

## The interaction of transition metal complexes with phospholipids and enzymes involved in phospholipid metabolism

Tina Kamčeva\*, Bojana Damnjanović\*\*\*, Maja Radisavljević\*, Iva Vukićević\*, Živadin Bugarčić\*\*\*, Jürgen Arnhold\*\*\*\*, Marijana Petković\*

\*INN „Vinča“, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

\*\*Faculty of Biology, University of Konstanz, Germany

\*\*\*Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

\*\*\*\*Institute of Medical Physics and Biophysics, Faculty of Medicine, University of Leipzig, Germany

### Introduction

Although metal complexes are efficient anti-proliferative agents in solid tumors, there are numerous side effects of these drugs such as nephrotoxicity and tumor cell resistance that must be overcome by synthesis of new more effective complexes, or by alternative approaches to the drug administration. Therefore, new Pt(II), Pt(IV), Ru(III) or Au(III) complexes are of particular interest and several of them have already reached the level of clinical testing. In particular platinum(IV) and ruthenium(III) complexes containing aromatic ligands, such as bipyridine, appear to be suitable candidates for studying the basic features of interaction with biomolecules.<sup>1</sup>

The strategy which should enable selectivity of metallo-drugs involves the administration of a drug as a prodrug, which will be activated and exhibit the action specifically in the tumor tissue. Another approach is the development of specific carrier for a drug. The most common mechanisms of the activation of metallo-drugs in the tumor cells involve their aquation/hydrolysis, photoactivation, pH-dependent activation or activation by reduction.<sup>2</sup> In the case of Pt(II) based drugs, the first step in the interaction with biomolecules is their hydrolysis, which occurs in the cytosol, due to the lower Cl<sup>-</sup> concentration. After that, the stepwise ligand replacement reaction may occur, leading to the formation of more or less stable complex with a biomolecule, i.e. platination of nucleic acid.

The study of the interaction of transition metal complexes with phospholipids, the main constituents of biomembranes, as of their interaction with the enzymes involved in the metabolism of phospholipids, such as phospholipases, are of utmost importance since the first interaction of a drug with the cell occurs at the membrane and all further events depend on the nature of this interactions.

The significance of this interaction was clearly demonstrated on the series of ruthenium complexes containing ligands with varying lipophilicity: even slight modifications in ligand lipophilicity caused changes in the interaction with the cell membrane and in the binding properties to DNA. As a consequence, the drug uptake by a cell was significantly affected and their localization in cellular compartments was different in dependence on the lipophilicity.<sup>3</sup> Svensson and coworkers have shown that with decreasing length of the alkyl ether chain in the ligand of Ru-complex its concentration in the nucleus increases after administration.

Besides phospholipids in the membrane, transition metal complexes interact with membrane proteins. Proteins in general are important targets for metallo-drugs, particularly because they contain a number of residues with which transition metal complexes can interact either through ligand-substitution reactions, or by electrostatic interactions after hydrolysis in the cytosol. In general, transition metal complexes might cause conformational changes of the protein after binding, thus affecting its structure. In addition, transition metal complexes which bind to the amino acid residue in the active centre of the enzyme or to adjacent residue, might act as competitive reversible or irreversible inhibitors. Finally, binding of certain complexes to proteins caused cross-linking of proteins.<sup>4,5</sup>

The enzymes involved in phospholipid metabolism are important because they are involved in the maintenance of the cell homeostasis, but also in the production of lipid messenger molecules further involved in both intra- and inter-cellular signaling. Phospholipases (A, C and D) are among the first enzymes activated after triggering signaling pathways on the plasma membrane and transmitting signals from extracellular milieu to the cell nucleus.<sup>6</sup> Although some of them are targeted key enzymes in tumor development and growth, there is lack of data on the potential mechanism of action of transition metal complexes on their structure and activity. Moreover, secretory phospholipases A<sub>2</sub>, which play a role in innate immunity and are one of key enzymes involved in regulating inflammatory reactions either by binding to the cell surface or through

products of its enzymatic activity, are Cys-rich molecules,<sup>4</sup> which indicates that these enzymes have a number of opportunities for the interaction with transition metal complexes.

This presentation will give short overview of the results of our group obtained so far on the investigation of the interaction of transition metal complexes with phospholipids and with pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>.

### Results and discussion

It has been demonstrated that cisplatin binds specifically to phosphatidylserine, which is abundant in the inner leaflet of the cell membrane and to phosphatidic acid. Other phospholipids species, which are more abundant in the cell membrane are not recognized as target molecules.<sup>7</sup> Physiological significance of this interaction is, however, only speculative, as this binding can be easily prevented with cellular concentrations of glutathione. Several authors imply that interaction of transition metal complexes with phosphatidylserine leads to the activation of a complex, which is then able to interact with cellular targets. Our first aim was to study the effect of transition metal complexes on the membrane properties, *i.e.* permeability. For this purpose, large unilamellar vesicles (LUV) of palmitoyl-oleoyl-phosphatidylcholine (POPC) filled with fluorescent dye (carboxyfluorescein) are prepared and incubated with transition metal complexes for various times. The fluorescence intensity of released dye from LUVs after incubation with transition metal complexes was measured and compared with fluorescence intensity obtained after addition of triton X-100 (100% of permeabilization).

Among several transition metal complexes tested, the most pronounced effect was obtained with  $[\text{RuCl}_2(\text{bipy})]\text{Cl}$  complex (59.5%). Interestingly, the less pronounced effect was obtained with  $[\text{PtCl}_4(\text{bipy})]$ , *i.e.* with complex which has the same ligand (about 4%). The metallo/drugs which are already used in the chemotherapy, cis-platin and oxaliplatin, were completely ineffective.

In agreement with LUV/model system, our preliminary results obtained with erythrocytes, demonstrate increase in the cell lysis as measured by change in the absorbance of released hemoglobin (Fig. 1). Clear concentration/ and time-dependance of the cell lysis with the presence of complexes was obtained.

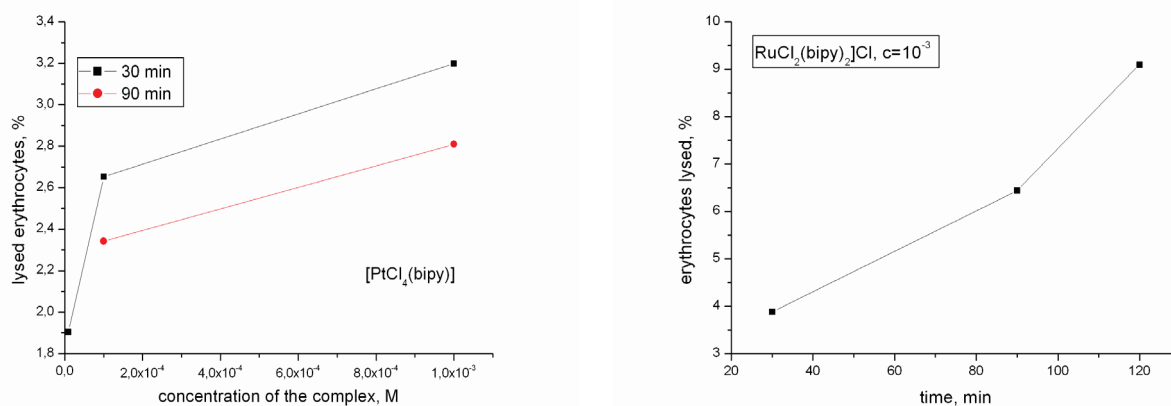


Fig. 1. Dependence of the ratio of lysed erythrocytes in the presence of various concentrations of  $[\text{PtCl}_4(\text{bipy})]$  (left). The graph on the right represents dependence of the moiety of lysed erythrocytes on the time of incubation with  $[\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2]\text{Cl}$ .

These results raise a question on the nature of interaction between the transition metal complexes and different phospholipids arranged in the bilayer. First of all, the interaction between transition metal complexes with positively charged phospholipids, such as phosphatidylcholine is demonstrated. Study of the interaction of cisplatin with phosphatidylserine resulted in the evidence of complex formation with head group of the phospholipid, but with fatty acyl chain.<sup>7,8</sup> The LUV bilayer organization is obviously disturbed in the presence of transition metal complexes, which is in accordance with observation of other authors that the membrane rigidity increases after incorporation of transition metal complexes. This is possible, because transition metal complexes might interact also with fatty acyl chain in the phospholipid bilayer, in particular if the ligand is more lipophilic. This implies the possibility for generation of specific "clusters" made of lipophilic ligand incorporated in the hydrophobic part of the membrane which enables the leakage of the cytosole content. This assumption remains, however, to be further investigated.

The next goal of our investigation was to test the effect of transition metal complexes, potential anti-tumor drugs on the activity of pancreatic PLA<sub>2</sub>. Porcine pancreas PLA<sub>2</sub> was used as the model system for secretory PLA<sub>2</sub>. There are, however implications that secretory PLA<sub>2</sub> enzymes play a role in the progression of cancer cells, particular prostate and pancreatic cancer cells.<sup>9</sup>

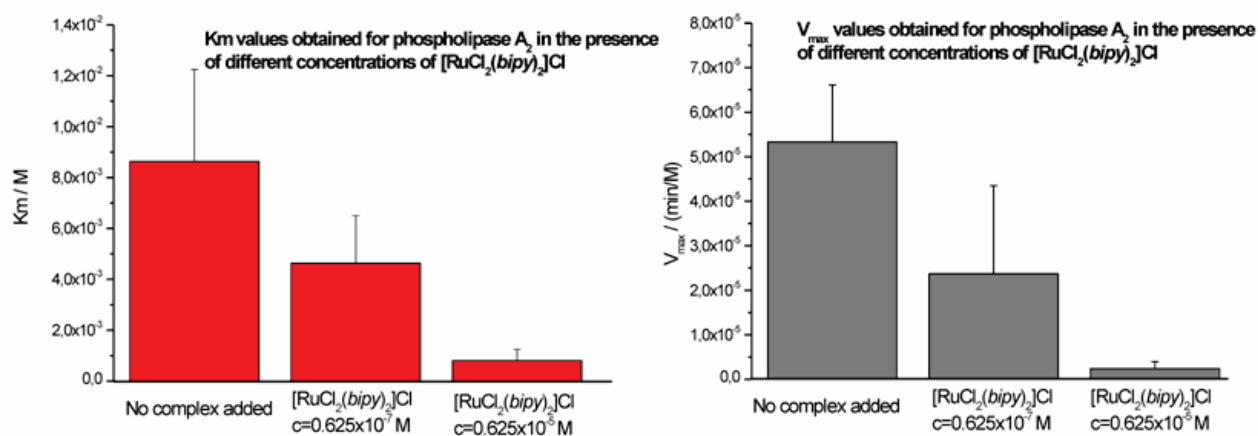


Fig. 2. K<sub>m</sub> (left panel) and V<sub>max</sub> (right panel) values obtained for porcine pancreas PLA<sub>2</sub> in the presence of various concentrations of [RuCl<sub>2</sub>(bipy)<sub>2</sub>]Cl complex.

MALDI-TOF MS was used as the method of choice for determination of PLA<sub>2</sub> kinetic parameters, whereas MALDI-TOF MS, UV/Vis and fluorescence spectroscopy were applied in order to detect the product of interaction between the transition metal complexes and enzyme.

Our previously obtained data clearly demonstrate that MALDI-TOF MS can be used for monitoring the activity of PLA<sub>2</sub>. Experimental set-up is simple: phospholipids isolated from egg yolk were incubated with PLA<sub>2</sub> in the presence of transition metal complexes. After certain time of incubation, the reaction was terminated with the chloroform/methanol mixture, chloroform layer separated and taken for further analysis by MALDI-TOF MS. Internal standard was used for quantitative measurements, and for determination of kinetic parameters. As shown in Fig. 2. clear inhibitory effect of the complexes on the activity of PLA<sub>2</sub> was shown. Based on the K<sub>m</sub> and V<sub>max</sub> values, the mechanism is uncompetitive. On the other hand, no clear evidence on the new complex formed between the enzyme and potential metallo-drug could be obtained, although the MALDI-TOF mass spectra of PLA<sub>2</sub> have been changed after incubation of the enzyme with transition metal complexes: new peaks are generated, but, according to the mass change, they could not be assigned to any species.

Whereas the expression of cytosolic and calcium-independent PLA<sub>2</sub> enzymes has been investigated for several carcinomas,<sup>9,10</sup> the expression of secretory enzymes with tumor progression has poorly been addressed. It has been recently shown that the secretory PLA<sub>2</sub> type IIA protein content is decreased in colon carcinoma cells, whereas this enzyme could be detected at higher concentrations in apoptotic, necrotic cells and in the invasive front of colorectal carcinoma.<sup>10</sup> However, it remains unknown whether this activity can be correlated with its increased expression. One can assume that PLA<sub>2</sub> enzymes are involved in the process of clearance of apoptotic and necrotic tumor cells, whereas its increased content in the invasive front might promote penetration of tumor cells into the healthy tissue. We can only speculate that potential inhibitory effect of metallo-drugs on the secretory PLA<sub>2</sub> might slow down the process of protrusion of tumor cells by decreasing the concentration of mediators of cellular signaling, such as metabolites of arachidonic acid and lysophospholipids. Additional effects of metallo-drugs on the death of tumor cells remains to be further studied.

Prostate cancer cells also secrete higher levels of sPLA<sub>2</sub> due to increased activation of intracellular signaling pathways, which are, in turn, also activated by products of sPLA<sub>2</sub> activity.<sup>9</sup> In a similar manner to colon carcinoma cells, we can assume that inhibitors of sPLA<sub>2</sub>, such as transition metal complexes, might contribute to the processes of inhibition of prostate tumor growth and differentiation, i.e. that they will have rather beneficial effects. In addition, inhibition of secretory PLA<sub>2</sub> with transition metal complexes might affect the process of host defense under chemotherapy. Since secretory PLA<sub>2</sub> plays a significant role in host defense (for instance the enzyme secreted from stimulated neutrophils), inhibition of this enzyme might imply decreased ability of the host to cope with invading microorganisms. Furthermore, efficiency of the clearance of necrotic

tissues, including necrotic tumor cells, might be significantly suppressed under chemotherapy. This all might contribute to a lower efficiency of the anti-tumor therapy with metallo-drugs.

### Conclusions

Taken together, results of our study imply that transition metal complexes might affect the properties of the cell membrane by increasing its permeability. This process might also be involved in the apoptosis of tumor cells, but this remains to be determined in more detail. Uncompetitive inhibition of pancreatic PLA<sub>2</sub> by transition metal complexes was also demonstrated. Potential consequences of these interactions, as well as contribution in development of new strategy for anti-tumor therapy are discussed during this presentation.

*Acknowledgments:* This work is supported by the Serbian Ministry of Education and Science, grant No. 172011. The financial support of the German Academic Exchange Service (fellowships and Serbia-Germany bilateral cooperation) is also acknowledged.

## Interakcija kompleksa prelaznih metala sa fosfolipidima i enzimima uključenim u metabolizam fosfolipida

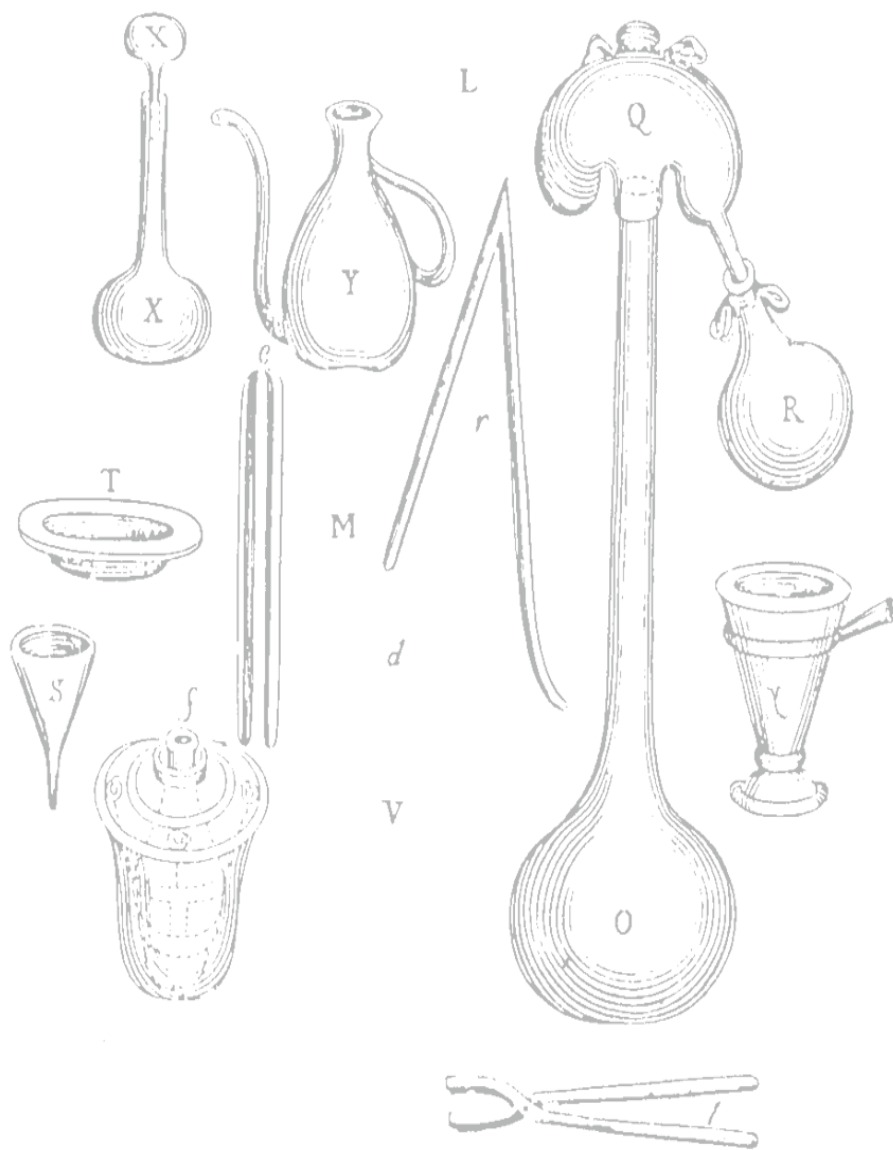
*U ovom izlaganju će biti dat pregled rezultata koji govore o interakciji lekova na bazi metalnih kompleksa sa fosfolipidima, osnovnim sastojcima ćelijskih membrana, kao i sa enzimima koji su uključeni u metabolizam fosfolipida i produkciju važnih signalnih molekula. Pokazano je da čak i najmanje modifikacije u lipofilnosti liganda koji je u sastavu kompleksa dovode do značajnih izmena u unosu metalnog kompleksa u ćeliju. Pored interakcije kompleksa prelaznih metala, uglavnom sa negativno naelektrisanim fosfolipidima, uticaj kompleksa na osobine membrane je takođe pokazan: prisustvo kompleksa u membrani menja njene osobine i povećava njenu permeabilnost. Pored inhibicije raznih enzima, kompleksi prelaznih metala inhibiraju i enzime koji su uključeni u metabolizam fosfolipida, kao što je fosfolipaza A<sub>2</sub>. Pored pregleda dobijenih rezultata, u toku izlaganje će se diskutovati o prirodi navedenih interakcija, kao i o mogućim fiziološkim efektima i uticaju na progresiju tumora.*

### References

1. S.E. Pierce, R. Kieltyka, H.F. Sleiman, J.S. Brodbelt, *Biopolymers* **91** (2009) 233.
2. E. Reisner, V. Arion, B. Keppler, A. Pombeiro, *Inorg. Chim. Acta*, **361** (2008) 1569.
3. F. R. Svensson, M. Matson, M. Li, and P. Lincoln, *Biophys. Chem.*, **149** (2010) 102.
4. S. P. Fricker, *Metallomics*, **2** (2010) 366.
5. T. Kamčeva, M. Petković, *Metallomics*, doi: 10.1039/c0mt00096e
6. F. Watson, *Methods*, **9** (1996) 578.
7. G. Speelmans, R. Staffhorst, K. Versluis, J. Reedijk, and B. De Kruijff, *Biochemistry*, **36** (1997) 10545.
8. K. Burger, R. Staffhorst, and B. De Kruijff, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes*, **1419** (1999) 43.
9. Z. Dong, Y. Liu, K.F. Scott, L. Levin, K. Gaitonde, R.B. Bracken, B. Burke, Q.J. Zhai, J. Wang, L. Oleksowicz, S. Lu, *Carcinogenesis* **31** (2010) 1948.
10. T. Avoranta, J. Sundström, E. Korkeila, K. Syrjänen, S. Pyrhönen, J. Laine, *Virchows Arch.* **457** (2010) 659.

# Saopštenja

## Contributions



## Keto-enol Tautomerism of Aryldiketo Acids in Aqueous Solution: NMR Spectroscopy and Cyclic Voltammetry Study

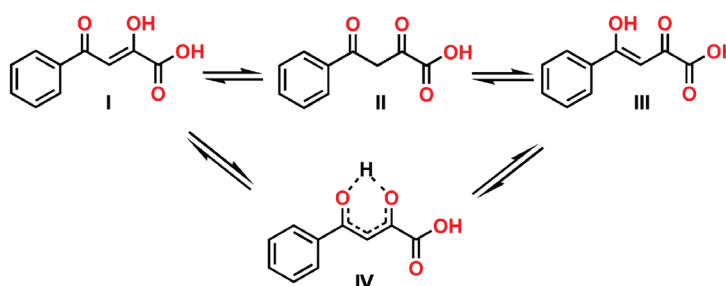
Tatjana Ž. Verbić<sup>✉</sup>, Mire Zloh\*, Dalibor M. Stanković\*\*, Milica N. Sentić,  
Dragan D. Manojlović, Ivan O. Juranić

Faculty of Chemistry, Univ. of Belgrade, Studentski Trg 16, Belgrade, Serbia, <sup>✉</sup>[tatjanad@chem.bg.ac.rs](mailto:tatjanad@chem.bg.ac.rs);  
\*The School of Pharmacy, Univ. of London, 29/39 Brunswick Square, London WC1N 1AX, United Kingdom;  
\*\*Innovation Center of the Faculty of Chemistry, Univ. of Belgrade, Studentski Trg 16, Belgrade, Serbia.

### Introduction

$\beta$ -Diketo acids and derivatives are the first, and so far the most successful group of compounds that selectively inhibit the integration of HIV-1 viral DNA in the host genome.<sup>1-4</sup> These compounds simultaneously exist in two enolate forms (I and III), conformationally locked by the pseudo-ring; and one diketo form (II) having two rotatable bonds responsible for the conformational flexibility (**Scheme 1**).<sup>5-7</sup>

Aryldiketo acids (ADK) act by functional sequestration of  $Mg^{2+}$  ion, an integral part of the active center of HIV-1 integrase (IN). This enzyme is responsible for integration of viral DNA in host genome. It was shown that ADK complexation ability depends on tautomeric form that is dominant in solution,<sup>8</sup> and that  $Mg^{2+}$  preferentially reacts with enolate form I (**Scheme 1**).<sup>9</sup> Furthermore, hydrolytic C–C bond cleavage of  $\beta$ -diketones by  $\beta$ -ketolases (mammals liver enzyme) is sensitive to tautomeric form in which a  $\beta$ -diketone is present in solution.<sup>5,9,10</sup>



Scheme 1. Tautomerization of 4-phenyl-2,4-dioxobutanoic acid (H-ADK) in aqueous solution.

Detailed study of keto-enol tautomerism in the set of eleven 4-alkyl- or 4-aryl-2,4-diketo acids revealed that in aprotic solvent ( $CDCl_3$ ) enolate I is the predominant form (98%).<sup>5</sup> In aqueous media, tautomerization of aliphatic 2,4-diketo acids was discussed in the pH range 1.5–10. As aromatic 2,4-diketo acids (ADK) are much less soluble, their tautomerization was studied in solutions with  $pH \geq 5.5$ , but three tautomeric forms (I–III) could not be distinguished due to the formation of pseudodienolate (IV) and fast interconversion between two enolate forms. No data on keto-enol tautomerism of ADK in aqueous solution with  $pH \leq 5.5$  was published so far. Congeneric set of 3-, 4-, 3,4- and 2,5-phenyl substituted ADK was previously synthesized and studied within our research group.<sup>11</sup> During routine characterization, mass spectra of 3-alkyl substituted compounds showed significantly more intensive  $2(M-1)+Na$  than  $2M-1$  peaks, opposite to other derivatives. UV-Vis and  $^1H$  NMR spectroscopy revealed that of all studied ADK, just unsubstituted derivative (H-ADK, **Scheme 1**), 3,4-di-Me-, 2,5-di-Me-, and  $\beta$ -naphthyl-ADK showed significant spectral changes upon the addition of  $Mg^{2+}$ , indicating their better complexation ability with  $Mg^{2+}$  ion.

The primary aim of this work was to study tautomeric equilibria of H-, 2,5-di-Me-, 3,4-di-Me-, and 4-Me-ADK (**Table 2**) in the aqueous solution within pH range 1–10.  $\beta$ -Naphthyl-ADK was omitted due to its insufficient solubility, and 4-Me- derivative was used as congener that showed no complexation ability with  $Mg^{2+}$  ion.<sup>11</sup>

### Results and Discussion

ADK are diprotic acids weakly soluble in water, especially in acidic media where they are present in molecular ( $H_2A$ ) form. Usable NMR spectra were obtained only for H-ADK after overnight signal acquisition (**Fig. 1**). Full structure-spectra assignments were achieved using COSY, HMQC, and HMBC spectra of H-ADK in  $CF_3COOD$  (**Table 1**), where H-ADK is present in its molecular ( $H_2A$ ) form.

When dissolved in highly acidic media ( $CF_3COOD$ ), H-ADK is in molecular ( $H_2A$ ) form and the enolate I is predominant (**Fig. 1**). The singlet at 7.23 ppm in  $^1H$  NMR spectrum is the signal of the vinyl group atom  $H_3$  (**Table 1**). As the exchange rate between  $H_3$  and D atom in  $CF_3COOD$  is fast, the integral of this signal is smaller than expected. Furthermore, the lack of a singlet around 4.5 ppm in  $^1H$  NMR spectrum (not shown), as well as



a signal around 50 ppm in <sup>13</sup>C NMR spectrum which would correspond to >CH<sub>2</sub> group in diketo form **II**, confirm that diketo form does not exist. Signals at 7.33 ppm (s, 1H), 7.80 ppm (t, 1H), and 8.12 ppm (d, 2H), although very weak, confirm the existence of enolate **III**, but its concentration is negligible.

Table 1. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of H-ADK in CF<sub>3</sub>COOD (atom numeration as given in Table 2).

Atom	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	H <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	H <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	H <sub>8</sub>
δ (ppm)	163.41	161.59	95.06	7.23 <sup>a)</sup>	189.46	129.85	124.05	7.96 <sup>b)</sup>	125.05	7.50 <sup>c)</sup>	131.13	7.64 <sup>d)</sup>

<sup>a)</sup>(s, 1H); <sup>b)</sup>(d, J = 7.37 Hz, 2H); <sup>c)</sup>(t, J = 7.90 Hz, 2H); <sup>d)</sup>(t, J = 7.47 Hz, 1H)

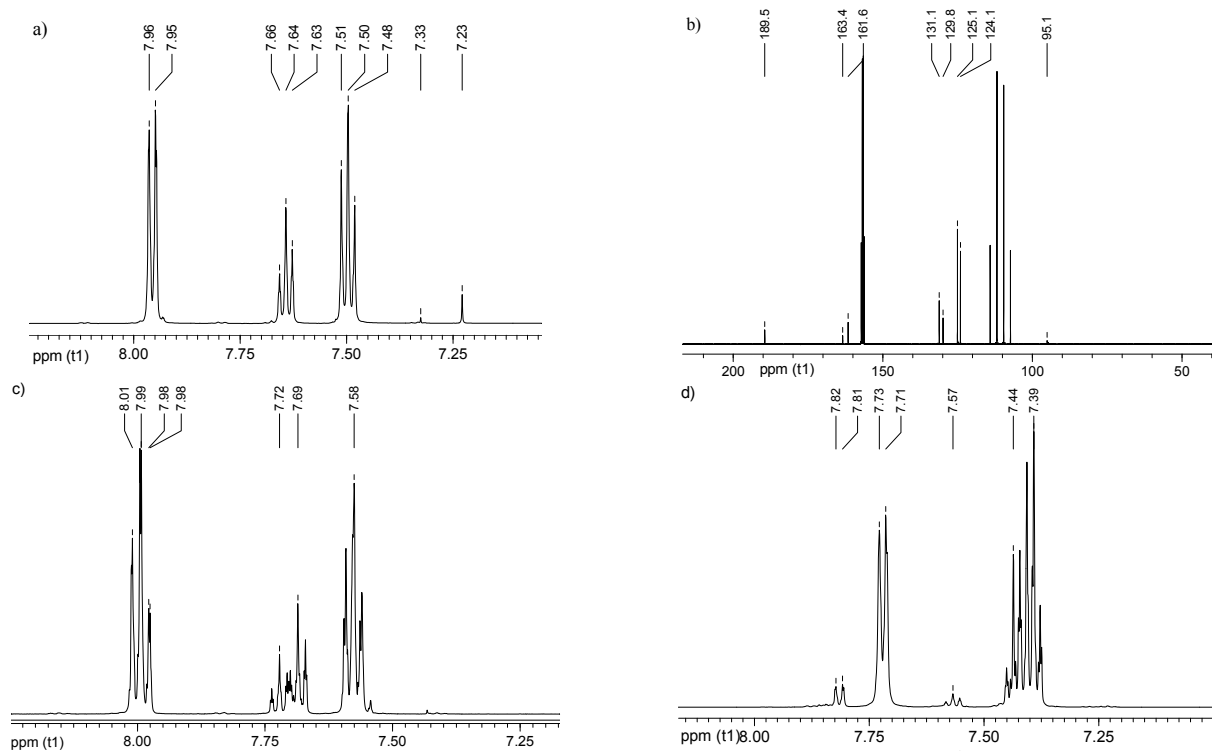


Figure 1. Characteristic parts of NMR spectra of H-ADK: a) <sup>1</sup>H NMR in CF<sub>3</sub>COOD, b) <sup>13</sup>C NMR in CF<sub>3</sub>COOD, c) <sup>1</sup>H NMR in D-acetate buffer pD 4.81, d) <sup>1</sup>H NMR in H-carbonate buffer pH 9.60.

When dissolved in highly acidic media (CF<sub>3</sub>COOD), H-ADK is in molecular (H<sub>2</sub>A) form and the enolate **I** is predominant (**Fig. 1**). The singlet at 7.23 ppm in <sup>1</sup>H NMR spectrum is the signal of the vinyl group atom H<sub>3</sub> (**Table 1**). As the exchange rate between H<sub>3</sub> and D atom in CF<sub>3</sub>COOD is fast, the integral of this signal is smaller than expected. Furthermore, the lack of a singlet around 4.5 ppm in <sup>1</sup>H NMR spectrum (not shown), as well as a signal around 50 ppm in <sup>13</sup>C NMR spectrum which would correspond to >CH<sub>2</sub> group in diketo form **II**, confirm that diketo form does not exist. Signals at 7.33 ppm (s, 1H), 7.80 ppm (t, 1H), and 8.12 ppm (d, 2H), although very weak, confirm the existence of enolate **III**, but its concentration is negligible.

Due to long signal acquisition time, for all other solutions with different pH values, just <sup>1</sup>H NMR spectra were recorded. According to previously determined acidity constants (**Table 2**),<sup>14</sup> pD 4.8 (HA<sup>-</sup> form) and pH 9.6 (A<sup>2-</sup>) were chosen as solutions where just one form of ADK exists.

No signals of enolate **III**, and diketo form **II** were observed in <sup>1</sup>H NMR spectra in acetate (HA<sup>-</sup> form) and carbonate (A<sup>2-</sup>) buffers (**Fig. 1c** and **1d**). The reason for rather complicated structure of <sup>1</sup>H NMR spectrum of HA<sup>-</sup> (**Fig. 1c**) is possible rotation around C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> single bond and the presence of Z and E isomers of the -CH=CH(OH)- bond. In A<sup>2-</sup> form E isomer is predominant, due to electrostatic repulsion between -COO<sup>-</sup> and -CH=C-O<sup>-</sup>. Since π-electron delocalization occurs in keto-enol part of the molecule, the

Table 2. Spectrophotometrically determined pK<sub>a</sub> values.<sup>14</sup>

Compound (ADK)	pK <sub>a1</sub> ± SD	pK <sub>a2</sub> ± SD
	2.06 ± 0.03	7.56 ± 0.02
	2.22 ± 0.05	7.99 ± 0.02
	2.09 ± 0.04	7.92 ± 0.04
	2.39 ± 0.04	7.23 ± 0.04

distinction between tautomers is not possible. Thus, the origin of signals at 7.82 ppm (*d*) and 7.57 ppm (*t*) is still unsolved (**Fig. 1d**).

As no data about 4-Me-, 3,4-di-Me-, and 2,5-di-Me- ADK were obtained by NMR, cyclic voltammetry was used as a method with much lower detection limit than NMR spectroscopy. Behavior of all four studied ADK was monitored in solution where these ADK are present in H<sub>2</sub>A (pH 1), HA<sup>-</sup> (pH 5), or A<sup>2-</sup> (pH 10) form (**Fig. 2**).

Under the electrochemical conditions used, H-, 3,4-di-Me-, and 4-Me- ADK in H<sub>2</sub>A form (**Fig. 2a**) show sharp anodic peak, and no reversible cathodic peak. As pH value is raised, the -COOH group dissociate and, as expected, the peak is lowered and moved to lower oxidation potential (**Fig. 2b**). With the dissociation of -OH group (A<sup>2-</sup> form) and  $\pi$ -electron delocalization, peaks are completely lost (**Fig. 2c**).

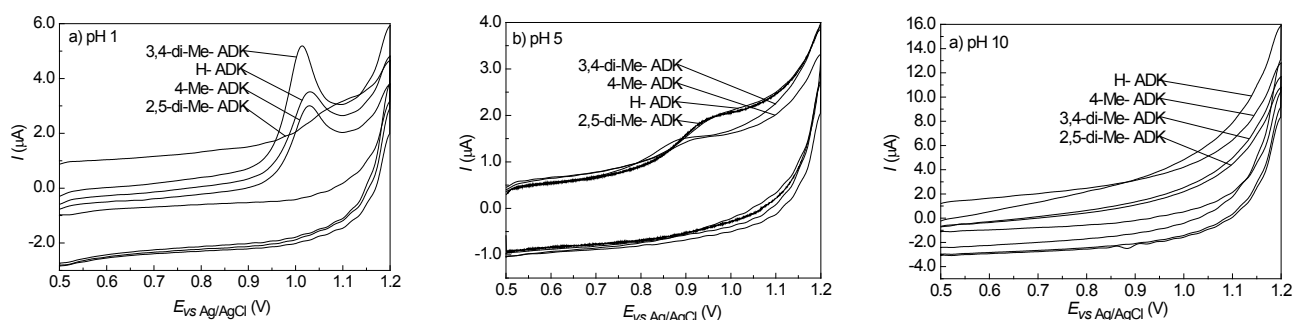


Figure 2. Cyclic voltammograms of studied ADK in aqueous solutions of different pH values.

The cyclic voltammogram (CV) of 2,5-di-Me- in H<sub>2</sub>A form (**Fig. 2a**) is different than corresponding CVs of other ADK: characteristic peak is moved toward higher potentials and is not as sharp as peaks of other compounds. Still, the areas under all four observed peaks are the same, which implies that the electron exchange reaction is the same for all four ADK. Derivatization of CV at pH 1 shows that this wide peak consists of two overlapped peaks. This was confirmed in solutions with pH 2 and pH 3 (data not shown), where the mixture of H<sub>2</sub>A and HA<sup>-</sup> forms exists. If two different tautomers were present in solution, peaks in CV would be wide and overlapped. So, we may offer a possible explanation: in H<sub>2</sub>A form, 2,5-di-Me- exists simultaneously in two tautomeric forms, probably as enolates **I** and **III** (**Scheme 1**). As the shape of all other peaks is the same, and as we have confirmed that the dominant form of H-ADK in solutions within pH range 1-10 is enolate **I**, we may conclude that, when in H<sub>2</sub>A form, 3,4-di-Me- and 4-Me-ADK are also present as enolate **I**.

The conformation and electronic properties of studied ADK in their H<sub>2</sub>A form, calculated using semiempirical molecular-orbital method, suggests possible reasons for different behaviour of 2,5-di-Me-ADK.

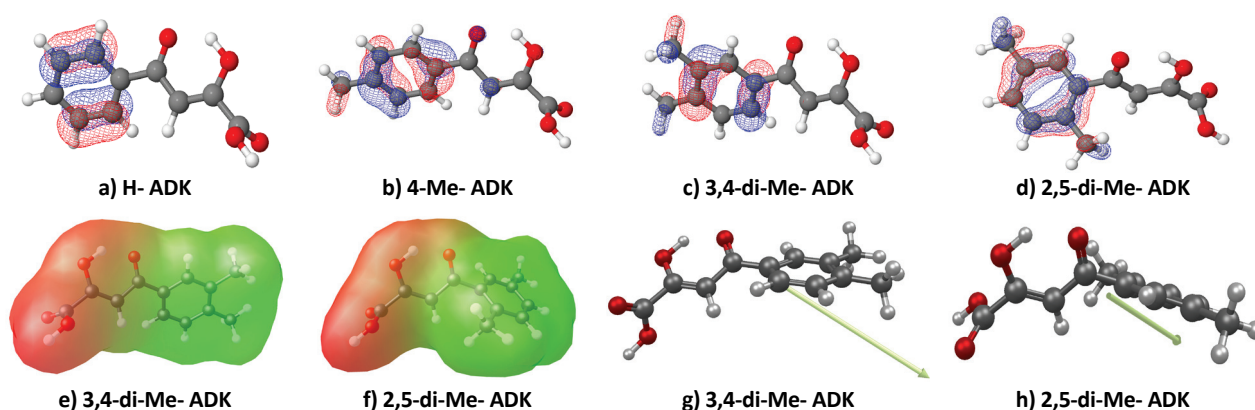


Figure 3. (a-d) HOMO of studied ADK; (e and f) polar and apolar surface area for 3,4-di-Me- and 2,5-di-Me- derivatives; (g and h) dipole moments for 3,4-di-Me- and 2,5-di-Me- derivatives.

Presence of *ortho*-alkyl substituent in 2,5-di-Me-ADK causes large torsion between aryl- and dioxy-carboxyl moiety. HOMO-s are located on phenyls in all studied congeners (**Fig. 3a - d**). Approach to electrode of the dioxy-carboxyl moiety, one most prone to electrochemical oxidation in 2,5-di-Me- derivative, is hindered in comparison to other compounds studied (shown by spatial arrangement of polar and apolar surface areas for 3,4-di-Me- and 2,5-di-Me- derivatives, **Fig. 3e** and **3f**). Calculated heats of formation of all compounds in their molecular and radical cation forms show that 2,5-di-Me- derivative is the most stable one. Along with this, due

to its geometry, 2,5-di-Me- derivative has a lowest dipole in the set (**Fig. 3g** and **3h**), and consequently, can experience the attractive force in lesser extent than other derivatives when approaches the electrode.

### Conclusion

Aryldiketo acids (ADK) complexation ability with  $Mg^{2+}$  ion (present in HIV-1 IN) and the hydrolytic C–C bond cleavage by  $\beta$ -ketolases depend on predominant tautomeric form in which they are present at the reaction site. Thus, the keto-enol tautomerism of H-, 4-Me-, 2,5-di-Me-, and 3,4-di-Me- ADK in the aqueous solution within pH range 1–10 was studied by NMR spectroscopy and cyclic voltammetry. The NMR results for H- ADK showed that the predominant tautomeric form in the studied pH range is the enolate **I** (**Scheme 1**). The cyclic voltammetry data in acidic media (pH 1) suggest that the ratio of possible tautomeric forms for 4-Me- and 3,4-di-Me- ADK is similar to H- ADK, *i.e.* that enolate **I** is the dominant form in the solution, whilst two tautomeric forms of 2,5-di-Me- ADK (enolates **I** and **III**) may be present in solution. The higher oxidation potential observed for  $H_2A$  form of 2,5-di-Me- ADK at pH 1 may be due to non-planarity of molecule and steric hindrance imposed by *ortho* substituents.

### Experimental

$^1H$ ,  $^{13}C$ , COSY, HMQC, and HMBC NMR spectra were acquired using Bruker Avance 500/125 MHz NMR spectrometer at  $t = 25 \pm 1$  °C, and constant ionic strength  $I = 0.1$  M ( $NaNO_3$  was used to adjust the ionic strength). TSP was used as the internal standard for spectra calibration; chemical shifts ( $\delta$ ) are given in *ppm*. pH Values were measured using Corning 120 pH-meter equipped with Corning Ag/AgCl microelectrode and converted to pD according to relation:  $pD = pH_{measured} + 0.4$ .<sup>12,13</sup>

Cyclic voltammograms were recorded using CHI760B instrument (CH Instruments, USA). The cell was equipped with glassy carbon electrode and an accessory Pt electrode of larger surface (Model CHI221, cell top including Pt wire counter electrode) and Ag/AgCl reference electrode (Model CHI111). Scan speed 100 mV/s.

Initial 3D structures of compounds were generated by OMEGA,<sup>15</sup> and optimized on semiempirical molecular-orbital level using PM6 method,<sup>16</sup> implemented in MOPAC2009,<sup>17</sup> to root mean square gradient below 0.001 kcal/mol Å. Implicit solvation in water was used. Molecular orbitals were visualized by Jmol.<sup>18</sup>

*Acknowledgment:* The authors highly appreciate the help and comments provided by MSc Branko J. Drakulić, IChTM. The Ministry of Education and Science of Serbia supports this work. Grants 172035 and 172030.

## Proučavanje keto-enolne tautomerije arildiketo kiselina u vodenoj sredini upotrebom NMR spektroskopije i ciklične voltametrijе

*$\beta$ -Diketo kiseline i njihovi derivati su prva, i do sada najuspešnija, grupa jedinjenja koja selektivno inhibira proces integracije HIV-1 provirusne DNK u DNK ćelije domaćina. Poznato je da  $\beta$ -diketoni u rastvoru podležu reakciji tautomerizacije i da afinitet ka kompleksiranju sa  $Mg^{2+}$  jonom (nalazi se u aktivnom centru HIV-1 integraze), kao i reakcija hidrolitičkog raskidanja C–C veze u diketo delu molekula  $\beta$ -ketolazama (enzim jetre sisara) zavise od oblika u kom se ova jedinjenja nalaze na mestu dejstva. U ovom radu je, NMR spektroskopijom i cikličnom voltametrijom, proučavana keto-enolna tautomerija četiri jedinjenja iz grupe aril diketo kiselina (H-, 4-Me-, 2,5-di-Me- i 3,4-di-Me- ADK) u vodenom rastvoru u pH oblasti 1–10. Rezultati dobijeni NMR spektroskopijom pokazuju da se, u ispitivanoj pH oblasti, nesupstituisana ADK (H-) nalazi u obliku enola **I**, enolni oblik **III** je prisutan u tragovima, dok signali koji bi poticali od diketo oblika nisu vidljivi u spektrima. Prema cikličnim voltamogramima izveden je zaključak da se, kada su u molekulskom ( $H_2A$ ) obliku, 4-Me i 3,4-di-Me- ADK u rastvoru nalaze takođe u obliku enola **I**, dok je u rastvoru 2,5-di-Me ADK prisutna smeša tautomera i to najverovatnije enola **I** i **III**. Izračunavanja dobijena semiempirijskim molekulsko-orbitalnim PM6 metodom nude moguće objašnjenje: veći torzioni ugao između aril grupe i ostatka molekula kod 2,5-di-Me ADK može biti razlog višeg potencijala na kome se ova ADK oksiduje, u poređenju sa ostalima.*

### References

1. D. J. Hazuda, P. Felock, M. Witmer, A. Wolfe, K. Stillmock, J. A. Grobler, A. Espeseth, L. Gabryelski, W. Schleif, C. Blau, M. D. Miller, *Science* **287** (2000) 646.
2. J. S. Wai, M. S. Egbertson, L. S. Payne, T. E. Fisher, M. W. Embrey, L. O. Tran, J. Y. Melamed, H. M. Langford, J. P. Guare Jr., L. Zhuang, V. E. Grey, J. P. Vacca, M. K. Holloway, A. M. Naylor-Olsen, D. J. Hazuda, P. J. Felock, A. L. Wolfe, K. A. Stillmock, W. A. Schleif, L. J. Gabryelski, S. D. Young, *J. Med. Chem.* **43** (2000) 4923.

3. H. G. Selnick, D. J. Hazuda, M. Egbertson, J. P. Guare, J. S. Wai, S. D. Young, D. L. Clark, J. C. Medina, *Patent* W09962513 A (1999) Merck & Co.Inc.
4. F. Toshio, Z. Tomokazu, *Patent* W099-JP1547 (1999) Shionogi & Co. Ltd.
5. L. Brecker, M. Pogorevc, H. Griengl, W. Steiner, T. Kappe, D. W. Ribbons, *New J. Chem.* **23** (1999) 437.
6. M. Sechi, A. Bacchi, M. Carcelli, C. Compari, E. Duce, E. Fiscaro, D. Rogolino, P. Gates, M. Derudas, L. Q. Al-Mawsawi, N. Neamati, *J. Med. Chem.* **49** (2006) 4248.
7. M. Huang, W. G. Richards, G. H. Grant, *J. Phys. Chem. A* **109** (2005) 5198.
8. M. Billamboz, F. Bailly, M. L. Barreca, L. De Luca, J. F. Mouscadet, C. Calmels, M. L. Andréola, M. Witvrouw, F. Christ, Z. Debyser, P. Cotelle, *J. Med. Chem.* **51** (2008) 7717.
9. V. O. Koz'minykh, E. N. Koz'minykh, *Pharm. Chem. J.* **38** (2004) 67.
10. M. Sechi, M. Derudas, R. Dallochio, A. Dessi, A. Bacchi, L. Sannia, F. Carta, M. Palomba, O. Ragab, C. Chan, R. Shoemaker, S. Sei, R. Dayam, N. Neamati, *J. Med. Chem.* **47** (2004) 5298.
11. T. Ž. Verbić, B. J. Drakulić, M. Zloh, I. O. Juranić, *Lett. Org. Chem.* **5** (2008) 692.
12. P. K. Glasoe, F. A. Long, *J. Phys. Chem.* **64** (1960) 188.
13. K. Popov, H. Rönkkömäki, L. H. J. Lajunen, *Pure Appl. Chem.* **78** (2006) 663.
14. T. Ž. Verbić, B. J. Drakulić, M. F. Zloh, J. R. Pecelj, G. V. Popović, I. O. Juranić, *J. Serb Chem. Soc.* **72** (2007) 1201.
15. J. Boström, J. R. Greenwood, J. Gottfries, *J. Mol. Graphics Modell.* **21** (2003) 449. [www.eyesopen.com](http://www.eyesopen.com)
16. J. J. P. Stewart, *J. Mol. Mod.* **13** (2007) 1173.
17. J. J. P. Stewart, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **4** (1990) 1; J. J. P Stewart, *MOPAC2009*, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, 2009, <http://OpenMOPAC.net>
18. Jmol v11.2.10, an open-source Java viewer for chemical structures in 3D. <http://www.jmol.org/>

## Isotopic fingerprinting of metals by MALDI TOF MS

Tina T. Kamčeva, Maja Radisavljević, Iva Vukićević, Bojana Damnjanović, Milovan Stoiljković, Marijana Petković

*Institute of Nuclear Sciences „Vinča“, University of Belgrade, Mike Petrovića Alasa 12-14, Belgrade, Serbia*

### Introduction

Mass spectrometry is widely used technique for qualitative and quantitative determination of isotopic composition of elements within a sample. For this purpose, very sensitive mass spectrometers are required. In this work the application of matrix assisted laser desorption and ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI TOF MS) for isotopic fingerprinting of heavy and transition metals is described. MALDI TOF MS is a soft ionisation technique<sup>1</sup>, in which a co-precipitate of an UV or IC light absorbing matrix and a sample molecule is irradiated by a nanosecond laser pulse. The main characteristic of this method is that matrices, inert molecules which absorb light on the wavelength of the laser, take most of the radiation energy and prevent unwanted fragmentation of the sample molecule. This method is therefore widely employed as a method for detection and characterization of biomolecules, such as proteins, peptides, oligosaccharides and oligonucleotides, with molecular masses between 400 and 350000 Da. This method is very sensitive, allowing the detection of low quantities of sample ( $10^{-15} - 10^{-18}$  mol) with an accuracy of 0,1-0,01%. Main advantages of MALDI TOF MS are short measuring time (few seconds for a single spectrum) and negligible sample consumption (less than 1 pmol) with additional information on microheterogeneity and presence of by-products. We show here that this technique is very useful for isotopic analysis of different metals due its possibility to detect free metal ions with characteristic isotopic distributions and chemically bound metals in different molecules or biological samples<sup>2,3</sup>. The isotopic abundance patterns or „isotopic fingerprint“ of transition metals are useful in identifying species seen in mass spectra of compounds containing these metals. Isotope fingerprinting is important marker used for qualitative and quantitative analysis, determination of age of materials, for isotope labelled protein quantifications and investigations of interaction of different metals or metalodrugs with biomolecules.

### Results and discussion

In this work we represent applications of MALDI TOF MS for isotopic fingerprinting of lead, ruthenium and platinum. Lead has four isotopes, three of them are radiogenic <sup>206</sup>Pb, <sup>207</sup>Pb i <sup>208</sup>Pb, all products of radiogenic decay of uranium or thorium, while <sup>204</sup>Pb is considered stable. Isotopic distribution of lead varies in dependence of origin of the sample. The relative abundance of these isotopes is constant if the samples which originate from the period of birth of galaxy. The second source of lead is radiogenic lead, which is the product of its unstable parents, transuranic elements. Stable isotope <sup>204</sup>Pb is rarely used for quantitative analysis, because low natural isotopic abundance and due to isobaric overlapping with isotope <sup>204</sup>Hg, what complicates the analysis by mass spectrometry. The most used lead isotope for quantitative analysis is <sup>208</sup>Pb, the most abundant one. In experiments which have the aim to determine isotope relative abundances in the lead samples, certain corrective formula is often used:

$$^{208}\text{Pb}_c = ^{208}\text{Pb}_u + ^{207}\text{Pb}_u + ^{206}\text{Pb}_u$$

where **c** is for corrected, and **u** for uncorrected intensity. The main problem when ICP-MS is applied, as the most used method for isotopic fingerprinting, analysis is questionable because of the presence of matrix which can decrease or increase the intensity of lead and affects the reproducibility of results. Therefore internal standard must be used. We represent here that MALDI TOF MS is suitable method for isotopic fingerprinting of lead because of a few advantages. First, it has been shown that all four isotopes of lead, even the least abundant are detectable by MALDI TOF MS using CHCA ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) as the matrix. Moreover, the mass peaks obtained in the experiment show pattern and intensity ratios matching with theoretical mass spectra of lead, derived using the software for calculating isotopic distribution of different elements- Selket. According to literature<sup>4</sup> relative natural isotope abundances of lead are 52.40 % for <sup>208</sup>Pb, 22.10 % for <sup>207</sup>Pb, 24.10 % for <sup>206</sup>Pb and 1.40 % for <sup>204</sup>Pb. In our experiments, using MALDI TOF MS we measured 45.37 % for <sup>208</sup>Pb, 24.58 % for <sup>207</sup>Pb, 28.06 % for <sup>206</sup>Pb and 2.05 for <sup>204</sup>Pb. Experimental results show evident deviation from theoretical values, but the reason is well known and this is explained by the presence

of matrix CHCA and the fact that obtained values are calculated compared to matrix peak which is taken for 100% intensity. Nevertheless, for analytic purposes the  $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  vs  $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$  ratio is used and if we calculate this value, it is in a good agreement with theoretical values. Theoretical ratio  $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$  vs  $^{207}\text{Pb}/^{208}\text{Pb}$  is 0.1377, while in our experiments, conducted by MALDI TOF MS we obtained the result of 0.1349. This possibility to easily detect all four peaks and gain their relative isotopic ratios for analysis show that matrix CHCA doesn't affect the result, as it has been mentioned for ICP-MS at the beginning.

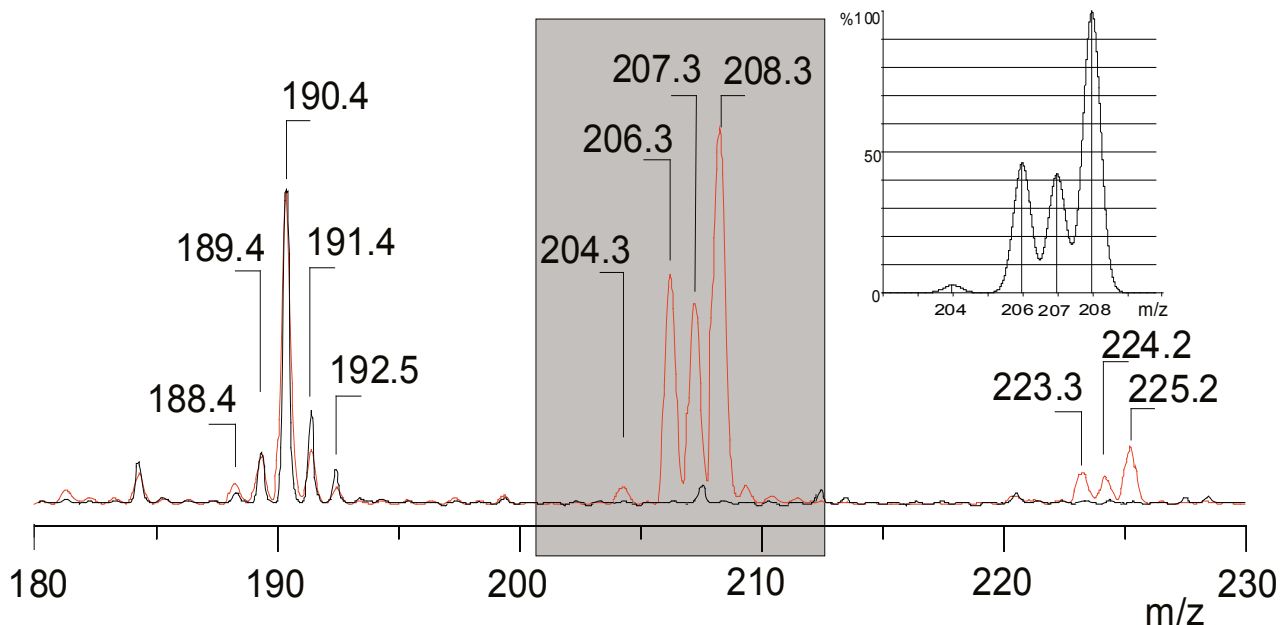


Figure 1. MALDI TOF MS spectra of isotopic fingerprint of lead with CHCA matrix used. Black line represents the spectrum of CHCA matrix and red line corresponds to lead sample with matrix

It is important to use matrices which don't react with Pb and don't yield mass peaks in the area of isotopic fingerprint of Pb. MALDI TOF MS has one special advantage in compare to other techniques because it can be used for detection of different molecules and metal complexes preserving ligand metal bonds as a soft technique. Therefore it is being used in analysis of platinum and ruthenium complexes, as potential antitumor drugs. In this case isotopic distribution of mass peaks is also present (Figure 2) and can be easily determined from MALDI-TOF mass spectra.

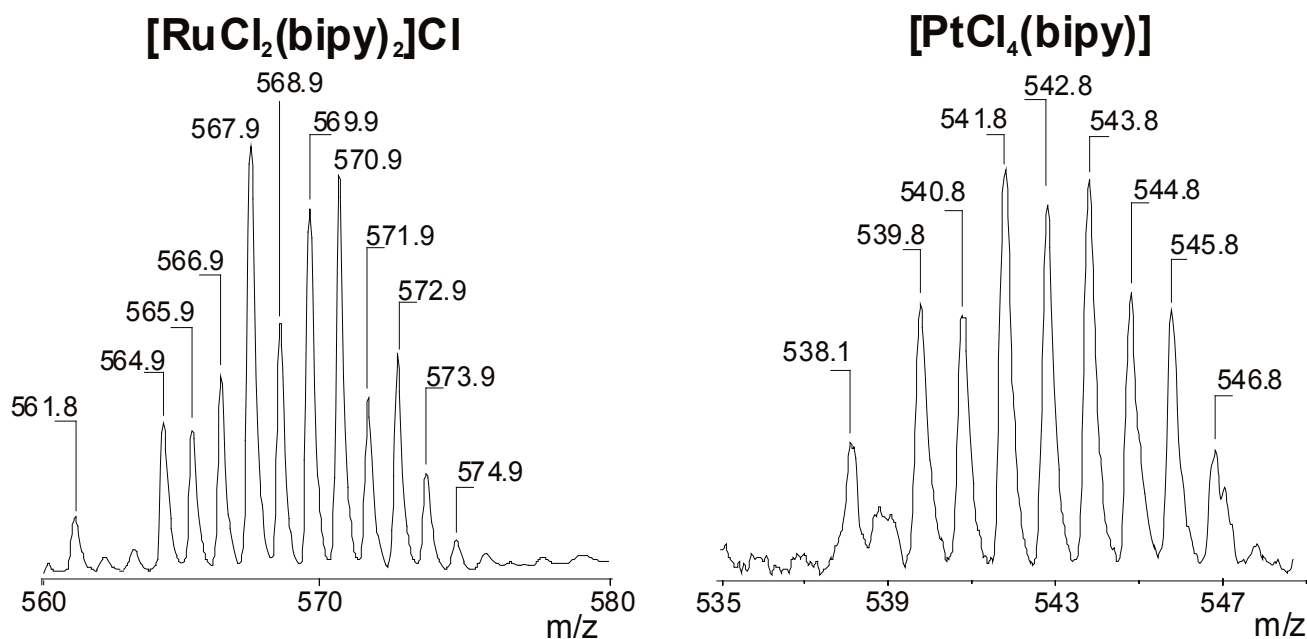


Figure 2. Parts of MALDI TOF mass spectra of  $[\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2]\text{Cl}$  and  $[\text{PtCl}_4(\text{bipy})]$  with isotopic distribution

We reported earlier<sup>3</sup> that in the case of metal complexes containing characteristic ligands such as bipyridine ligands ([PtCl<sub>4</sub>(bipy)] and [RuCl<sub>2</sub>(bipy)<sub>2</sub>]Cl) there is no need for matrices, what simplifies the analysis and gives better quantitative results. Bipyridine ligands absorb the wavelength of nitrogen laser used for excitation of the sample (337 nm) and this fact allows detection of lead isotopic fingerprinting in similar complexes without matrices. Calculated ratios of chosen isotope peaks of ruthenium and platinum complex from MALDI TOF mass spectra are in good correlation with theoretical values. Ratio of ruthenium complex peaks at  $m/z = 572.9$  and  $m/z = 570.9$  is 0.5662, while the theoretical ratio is 0.5873 (Selket software). Calculated ratio of peaks at  $m/z = 542.8$  and  $m/z = 541.8$  in mass spectra of [PtCl<sub>4</sub>(bipy)] is 0.8016 in compare to theoretical value of 0.7915.

We have also determined the detection limit of isotopic fingerprint of lead, paying attention that all four isotopes must be detectable. The minimal concentration of lead that can be measured by MALDI TOF MS using CHCA as matrix is 0,15 mg/ml. Lower concentrations can be detected, but because of low reproducibility and matrix and lead peak overlapping on  $m/z = 207$  smaller concentrations cannot be used for accurate quantitative analysis. In the MALDI TOF mass spectra of lead additional mass peaks are detectable at higher  $m/z$  ratios, showing similar isotopic distribution at  $m/z$  values 223.3; 224.2; 225.2. It is obvious that one peak at  $m/z$  about 222 is missing because of its low abundance, but it is clear that  $m/z$  difference of these peaks in compare to original pure lead mass peaks correspond to one OH group. There are examples in the literature, of analysis and usage of isotopic „fingerprint“ of lead for determination of origin and transport traces of lead materials. The ratio of four lead isotopes is useful in tracking the source of melts in igneous rocks, the source of sediments<sup>5</sup> and even origin of people via isotopic fingerprinting of their teeth, skin and bones<sup>6,7</sup>. Lead/lead isotopes has been used in forensic science to fingerprint bullets, via peculiar <sup>204</sup>Pb/<sup>206</sup>Pb vs <sup>207</sup>Pb/<sup>208</sup>Pb ratio unique for each batch of ammunition. This can be very useful method for history, geochemistry and archaeology research<sup>8</sup>, but also for monitoring of air pollution from exhausted gasses or to define the source of lead absorbed in plants, sediments, aquatic organisms<sup>9,10</sup>. The main advantage in investigation of pollution by lead is the possibility of easy identification of lead thanks to its isotopic pattern.

## Conclusion

In this work we showed that MALDI TOF MS can be applied for analysing metals and small molecules providing isotope fingerprint analysis. This method has few advantages in compare to other, when used for geochemistry, archaeology, ecology and forensic analysis. The main advantage is that this method is sensitive enough to detect all four lead isotopes and enables detection of free metals and metals incorporated in the biological molecules preserving the sample. Lead/lead ratios of corresponding isotopes match the natural isotope abundance ratios. The same was shown also for some Pt and Ru complexes, implying possibility to use MALDI-TOF MS for isotope fingerprinting of other metals. Determination of isotope ratio is possible without the application of the internal standard by MALDI-TOF MS.

## Izotopski „otisak prsta“ metala upotrebom MALDI TOF MS

*U ovom radu predočene su mogućnosti primene MALDI TOF masene spektrometrije u analizi metala i molekula koji sadrže metale. Akcenat je stavljen na mogućnost identifikacije i kvantitativnog određivanja izotopskog sastava elemenata u uzorku na osnovu MALDI-TOF masenih spektara. Pokazano je da je ova meka jonizaciona tehnika dovoljno osetljiva za detekciju sva četiri izotopa olova i određivanje njihove relativne zastupljenosti, što omogućava njenu široku primenu, na primer, u arheologiji za utvrđivanje starosti i porekla predmeta od olova, u forenzici i balistici kao i u ekologiji za određivanje izvora zagađenja olovom u biljkama, sedimentima i vodenim organizmima. Granica detekcije za izotopski „otisak prsta“ olova u celini omogućava ograničenu primenu u analizi hrane. Posebna pogodnost MALDI TOF masene spektrometrije je što omogućava analizu bioloških materijala bez dodatne fragmentacije, pa se njom mogu analizirati ne samo pojedinačni metalni joni, već i elementi koji ulaze u sastav biomolekula ili metalnih kompleksa. Pored olova, izotopski sastav rutenijuma i platine se takođe može odrediti MALDI-TOF masenom spektrometrijom, a može se pretpostaviti da je moguća i analiza drugih metala.*

**Literature**

1. L. H. Cohen, A. I. Gusev, *Anal. Bioanal. Chem.* **373** (2002) 571.
2. L.J. Soltzberg, K. Do, S. Lokhande, S. Ochoa, M. Tran, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **19** (2005) 2473.
3. B. Damnjanović, T. Kamčeva, B. Petrović, Ž. D. Bugarčić, M. Petković, *Anal. Methods* **3** (2011) 400.
4. J. R. Laeter, J. K. Böhlke, P. Bièvre, H. Hidaka, H. S. Peiser, K. J. R. Rosman, P. D. P. Taylor, *Pure Appl. Chem.* **75** (2003) 683.
5. J. N. Aleinikoff, C. D. Bacon, H. L. Foster, W. J. Nokleberg, *Can. J. Earth Sci* **24** (1987) 2089.
6. B. L. Gulson, D. Howarthl, K. J. Mizon, A. J. Law, M. J. Korsch, J. J. Davis, *Environ Geochem Health*, **16** (1994) 19.
7. J. C. Vogel, B. Eglington, J. M. Auret, *Nature* **346** (1990) 747.
8. G. R. Carr, J. A. Dean, D. W. Suppel, P. S. Heithersay, *Economic Geology*, **90** (1995) 1467.
9. M. E. Finkelstein, R. H. Gwiazda, D. R. Smith, *Environ. Sci. Technol.* **37** (2003) 3256.
10. J. R. Miller, P. J. Lechler, K. A. H. Edwards, M. G. Macklin, *Geochem.* **2** (2002) 225.



## Određivanje Ag<sup>+</sup> i Cl<sup>-</sup> jona u uzorcima ekoloških voda primenom jednostavnog poli(vinil hlorid-ko-vinil acetat)/srebro potenciometrijskog senzora

D. M. Sejmanović, B. B. Petković, M. V. Budimir, S. P. Sovilj\*, V. M. Jovanović\*\*

*Odsek za Hemiju, PMF, Univerzitet u Prištini, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija*

*\*Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, P.O. Box 51, 11158 Beograd, Srbija*

*\*\*Odsek za Elektrohemiju, Univerzitet u Beogradu, Njegoševa 12, P.O. Box 473, 11000 Beograd, Srbija*

### Uvod

Potenciometrijski senzori, odnosno jon-selektivne elektrode (ISEs) spadaju u jednu od najvažnijih grupa hemijskih senzora i predmet su kontinualnih istraživanja. Karakteriše ih jednostavna izrada, niska cena i dobra preciznost, osetljivost i selektivnost u analitičkoj praksi. Upravo ova svojstva su doprinela atraktivnosti potenciometrijskih senzora u poredjenju sa mnogo komplikovanim i skupljim sistemima. Prve komercijalne srebro-selektivne elektrode sadržavale su Ag<sub>2</sub>S polikristalnu membranu dok većina jon-selektivnih elektroda danas sadrži organske polimerne membrane. Najveći broj jon-selektivnih elektroda ovog tipa koristi PVC i odgovarajući plastifikator kao organsku matricu i jonoforu kao aktivni deo senzora<sup>1</sup>. Ispitivanjem uticaja različitih katjona na polimerne membrane primetili smo da je sama PVC matrica selektivna na jone Ag<sup>+</sup>, Hg<sup>2+</sup> i Fe<sup>3+</sup> posle kondicioniranja u rastvorima ovih jona. Zato smo ispitali mogućnost primene Ag-selektivne elektrode sa membranom sastavljenom samo od polimerne matrice sa plastifikatorom i lipofilnom soli, bez jonofore kao aktivne komponente. Cilj ovoga rada je bio ispitivanje mogućnosti primene ovako pripremljene Ag-selektivne elektrode za određivanje Ag<sup>+</sup> i Cl<sup>-</sup> jona direktnom potenciometrijom i potenciometrijskom titracijom u uzorcima različitih voda.

### Rezultati i diskusija

*Priprema elektrode:* Polimerna membrana sadrži 39-48% PVCAC, 52-61% DBP i 0,2-1% NaTPB. Ukupna masa od 0,270 g ovih reagenasa je pomešana sa 2,5 cm<sup>3</sup> THF-a. Štapić staklastog ugljenika (GC), (Φ 3 mm) (Sigardur-Sigri Electrographite, GmbH, Germany) je uranjan nekoliko puta u smešu supstanci koje čine membranu, sve do formiranja prevlake na GC-u. Na ovaj način pripremljena elektroda je stajala oko 12 h. Zatim je ovaj prevučeni deo staklastog ugljenika pre upotrebe kondicioniran oko 15 minuta u rastvoru AgNO<sub>3</sub> koncentracije 0,01 mol/dm<sup>3</sup>. Prevučeni GC je korišćen kao Ag(I)-ISE i u daljem tekstu će biti obeležavan kao PVCAC/Ag elektroda.

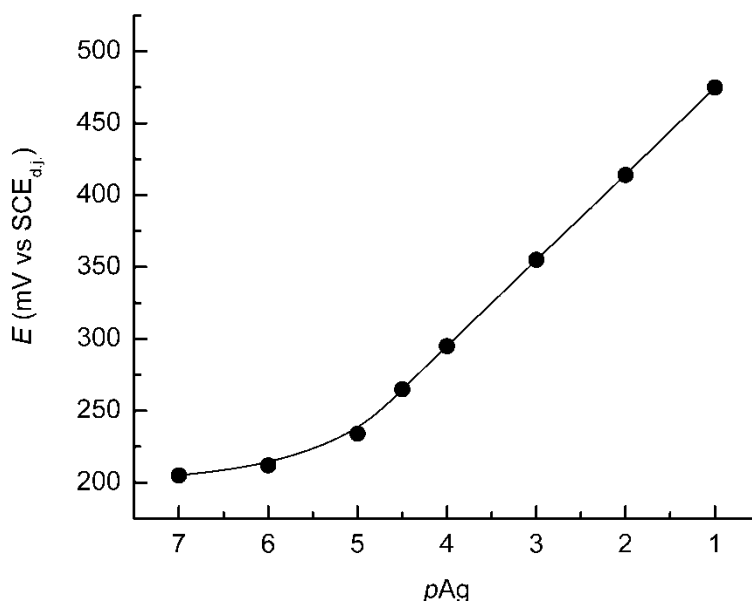
*Priprema uzoraka:* Za analitičku potvrdu PVCAC/Ag elektrode određivanjem srebrnih i hloridnih jona korišćeni su sledeći uzorci: česmenska voda, rečna voda, morska voda, prirodna flaširana voda "Rosa" i koloidna srebrna voda. Uzorci vode iz česme i reke za određivanje srebra su prikupljeni iz Štrpca, na Kosovu i Metohiji. Uzorak od 100 cm<sup>3</sup> koloidnog srebra prvo je tretiran sa 1,5 cm<sup>3</sup> 0,1 mol/dm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> radi prevođenja srebra u jonski oblik, a uzorci vode sa po 1 cm<sup>3</sup> 0,1 mol/dm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> jer je radni opseg elektrode u kiseloj sredini. Za određivanje hlorida, korišćena je voda sa većim sadržajem hlorida od 1 mg/dm<sup>3</sup>. Korišćeni su uzorci česmenske vode iz Kosovske Mitrovice i Niša, rečna voda iz Nišave i morska voda Jadranskog mora. Koloidna srebrna voda, proizvođača „Balooni Tornado“, Kelebija, je korišćena kao uzorak za određivanje srebra. Jonska sila u svim uzorcima je podešena pomoću NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Srebrni joni su određivani direktnom potenciometrijom, a hloridni joni su uspešno određeni potenciometrijskom titracijom.

*Optimizacija electrode:* U našim prethodnim eksperimentima<sup>2</sup> gde je polimer PVCAC korišćen za senzorsku matricu, primećeno je da je sam materijal veoma selektivan na Ag<sup>+</sup> jone, u odnosu na mnoge alkalne, zemnoalkalne, prelazne i teške metale, sa izuzetkom Hg<sup>2+</sup> i Fe<sup>3+</sup> jona. Senzorsko ponašanje PVC matrice bez jonofore navodi na najjednostavniju konstrukciju polimerne membrane i svakako zahteva veću pažnju. Sličnih pokušaja bilo je i ranije<sup>3</sup>, ali prijavljena elektroda nije bila zadovoljavajućih analitičkih performansi. U prethodnim radovima je dokazano da se GC kao i polipirol mogu modifikovati srebrom jednostavnim uranjanjem elektrode u rastvor srebro nitrata<sup>4,5</sup>

Kao što se može videti na Slici 1, optimizovana PVCAC/Ag elektroda sastava 44,3:55,2:0,5 (PVCAC:DBP:NaTPB) pokazuje linearnu zavisnost u intervalu koncentracija od 1,0×10<sup>-1</sup> do 1,0×10<sup>-5</sup> mol/dm<sup>3</sup> sa skoro Nernst-ovim nagibom od 60,25 mV po dekadi. Granica detekcije je 4,25×10<sup>-6</sup> mol/dm<sup>3</sup>. Ovako napravljena elektroda je

upotrebljiva duže od dva meseca. Navedene karakteristike čine ovu elektrodu uporedivom sa elektrodama opisanim u literaturi, a koje u svom sastavu sadrže jonoforu<sup>3,6,7</sup>.

Vreme odziva elektrode je 5–30 s, u zavisnosti od koncentracije srebrnog jona u ispitivanom rastvoru. Elektroda se kondicionira u rastvoru  $\text{AgNO}_3$  koncentracije  $0,01 \text{ mol/dm}^3$ , 30 minuta pre upotrebe.



Slika 1. Kalibraciona kriva PVCAc/Ag elektrode

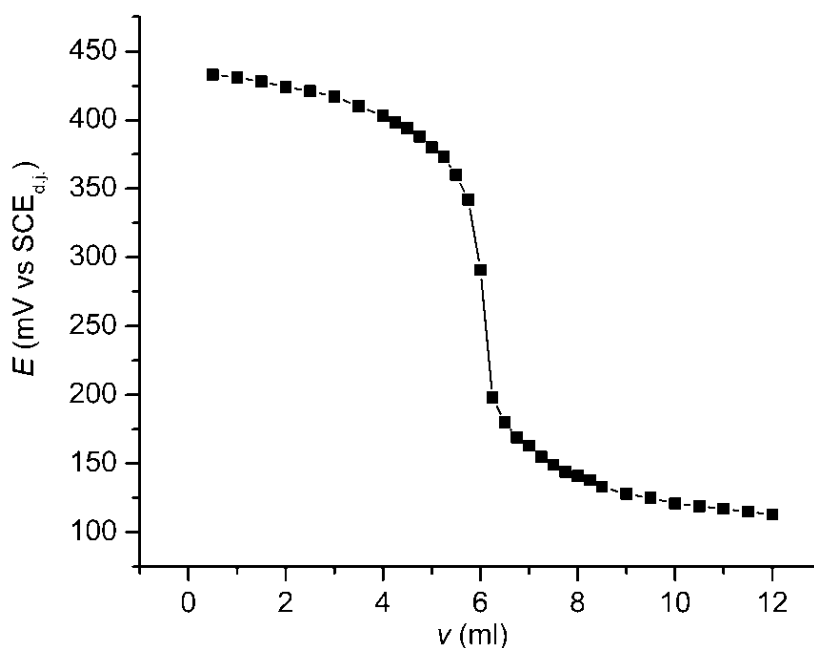
Potenciometrijski odgovor elektrode je stabilan u širokom intervalu od jako kisele do neutralne sredine (pH < 1 do 7). Funkcionisanje u jako kiselj sredini je i glavna prednost ove elektrode u odnosu na postojeće komercijalne elektrode. PVCAc/Ag elektroda se pokazala kao veoma selektivna na jone  $\text{Ag}^+$  u odnosu na ostale jone, sa izuzetkom  $\text{Hg}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$  koji pokazuju nestabilan i ne-Nernst-ov odgovor. Zbog jakog ometanja potrebno je ukloniti ove jone pre određivanja srebra u uzorcima koji ih sadrže. Koeficijent selektivnosti za ostale jone je reda veličine  $10^{-4}$  i  $10^{-3}$ .

Analitička primena predloženog PVCAc/Ag potenciometrijskog senzora: Mogućnost primene predloženog PVCAc/Ag potenciometrijskog senzora testirana je određivanjem  $\text{Ag}^+$  jona u uzorcima ekoloških voda i u koloidnom srebru metodom direktne potenciometrije i rezultati su prikazani u Tabeli 1.

Tabela 1. Određivanje srebrnih jona predloženom PVCAc/Ag elektrodom u različitim uzorcima voda

Uzorak	$\text{Ag}^+ / \text{g dm}^{-3}$			Povratni prinos	RSD
	Dodato	Nađeno predloženom PVCAc/Ag elektrodom (n = 5)	Nađeno AAS metodom		
Prirodna mineralna voda "Rosa"	$2,69 \times 10^{-1}$	$2,83 \pm 0,1 \times 10^{-1}$	-	105,2	-
	$3,77 \times 10^{-2}$	$3,73 \pm 0,1 \times 10^{-2}$	-	98,9	-
Česmenska voda (Štrpce)	$2,69 \times 10^{-1}$	$2,52 \pm 0,1 \times 10^{-1}$	-	93,7	-
	$3,77 \times 10^{-2}$	$3,74 \pm 0,1 \times 10^{-2}$	-	99,2	-
Rečna voda (Štrpce)	$2,69 \times 10^{-1}$	$2,66 \pm 0,2 \times 10^{-1}$	-	98,9	-
	$3,77 \times 10^{-2}$	$3,83 \pm 0,2 \times 10^{-2}$	-	101,6	-
Koloidna srebrna voda	-	$4,91 \pm 0,1 \times 10^{-3}$	$5,00 \pm 0,1 \times 10^{-3}$	-	3,5

Kao što se može videti povratni prinos srebra u različitim uzorcima vode određivan direktnom potenciometrijskom metodom je skoro kvantitativan. Rezultati dobijeni za  $\text{Ag}^+$  jone u koloidnoj srebrnoj vodi, predloženim senzorom se dobro slažu sa rezultatima dobijenim atomskom apsorcionom metodom (AAS).



Slika 2. Potenciometrijska titracija 50 cm<sup>3</sup> 1,12 × 10<sup>-2</sup> mol/dm<sup>3</sup> rastvora Ag<sup>+</sup> sa 1,0 × 10<sup>-1</sup> mol/dm<sup>3</sup> NaCl uz indikatorsku PVCAC/Ag elektrodu

Predložena PVCAC/Ag(I) elektroda je uspešno korišćena i kao indikatorska elektroda u potenciometrijskoj titraciji Ag<sup>+</sup> jona u rastvoru sa NaCl (pH je oko 5) Slika 2. Dobijena kriva je sigmunoidnog oblika sa završnom tačkom titracije koja odgovara stehiometrijskom odnosu 1:1 u talogu AgCl. Završna tačka titracije i količina Ag<sup>+</sup> jona u rastvoru može precizno da se odredi na osnovu titracione krive.

Mogućnost primene predloženog PVCAC/Ag potenciometrijskog senzora testirana je određivanjem Cl<sup>-</sup> jona u uzorcima ekoloških voda metodom potenciometrijske titracije i rezultati su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Određivanje hloridnih jona predloženom PVCAC/Ag elektrodom u ekološkim vodama

Uzorak	c <sub>Cl</sub> / g dm <sup>-3</sup> )		RSD
	Nađeno predloženom PVCAC/Ag elektrodom, (n = 3)	Nađeno komparativnom nataloženom Ag/AgCl elektrodom	
Česmenska voda (K. Mitrovica)	4,37 × 10 <sup>-3</sup>	4,26 × 10 <sup>-3</sup>	5,0
Česmenska voda (Niš)	2,66 × 10 <sup>-3</sup>	2,59 × 10 <sup>-3</sup>	5,3
Voda iz Nišave	7,59 × 10 <sup>-3</sup>	7,10 × 10 <sup>-3</sup>	1,7
Voda iz Jadranskog mora	*19,88 × 10 <sup>-3</sup>	*20,23 × 10 <sup>-3</sup>	3,0

\*razblaženje 100 puta

Hloridi su određivani titracijom sa standardnim rastvorima AgNO<sub>3</sub> odgovarajućih koncentracija. Moguće prisustvo karbonata u pijaćoj i rečnim vodama je eliminisano dodatkom 0,1 mol/dm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub>, čime je ujedno podešen i pH, jer elektroda funkcioniše u kiseloj sredini. Koncentracije Cl<sup>-</sup> u uzorcima su uporedno određivane direktnom potenciometrijskom metodom, uz korišćenje standardnih rastvora hlorida, Cl<sup>-</sup>-selektivnom na srebro nataloženom Ag/AgCl elektrodom<sup>8</sup>. Rezultati dobijeni za Cl<sup>-</sup> jone u uzorcima ekoloških voda predloženim senzorom se dobro slažu sa rezultatima dobijenim komparativnom metodom, što se može videti na osnovu dobijenih vrednosti relativnom standardnom devijacijom (RSD).

## Zaključak

Napravljena je PVCAc/Ag elektroda, bez unutrašnjeg rastvora i jonofore, jednostavnim uranjanjem štapića staklastog ugljenika prevučenog membranom od PVC-co-Vac polimera, plastifikatora i aditiva-izmenjivača jona u rastvor srebro nitrata. Jednostavnost izrade je njena najveća prednost. Predložena elektroda ima dobre senzorske karakteristike, brz i stabilan Nernstov odziv u opsegu koncentracija od  $1 \times 10^{-1}$  do  $1 \times 10^{-5}$  mol/dm<sup>3</sup> i granicom detekcije od  $4,25 \times 10^{-6}$  mol/dm<sup>3</sup>. Širok radni pH opseg od izuzetno kiselog 0,7 do 7, je posledica hemijske neutralnosti polimerne membrane. Dobra selektivnost i vreme upotrebljivosti elektrode, koje je veće od dva meseca su takođe važni. Elektroda je uspešno primenjena za određivanje srebra u različitim uzorcima vode i kao indikatorska elektroda u potencimetrijskim titracijama, gde je posredno određena i količina hlorida prisutna u ekološkim vodama. Povratni prinos prilikom određivanja Ag<sup>+</sup> jona u različitim uzorcima voda se kreće u granicama od 93.7-105.2%, a dobijene RSD vrednosti prilikom određivanja hlorida u različitim uzorcima ekoloških voda su 1,7-5,3, dok je RSD vrednost za određivanje Ag<sup>+</sup> u koloidnoj srebrnoj vodi uz AAS komparativnu metodu 3,5.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je finansijski podržan od strane Ministarstva prosvete i nauke, Republike Srbije, kao deo projekata 34025 i 45022.

## Determination of Silver and Chloride Ions in Environmental Water Samples by Simple PVCAc/Ag Potentiometric Sensor

*The aim of this work was to investigate possibility of application of new Ag-selective potentiometric sensor made only from PVCAc, plasticizer and lipofilic salt and coated directly on GC rod. Since working pH range of proposed sensor is < 1 to 7, it can operate in very acidic media. Besides simplicity of sensor construction and wide pH range, the excellent selectivity can be also advantage of this electrode. The proposed electrode was successfully applied as an indicator electrode for the potentiometric titrations. The practical utility of the proposed PVCAc/Ag sensor was tested by determination of silver and chloride ions in environmental water samples and silver in colloidal silver water. The recovery of silver from different water samples is almost quantitative. The chloride ions were successfully determined by potentiometric titrations in tap, river and sea water samples. Also, the results obtained for chloride ions in environmental water samples and silver ions in colloidal water samples by the proposed sensor were in satisfactory agreement with data obtained with comparative methods.*

## Literatura

1. R.D. Johnson, L.G. Bachas, *Anal. Bioanal. Chem.* **376** (2003) 328.
2. B.B. Petković, S.P. Sovilj, M.V. Budimir, R.M. Simonović, V.M. Jovanović, *Electroanalysis* **22** (2010) 1894.
3. E. Malinowska, Z. Brzózka, K. Kasiura, R.J.M. Egberink, D.N. Reinhoudt, *Anal. Chim. Acta* **298** (1994) 245.
4. A. Dekanski, J. Stevanović, R. Stevanović, V.M. Jovanović, *Carbon* **39** (2001) 1207.
5. V.M. Jovanović, S. Terzić, A. Dekanski, *J. Serb. Chem. Soc.* **70** (2005) 41.
6. M. Shamsipur, M. Javanbakht, M.R. Ganjali, M.F. Mousavi, V. Lippolis, A. Garau *Electroanalysis* **14** (2002) 1691.
7. A. Demirel, A. Doğan, G. Akkuş, M. Yılmaz, E. Kılıç *Electroanalysis*, **18** (2006) 1019.
8. V.M. Jovanović, M. Radovanović, M.S. Jovanović, "Behaviour and Properties of Silver Based, Melt-Coated, Silver Halide Selective Electrodes", Ion-Selective electrodes 4, Akademiai Kiado, Budapest, 1985, p. 489-500

## Ravnoteže kompleksiranja Gd(III)-jona sa nekim fluorohinolonima

Ivan Ž. Jakovljević, Ivan Lazarević\*, Ljubinka Joksović, Andrija Ćirić, Ratomir Jelić\*\*, Predrag Đurđević

*Prirodno-matematički fakultet, P.fah 60, 34000 Kragujevac, Srbija*

*\*Centar za usavršavanje kadrova ABHO Vojske Srbije, Balkanska 57, 37000 Kruševac, Srbija*

*\*\*Medicinski fakultet, Jovana Cvijića bb., 34000 Kragujevac, Srbija*

### Uvod

Fluorovani hinoloni su antibakterijska sredstva<sup>1-3</sup> koja se koriste kod urinarnih i bubrežnih infekcija, a novije generacije ovih antibiotika i kod respiratornih infekcija. Oni u svojoj strukturi sadrže karbonilnu i karboksilnu grupu u vicinalnom položaju. Stoga su ove supstance potencijalno dobri helatori jona metala. Gadolinijum pripada grupi lantanoida i ima tendenciju da gradi komplekse sa sintetičkim i prirodnim ligandima. Helati gadolinijuma, kao što je Gd-DTPA i Gd-DOTA, imaju široku upotrebu kao kontrastni agensi<sup>4</sup> u magnetnoj rezonanci (MRI) i kompjuterskoj tomografiji (CT). Gd-DTPA helati se preporučuju kao bezbedni neradioaktivni indikatori glomerularne filtracije (GFR) koji mogu biti alternativni metod za određivanje renalnog klirensa u kliničkim studijama. Ovi helati mogu reagovati sa gore navedenim fluorohinolonima pri istovremenom korišćenju ovih supstanci (kod pacijenata koji su već na antibakterijskoj terapiji) ili otpustiti slobodan gadolinijum koji može reagovati sa ligandima iz krvne plazme ili drugim ligandima (npr. lekovima). Sa druge strane fluorohinolonski helati gadolinijuma mogu biti dobri kandidati za nove dijagnostičke agense. Zbog toga, je cilj ovog rada bio da se kvantitativno ispituju ravnoteže u rastvorima navedenih fluorohinolona u prisustvu jona gadolinijuma da bi se bolje razumeo sastav, stabilnost kao i raspodela kompleksa gadolinijuma i fluorohinolona u vodenim rastvorima kao i u humanoj plazmi.

### Rezultati i diskusija

Svi reagensi bili su analitičke čistoće i korišćeni su bez dodatnog procesa prečišćavanja. Bidestilovana voda je korišćena za pripremanje svih rastvora.

Polazni rastvor Gd(III)-jona pripremljen je rastvaranjem Gd<sub>2</sub>O<sub>3</sub> p.a., (Merck) u HCl. Dobijeni rastvor je standardizovan kompleksometrijskim titracijama sa EDTA. Višak HCl kiseline je određen potenciometrijski pomoću Granovog dijagrama. Polazni rastvori fluorohinolona su pripremljeni tačnim odmeravanjem standarda supstanci p.a.čistoće (> 99.9%) na analitičkoj vagi. Rastvori drugih koncentracija su dobijeni razblaživanjem osnovnih rastvora fluorohinolona.

Potenciometrijske titracije su izvođene u titracionom sudu sa duplim zidovima koji je termostatan na 298 K. Merenje je vršeno pH-metrom Backman Φ72 sa automatskom biretom Metrohm Dosimat 665 i kombinovanom staklenom elektrodom (Radiometer). Jonska sredina je podešena sa 0,1 mol/dm<sup>3</sup> NaCl i sve titracije su izvođene u struji azota koji je prethodno propuštan kroz rastvore NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i bidestilovanu vodu. Koncentracioni opseg jona metala bio je 0,6 mmol/dm<sup>3</sup> ≤ [Gd(III)] ≤ 3 mmol/dm<sup>3</sup>, a fluorohinolona 1 mmol/dm<sup>3</sup> ≤ [FQ] ≤ 3 mmol/dm<sup>3</sup> pri koncentracionom odnosu T<sub>Gd</sub>:T<sub>L</sub> = 1:1 do 1:5. Vrste kompleksa u ispitivanim sistemima su okarakterisane opštom jednačinom ravnoteže:



a odgovarajuće konstante stabilnosti su date jednačinom:

$$\beta_{p,q,r} = \frac{[\text{Gd}_p\text{H}_q\text{FQ}_r]}{[\text{Gd}]^p [\text{H}]^q [\text{FQ}]^r} \quad (2)$$

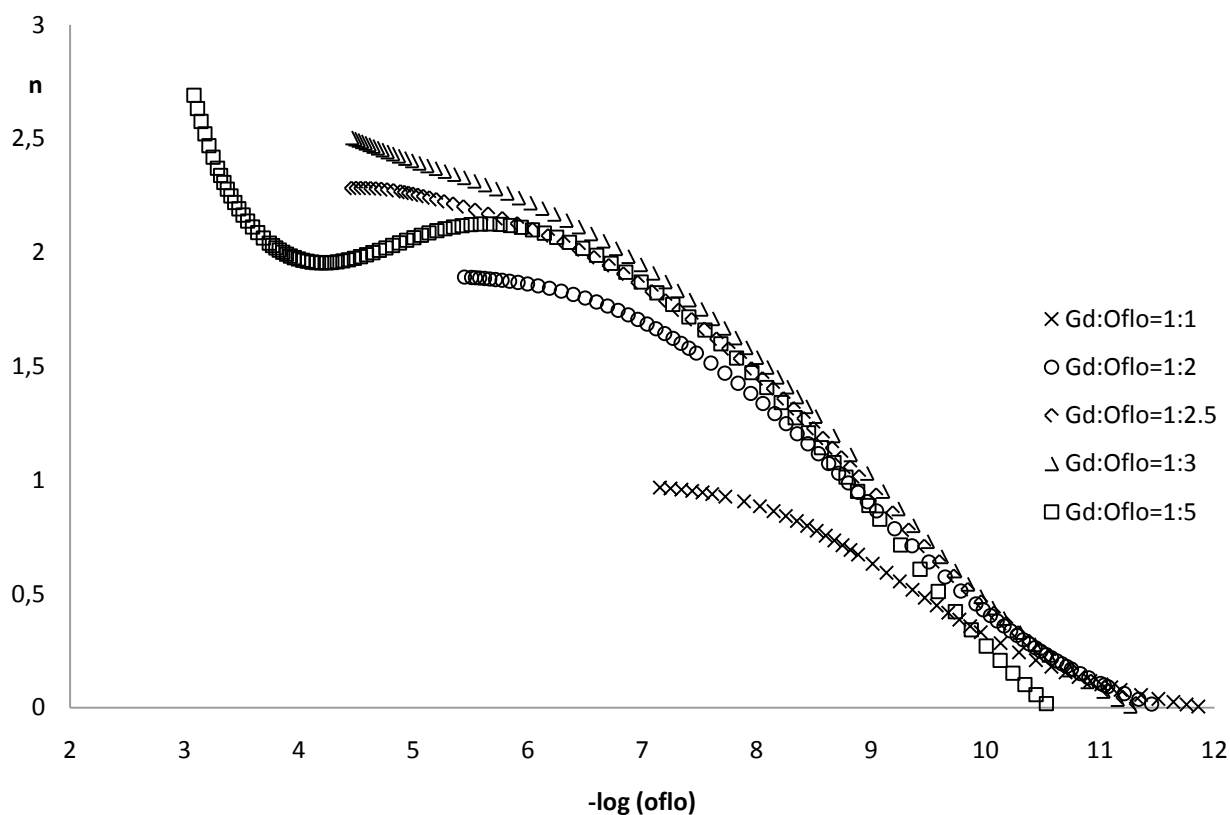
gde FQ označava deprotonovan oblik molekula liganda. Potpuno protovani oblik molekula liganda obeležen je kao H<sub>2</sub>FQ<sup>+</sup>. Sastav i konstante stabilnosti nagrađenih kompleksa u rastvoru mogu se odrediti na osnovu eksperimentalno određene zavisnosti srednjeg ligandnog broja,  $\bar{n}$ , od negativnog logaritma koncentracije slobodnog liganda (-logL). Srednji ligandi broj se računa prema formuli:

$$\bar{n} = \frac{T_L \cdot [L] \left( 1 + \sum_n \beta_{LH_n} [H]^n \right)}{T_M} \quad (3)$$

gde je slobodna koncentracija liganda jednaka:

$$[L] = \frac{T_H - [H] + [OH]}{\sum_n \beta_{LH_n} [H]^n} \quad (4)$$

gde je  $T_L$  - ukupna koncentracija liganda,  $L$  - koncentracija slobodnog liganda a  $T_M$  - koncentracija jona metala. Eksperimentalno dobijene krive formiranja za Gd-Oflo sistem prikazane su na slici 1.



Slika 1. Krive formiranja u sistemu Gd-Oflo

Na Slici 1 se vidi da se sve krive formiranja poklapaju do vrednosti  $n = 0,5$ . Pri odnosu  $T_M:T_L = 1:1$  kriva ima konstantnu vrednost  $n = 1$  pri  $pL < 8$  što ukazuje na stvaranje samo kompleksa tipa  $ML$ . Ostale krive formiranja, osim krive 1:1, se poklapaju do vrednosti  $\bar{n} = 1,5$  što ukazuje na formiranje kompleksa istih vrsta. Kriva 1:2 ukazuje na stvaranje samo kompleksa tipa  $ML_2$ . Pri  $n > 2$  krive se razilaze što ukazuje na stvaranje mešoviti hidrolitičkih kompleksa.

Obrada eksperimentalnih podataka u cilju izračunavanja konstanti stabilnosti formiranih kompleksa je vršena programom Hyperquad<sup>5</sup>2006 na osnovu nalaženja minimalne vrednosti sume kvadrata potencijala:

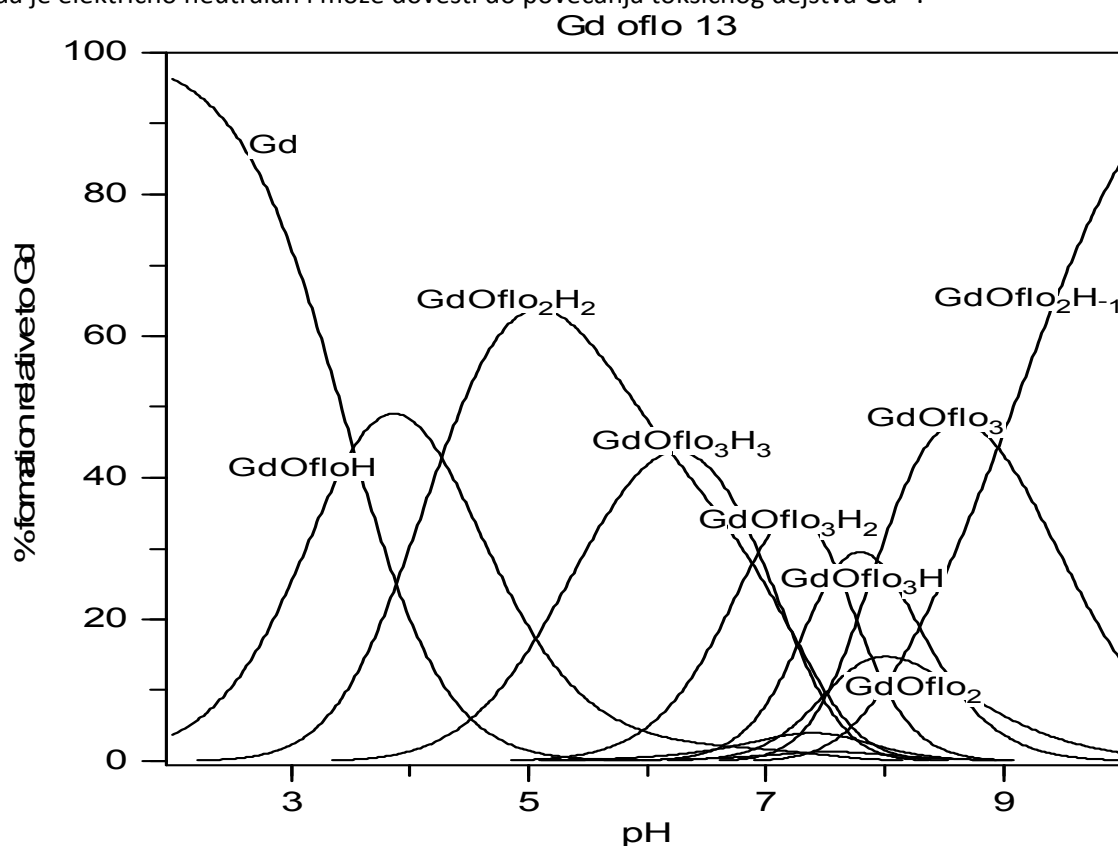
$$S = \sum w_i (E_{obs} - E_{calc})^2 \quad (5)$$

gde  $w_i$  predstavlja statističku težinu koja se dodeljuje svakoj tački titracione krive, a  $E_{obs}$  i  $E_{calc}$  odnose se na mereni, odnosno izračunati potencijal ćelije za pretpostavljeni model sa odgovarajućim konstantama stabilnosti. Za pronalaženje modela koji daje najbolje podešene eksperimentalne podatke, različiti kompleksi i kombinacije uključeni su u Hyperquad2006 izračunavanja. U svim titracijama su nađeni binarni kompleksi tipa  $ML$ ,  $ML_2$  i  $ML_3$  u celokupnoj ispitivanoj pH oblasti ( $2,0 \leq pH \leq 9,5$ ). Osim ovih kompleksa nađeni su i mešoviti kompleksi tipa  $MH_qL_p$  gde su  $p$  i  $q$  kod ciprofloksacina,  $(p,q) = (1,1), (2,2), (2,1), (3,3)$ ; kod ofloksacina  $(1,1), (2,2), (2,1), (3,3), (3,2), (3,1)$ , i kod moksifloksacina,  $(p,q) = (1,1), (2,2), (2,1), (3,3), (3,2), (3,1)$ . Negativne vrednosti  $q$  ukazuju na hidrolitičke komplekse. U ispitivanim sistemima polinuklearni kompleksi nisu nađeni. Prihvaćeni rezultati izračunavanja prikazani su u Tabeli 1. Takođe su dati i statistički podaci koji određuju kvalitet izračunavanja.

Tabela 1. Konstante stabilnosti Gd(III)-FQ nastalih u 0,1 mol/dm<sup>3</sup> NaCl jonskoj sredini na 298 K SD označava standardnu devijaciju. p-broj jona metala, r-broj jona liganda, q-broj jona H<sup>+</sup> ili OH<sup>-</sup>

Kompleks	log $\beta_{p,q,r} \pm SD$		
	p,q,r	Gd-moxi*	Gd-oflo
(0,1,1)	9,34±0,01	8,01±0,01	8,52±0,01
(0,2,1)	15,67±0,01	14,20±0,01	14,68±0,02
(1,-1,0)	7,96±0,01	7,96±0,01	7,96±0,01
(1, 1, 1)	14,72±0,03	13,31±0,02	14,27±0,03
(1, 0, 1)	/	6,01±0,03	6,70±0,02
(1, 2, 2)	29,65±0,02	26,05±0,01	27,60±0,07
(1, 1, 2)	21,20±0,09	18,14±0,02	19,90±0,02
(1, 0, 2)	14,00±0,03	11,03±0,08	12,77±0,03
(1, 3, 3)	43,98±0,03	37,64±0,04	40,64±0,08
(1, 2, 3)	35,18±0,01	30,71±0,04	/
(1, 1, 3)	27,76±0,03	23,11±0,08	/
(1, 0, 3)	19,00±0,05	15,18±0,08	/
Statistika	$\chi^2=11,82$	$\chi^2=5,38$	$\chi^2=11,21$
	s=1,20	s=1,61	s=1,94

Specijacija u sistemu Gd<sup>3+</sup>-oflo data je na slici 2 u obliku distribucionog dijagrama zavisnosti molske frakcije od pH. Sa slike se vidi da je na pH≈5 dominantan kompleks Gd(Hoflo)<sub>2</sub><sup>3+</sup> koji pri povećanju pH protolizuje i u reakciji sa još jednim molekulom liganda daje Gd(oflo)<sub>3</sub>. Ovaj kompleks lako prolazi kroz ćelijsku membranu, budući da je električno neutralan i može dovesti do povećanja toksičnog dejstva Gd<sup>3+</sup>.



Slika 2. Distribuciono dijagram za Gd-Oflo sistem za koncentracioni odnos  $T_M \cdot T_L = 1:3$

**Zaključak**

Kompleks  $Gd(\text{oflo})_3$  lako prolazi kroz ćelijsku membranu, budući da je električno neutralan i može dovesti do povećanja toksičnog dejstva  $Gd^{3+}$ .

**Complex formation equilibria between Gd(III)-ion and some fluoroquinolones**

*Complex formation between Gd(III)-ion and fluoroquinolones, ciprofloxacin (II generation), ofloxacin (II generation) and moxifloxacin (IV generation) were studied by potentiometric titrations at 298 K in ionic medium NaCl (0.1 mol/dm<sup>3</sup>). In the concentration range 0.6 mmol/dm<sup>3</sup> ≤ [Gd(III)] ≤ 3 mmol/dm<sup>3</sup> and 1 mmol/dm<sup>3</sup> ≤ [FQ] ≤ 3 mmol/dm<sup>3</sup> at concentration ratio M:L = 1:1 to 1:5, binary complexes ML, ML<sub>2</sub> and ML<sub>3</sub> were found in the entire pH region (2-9.5). In addition to the dominant binary complexes the following mixed complexes of the MH<sub>q</sub>L<sub>p</sub> type were found: ciprofloxacin, (p,q) = (1,1), (1,-1), (2,2), (2,1), (2,-2), (3,3); ofloxacin, (p,q) = (1,1), (1,-1), (2,2), (2,1), (2,-1), (2,-2), (3,3), (3,2), (3,1), (3,-1) and moxifloxacin, (p,q) = (1,1), (2,2), (2,1), (3,3), (3,2), (3,1). Negative values of q denote hydrolytic complexes. Polynuclear complexes were not found in the systems examined. The distribution diagram indicates the dominance of the Gd(oflo)<sub>3</sub> at neutral pH values which may be physiologically active.*

**Literatura**

1. C. Siporin, C. L. Heifetz, J. M. Domagala, The new generation of quinolones, Marcel Dekker, N. Y., 1990.
2. V. Andriole, The Quinolones, Academic Press, London, 1988
3. M. Neuman, Clinical Pharmacokinetics 14, 96-121; T. Bergan, Quinolones in P.K. Peterson and J. Verhoef (Eds.), Antimicrobial Agents, Annual 2, Elsevier, Amsterdam, pp 161-183, 1987.
4. G.E. Jackson, S. Wynchank, M. Woudenberg, Gadolinium (III) complex Equilibria: The implications for Gd(III) MRI Contrast Agents, Magnetic resonance in medicine 16, 57-66, 1990.
5. P. Gans, A. Sabatini and A. Vacca, *Talanta*, **43**, (1996), 1739.



## HPLC Determination of Tetracycline in Human Control Serum

S. Sunarić, R. Pavlović, S. Mitić\*, A. Pavlović\*, S. Tošić\*

*University of Niš, Faculty of Medicine, Department of Chemistry,  
Bulevar dr Zorana Djindjića 81, 18000 Niš, Serbia*

*\*University of Niš, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Chemistry,  
Višegradska 33/224, 18000 Niš, Serbia*

### Introduction

Tetracycline (Tc) is a "broad-spectrum" antibiotic which is used to treat bacterial infections. Tetracycline can easily bind to proteins. After oral administration, therapeutic concentration in plasma is usually in the range 1-5  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  and protein binding is 25-65%<sup>1</sup>. Therefore the samples should be adequately prepared in order to achieve maximum drug release. The paper examined the possibility of applying the modified pharmacopoeia HPLC method for determination of Tc in human control serum. The aim was to test the recovery value of the method in terms of the existing matrix, preferably without loss of Tc during the sample preparation.

### Experimental

#### *Materials and Reagents*

Standard stock solutions of tetracycline hydrochloride (Tc-HCl) concentrations of 1  $\text{mg}/\text{cm}^3$  and 0.1  $\text{mg}/\text{cm}^3$ , were prepared by dissolving solid tetracycline-hydrochloride  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8\cdot\text{HCl}$  (p.a., Sigma-Aldrich) in 0.01  $\text{mol}/\text{dm}^3$  HCl. The following solutions were also used: 40  $\text{g}/\text{dm}^3$  Na-EDTA (p.a. Merck), 35  $\text{g}/\text{dm}^3$   $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (p.a. Merck), 2  $\text{mol}/\text{dm}^3$  NaOH (p.a. Merck), 2  $\text{mol}/\text{dm}^3$   $\text{H}_3\text{PO}_4$  (HPLC grade, Merck), *tert*-butyl alcohol (HPLC grade, ACS Reag. Ph. Eur, Merck) and 0.0295  $\text{mol}/\text{dm}^3$  triethyl-ammonium acetate. Human lyophilised control serum was from Lyotrol N bioMérieux<sup>®</sup> SA, France. It was reconstituted with exactly 5  $\text{cm}^3$  of deionized water before the use.

#### *Apparatus and HPLC conditions*

The Agilent Technologies 1200 Series apparatus with DAD was used for the analysis. Separation was performed on Zorbax Extend-C18 analytical column (4.6×250 mm, 5 $\mu\text{m}$ ). The chromatographic separation was carried out at 40°C. Isocratic elution was used during the entire study and the flow rate was 1  $\text{cm}^3/\text{min}$ . The chromatograms at 254 nm, 275 nm and 375 nm were recorded.

#### *Mobile phase*

The composition of the mobile phase was: 8% w/v *tert*-butyl alcohol, 0.35% w/v  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.095% w/v triethylammonium acetate and 0.04% w/v Na-EDTA. Triethylammonium acetate was used to reduce peak tailing and was prepared by mixing triethylamine and acetic acid. Na-EDTA salt was used to prevent the formation of complexes between tetracycline and present polyvalent metal ions. All solutions were adjusted to pH 9.0 before they are mixed.

#### *Procedure for Tc analysis in human control serum (HCS)*

1  $\text{cm}^3$  of reconstituted human control serum was spiked with 0.04  $\text{cm}^3$  and 0.08  $\text{cm}^3$  of 0.1  $\text{mg}/\text{cm}^3$  Tc standard solution. The concentrations of Tc were chosen to match its usual therapeutic concentration in human serum after oral administration. After that, the serum sample was pretreated for the removal of proteins and to obtain a diluted sample solution suitable for insertion into the column of HPLC apparatus. The procedure used was as follows: 0.6  $\text{cm}^3$  of spiked serum was mixed with 0.6  $\text{cm}^3$  of 8%  $\text{HClO}_4$  and centrifuged for 5 min at 3500g. 1  $\text{cm}^3$  of supernatant was transferred to Eppendorf vial and 0.08  $\text{cm}^3$  of mixture 2M  $\text{K}_2\text{CO}_3$ /6M KOH was added. After neutralization, the sample pH was 6.5-7.0. From this solution 0.3  $\text{cm}^3$  was measured and diluted with 1.2  $\text{cm}^3$  of deionized water. The obtained sample was filtered through Econofilter 25/0.45  $\mu\text{m}$  RC (Agilent Technologies) and 0.05  $\text{cm}^3$  was injected into the column. The amount of tetracycline was determined using the calibration curve obtained for standard Tc solutions in concentration range from 1  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  to 10  $\mu\text{g}/\text{cm}^3$  (0.01  $\mu\text{g}$ -0.1  $\mu\text{g}$  Tc on the column).

## Results and discussion

### Determination of Tc in human control serum

Chromatograms of blank serum (Fig. 1) and spiked serum (Fig. 2) after pretreatment show that there are no peaks in blank serum at 375 nm, but in spiked serum appears a peak corresponding to tetracycline with retention time about 3.3 min. This peak is much less marked at 275 nm and 254 nm in the presence of highly absorbed components at 2.1 min and 2.7 min. Therefore, largest sensitivity of the method, as well as lower limit of detection and quantification are for detection at 375 nm.

The tetracycline was identified by comparing the retention data from the chromatograms for Tc standard and the serum spiked with Tc standard recorded under the same chromatographic conditions. Also, DAD detector was used for monitoring tetracycline UV spectrum in effluent. The absorption maximums are well matched with each other and with literature data.

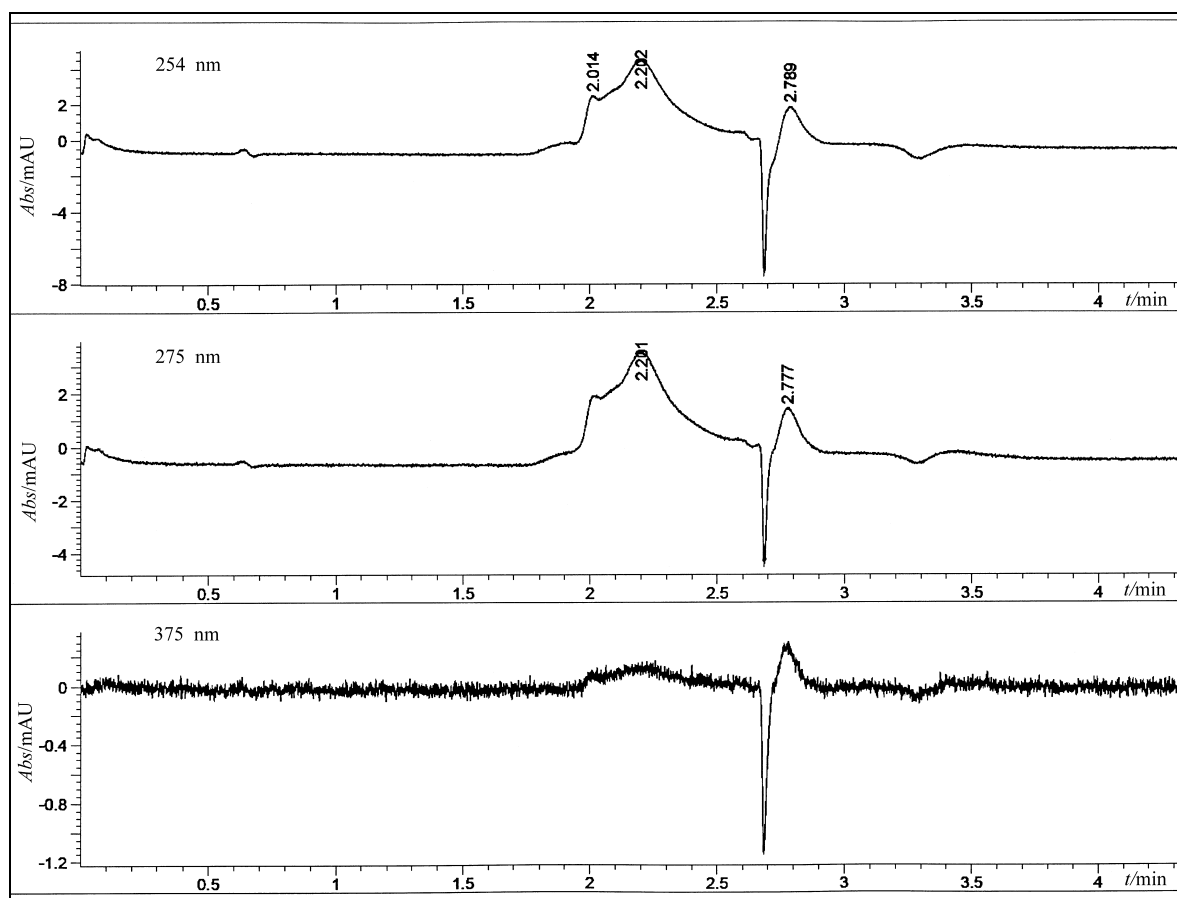
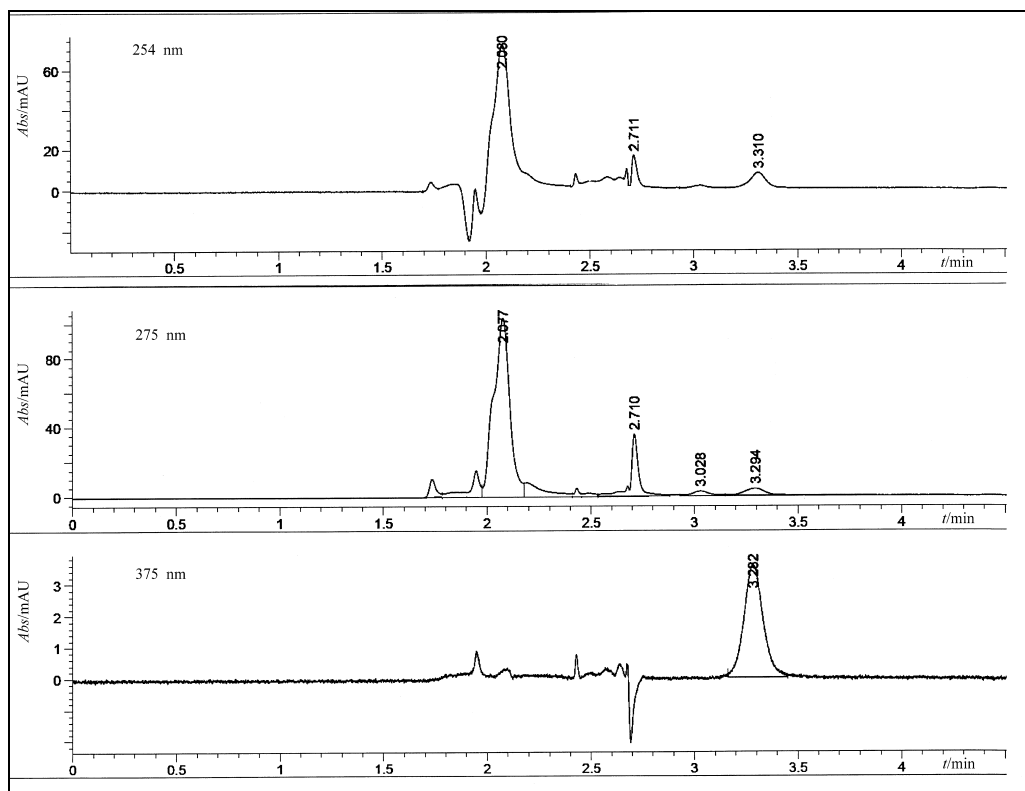


Fig 1. Chromatograms of blank serum after pretreatment at 254 nm, 275 nm and 375 nm



**Fig 2.** Chromatograms of spiked serum after pretreatment at 254 nm, 275 nm and 375 nm

For the Tc determination in human control serum calibration graph at 375 nm was used. The procedure is described above and the results are given in Table 1. All measurements were performed in triplicate and are presented as mean value  $\pm$  standard deviation (SD). Recovery value was calculated as the ratio between amount of tetracycline found using calibration curve and spiked (expected) value.

*Table 1. Determination of tetracycline in human control serum at 375 nm*

Spiked, $\mu\text{g}$	Found, $\mu\text{g}$ $\bar{x} \pm SD$	RSD / %	Recovery, %
0.019	$0.016 \pm 0.0010$	6.3	84.2
0.038	$0.033 \pm 0.0012$	3.6	86.8

$\bar{x}$ , mean value of 3 replicates;

SD, standard deviation of the mean;

RSD, relative standard deviation of the mean.

Limit of detection and limit of quantitation were calculated using the equations (1) and (2):

$$LOD = 3 \cdot h_{max} \cdot f \quad (1)$$

$$LOQ = 10 \cdot h_{max} \cdot f \quad (2)$$

where  $h_{max}$  is magnitude of the noise of the base line detected for the blank serum 0.5 min before and after the tetracycline retention time and  $f$  is the ratio of Tc concentration in injected solution and corresponding peak area<sup>2</sup>. Magnitude of the noise of the base line was measured for the range 2.8 min-3.8 min. The values of 4.0 ng for LOD and 13.0 ng for LOQ were calculated.

## Conclusions

For the tetracycline determination in human control serum, the method gives satisfactory accuracy for the concentration of Tc higher than  $0.8 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ , which is the expected concentration after oral administration of tetracycline drugs. A favourable characteristic of this method is that despite complex sample pretreatment,

the recovery values are higher than 84%. A short analysis time was achieved, so this rapid method can be applied to the routine pharmaceutical analysis as well as pharmacokinetic studies of tetracycline.

*Acknowledgements.* This research was supported by the Serbian Ministry of Science and Environmental Protection as a part of project number 142015 at Faculty of Science and Mathematics-Nis and the Faculty of Medicine-Nis. The authors are grateful to the technical and financial support from these institutions.

### HPLC određivanje tetraciklina u humanom kontrolnom serumu

*U radu je optimizovana i validovana reverzno-fazna HPLC metoda za određivanje tetraciklina u humanom kontrolnom serumu. Razdvajanje je izvršeno na Zorbax Extend-C18 analitičkoj koloni i temperaturi od 40 °C. Mobilna faza se sastojala od terc-butyl alkohola, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, trietilamonijum-acetata i Na-EDTA, a u aparat je ubrizgavana izokratno. UV detekcija je izvedena na 254 nm, 275 nm i 375 nm. U kontrolnom serumu tetraciklin je određivan primenom kalibracione prave u intervalu 1 µg/cm<sup>3</sup>-10 µg/cm<sup>3</sup>. Radi uklanjanja proteina uzorak seruma je tretiran 8.0% HClO<sub>4</sub>. Granica detekcije i granica kvantifikacije iznose 4.0 ng i 13.0 ng. Relativna standardna devijacija određivanja kreće se do 6.3%. Predložena metoda omogućava razdvajanje i određivanje tetraciklina u navedenim uzorcima, pri čemu je ukupno vreme trajanja analize kraće od 5 minuta.*

#### References

1. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, Pharmaceutical Press, 2006
2. D. Ivanovic, M. Zecevic and A. Malenovic, *Analitika lekova*, in Serbian, Beograd, 2004.

## Adsorption of pesticides onto the carbonized short hemp fibers activated with potassium hydroxide

Marija M. Vukčević, Marina Radišić, Ana Kalijadis\*, Biljana Babić\*\*, Biljana Pejić, Zoran Laušević\*, Mila D. Laušević

*Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, P.O.Box 494, 11001 Belgrade, Srbija*

*\*Laboratory of Physics, Vinca Institute of Nuclear Sciences, P.O.Box 522, 11001 Belgrade, Srbija*

*\*\*Laboratory of Material Science, Vinca Institute of Nuclear Sciences, P.O.Box 522, 11001 Belgrade, Srbija*

### Introduction

Pesticides are the group of hazardous compounds that may pollute water due to their extensive application in agriculture<sup>1</sup>. Several methods are available for pesticides removal such as photocatalytic degradation, combined photo-Fenton and biological oxidation, advanced oxidation processes, aerobic degradation, nanofiltration membranes, ozonation and adsorption<sup>2</sup>. Adsorption on activated carbon is the most widespread technology used to deal with purification of water contaminated by pesticides<sup>3-6</sup>. Activated carbons with high surface area and pore volumes can be prepared from a variety of carbonaceous materials such as coal, coconut shell, wood, agricultural or industrial wastes. There is a growing interest in utilizing the use of other low-cost and abundantly available lignocellulosic materials as precursors for the preparation of activated carbons<sup>7</sup>. A search for a low-cost and easily available adsorbent has led to the investigation of agricultural and biological origin materials, along with industrial byproducts. Hemp fibers, as a lignocellulosic material, are traditionally used for production of textiles. The increased production of hemp fibers brought an increase in the amount of waste, namely shives, short and entangled fibers<sup>8</sup>. In this work, we attempt to use short hemp fibers as low-cost, abundantly available and renewable precursor for production of activated carbon material as adsorbent for the removal of pesticide from aqueous solutions. Short hemp fibers were carbonized and subsequently activated using potassium hydroxide as activating agent. The resulted samples were used for adsorption of five pesticides: acetamiprid, dimethoate, nicosufurone, carbofuran and atrazine. The influence of the activation process on the samples surface characteristics and adsorption of pesticides were also studied.

### Materials and Methods

#### *Material*

The fibers used in this investigation were short and entangled hemp fibers obtained from ITES Odzaci, Serbia. Chemical composition of used fibers is: 1.50% water soluble components, 0.69% fats and waxes, 1.39% pectins, 78.15% cellulose, 6.06% lignin, 10.72% hemicelluloses.

#### *Carbonization and activation of short hemp fibers*

In the 2-step activation process, the carbon precursor, short hemp fibers, were first carbonized at 1000 °C under constant nitrogen flow, with the heating rate of 5 °C/min. After carbonization, carbonized short hemp fibers were chemically activated using KOH as an activating agent. Carbonized fibers were mixed with KOH pellets in different KOH:carbonized material weight ratio (1:1, 2:1, 4:1), and three activated carbon samples (denoted K119, K129 and K149, respectively) were obtained. Samples were placed in the furnace and heated at a rate of 5 °C/min to 900 °C. Activation process was carried out under a constant nitrogen flow. The resulting products after activation were thoroughly washed with tap water and finally distilled water to remove the residual KOH until the pH value of the washed solution ranged from 6 to 7. Four samples, obtained in this way were used for further examination: K1, inactivated carbonized short hemp fiber, and activated samples K119, K129 and K149.

#### *Specific surface area*

Specific surface areas of carbonized short hemp fibers samples were obtained from the N<sub>2</sub> adsorption isotherm at 196 °C and calculated by BET equation.

### Surface oxygen groups

Temperature-programmed desorption (TPD) in combination with mass spectrometry was used to investigate the nature and thermal stability of carbonized short hemp fibers surface oxygen groups. The TPD profiles were obtained using a custom-built set-up, consisting of a quartz tube placed inside an electrical furnace. A carbonized fiber sample was outgassed in the quartz tube and subjected to TPD at a constant rate of heating of 10°C/min to 900°C under high vacuum. The amounts of CO and CO<sub>2</sub> released from the carbon sample (0.1 g) were monitored using an Extorr 3000 quadrupole mass spectrometer (Extorr Inc, USA).

### Pesticide adsorption

Adsorption of pesticides on the carbonized short hemp fiber (0.5 g) was performed from the 50 ml of pesticide aqueous solution in batch system with constant shaking. Initial concentration of each pesticide was 500 ppb. The concentration of pesticides was determined at the end of 2 h adsorption period using HPLC-MS/MS method<sup>9</sup>.

**HPLC-MS/MS analysis.** Surveyor HPLC system (Thermo Fisher Scientific, USA) was used for the separation of the analytes on the reversed-phase Zorbax Eclipse XDB-C18 column, 4.6 mm 75 mm i.d. and 3.5 µm particle size (Agilent Technologies, USA). The mobile phase consisted of methanol (A), water (B) and acetic acid (C). Gradient changed as follows: 0 min 59 % A, 40 % B, 1 % C; 10 min 99 % A, 1 % C; 15 min 59 % A, 40 % B, 1 % C. The flow rate of the mobile phase was 0.5 ml/min. An aliquot of 10 µl of the aqueous solution was injected into HPLC system. Quadrupole ion trap mass spectrometer, LCQ Advantage (Thermo Fisher Scientific, USA), was used for detection and quantification of pesticides. The electrospray ionization technique was used and all pesticides were analyzed in the positive ionization mode. Mass chromatogram of the pesticides is given in Figure 1.

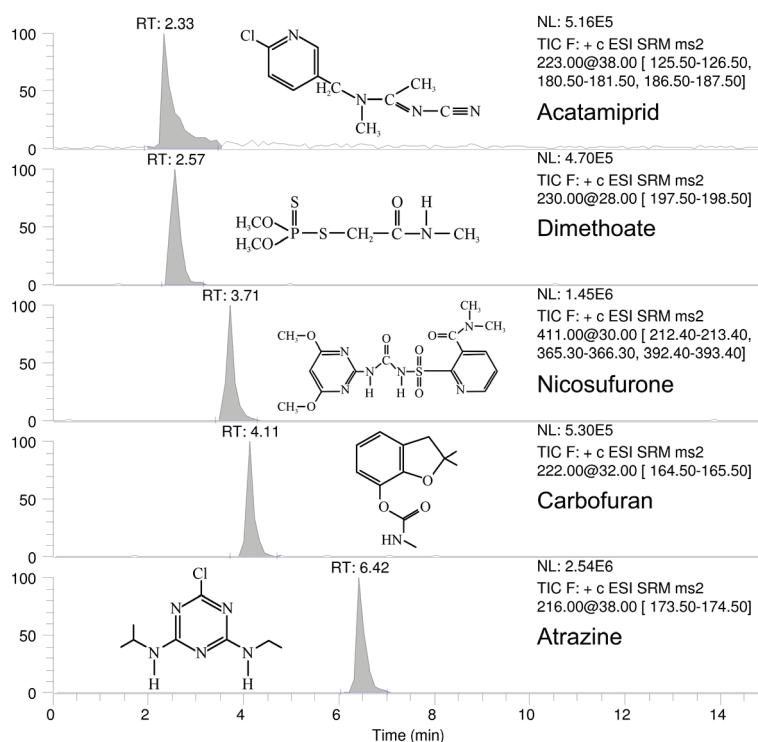
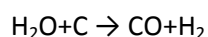
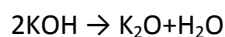


Figure 1. Mass chromatogram of aqueous solution of pesticides

### Results and discussion

Specific surface areas calculated by BET equation ( $S_{BET}$ ) are listed in Table 1.  $S_{BET}$  values, for all samples, lie within 23-2192 m<sup>2</sup>/g. Values of  $S_{BET}$  from Table 1 show that activation with KOH at 900 °C provides samples with higher specific surface area. During the activation process, decomposition of KOH molecules is followed by gasification process under high temperature:



Stronger activation, i.e. increased ratio of KOH, open up the porous structure and increases  $S_{\text{BET}}^{10}$ . Higher amount of hydroxide used for obtaining sample K129 significantly increases specific surface area of this sample. Further increase of activating agent amount decreases the specific surface area (sample K149), probably due to enhanced gasification process. An over-gasification might have occurred with the detrimental effect of reducing the surface area, especially micropore surface area<sup>11</sup>. This phenomenon was also observed by Laine and Calafat<sup>12</sup>.

TPD profiles of CO and CO<sub>2</sub> evolution for all tested samples are shown in Figure 2. The amounts of CO and CO<sub>2</sub> released from the surface of carbonized fiber samples were obtained by integration of corresponding TPD curves (Table 1). Obtained results show that the amounts of surface oxygen groups increase with increased amount of KOH. The best ratio of KOH:carbonized material was 2:1. However, further increase of KOH amount decreases the amount of surface oxygen groups, probably for the same reasons as in the case of specific surface area.

Table 1. Specific surface area and amounts of CO and CO<sub>2</sub> evolving surface oxygen groups of carbonized short hemp fibers samples.

Sample	KOH:carbon material ratio	$S_{\text{BET}}$ , m <sup>2</sup> /g	CO evolving groups, Mmol / g	CO <sub>2</sub> evolving groups, Mmol / g	CO + CO <sub>2</sub> , Mmol / g
K1	No activation	23	1.718	2.192	3.910
K119	1:1	673	4.044	3.282	7.326
K129	2:1	2192	5.598	5.660	11.259
K149	4:1	1858	3.123	1.330	4.453

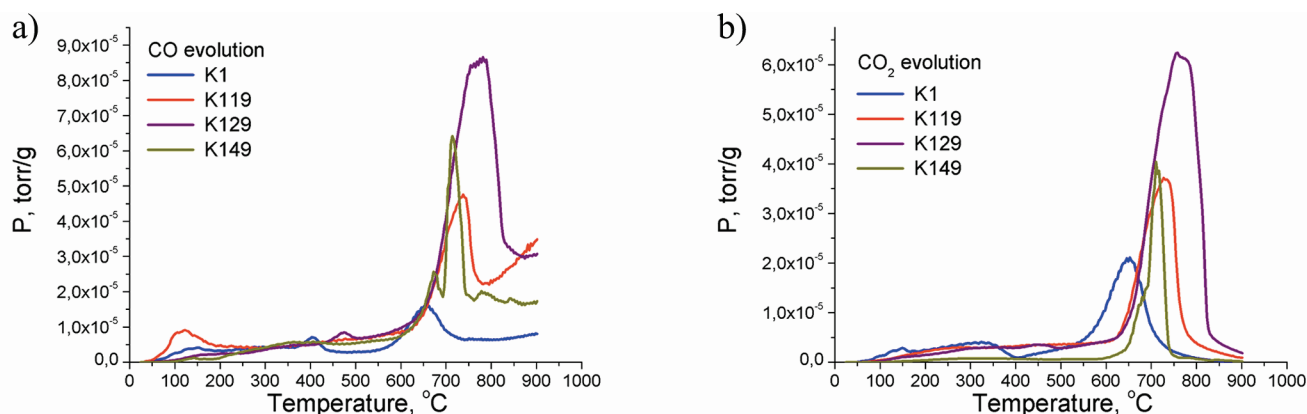


Figure 2. TPD spectra of carbonized short hemp fiber samples: (a) CO and (b) CO<sub>2</sub> desorption profile.

The TPD profiles of all tested samples (Figure 2) show a peak at relatively high temperature (from 650 °C to 780 °C). Increased amount of activating agent shifts the peak to the higher temperature (except for K149 sample) which suggests the stabilization of surface oxygen groups. The CO desorption profiles have a maximum at the temperature which coincides with the maximum in CO<sub>2</sub> desorption profile. This could indicate the existence of anhydride groups, although it can also be attributed to phenols, ethers, carbonyls and quinones<sup>13</sup>.

Concentration of pesticides was determined by HPLC/MS/MS method. From obtained MS<sup>2</sup> spectra of pesticides, most abundant fragment ions were selected. The selected reaction monitoring (SRM) mode was used for quantification of all pesticides. The level of adsorption at the end of 2 h adsorption period was presented as a decrease of pesticide concentration in the solution (Figure 3).

All activated samples have good adsorption properties because they remove more than 90 % of pesticides from the aqueous solution. The adsorption of pesticides onto activated samples generally follows the same trend as the specific surface area. Sample K129 with the highest specific surface area has the best adsorption properties (98 % removal rate). Nevertheless, the sample K1, which was not activated, removes dimethoate and carbofuran and decrease the concentration of other three pesticides for more than 50 %. Generally, for all

tested samples, level of pesticide adsorption follows the order: carbofuran, acetamiprid, dimethoate, atrazine and nicosulfuron.

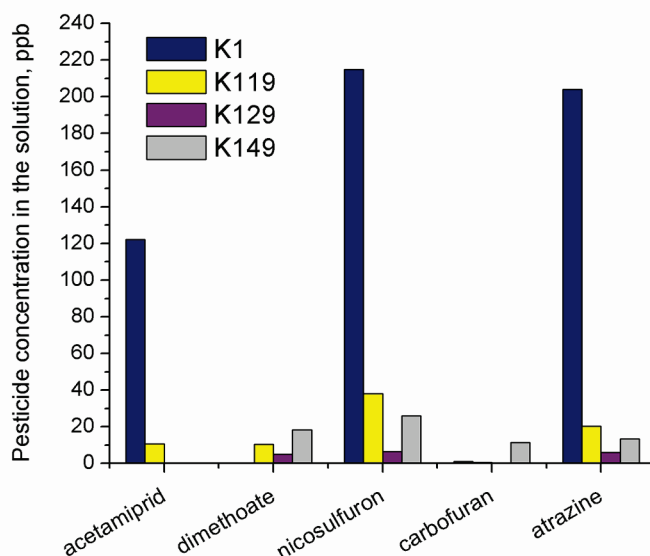


Figure 3. Pesticide concentration in the aqueous solution after adsorption

## Conclusion

In this work we produced the activated carbon material using the short hemp fibers as raw material. It has been shown that materials with high specific surface area ( $S_{BET}$ , (K129) = 2192 m<sup>2</sup>/g) can be obtained by KOH activation. However, specific surface area and the amount of surface oxygen groups increase with the increased amount of KOH to the ratio of KOH:carbonized material = 2:1. Further increase of KOH amount decrease the specific surface area and the amount of surface oxygen groups. The possibility of using produced materials for pesticide removal was also tested. All samples have good adsorption properties, inactivated sample decrease pesticide concentration for more than 50 %, while activated samples remove more than 90 % of pesticides.

*Acknowledgments:* The authors wish to thank the Ministry of Education and Science of the Republic of Serbia for financial support through the project of Basic Research, number 172007 and Physics and Chemistry with Ion Beams (III) No 45006.

## Adsorpcija pesticida na karbonizovanim kratkim vlaknima konoplje aktiviranim kalijum hidroksidom

*U ovom radu je predstavljeno dobijanje karbonizovanih otpadnih kratkih vlakana konoplje i njihova aktivacija kalijum hidroksidom uz korišćenje različitih odnosa kalijum hidroksida i karbonizovanog materijala. Površinske karakteristike dobijenih uzoraka predstavljene su specifičnom površinom dobijenom BET metodom i sadržajem površinskih funkcionalnih grupa dobijenih temperaturno-programiranom desorpcijom. Adsorpcija pesticida (acetamiprid, dimetoat, nicosulfuron, karbofuran i atrazin) na uzorcima karbonizovanih kratkih vlakana konoplje iz vodenih rasvora ispitivana je u šaržnom sistemu uz neprekidno mešanje. Dobijeni rezultati pokazuju da se aktivacijom sa kalijum hidroksidom može dobiti materijal visoke vrednosti specifične površine ( $S_{BET}$ , = 2192 m<sup>2</sup>/g). Specifična površina i količina površinskih funkcionalnih grupa zavise od količine aktivirajućeg agensa. Adsorpcioni kapacitet uzoraka takođe prati ovaj trend. Svi ispitivani uzorci imaju dobre adsorpcione karakteristike, neaktiviran uzorak konoplje snižava koncentraciju pesticida za više od 50 %, dok svi aktivirani uzorci uklanjaju više od 90 % pesticida iz vodenog rastvora.*

## References:

1. E. Ayranci, N. Hoda, *Chemosphere* **60** (2005) 1600.
2. B.H. Hameed, J.M. Salman, A.L. Ahmad, *J. Hazard. Mater.* **163** (2009) 121.
3. N. Daneshvar, S. Aber, A. Khani, A. R. Khataee, *J. Hazard. Mater.* **144** (2007) 47.
4. C. Palaekani, V. L. Snoeyink, *Carbon* **38** (2000) 1423.
5. E. Ayranci, N. Hoda, *J. Hazard. Mater. B* **112** (2004) 163.



6. E. Ayranci, N. Hoda, *Chemosphere* **57** (2004) 755.
7. E. Yagmur, M. Ozmak, Z. Aktas, *Fuel* **87** (2008) 3278.
8. B. Pejic, M. Vukcevic, M. Kostic, P. Skundric, *J. Hazard. Mater.* **164** (2009) 146.
9. M. Radišić, S. Grujić, T. Vasiljević, M. Laušević, *Food Chem.* **113** (2009) 712.
10. M. J. B. Evans, E. Halliop, J. A. F. MacDonald, *Carbon* **37** (1999) 269.
11. J. Guo, A.C. Lua, *Micropor. Mesopor. Mat.* **32** (1999) 111.
12. J. Laine, A. Calafat, *Carbon* **29** (1991) 949.
13. M. Domingo-Garcia, F.J. Lopez Garzon, M.J. Perez-Mendoza, *J. Colloid. Interface Sci.* **248** (2002) 116.

## Termohromno ponašanje i termodinamika hloro kompleksa kobalta(II) u smeši amonijum-nitrat – formamid

Sanja D. Dožić, Milan B. Vraneš, Slobodan B. Gadžurić

*Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine,  
Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad, Srbija*

### Uvod

Poznata je činjenica da po dodatku kobalta(II) u određeni medijum koji sadrži i halogenidne jone sa promenom temperature dolazi do takozvanog termohromnog efekta. Za proučavanje ovog fenomena i njegovu eventualnu primenu kao materijala za autoregulaciju osenčenja i zaštite od preteranog Sunčevog zagrevanja, uglavnom su korišteni anhidrovani rastopi soli<sup>1-3</sup> i tzv. vodeni rastopi soli<sup>4-7</sup>. U novije vreme se koriste rastopi organskih molekula i smeše organskih molekula sa neorganskim solima. Građenje halogenidnih kompleksa kobalta(II) u rastopu acetamida, smeše acetamida i kalcijum-nitrata-tetrahidrata i acetamida i amonijum-nitrata proučavano je i opisano u literaturi<sup>8-10</sup>. Kasnije su započeta i proučavanja u kojima je acetamid zamenjen dimetilsulfoksidom<sup>11</sup>. Osim toga, danas se pojavila i potreba za proširenjem proučavanja termohromnog efekta i u jonskim tečnostima, koje su poznate kao zeleni i benigni rastvarači<sup>12</sup>.

Nastavljajući proučavanja halogenidnih kompleksa kobalta(II), u ovom radu smo izložili rezultate o ponašanju i termodinamici građenja hloro kompleksa kobalta(II) u sistemu  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$ . Takođe je analiziran i uticaj sastava smeše, odnosno formamida na stabilnost i termodinamiku građenja hloro kompleksa kobalta(II).

### Eksperimentalni deo

Sve upotrebene hemikalije bile su kvaliteta *p.a.* Rastvarač  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$  je pripremljen mešanjem i topljenjem odgovarajućih količina amonijum-nitrata (*Merck*), osušenog na 353 K u trajanju od 6h i formamida (*Merck*). Osnovni rastvor kobalta(II)-hlorida dobijen je rastvaranjem anhidrovanog kobalt(II)-hlorida (*Fluka*) u prethodno odmerenoj količini rastvarača. Odmeravanjem ovog rastvora kobalta(II) i različitim količinama čvrstog amonijum-hlorida, u erlenmajere sa brušenim čepom pripremljene su serije rastvora sa različitim koncentracijama hlorida, odnosno različitim odnosima koncentracija hlorida i kobalta(II).

Apsorpcioni spektri su snimljeni u vidljivoj oblasti spektra (400-800 nm) pomoću spektrofotometra *Secomam Anthelie Advanced 2*. Spektrofotometar je povezan sa termostatom, čime je bilo moguće pratiti promenu apsorpcionih spektara kobalta(II) sa temperaturom. Kvarcne kivete čija je dužina optičkog puta iznosila 10 mm sa teflonskim čepom su termostatorane sa preciznošću od  $\pm 0,5$  K. Snimljeni su spektri serije rastopa sa različitim odnosima koncentracija hloridnih jona i jona kobalta(II) u temperaturskom ospegu od 308,15 do 348,15 K. Referentni rastvor je bio rastvarač  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$  u koji je dodata odgovarajuća mala količina amonijum-hlorida.

Zbog velike gustine proučavanih smeša, za pripremanje rastopa određenog sastava sve komponente su bile odmeravane na analitičkoj vagi, umesto da im je merena zapremina kao što je to uobičajeno prilikom pripreme vodenih rastvora. Za izračunavanje prosečnih molarnih apsorpcionih koeficijenata iz izmerene apsorbcije, potrebno je sastav rastvora izraziti u molaritetu ( $\text{mol dm}^{-3}$ ), tako da je za prevođenje molaliteta na količinsku koncentraciju bilo neophodno poznavanje gustine ispitivanih rastopa na određenoj temperaturi. Stoga smo odredili gustine smeše  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$  pri različitoj količini hloridnih jona u temperaturskom intervalu od 308,15 do 348,15 K. Zavisnost gustine od temperature i molaliteta hloridnih jona data je jednačinom (1):

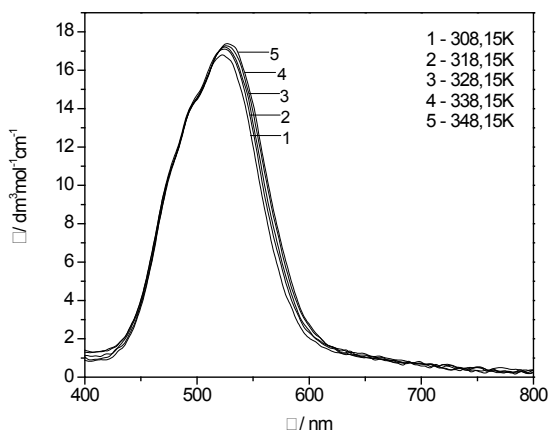
$$d / \text{gcm}^{-3} = 1,4601 - 7,64 \cdot 10^{-4} T - (7,02 \cdot 10^{-3} - 2,65 \cdot 10^{-5} T) \cdot m(\text{Cl}^-) \quad (1)$$

gde je  $T$  temperatura u K, a  $m(\text{Cl})$  molalitet hloridnih jona u rastvoru izražen u  $\text{mol kg}^{-1}$ .

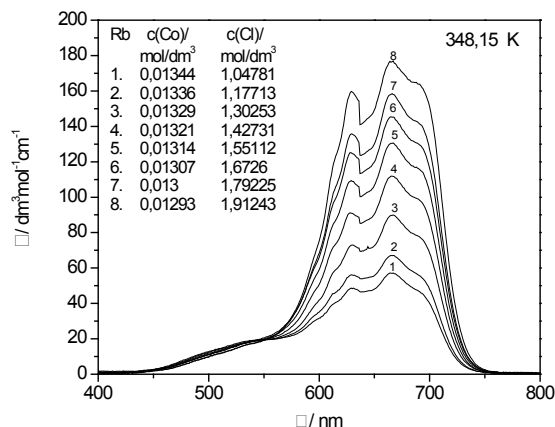
### Rezultati i diskusija

Apsorpcioni spektar rastvora kobalt(II)-hlorida bez dodatka amonijum-hlorida prikazan je na Slici 1. Apsorpcioni maksimum se javlja na 527 nm što je veoma blizu vrednosti od 550 nm dobijenu za oktaedarski kompleks kobalt(II)-nitrata u rastopu eutektika  $(\text{K,Li})\text{NO}_3$ <sup>3,13</sup>. Položaj maksimuma apsorpcione trake i vrednost molarnog apsorpcionog koeficijenta ukazuju na oktaedarsku koordinaciju kobalta(II)<sup>4,14</sup>. Sa Slike 1 se vidi i porast molarnog apsorpcionog koeficijenta sa porastom temperature što je karakteristično za oktaedarsku geometriju kobalta(II).

Dodatak amonijum-hlorida u rastope koji sadrže određenu koncentraciju kobalta(II) uzrokuje pomeranje osnovnih apsorpcionih traka ka nižim energijama i nagli porast molarnog apsorpcionog koeficijenta (Slika 2). Kao što se sa Slike 2 vidi, dolazi do pojave dva apsorpciona maksimuma na 630 i 666 nm i „ramena“ na 688 nm kao posledica formiranja hloro kompleksa kobalta(II). Na osnovu položaja apsorpcionih maksimuma i vrednosti molarnih apsorpcionih koeficijenta može se pretpostaviti da se grade kompleksi sa tetraedarskom strukturom<sup>3,15,16</sup>. Radi preglednosti, na Slici 2 su date koncentracije jona kobalta(II) i hloridnih jona za 8 odabranih spektara.

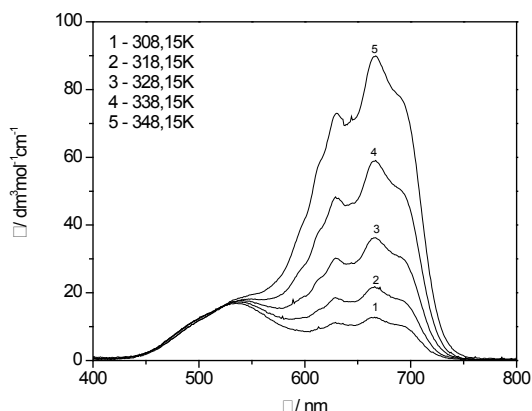


Slika 1. Absorpcioni spektri rastvora kobalt(II)-hlorida na različitim temperaturama;  $m(\text{Co}^{2+})=0,01178 \text{ mol kg}^{-1}$

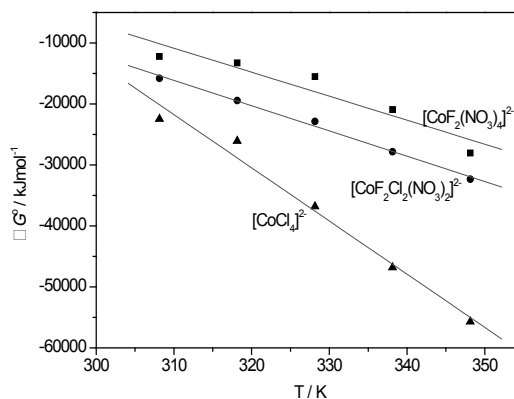


Slika 2. Absorpcioni spektri hloro kompleksa kobalta(II) na 348,15 K

Povećanje temperature utiče na porast prosečnog molarnog apsorpcionog koeficijenta hloro kompleksa kobalta(II), što je suprotno očekivanom ponašanju tetraedarskih kompleksa. Ovakvo ponašanje se može objasniti prisustvom nižih oktaedarskih kompleksa kobalta(II) sa nitratnim jonima ili molekulima formamida ili je tetraedarska struktura veoma deformisana. Da ovakvi kompleksi zaista postoje, pokazala je faktor-analiza dobijenih spektara prilikom izračunavanja njihovih konstanti stabilnosti. Na Slici 3 prikazana je promena prosečnog molarnog apsorpcionog koeficijenta hloridnih kompleksa kobalta(II) sa promenom temperature.

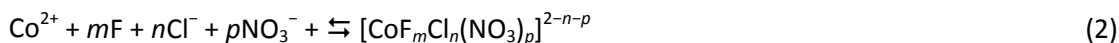


Slika 3. Promena apsorpcionih spektara hloro kompleksa kobalta(II) sa temperaturom  $m(\text{Co}^{2+})=0,01109 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;  $m(\text{Cl}^-)=1,08665 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$



Slika 4. Zavisnost  $\Delta G^0$  od  $T$  za hloro komplekse kobalta(II) u sistemu  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$  (F = formamid)

Iz vrednosti apsorbacija snimljenih spektara i koncentracija jona kobalta(II) odnosno liganada izračunate su konstante stabilnosti kompleksa kobalta(II). Ravnoteža reakcije građenja kompleksa centralnog jona sa tri potencijalna liganda može se okarakterisati sledećom jednačinom:



i bruto konstantama stabilnosti  $\beta_{mnp}$ :

$$\beta_{mnp} = [\text{CoF}_m\text{Cl}_n(\text{NO}_3)_p] / [\text{Co}][\text{F}]^m[\text{Cl}]^n[\text{NO}_3]^p \quad (3)$$

Za izračunavanja konstanti stabilnosti  $\beta_{mnp}$  i molarnih apsorpcionih koeficijenata pojedinih kompleksnih čestica,  $\varepsilon_{mnp}(\lambda)$  korištena je nelinearna regresiona analiza i programi STAR<sup>17</sup> i HypSpec<sup>18,19</sup>. Deo programa STAR (STAR/FA) je omogućavao određivanje broja apsorbujućih čestica pomoću faktor-analize. Na osnovu apsorpcionih spektara koji pokazuju kontinualnu promenu sa koncentracijom hlorida i odsustvom izobestičke tačke, može se očekivati preklapanje spektara pojedinih kompleksnih vrsta i nastajanje različitih kompleksa sa hloridnim ligandom uključujući i mešovite komplekse sa nitratnim jonima i molekulima formamida.

Nakon urađene faktor analize zaključeno je da se formiraju sledeći kompleksi:  $[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$ ,  $[\text{CoF}_2\text{Cl}_2(\text{NO}_3)_2]^{2-}$  i  $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ , gde F označava molekule formamida. Njihove bruto konstante stabilnosti izračunate su na 308,15, 318,15, 328,15, 338,15 i 348,15 K, a vrednosti su date u Tabeli 1. Dobijeni rezultati potvrđuju pretpostavku da nastaju mešoviti kompleksi. Konstante stabilnost svih kompleksa rastu sa temperaturom.

Tabela 1.  $\log(\beta_{mnp}/(\text{mol}^{-1}\text{dm}^3)^4)$  za  $[\text{CoF}_m\text{Cl}_n(\text{NO}_3)_p]^{2-n-p}$  u sistemu  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$

T/K	$[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$	$[\text{CoF}_2\text{Cl}_2(\text{NO}_3)_2]^{2-}$	$[\text{CoCl}_4]^{2-}$
308,15	2,02±0,08	2,68±0,08	3,82±0,07
318,15	2,18±0,08	3,19±0,04	4,28±0,11
328,15	2,47±0,04	3,65±0,03	5,86±0,05
338,15	3,27±0,06	4,33±0,07	7,26±0,04
348,15	4,21±0,06	4,85±0,02	8,36±0,04

Na osnovu poznatih vrednosti konstanti stabilnosti  $\beta_{mnp}$  na različitim temperaturama mogu se izračunati termodinamički parametri za reakcije građenja kompleksa, koristeći relaciju:

$$\Delta G^\circ = -2,303RT \log \beta_{mnp} \quad (4)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (5)$$

gde je  $\Delta H^\circ$  promena standardne entalpije, a  $\Delta S^\circ$  promena standardne entropije. Predstavljanjem zavisnosti  $\Delta G^\circ$  u funkciji od temperature, dobijaju se linearne zavisnosti, čiji odsečki na y-osi daju vrednosti  $\Delta H^\circ$ , dok se iz nagiba pravih mogu izračunati vrednosti  $\Delta S^\circ$ . Sa Slike 4 može da se uoči da je  $\Delta G^\circ$  za hloro komplekse kobalta(II) dobra linearna funkcija od temperature. Stoga su termodinamičke funkcije  $\Delta H^\circ$  i  $\Delta S^\circ$  dobijene linearnom regresijom kao nezavisne konstante od temperature u celom ispitivanom temperaturnom intervalu.

Tabela 2. Vrednosti standardnih termodinamičkih funkcija za građenje kompleksa  $[\text{CoF}_m\text{Cl}_n(\text{NO}_3)_p]^{2-n-p}$  u sistemu  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$

	$[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$	$[\text{CoF}_2\text{Cl}_2(\text{NO}_3)_2]^{2-}$	$[\text{CoCl}_4]^{2-}$
$\Delta H^\circ / \text{kJmol}^{-1}$	111,1±24,7	112,3±5,9	248,6±22,9
$\Delta S^\circ / \text{Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$	248,6±75,0	414,0±18,0	872,0±69,0

Pozitivne vrednosti standardnih promena entalpije u Tabeli 2 ukazuju na to da je formiranje svih kompleksa endotermni proces. Promena iz oktaedarske u tetraedarsku koordinaciju kompleksa kobalta(II) sa hloridnim jonima favorizovana je povećanjem koncentracije hloridnih jona, odnosno povećanjem temperature. Ovo je potvrđeno i termodinamičkim proračunima reakcija građenja ovih kompleksa. Iz Tabele 2 vidi se da su vrednosti standardne promene entalpije i entropije za reakcije građenja kompleksa  $[\text{CoCl}_4]^{2-}$  u svim sistemima veće od vrednosti za  $[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$ , odnosno da građenje halogenidnih kompleksa kobalta(II) u našem sistemu ide na račun povećanja entropije. Ovo možemo da objasnimo jačim elektrostatičkim privlačenjem između hloridnih jona i jona kobalta(II) u odnosu na nitratne jone i molekule formamida.

### Zaključak

Položaj apsorpcionog maksimuma i vrednost prosečnog apsorpcionog koeficijenta na apsorpcionom spektru rastvora kobalta(II) u rastopu  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4\text{HCONH}_2$  koji ne sadrži hlorid ukazuje na oktaedarsku koordinaciju kobalta(II). Dodatak amonijum-hlorida izaziva pomeranje apsorpcionog maksimuma i pojavu nove, višestruke, apsorpcione trake, karakteristične za tetraedarsku koordinaciju kobalta(II). Značajan porast molarnog

apsorpcionog koeficijenta sa porastom temperature pokazuje da se pored tetraedarskih hlorldnih kompleksa grade i mešani kompleksi tipa  $[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$ ,  $[\text{CoF}_2\text{Cl}_2(\text{NO}_3)_2]^{2-}$  sa oktaedarskom ili deformisanom oktaedarskom strukturom. Na osnovu konstanti stabilnosti dobijenih na različitim temperaturama izračunati su termodinamički parametri za reakcije građenja hloro kompleksa kobalta(II). Proces građenja svih kompleksa u ispitivanom sistemu je endoterman proces, a građenje hloro kompleksa se dešava na račun povećanja entropije.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva za obrazovanje Republike Srbije u okviru projekta broj ON172012.

### Thermochromic Behaviour and Thermodynamic of Cobalt(II) Chloro Complexes in Ammonium Nitrate – Formamide Mixture

*Absorption spectra of cobalt(II) chloride in  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot 4 \text{HCONH}_2$  system have been investigated in the wavelength range 400-800 nm at temperatures 308,15, 318,15, 328,15, 338,15 and 348,15 K. Addition of chloride ions to cobalt(II) chloride solution caused a pronounced shift of the absorption maximum toward lower energies and a significant increase of absorption intensity, indicating a change in co-ordination geometry. The increase of the overall molar absorption coefficient in the chloride containing melts with temperature was attributed to mixed complex formation with solvent molecules (or ions) ions and structural changes in the cobalt(II) complexes. From an analysis of the spectra it was concluded that the following complexes were formed:  $[\text{CoF}_2(\text{NO}_3)_4]^{2-}$ ,  $[\text{CoF}_2\text{Cl}_2(\text{NO}_3)_2]^{2-}$  and  $[\text{CoCl}_4]^{2-}$ . The overall stability constants of these complexes and the corresponding resolved species spectra were calculated at 308,15, 318,15, 328,15, 338,15 and 348,15 K. Thermodynamic parameters were calculated using the temperature dependence of stability constants we determined. Complex formation in all systems is endothermic process followed with higher entropy values.*

#### Literatura:

1. D. Kerridge, I. Sturton, *Inorg. Chim. Acta*, **10** (1974) 13.
2. P. Tumidajski, M. Blander, *J. Phys. Chem.*, **99** (1995) 9992.
3. I. Tananaev, B. Dzhurinskii, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **134** (1960) 1374.
4. D. Kerridge, R. Nikolić, D. Stojić, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1986) 1663.
5. S. Gadžurić, I. Zsigrai, R. Nikolić, L. Nagy, *Z. Naturforsch.*, **59a** (2004) 602.
6. M. Vraneš, S. Gadžurić, I. Zsigrai, *J. Mol. Liq.*, **135** (2007) 135.
7. M. Marinković, R. Nikolić, J. Savović, S. Gadžurić, I. Zsigrai, *Sol. Energy Mater. & Sol. Cells*, **51** (1998) 401.
8. J. Savović, R. Nikolić, D.H. Kerridge, *Fluid Phase Equilibria*, **118** (1996) 143.
9. J. Savović, R. Nikolić, D. Veselinović, *J. Sol. Chem.*, **33** (2004) 287.
10. I. Zsigrai, S. Gadžurić, B. Matijević, *Z. Naturforsch.*, **60a** (2005) 201.
11. B. Matijević, I. Zsigrai, M. Vraneš, S. Gadžurić, *J. Mol. Liq.*, **154** (2010) 82.
12. X. Wei, L. Yu, D. Wang, X. Jin, G. Chen, *Green Chemistry*, **10** (2008) 29.
13. S. Hemmingsson, B. Holmberg, *Inorg. Chem.*, **19** (1980) 2242.
14. M. Vraneš, I. Zsigrai, S. Gadžurić, *J. Mol. Liq.*, **145** (2009) 14.
15. I. Tananaev, B. Dzhurinskii, *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, **135** (1960) 94.
16. D. Gruen, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **4** (1957) 74.
17. J. Beltran, R. Codony, M.D. Prat, *Anal. Chim. Acta*, **276** (1993) 441.
18. P.Gans, A.Sabatini, A.Vacca, *Talanta*, **43** (1996) 1739.
19. P.Gans, A.Sabatini, A.Vacca, *Ann. di Chimica*, **89** (1999) 45.

## Računarsko modelovanje humane krvne plazme

Ivan T. Lazarević, Ivan Jakovljević\*, Andrija Ćirić\*, Ratomir Jelić\*\*, Milena Jelikić-Stankov\*\*\*, Predrag Đurđević\*

Centar za usavršavanje kadrova ABHO Vojske Srbije, Balkanska 57, 37000 Kruševac, Srbija

\*Prirodno-matematički fakultet, R. Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija

\*\*Medicinski fakultet, S. Markovića 69, 34000 Kragujevac, Srbija

\*\*\*Farmaceutski fakultet, V. Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

### Uvod

Opšte je poznato da metalni joni imaju važnu ulogu u biološkim sistemima. U humanoj krvnoj plazmi kao i u ostalim biološkim fluidima, mogu se klasifikovati u četiri posebne frakcije: oni koji su inkorporirani u metaloproteine i koji su neizmenljivi (npr. bakar vezan u ceruloplazmi); oni koji su relativno slabo vezani sa proteinima i koji su u labilnoj ravnoteži sa sličnim jonima u rastvorima (npr. bakar vezan u serumskom albuminu); oni koji su kompleksirani sa brojnim ligandima niske molekulske mase, uključujući anjone amino kiselina, karboksilate, karbonate, fosfate, salicilate i askorbate; i slobodni metalni joni ili akva joni. Modelovanje specijacija u krvnoj plazmi otpočeli su Perin (*Perrin*) i saradnici<sup>1-3</sup>. Njihovi najraniji modeli bili su ograničeni na metalne jone  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  sa izabranim aminokiselinama (16 početno, a naknadno 22) kao ligandima. U kasnijem periodu, razvio je sisteme u koje je uključio proteine (albumin i globulin) kao i metalne jone  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$ .<sup>1-3</sup> Prvi modeli su bili ograničeni na jedan ili dva metalna jona sa ograničenim brojem liganada. Razvoj brzih kompjutera sa većim memorijama omogućio je da ovi modeli mogu biti prošireni na višekomponentne sisteme. U modelu krvne plazme koji su razvili Mej (*May*) i saradnici<sup>4</sup>, razmatrano je istovremeno 7 metalnih jona, 40 liganada sa oko 5000 njihovih kompleksa. Suštinski proces u razvoju bilo kog modela specijacije je definisanje niza hemijskih ravnoteža koje opisuju razmatrani sistem. Prilikom definisanja ravnoteža, potrebno je uključiti i vrednosti ravnotežnih konstanti. Ovo je jedna od najtežih prepreka u procesu modelovanja specijacija, jer precizne konstante ravnoteža nisu uvek raspoložive, a u nekim slučajevima, sve moguće ravnoteže nisu ni identifikovane. Na osnovu stehiometrije reakcije i konstante ravnoteže koncentracija neke komponente  $i$ , koja se pojavljuje u  $i$  reakcija biće:

$$S_j = \beta_j \prod_i x_i^{k(i,j)}, \quad (1)$$

gde je  $S_j$  - koncentracija vrste  $j$ ,  $\beta_j$  - ravnotežna konstanta,  $x_i$  - ravnotežna koncentracija komponente  $i$ ,  $k(i,j)$  stehiometrijski koeficijenti komponenata. Serije ravnoteža, zajedno sa ukupnom  $i$  koncentracijom slobodnih komponenata, čine kompjuterski model ili bazu podataka razmatranog sistema.

Hyperquad Simulation and Speciation (HySS) je računarski program<sup>5</sup> napravljen u više verzija (HySS1, HySS2, HySS2003, HySS2006, HySS2009) za Windows operativni sistem. Program ima dve osnovne funkcije: simulaciju potencimetrijskih titracionih krivih i izračunavanje ravnotežnih koncentracija čestica u rastvoru. Struktura softvera HySS se zasniva na tome, da se ravnotežne koncentracije komponenata  $[A]$ ,  $[B]$  itd., dobijaju rešavanjem sistema jednačina balansa masa:

$$T_A = [A] + \sum_i a_i \beta_i [A]^{a_i} [B]^{b_i} \dots + \sum_j p_j C_j, \quad (2)$$

$$T_B = [B] + \sum_i a_i \beta_i [A]^{a_i} [B]^{b_i} \dots + \sum_j q_j C_j, \quad (3)$$

gde su  $A$ ,  $B$  itd. reagensi,  $a$ ,  $b$ , ...,  $p$ ,  $q$ , itd. stehiometrijski indeksi,  $\beta$  predstavlja (kumulativnu) ravnotežnu konstantu, a  $C$  predstavlja molarnu koncentraciju nerastvorne vrste (količina čvrste komponente podeljena sa zapreminom rastvora) i koristi se ukoliko ima nerastvornih vrsta. Broj ravnoteža u krvnoj plazmi je jako veliki. Mej<sup>4</sup> i saradnici su konstruisali početni i osnovni kompjuterski model krvne plazme (kompjuterskim programom ECCLES) u pokušaju da izračunaju koncentraciju svih mogućih vrsta u ravnoteži i da objasne neka klinička posmatranja. Nakon konstrukcije osnovnog modela krvne plazme u ECCLES-u, pojavio se veliki broj novih podataka o ravnotežama, pa se ukazala i potreba za dopunom osnovnog modela krvne plazme. Novi kompjuterski programi za proučavanje specijacija u dinamičkim višekomponentnim sistemima (npr. krvna plazma), napisani su pod Windows operativnim sistemom pružajući korisnicima lakši i fleksibilniji rad u odnosu

na unos potrebnih podataka i grafički prikaz rezultata izračunavanja. Iz tih razloga, u ovom radu program HySS primenjen je za modelovanje humane krvne plazme, koji je uključio najzastupljenije jone i ligande. Dobijeni rezultati upoređeni su sa publikovanim rezultatima Mejovog modela pri tri pH vrednosti krvne plazme.

### Rezultati i diskusija

U HySS računarskom modelovanju humane plazme razmatrani su joni metala i ligandi koji su najviše zastupljeni u plazmi u fiziološkim uslovima. Korišćene vrste prikazane su u Tabeli 1. Srednje koncentracije liganada u plazmi su preuzete iz Mejovog modela<sup>4</sup>. Slobodne koncentracije jona metala<sup>4,6</sup> u plazmi određene su iz publikovanih vrednosti izmerenih koncentracija jona metala uzimajući u obzir da je frakcija metala raspoloživa za vezivanje sa ligandima niske molekulske mase određena: a) vezivanjem metala za proteine plazme (albumin, transferin, specifični metalo-proteini) b) proizvodom rastvorljivosti ( $K_{s,o}$ ) slabo rastvornih jedinjenja sa jonima plazme ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ). Ravnoteže a) i b) ograničavaju raspoloživu frakciju metala, pri čemu metalo-proteini imaju i ulogu „pufera“ metala, odnosno, otpuštanjem jona metala omogućavaju održavanje njihove slobodne koncentracije u krvnoj plazmi. Koncentracija slobodnih jona metala u plazmi izračunata je na osnovu publikovanih konstanti vezivanja za proteine i proizvoda rastvorljivosti. Korišćene vrednosti date su u Tabeli 1. Konstante stabilnosti kompleksa uzete su iz NIST-ove baze<sup>7</sup> i iz IUPAC-ove baze konstanti stabilnosti<sup>8</sup>, a u slučaju da se odgovarajuće vrednosti nisu mogle naći u bazama, korišćeni su adekvatni literaturni izvori. Ukupno je u model uključeno oko 3000 kompleksa, pri čemu su osim binarnih, uključeni i mešoviti kompleksi, pre svega sa aminokiselinama. Za dobijanje pouzdanih rezultata uzete su vrednosti konstanti stabilnosti koje su bliske onima u fiziološkim uslovima (310 K i 0,15 mol/dm<sup>3</sup> NaCl). Pošto te vrednosti nisu uvek bile raspoložive na osnovu termodinamičkih podataka ( $\Delta H^\circ$  i  $\Delta S^\circ$ ) i primenom SIT teorije izvršena je korekcija konstanti stabilnosti na fiziološke uslove.

Tabela 1. Ukupne koncentracije liganada i metalnih jona za osnovni model u krvnoj plazmi

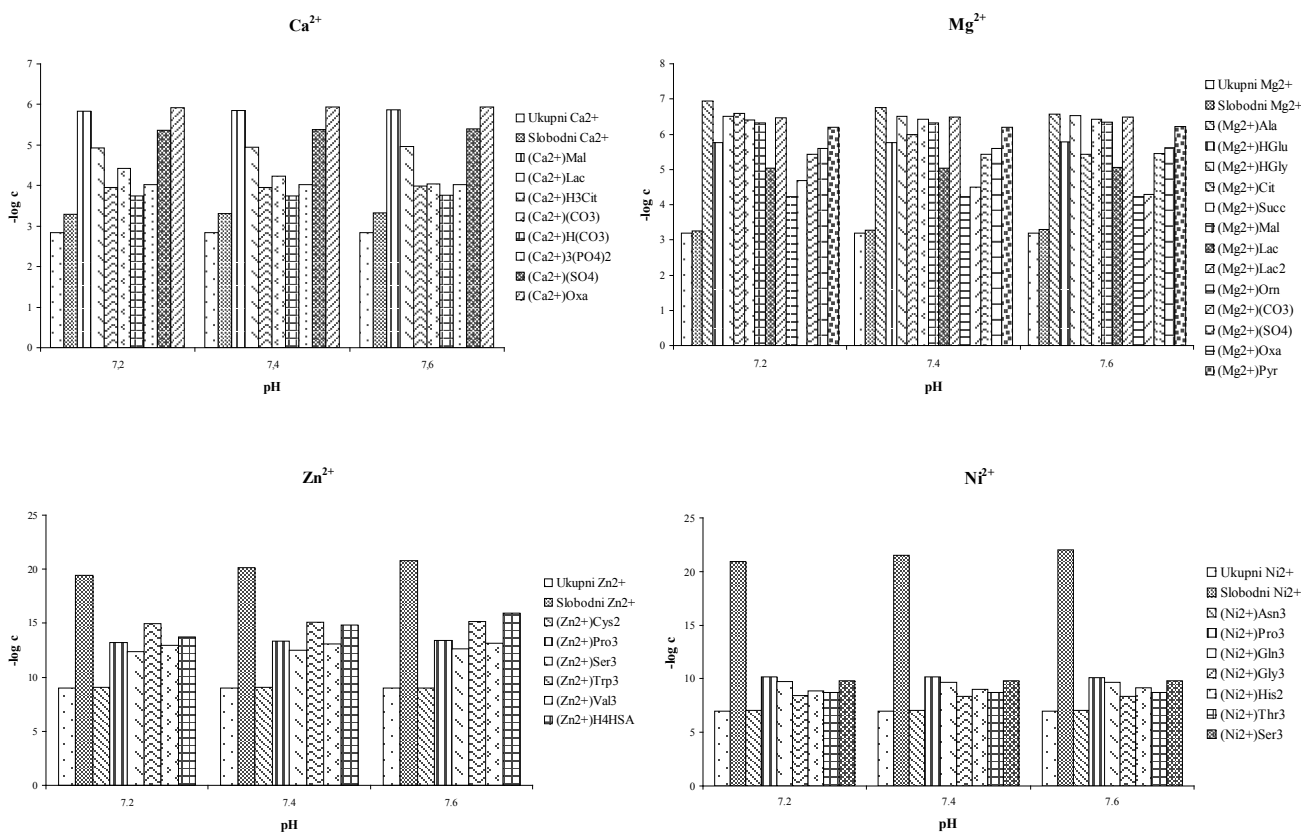
Komponenta	[mol/dm <sup>3</sup> ]	Komponenta	[mol/dm <sup>3</sup> ]
<b>Proteini</b>		<b>Neorganski ligandi</b>	
Humani serum albumin (HSA)	7,2×10 <sup>-4</sup>	Karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ )	2,5×10 <sup>-2</sup>
Transferin (Tf)	2,5×10 <sup>-5</sup>	Fosfat ( $\text{PO}_4^{2-}$ )	1,6×10 <sup>-3</sup>
<b>Aminokiseline</b>		Tiocijanat ( $\text{SCN}^-$ )	1,4×10 <sup>-5</sup>
Alanin (Ala)	3,7×10 <sup>-4</sup>	Silikat (Sil)	1,4×10 <sup>-4</sup>
Aminobutirat (Ambu)	2,4×10 <sup>-5</sup>	Sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ )	2,1×10 <sup>-4</sup>
Arginin (Arg)	9,5×10 <sup>-5</sup>	Amonijak ( $\text{NH}_3$ )	2,4×10 <sup>-5</sup>
Asparagin (Asn)	5,5×10 <sup>-5</sup>	$\text{OH}^-$	1,2×10 <sup>-6</sup>
Aspartat (Asp)	5,0×10 <sup>-6</sup>	<b>Karboksilne kiseline</b>	
Cistein (Cys)	2,3×10 <sup>-5</sup>	Citrat (Cit)	1,1×10 <sup>-4</sup>
Cistin (Cis)	4,0×10 <sup>-5</sup>	Laktat (Lac)	1,8×10 <sup>-3</sup>
Citrulin (Citrl)	2,7×10 <sup>-5</sup>	Malat (Mal)	3,5×10 <sup>-5</sup>
Glutamin (Gln)	4,8×10 <sup>-5</sup>	Oksalat (Oxa)	1,2×10 <sup>-5</sup>
Glutaminat (Glu)	5,2×10 <sup>-4</sup>	Piruvat (Pyr)	9,5×10 <sup>-5</sup>
Glicin (Gly)	2,4×10 <sup>-4</sup>	Salicilat (Sal)	5,0×10 <sup>-6</sup>
Histidin (His)	8,5×10 <sup>-5</sup>	Sucinat (Succ)	4,2×10 <sup>-5</sup>
Histamin (Hsn)	1,0×10 <sup>-8</sup>	Askorbat (Asc)	4,3×10 <sup>-5</sup>
Hidroksiprolinat (Hypro)	7,0×10 <sup>-6</sup>	<b>Metalni joni</b>	
Izoleucinat (Ile)	6,5×10 <sup>-5</sup>	$\text{Ca}^{2+}$	1,43×10 <sup>-3</sup>
Leucin (Leu)	1,2×10 <sup>-4</sup>	$\text{Mg}^{2+}$	6,48×10 <sup>-4</sup>
Lizin (Lys)	1,8×10 <sup>-4</sup>	$\text{Cu}^{2+}$	1,0×10 <sup>-18</sup>
Metionin (Met)	2,9×10 <sup>-5</sup>	$\text{Fe}^{2+}$	1,0×10 <sup>-11</sup>
Ornitin (Orn)	5,8×10 <sup>-5</sup>	$\text{Fe}^{3+}$	1,0×10 <sup>-23</sup>
Fenilalanin (Phe)	6,4×10 <sup>-5</sup>	$\text{Pb}^{2+}$	1,0×10 <sup>-14</sup>
Prolin (Pro)	2,1×10 <sup>-4</sup>	$\text{Mn}^{2+}$	1,79×10 <sup>-12</sup>
Serin (Ser)	1,2×10 <sup>-4</sup>	$\text{Zn}^{2+}$	1,0×10 <sup>-9</sup>
Treonin (Thr)	1,5×10 <sup>-4</sup>	$\text{Ni}^{2+}$	9,9×10 <sup>-8</sup>
Triptofosfat (Trp)	1,0×10 <sup>-5</sup>	$\text{VO}^{2+}$	1,0×10 <sup>-9</sup>
Tirozin (Tyr)	5,8×10 <sup>-5</sup>	$\text{Bi}^{3+}$	2,0×10 <sup>-8</sup>
Valin (Val)	2,3×10 <sup>-4</sup>		

Rezultati izračunavanja slobodnih koncentracija jona metala dobijenih u našem radu (programom HySS) i publikovanih (programom ECCLES) dati su u Tabeli 2. Neslaganja kod pojedinih metala ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ), mogu se pripisati razlikama u vrednostima korišćenih konstanti stabilnosti kompleksa u našem radu i izvršenoj korekciji koncentracija na proizvod rastvorljivosti.

Tabela 2. Poređenje rezultata osnovnog modela krvne plazme u ECCLES-u<sup>4</sup> i HySS-u<sup>5</sup>

Program	HySS			ECCLES			
	pH→	7,2	7,4	7,6	7,2	7,4	7,6
↓Jon metala		Koncentracija jona metala, mol/dm <sup>3</sup>					
$\text{Ca}^{2+}$		$1,43 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-3}$	$1,43 \times 10^{-3}$	$1,46 \times 10^{-3}$	$1,51 \times 10^{-3}$
$\text{Mg}^{2+}$		$6,48 \times 10^{-4}$	$6,48 \times 10^{-4}$	$6,48 \times 10^{-4}$	$6,48 \times 10^{-4}$	$6,56 \times 10^{-4}$	$6,67 \times 10^{-4}$
$\text{Mn}^{2+}$		$1,79 \times 10^{-12}$	$1,79 \times 10^{-12}$	$1,79 \times 10^{-12}$	$1,79 \times 10^{-12}$	$1,83 \times 10^{-12}$	$1,89 \times 10^{-12}$
$\text{Fe}^{3+}$		$2,26 \times 10^{-19}$	$1,00 \times 10^{-23}$	$1,84 \times 10^{-19}$	$4,24 \times 10^{-13}$	$6,68 \times 10^{-13}$	$1,06 \times 10^{-12}$
$\text{Cu}^{2+}$		$1,00 \times 10^{-18}$	$1,00 \times 10^{-18}$	$1,00 \times 10^{-18}$	$6,04 \times 10^{-12}$	$1,57 \times 10^{-11}$	$4,14 \times 10^{-11}$
$\text{Zn}^{2+}$		$1,00 \times 10^{-9}$	$1,00 \times 10^{-9}$	$1,00 \times 10^{-9}$	$1,79 \times 10^{-12}$	$1,84 \times 10^{-7}$	$5,50 \times 10^{-7}$
$\text{Pb}^{2+}$		$1,00 \times 10^{-14}$	$1,00 \times 10^{-14}$	$1,00 \times 10^{-14}$	$2,67 \times 10^{-11}$	$5,88 \times 10^{-11}$	$1,30 \times 10^{-10}$

Raspodela pojedinih kompleksa u plazmi prikazana je u obliku histograma na Slici 1. Raspodela je prikazana za jone  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  i  $\text{Ni}^{2+}$  i komplekse koji se u plazmi formiraju u najvećoj koncentraciji.



Slika 1. Raspodela kompleksa u humanoj plazmi

Sa Slike 1 se može uočiti da je efekat pH na distribuciju kompleksa jona metala u plazmi značajan, u smislu promene koncentracija pojedinih kompleksnih vrsta. Uočljivo je formiranje binarnih i protonovanih binarnih kompleksa kao najdominantnijih. Jon  $\text{Ca}^{2+}$  formira kao dominantne komplekse najviših koncentracija ( $10^{-4}$ - $10^{-6}$  mol/dm<sup>3</sup>) sa malatom i laktatom, kao i rastvorne komplekse sa citratom, oksalatom, karbonatom, sulfatom i fosfatom. Jon  $\text{Mg}^{2+}$  formira komplekse najviših koncentracija ( $10^{-4}$ - $10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup>) sa alaninom, glutaminatom, glicinom, sukcinatom, malatom, ornitinom i piruvatom. Jon  $\text{Zn}^{2+}$  formira komplekse značajno manjih koncentracija ( $10^{-10}$ - $10^{-14}$  mol/dm<sup>3</sup>) sa cisteinom, prolinom, serinom, triptofosfatom, valinom i humanim serum



albuminom, a Ni<sup>2+</sup> formira komplekse u koncentracijama 10<sup>-8</sup>-10<sup>-11</sup> mol/dm<sup>3</sup> sa asparaginom, histidinom, treoninom, prolinom, glicinom i serinom. Vezivanje jona metala za karboksilne kiseline i esencijalne amino-kiseline Kребсовог ciklusa i esencijalne amino-kiseline, može uticati na njihov metabolizam kao i na bioraspoloživost pojedinih amino-kiselina.

### Zaključak

Baza podataka formirana na osnovu literaturnih podataka o sastavu i stabilnosti kompleksa esencijalnih metala i biologanada, može se koristiti u programu HySS<sup>5</sup> za modelovanje raspodele metala i liganada niske molekulske mase u humanoј plazmi. Rezultati dobijeni za fiziološke uslove u skladu su sa raspoloživim literaturnim podacima<sup>9-11</sup>.

### Computer modeling of human blood plasma

*The computer model of human blood plasma has been developed using speciation program HySS and published stability constant data on complexes between essential metal ions and blood bioligands of low molecular mass. 11 metal ions and 42 ligands forming around 3000 complexes were included in speciation calculations. The calculated metal distribution between bioligands under physiological conditions is in agreement with so far published data and indicates considerable influence of small pH changes on speciation.*

### Literatura:

1. D. D. Perrin, *Nature*, **206** (1965) 170.
2. D. D. Perrin, *Suomen Kem.*, **42** (1969) 205.
3. P. S. Hallman, D. D. Perrin, A. E. Watth, *Biochem.J.*, **121** (1971) 549.
4. P. May, P. W. Linder, D. R. Williams, *J.Chem.Soc., Dalton Trans.*, (1977) 588.
5. L. Alderghi, P. Gans, A. Ienco, D. Peters, A. Sabatini, A. Vacca, *Coord. Chem. Rev.*, **184** (1999) 311.
6. H. G. Seiler, A. Sigel, H. Sigel, *Handbook on metals in clinical and analytical chemistry*, Marcel Dekker.Inc., (1994) 365.
7. R. M. Smith, A. E. Martell, R. J. Motekaitis, NIST Standard Reference Database 46, NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database, Version 8.0 For Windows, National Institute of Standards and Technology, (2004).
8. L. Pettit, K. Powell, SC-Database, Academic Software and IUPAC, (2004).
9. P. Letkeman, *J.Chem.Ed.*, **73(2)** (1996) 165.
10. J. Wang, H. Zhang, K. Yang, Ch. Nin, J. Nu, *Biol.Trace Elem.Res.*, **96** (2003) 125.
11. G. E. Jackson, *Polyhedron*, **9** (1990) 163.

## Određivanje prividnih i parcijalnih molarnih zapremina u sistemu amonijum-nitrat – N,N-dimetilformamid

Milan Vraneš, Sanja Dožić, Sanja Čalasan, Slobodan Gadžurić

*Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine,  
Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad*

### Uvod

Proučavanje fizičko-hemijskih osobina rastvora neorganskih soli sa organskim rastvaračima u širokom koncentracionom opsegu je izuzetno složeno zbog prisustva različitih interakcija koje se u tim sistemima javljaju. Proučavanja osobina ovakvih sistema, kao što su provodljivost<sup>1</sup>, viskoznost<sup>2</sup> i volumetrijske osobine<sup>3,4</sup> uglavnom su rađena u razblaženim rastvorima, odnosno u opsegu važenja *Debye-Hückel*-ovog zakona<sup>5,6</sup>. Naime, u koncentrovanim rastvorima do izražaja najviše dolaze jon-jon interakcije, dok sa razblaživanjem rastvora glavni uticaj na fizičko-hemijske karakteristike imaju interakcije između jona rastvorka i molekula rastvarača (jon-dipol interakcije). Kako uticaj ovih interakcija nije moguće pojedinačno posmatrati, pronalaženje jednačina koje bi predstavljale promenu jedne osobine rastvora u celom koncentracionom opsegu, od zasićenog do beskonačno razblaženog rastvora, na datoj temperaturi je veoma teško. Sa druge strane, uticaj temperature na jon-jon i jon-dipol interakcije je različit, odnosno sistemi u zavisnosti od sastva pokazuju različitu promenu fizičko-hemijskih osobina sa temperaturom. Zbog toga je važno da se pronađu oblasti koncentracija nekog sistema u kojima je uticaj pomenutih interakcija dominantan i koji određuje osobine sistema.

U ovom radu su predstavljeni rezultati proučavanja volumetrijskih osobina sistema amonijum-nitrat – N,N-dimetilformamid.

### Eksperimentalna tehnika

Sve upotrebene hemikalije su bile kvaliteta *pro analysi*. Amonijum-nitrat (*Merck*) sušen je na 353,15 K šest časova. N,N-dimetilformamid (*J.T. Backer*) je predestilovan i čuvan u zatvorenoj posudi u prisustvu molekulskih sita veličine pora 3Å. Rastvori za merenje gustina su pripremani odmeravanjem izračunatih masa amonijum-nitrata i N,N-dimetilformamida i njihovim topljenjem u zatvorenoj posudi na 353,15 K.

Merenje gustine rastvora rađeno je na automatskom denzimetru *Rudolph Research Analytical DDM 2911*, koji omogućava merenja sa preciznošću od  $\pm 0,00001 \text{ g cm}^{-3}$  i kontrolu temperature pomoću *Peltier*-ovog efekta u intervalu  $\pm 0,01 \text{ K}$ . Aparat poseduje staklenu U-cev u koju se unosi uzorak, a merenje gustine se zasniva na promeni frekvencije oscilovanja U-cevi, kada se u nju ubrizga rastvor koji se meri, u odnosu na supstancu poznate gustine. Aparat je najpre kalibrisan pomoću vazduha i 3 puta destilovane vode na 293,15 K. Uzorci se unose u denzimetar manuelno, injektovanjem pomoću šprica. Merenja su rađena na temperaturama 308,15, 318,15, 328,15, 338,15 i 348,15 K, za sisteme  $\text{NH}_4\text{NO}_3 \cdot n\text{DMF}$  gde je  $n = 2-10, 15, 20, 30, 40$  i 80, a DMF označava N,N-dimetilformamid. Nakon završenog merenja, vršeno je ispiranje U-cevi acetonom. Sušenje U-cevi od acetona rađeno je prodivavanjem vazduha kroz cev pomoću vazdušnog kompresora koji aparat poseduje. Kao provera da je U-cev čista, nakon svakog merenja urađeno je merenje gustine vazduha na 293,15 K i upoređeno sa standardnom vrednošću od  $0,00120 \text{ g cm}^{-3}$ . Dobijeni podaci su zatim dalje obrađeni u programu *Origin 6.1*.

### Rezultati i diskusija

Gustina je određena na različitim temperaturama za sisteme sa različitim molalnim udelom DMF. Dobijeni eksperimentalni rezultati su fitovani, pri čemu je ustanovljeno da je zavisnost gustine od temperature praktično linearna u ovom temperaturnom intervalu.

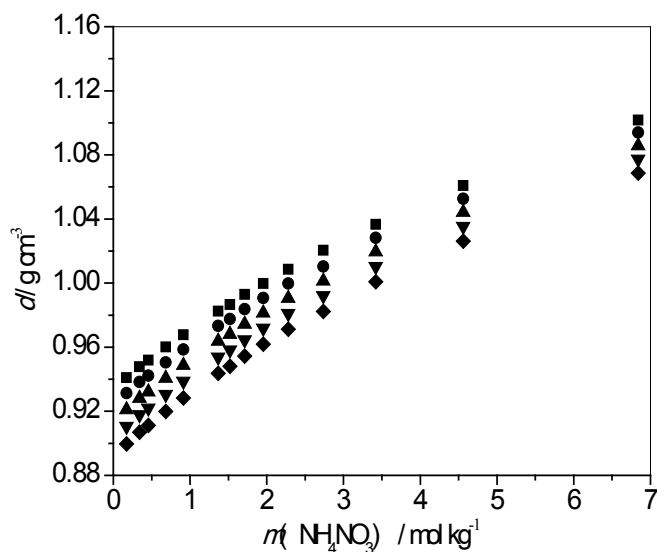
$$d = a + b \cdot T \tag{1}$$

gde je  $d$  gustina u  $\text{g cm}^{-3}$ , a  $T$  je temperatura izražena u K. Koeficijenti prave dobijeni iz jednačine (1) dati su u Tabeli 1.

Promena gustina smeša sa molalitetom amonijum-nitrata na različitim temperaturama predstavljena je na Slici 1. Sa Slike 1 se može uočiti da vrednost gustine raste sa porastom molaliteta.

Tabela 1. Koeficijenti jednačine  $d / \text{g}\cdot\text{cm}^{-3} = a + b\cdot T$  za  $\text{NH}_4\text{NO}_3\cdot n\text{DMF}$  u intervalu 308,15-348,15K

$n$	$a / \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$	$-b\cdot 10^4 / \text{cm}^{-3}\cdot\text{K}$	$\text{SD} \cdot 10^4$
2	1,1310	8,285	3,47
3	1,0915	8,669	3,55
4	1,0684	8,965	3,62
5	1,0516	9,190	3,55
6	1,0415	9,333	3,56
7	1,0331	9,459	3,52
8	1,2890	9,601	3,71
9	1,2836	9,628	3,79
10	1,2820	9,709	3,88
15	1,2729	9,890	4,22
20	1,2698	10,00	3,68
30	1,2654	10,20	3,68
40	1,2630	10,20	4,27
80	1,2610	10,40	4,65


 Slika 1. Zavisnost gustine smeše  $\text{NH}_4\text{NO}_3\cdot n\text{DMF}$  od molalитета;

■ 308,15; ● 318,15; ▲ 328,15; ▼ 338,15; ◆ 348,15

Iz eksperimentalnih podataka za gustine izračunata je prividna molarna zapremina, prividna molarna zapremina pri beskonačnom razblaženju, kao i parcijalne molarne zapremine amonijum-nitrata i N,N-dimetilformamida.

Prividna molarna zapremina  $V_\Phi$  se definiše kao razlika zapremine rastvora i zapremine čistog rastvarača po molu rastvorka i može se prikazati jednačinom (2):

$$V_\Phi = \frac{V - n_1 V_1^o}{n_2} \quad (2)$$

gde je  $V$  zapremina rastvora ( $\text{cm}^3$ ),  $n_1$  broj molova rastvarača (N,N-dimetilformamida),  $n_2$  broj molova rastvorka (amonijum-nitrata) i  $V_1^o$  molarna zapremina čistog rastvarača ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

Prividna molarna zapremina se izračunava preko jednačine:

$$V_\Phi = \frac{1000(d_o - d)}{m d d_o} + \frac{M_2}{d} \quad (3)$$

gde su  $M_2$  molarna masa rastvorka ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),  $d_o$  i  $d$  su gustine rastvarača i rastvora ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ) a  $m$  molalitet rastvora ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). Vrednosti za prividne molarne zapremine dobijene primenom jednačine (3) izražene sa greškama merenja date su u Tabeli 2.

Tabela 2. Vrednosti prividnih molarnih zapremina u temperaturnom intervalu 308,15-348,15 K

$m$ $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$	$V_\Phi / \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$				
	308,15	318,15	328,15	338,15	348,15
6,840	48,83±0,01	48,58±0,006	48,35±0,01	48,09±0,01	47,79±0,01
4,560	47,36±0,01	47,02±0,007	46,65±0,01	46,25±0,01	45,80±0,01
3,420	46,19±0,01	45,75±0,010	45,31±0,01	44,82±0,01	44,26±0,01
2,736	45,24±0,02	44,89±0,01	44,47±0,02	43,91±0,02	43,29±0,01
2,280	44,63±0,03	44,11±0,02	43,55±0,01	42,89±0,03	42,21±0,01
1,954	44,05±0,03	43,49±0,02	42,90±0,01	42,19±0,02	41,46±0,02
1,710	43,50±0,03	42,87±0,03	42,30±0,02	41,62±0,02	40,84±0,02
1,520	43,18±0,02	42,59±0,03	41,99±0,02	41,26±0,03	40,42±0,02
1,368	42,84±0,02	42,15±0,02	41,46±0,05	40,68±0,03	39,83±0,03
0,9120	41,70±0,02	40,71±0,07	39,92±0,04	39,01±0,04	37,98±0,06
0,6840	40,80±0,12	39,96±0,04	39,13±0,06	38,08±0,04	36,96±0,06
0,4560	39,72±0,02	38,57±0,09	37,40±0,07	36,29±0,13	35,11±0,14
0,3420	38,85±0,03	37,66±0,15	36,49±0,07	35,25±0,12	34,04±0,16
0,1710	37,40±0,17	35,99±0,29	34,71±0,20	33,28±0,14	31,98±0,19

Zavisnost  $V_\Phi$  od  $m(\text{NH}_4\text{NO}_3)$  na određenoj temperaturi fitovana je jednačinom<sup>7</sup>:

$$V_\Phi = V_\Phi^o + Am^{1/2} + Bm + Dm^{3/2} \quad (4)$$

$V_\Phi^o$  je prividna molarna zapremina pri beskonačnom razblaženju, A je Debye-Hückel-ov nagib za prividnu molarnu zapreminu ( $\text{cm}^3 \cdot \text{kg}^{1/2} \cdot \text{mol}^{-3/2}$ ), a B ( $\text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2}$ ) i D ( $\text{cm}^3 \cdot \text{kg}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-5/2}$ ) su empirijske konstante koje zavise od rastvorka, rastvarača i temperature.

Vrednosti parametara jednačine (4) kao i standardna devijacija merenja dati su u Tabeli 3.

Tabela 3. Koeficijenti fita  $V_\Phi$  od  $m^{1/2}(\text{NH}_4\text{NO}_3)$  na određenoj temperaturi

$T/K$	$V_\Phi^o / \text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$	$A / \text{cm}^3 \cdot \text{kg}^{1/2} \cdot \text{mol}^{-3/2}$	$-B / \text{cm}^3 \cdot \text{kg} \cdot \text{mol}^{-2}$	$D / \text{cm}^3 \cdot \text{kg}^{3/2} \cdot \text{mol}^{-5/2}$	SD
308,15	33,48	10,79	2,753	0,3361	0,0965
318,15	31,39	12,67	3,443	0,4279	0,0992
328,15	29,40	12,67	4,213	0,5478	0,118
338,15	27,38	16,24	4,902	0,6596	0,116
348,15	25,84	16,72	4,766	0,6064	0,0972

Iz izračunatih vrednosti za prividne molarne zapremine na određenim temperaturama mogu se izračunati i parcijalne molarne zapremine N,N-dimetilformamida i amonijum-nitrata.

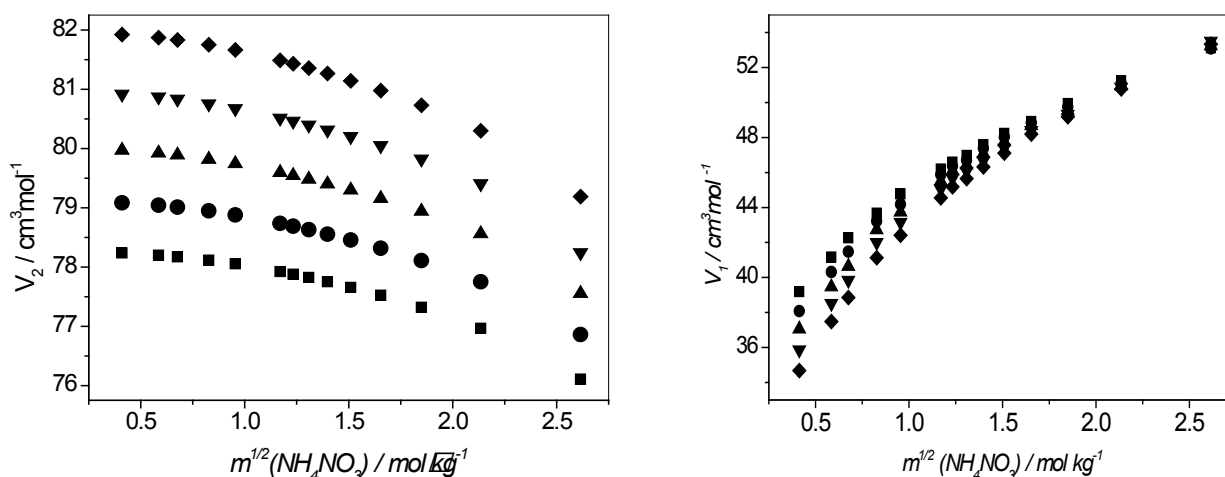
Parcijalne molarne zapremine amonijum-nitrata ( $\bar{V}_2$ ), odnosno DMF ( $\bar{V}_1$ ) se računaju pomoću izraza:

$$\bar{V}_2 = \frac{\sqrt{m}}{2} \left( \frac{\partial V_\Phi}{\partial \sqrt{m}} \right)_{T,P,n_1} + V_\Phi \quad (5)$$

$$\bar{V}_1 = V_1^o - \frac{n_2}{n_1} \frac{\sqrt{m}}{2} \left( \frac{\partial V_\Phi}{\partial \sqrt{m}} \right)_{T,P,n_1} \quad (6)$$

Zavisnost parcijalnih molarnih zapremina N,N-dimetil-formamida ( $\bar{V}_1$ ) i amonijum-nitrata ( $\bar{V}_2$ ) u funkciji  $\sqrt{m}$  u temperaturnom intervalu 308,15-348,15 K dati su na Slici 2.

Sa Slike 2 se vidi da vrednosti parcijalnih molarnih zapremina DMF rastu sa temperaturom. To je posledica slabljenja dipol-dipol interakcija između molekula rastvarača sa porastom temperature, što dovodi do povećavanja rastojanja između molekula rastvarača. Povećanje prostora između molekula rastvarača omogućava većem broju čestica rastvorka ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) da taj prostor popunjava, pa je povećavanja ukupne zapremine rastvora manje (Tabela 2). To je i objašnjenje zbog čega vrednosti prividnih molarnih zapremina  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  opadaju sa temperaturom. Na višim temperaturama zbog otežane orijentacije molekula rastvarača, slabe jon-dipol interakcije između jona koji potiču iz  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  i DMF, odnosno efekat solvatacije je slabiji. Kao posledica toga više dolaze do izražaja elektrostatička privlačenja između  $\text{NH}_4^+$  i  $\text{NO}_3^-$  jona što dovodi do opadanja parcijalne molarne zapremine  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  sa temperaturom.



Slika 2. Promena parcijalnih molarnih zapremina DMF (levo) i  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (desno) sa molalitetom

■ 308,15; ● 318,15; ▲ 328,15; ▼ 338,15; ◆ 348,15

*Zahvalnica:* Ovaj rad je finansiran u okviru projekta ON172012 Ministarstva za nauku i zaštitu životne sredine Republike Srbije.

### Apparent and Partial Molar Volumes in Ammonium Nitrate – N,N-Dimethylformamide Mixture

Accurate volumetric (density, apparent and partial molar volumes) data of different solutions is crucial for understanding many industrial and natural processes. Studies of the apparent and partial molar volumes of the electrolyte solutions are used to examine ion-solvent, ion-ion, and solvent-solvent (structural) interactions, i.e. provide useful information on the nature of the interaction between dissolved ions and molecules of a solvent. Electrostatic interactions govern thermodynamic and transport properties of ionic electrolyte solutions. The ion-solvent interactions are a controlling factor in infinitely dilute solutions where ion-ion interactions are absent. Since the Debye-Hückel theory failed to represent experimental volumetric data at high concentrations where ion-ion interactions become increasingly important, extension of the existing theories to high concentrations and the accurate volumetric data for electrolyte solutions at high concentration are required. In this work, we present the volumetric properties of ammonium nitrate – N,N-dimethylformamide (DMF) mixtures. Density measurements were performed in the temperature range 308.15-348.15 K for  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ :nDMF mixtures, where  $n = 2-10, 15, 20, 30, 40$  and  $80$ . Using these density values apparent and partial molar volumes of ammonium nitrate – DMF mixtures and pure components were calculated.

**Literatura:**

1. J. F. Casteel, E. S. Amis, *J. Chem. Eng. Data* **17** (1972) 55
2. G. Jones, M. Dole, *J. Amer. Chem. Soc.* **51** (1929) 2950
3. L. N. Trevani, E. C. Balodis, P. R. Tremaine, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 2015
4. I. Yu. Klugman, *Russ. J. Electrochem.* **38** (2002) 467
5. J. Krakowiak, D. Bobicz, W. Grzybkowski, *J. Chem. Thermodynamics* **33** (2001) 121
6. J. Krakowiak, H. Koziel, W. Grzybkowski, *J. Mol. Liq.* **118** (2005)
7. G. Perron, N. Desrosiers, J. E. Desnoyers, *Can. J. Chem.* **54** (1976) 2163

## Membranska pertrakcija lutecijuma u kontaktoru sa jednom kapilarnom membranom: uticaj zapremine akceptora na efikasnost procesa

Ksenija R. Kumrić, Jelena S. Đorđević, Tatjana M. Trtić-Petrović

*Laboratorija za fiziku, Institut za nuklearne nauke Vinča, Beograd, Srbija*

### Uvod

Zbog povoljnih radiofizičkih karakteristika radionuklida  $^{177}\text{Lu}$ , veliki broj današnjih istraživanja u oblasti radiohemije i radiofarmacije okrenut je ka dobijanju potencijalnih  $^{177}\text{Lu}$ -radiofarmaceutika i njihovim primenama za endoradioterapiju malignih tumora<sup>1</sup>. Jedna od faza u procesu dobijanja klinički primenljivog  $^{177}\text{Lu}$ -radiofarmaceutika je njegovo odvajanje od nevezanog  $^{177}\text{Lu}$  tj. prečišćavanje obeleženog jedinjenja, čije bi prisustvo štetno uticalo na zdravo tkivo pacijenta. Najčešće korišćena tehnika za prečišćavanje radiofarmaceutika je jonoizmenjivačka hromatografija<sup>2</sup>, a jedna od novijih metoda koja je predložena za prečišćavanje radiofarmaceutika je membranska ekstrakcija u kontaktoru sa kapilarnom ili ravnom membranom<sup>3,4</sup>.

Trofazna membranska ekstrakcija tzv. pertrakcija<sup>5</sup>, obuhvata istovremenu ekstrakciju i reekstrakciju u jednom membranskom ekstrakcionom sistemu: analit se prvo ekstrahuje iz polaznog, vodenog rastvora (donor) u organsku fazu imobilisanu u porama hidrofobne membrane, difunduje kroz tečnu membranu, a zatim reekstrahuje iz organske faze u drugi vodeni rastvor (akceptor). Načini primene membranske ekstrakcije su raznovrsni i zavise pre svega od cilja primene. U literaturi je opisan niz separacija pomoću membranske ekstrakcije, a najčešće se ova metoda koristi za odvajanje metala i drugih analita iz veoma razblaženih rastvora, kao i za prečišćavanje i koncentrovanje uzoraka pre primene analitičkih metoda, npr. određivanje kontaminanata u prirodnim vodama<sup>6</sup>. Mogućnost primene membranske pertrakcije za izdvajanje lutecijuma iz vodene sredine kao potencijalna metoda za prečišćavanje  $^{177}\text{Lu}$ -radiofarmaceutika u minijaturizovanim membranskim sistemima, kontinualnom sa ravnom i diskontinualnom sa kapilarnom membranom ispitivana je u okviru naših prethodnih istraživanja<sup>3,4</sup>.

Efikasnost uklanjanja Lu(III) iz donora u organsku fazu i reekstrakcija u akceptor zavisi od: protoka vodenih faza, pH donora i akceptora, vremena ekstrakcije, sastava organske faze, brzine difuzije kroz organsku fazu, dužine membrane i dr. U prethodnim istraživanjima<sup>3,4</sup> je pokazano da se više od 98% Lu(III) ekstrahuje iz donora u organsku fazu primenom mikroekstrakcije sa ravnom membranom u kontinualnom sistemu, kao i sa kapilarnom membranom pri stacionarnim uslovima. Ovaj rezultat ukazuje na mogućnost primene ove metode za prečišćavanje  $^{177}\text{Lu}$ -radiofarmaceutika. Reekstrakcija Lu(III) u oba ekstrakciona sistema je otežana i najviše Lu(III) ostaje zarobljeno u membrani.

Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja zapremine akceptora na efikasnost pertrakcije lutecijuma u diskontinualnom i kontinualnom sistemu sa kapilarnom membranom, kako bi se pored efikasnog uklanjanja slobodnog Lu(III) iz polaznog rastvora  $^{177}\text{Lu}$ -radiofarmaceutika povećala i efikasnost reekstrakcije nevezanog  $^{177}\text{Lu}$ (III) u akceptor.

### Eksperimentalni deo

Za membransku pertrakciju lutecijuma korišćena je mikroporozna, polipropilenska, hidrofobna membrana u obliku kapilare, Accurel PP 50/280 (Membrana GmbH, Nemačka). Dimenzije membrane su: unutrašnji prečnik 280  $\mu\text{m}$ , debljina zida 50  $\mu\text{m}$ , poroznost 60% i srednja veličina pora 0,1  $\mu\text{m}$ . U porama membrane imobilisan je ekstragens, 5-% DEHPA u di-n-heksil etru. Kao donor korišćen je rastvor  $\text{LuCl}_3$  zapremine 20  $\text{cm}^3$  (2  $\text{mg dm}^{-3}$  Lu(III) u 0.2  $\text{mol dm}^{-3}$  natrijum-acetatnom puferu, pH 3.5), a kao akceptor 2  $\text{mol dm}^{-3}$  HCl.

Eksperimenti diskontinualne membranske pertrakcije izvođeni su primenom jednostavnog membranskog sistema koji se sastoji od jedne kapilarne membrane, u čijim porama je imobilisan ekstragens, a unutrašnjost ispunjena akceptorom, i staklene bočice zapremine 20  $\text{cm}^3$ , u koju se stavlja polazni, donorski rastvor. Unutrašnjost membrane se najpre napuni akceptorom pomoću šprica zapremine 1  $\text{cm}^3$  na čijem kraju se nalazi igla debljine 0.3 mm, a zatim se membrana na 30 s potopi u rastvor organske faze. Višak organske faze sa spoljašnje površine membrane ukloni se ispiranjem u vodi. Kroz unutrašnjost membrane ponovo se propusti akceptor, a zatim se krajevi membrane spoje i uviju aluminijumskom folijom na koju se dodatno, kao zatvarač, stavi staklena bočica zapremine 50  $\mu\text{l}$  (Alltech, SAD). Ovako pripremljena membrana direktno se stavlja u rastvor donora koji se tokom trajanja ekstrakcije mućka brzinom od 100 rpm. Nakon završene ekstrakcije

akceptor se pomoću šprica istiskuje iz membrane i analizira. U zavisnosti od dužine membrane zapremina akceptora bila je od 0.01 – 0.06 cm<sup>3</sup>.

Kontinualna membranska pertrakcija izvođena je primenom sličnog sistema kao i diskontinualna, s tom razlikom što je akceptor proticao kroz unutrašnjost kapilare. Jedan kraj kapilare je povezan sa crevom koje je uronjeno u rezervoar akceptora, zapremine 3 cm<sup>3</sup>, koji se pomoću peristaltičke pumpe pumpa kroz unutrašnjost kapilare. Pri protoku akceptora bez recirkulacije, akceptor se sakuplja na izlazu iz kapilare, dok pri protoku akceptora sa recirkulacijom akceptor se vraća u rezervoar. Uzorci akceptora su uzimani u određenim vremenskim intervalima i određivana je koncentracija Lu(III) u njima. Protok akceptora bio je 0.02 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> i 0.16 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> u sistemu bez i sa recirkulacijom akceptora, respektivno.

Za određivanje koncentracije Lu(III) u donoru i akceptoru korišćena je metoda indirektno striping voltametrije pomoću Zn-EDTA kompleksa<sup>6</sup>. Sva merenja su rađena na polarografsko-voltametrijskom sistemu 797 VA Computrace analyser (Metrohm, Švajcarska), pri čemu je viseća živina kap korišćena kao radna elektroda, a Ag/AgCl/KCl (3 mol dm<sup>-3</sup>) i platinska žica kao referentna i pomoćna elektroda, respektivno. koncentracija Lu(III) određivana je očitavanjem sa kalibracione prave.

### Rezultati i diskusija

Mehanizam ekstrakcije metalnih jona u sistemu sa kiselim nosačem, kao što je DEHPA, je spregnut suprotnosmerni prenos. Pogonska sila za ovu vrstu transporta je gradijent koncentracije H<sup>+</sup> jona. U ispitivanom membranskom sistemu, gde se kao organska faza koristi 5-% DEHPA u di-heksil etru, Lu(III) se prenosi iz donora, kroz tečnu membranu, u akceptor, dok se H<sup>+</sup> joni prenose u suprotnom smeru. Kako bi se obezbedila pogonska sila za prenos mase kroz tečnu membranu, pH akceptora mora biti najmanje 2 pH jedinice niži od pH donora<sup>7</sup>.

U procesu membranske pertrakcije Lu(III), efikasnost prenosa mase kroz imobilisanu tečnu membranu određivan je na osnovu tri parametra: efikasnost pertrakcije (*P*), efikasnost ekstrakcije tj. uklanjanja Lu(III) iz vodenog rastvora (*E*) i dela Lu(III) koji se zadržava u organskoj fazi (*M*). Efikasnost pertrakcije pokazuje koji je deo Lu(III), u odnosu na njegovu početnu količinu, prešao iz donora u akceptor i definiše se jednačinom:

$$P = \frac{n_A}{n_D^{in}} = \frac{C_A V_A}{C_D^{in} V_D} \quad (1)$$

gde je  $n_D^{in}$  početni broj molova Lu(III) prisutan u rastvoru donora pre ekstrakcije,  $n_A$  broj reekstrahovanih molova Lu(III) u akceptoru nakon završene pertrakcije,  $C_D^{in}$  početna koncentracija Lu(III) u rastvoru donora,  $C_A$  koncentracija Lu(III) u akceptoru, a  $V_D$  i  $V_A$  su zapremine donora i akceptora, respektivno. Efikasnost ekstrakcije (*E*) predstavlja deo Lu(III) koji je, u odnosu na njegovu početnu količinu, prešao iz donora u organsku fazu:

$$E = \frac{(n_D^{in} - n_D^w)}{n_D^{in}} = \frac{C_D^{in} - C_D^w}{C_D^{in}} \quad (2)$$

pri čemu su  $n_D^w$  i  $C_D^w$  broj molova i koncentracija Lu(III) u rastvoru donora nakon ekstrakcije, respektivno. Deo Lu(III), u odnosu na njegovu početnu količinu, koji ostaje "zarobljen" u organskoj fazi (*M*) predstavlja razliku *E* i *P*.

U našim prethodnim istraživanjima<sup>4</sup> definisani su optimalni uslovi za efikasno uklanjanje Lu(III) iz vodenih rastvora (pH donora 3.5 - 5.0, konc. DEHPA-e 15%, što manji odnos  $V_D/V_A$ ). Pri ovim uslovima efikasnost pertrakcije Lu(III) je oko 20%, što znači da najveći deo Lu(III) ekstrahovanog iz donora ostaje u organskoj fazi. Ova istraživanja su takođe pokazala da efikasnost ekstrakcije i pertrakcije zavisi od pH donora tj. od vrste kompleksa koji se formira između Lu(III) i DEHPA-e pri različitim pH vrednostima vodene faze. Pretpostavljeno je da permeabilnost, a samim tim i otpor prenosu mase kroz tečnu membranu, zavisi od vrste formiranog kompleksa<sup>8,9</sup>. Uprkos činjenici da se na pH od 2.5 – 3.5 formira kompleks koji je permeabilan kroz tečnu membranu i odgovoran za prenos Lu(III) iz donora u akceptor, efikasnost pertrakcije od svega 20% ukazuje da se Lu-DEHPA kompleks akumulira u membrani. Suprotno ovom rezultatu, rezultati dobijeni klasičnom tečno-tečnom ekstrakcijom Lu(III), u kojoj su zapremine organske faze i akceptora bile iste, pokazali su da se sav Lu(III) reekstrahuje u akceptor, a to kod diskontinualne membranske pertrakcije nije slučaj. Ovo ukazuje na mogućnost da pored otežane difuzije formiranog kompleksa Lu(III) i DEHPA-e u tečnoj membrani, postoji i



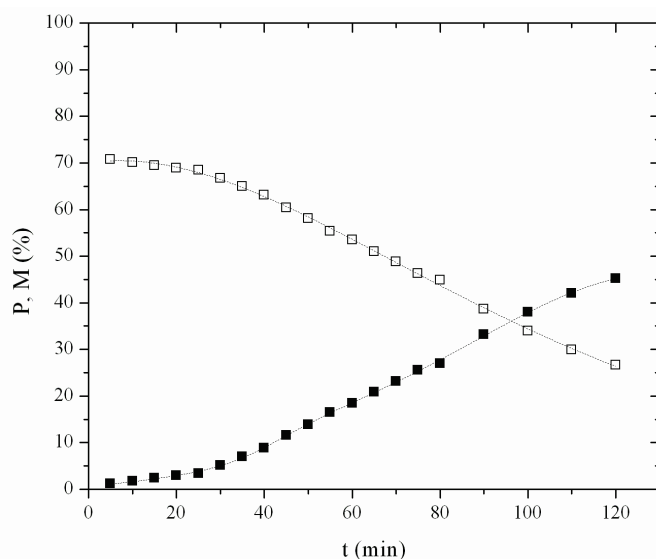
otpor u akceptoru. Zato je u daljem radu ispitan uticaj zapremine akceptora na efikasnost pertrakcije lutecijuma.

Uticaj zapremine akceptora na efikasnost pertrakcije ispitan je najpre u diskontinualnom membranskom sistemu. Lutecijum je ekstrahovan iz 20 cm<sup>3</sup> rastvora donora koncentracije 2 mg dm<sup>-3</sup> (pH 3.5), korišćenjem 5-% DEHPA-e u di-heksil etru kao ekstragensa, pri čemu je zapremina akceptora bila u opsegu od 0.01 – 0.06 cm<sup>3</sup>. Povećanje zapremine akceptora je postignuto povećanjem dužine membrane. Dobijeni rezultati, prikazani u tabeli 1, pokazuju da se sa povećanjem zapremine akceptora od 0.01 do 0.06 cm<sup>3</sup> efikasnost pertrakcije Lu(III) povećava od 3 do 9%, dok promena zapremine akceptora ne utiče značajno na uklanjanje Lu(III) iz donorske faze. Ovaj rezultat ukazuje na to da pored otpora u organskoj fazi, postoji i otpor u akceptoru. S obzirom da u klasičnoj tečno-tečnoj ekstrakciji nema otpora za prelazak Lu(III) iz organske faze u akceptor, može se pretpostaviti da otpor u akceptoru, pri membranskoj pertrakciji Lu(III), potiče od male zapremine akceptora tj. od male dodirne površine akceptora i organske faze. Dalje povećanje zapremine akceptora podrazumevalo bi još duže membrane, što bi samo otežavalo rad sa diskontinualnim membranskim sistemom. Zbog toga je za ekstrakciju Lu(III) upotrebljen minijaturizovan membranski sistem sa kontinualnim protokom akceptora.

Tabela 1. Uticaj zapremine akceptora na efikasnost pertrakcije pri diskontinualnim uslovima

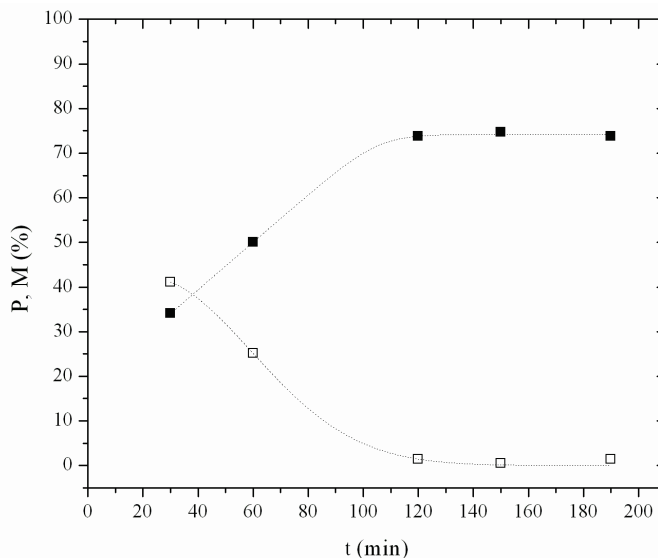
$V_A / \mu\text{l}$	$E / \%$	$P / \%$	$M / \%$
11	87.8	3.5	84.3
23	96.1	5.1	91.0
35	97.4	6.9	90.5
45	96.9	7.6	89.3
56	97.1	8.8	88.3

Kontinualna membranska pertrakcija Lu(III) izvođena je u sistemu sa stacionarnim donorom zapremine 20 cm<sup>3</sup> i akceptorom koji je proticao kroz unutrašnjost kapilare brzinom 0.02 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> i 0.16 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, u režimu sa i bez recirkulacije akceptora, respektivno. Zapremine akceptora u koje je reekstrahovan Lu(III) bile su 2.5 i 3.0 cm<sup>3</sup>. U ovim eksperimentima praćena je promena koncentracije Lu(III) u akceptoru sa vremenom, pa samim tim i uticaj zapremine akceptora na efikasnost pertrakcije. Dobijeni rezultati, prikazani na slikama 1 i 2, jasno pokazuju da zapremina akceptora ima značajnu ulogu u pertraktionom procesu. U kontinualnom sistemu bez recirkulacije akceptora efikasnost pertrakcije se povećava sa vremenom i nakon 120 min procesa 45% Lu(III) biva transportovano iz donora u akceptor, odnosno 63% ekstrahovanog Lu(III) se reekstrahuje u akceptorsku fazu. Sa produžavanjem vremena trajanja pertrakcije, pretpostavlja se da bi deo ekstrahovanog Lu(III) koji ostaje u membrani bio još manji.



Slika 1. Zavisnost parametara P i M od vremena pertrakcije u kontinualnom sistemu bez recirkulacije akceptora: (■) P, efikasnost pertrakcije, (□) M, deo Lu(III) koji ostaje u membrani

Membranska pertrakcija Lu(III) u kontinualnom sistemu sa recirkulacijom akceptora pokazala je još bolji rezultat u odnosu na sistem bez recirkulacije. Naime, iz rezultata sa slike 2 se vidi da se nakon 120 min procesa gotovo sav Lu(III) reekstrahuje iz organske faze u akceptor, odnosno da je deo ekstrahovanog Lu(III) koji ostaje u organskoj fazi manji od 1%. Ovaj rezultat pokazuje da bi kontinualan membranski sistem sa recirkulacijom akceptora mogao biti korišćen ne samo za efikasno uklanjanje Lu(III) iz donora u organsku fazu, već i za njegovo veoma efikasno vraćanje iz organske faze u akceptor, u cilju njegovog ponovnog korišćenja.



Slika 2. Zavisnost parametara P i M od vremena pertrakcije u kontinualnom sistemu sa recirkulacijom akceptora:

■ P, efikasnost pertrakcije, □ M, deo Lu(III) koji ostaje u membrani

### Zaključak

Na osnovu rezultata membranske pertrakcije Lu(III) primenom diskontinualnog i kontinualnog membranskog sistema može se zaključiti da zapremina akceptora značajno utiče na efikasnost prenosa Lu(III) iz donora u akceptor. Taj uticaj je manje očigledan kod diskontinualnog membranskog sistema, jer se i zapremina neznatno povećava sa povećanjem dužine membrane, ali je veoma izražen u kontinualnom membranskom sistemu u kojem se deo ekstrahovanog Lu(III) koji ostaje u organskoj fazi permanentno smanjuje sa vremenom ekstrakcije. Kontinualan sistem sa recirkulacijom akceptora omogućava gotovo potpunu reekstrakciju Lu(III) u vodeni rastvor i stoga bi ovakav sistem mogao biti korišćen u procesu proizvodnje <sup>177</sup>Lu-radiofarmaceutika ne samo za uklanjanje nevezanog <sup>177</sup>Lu od obeleženog jedinjenja, već i za njegovo vraćanje u vodeni rastvor koji bi mogao biti korišćen za novo obeležavanje.

*Zahvalnica.* Finansijska podrška za ovo istraživanje dobijena je od Ministarstva za nauku i prosvetu Republike Srbije kroz projekat *Fizika i hemija sa jonskim snopovima*, broj 45006.

### Membrane pertraction of lutetium with a single hollow fibre membrane: influence of the acceptor volume on the process efficiency

*In order to improve the efficiency of re-extraction of Lu(III) from the organic to the acceptor phase, the influence of the acceptor volume on the pertraction efficiency of Lu(III) in a single hollow fibre pertraction system operated in a batch and continuous mode, was investigated in this study. Lutetium was extracted using the extraction system with immobilised liquid membrane, under the optimal extraction conditions. Results showed that the acceptor volume considerably influences the transport of Lu(III) from the organic to the acceptor phase, and thus the pertraction. This dependency is less pronounced in the case of the batch system, because the volume itself slightly increases with the membrane length, but is very pronounced in the case of the continuous extraction system in which a part of the extracted Lu(III) that is left in the organic phase is continuously decreasing with the extraction time. The continuous extraction system with the acceptor recirculation enables almost complete re-extraction of Lu(III) into the acceptor.*

### REFERENCE

1. M.F. Giblin, G.L. Sieckman, T.D. Shelton, T.J. Hoffman, L.R. Forte, W.A. Volkert, *Nucl. Med. Biol.* **33** (2006) 481

2. IAEA Technical Reports no. 458, "Comparative Evaluation of Therapeutic Radiopharm.", Vienna (2007)
3. K. Kumrić, T. Trtić-Petrović, E. Koumariou, S. Archimandritis, J. Čomor, *Sep. Pur. Techn.* **51** (2006) 310
4. T. M. Trtić-Petrović, K. R. Kumrić, Jelena S. Đorđević, Goran T. Vladislavljević, *J. Sep. Sci.* **33** (2010) 2002
5. N-K. Djane, K. Ndung'u, F. Malcus, G. Johansson, L. Mathiasson, *Fresenius J. Anal. Chem.* **358** (1997) 822
6. K. Kumrić, T. Trtić-Petrović, Lj. Ignjatović, J. J. Čomor, *Cent. Eur. J. Chem.* **6** (2008) 65
7. L. Boyadzhiev, *Sep. Sci. Technol.* **25** (1990) 187
8. J. Doležal, C. Moreno, A. Hrdlička, M. Valiente, *J. Membr. Sci.* **168** (2000) 175
9. C. Moreno, M. Valiente, *J. Membr. Sci.* **155** (1999) 155

## Uticaj vrste polimera na oblik i veličinu nanočestica srebra dobijenih elektrohemijском sintezom

Ž. Jovanović, J. Stojkowska, A. Krklješ\*, N. Bibić\*, B. Obradović, Z. Kačarević-Popović\*,  
V. Mišković-Stanković

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11000 Beograd*  
*\*Institut za nuklearne nauke Vinča, Univerzitet u Beogradu, Mike Petrovića Alasa 12-14, Beograd*

### Uvod

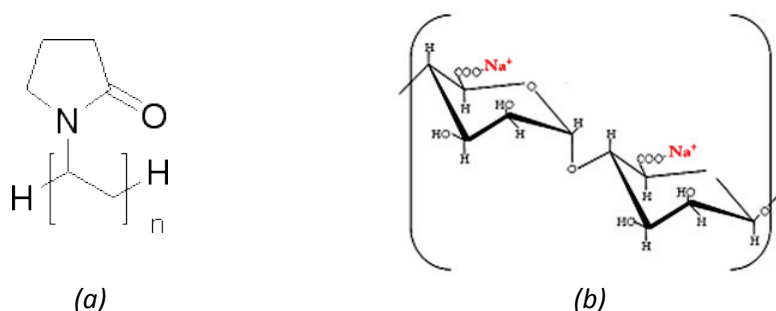
Elektrohemijska sinteza omogućava brzo i efikasno dobijanje nanočestica metala visoke čistoće, sa mogućnošću precizne kontrole veličine i oblika nanočestica.<sup>1</sup> Međutim, usled velike reaktivnosti nanočestica koja za posledicu ima izraženu tendenciju ka aglomeraciji, primenljivost nanočestica metala se smanjuje. Stoga se koriste agensi stabilizacije nanočestica, najčešće polimeri. Nanočestice srebra stabilisane polimerima ispoljavaju antimikrobna svojstva,<sup>2</sup> koriste se i kao katalizatori,<sup>3,4</sup> i optički senzori.<sup>5</sup>

U ovom radu ispitivan je uticaj vrste biokompatibilnog polimera, alginata i poli(*N*-vinil-2-pirolidon)-a, korišćenih za stabilizaciju rasta nanočestica srebra, na njihov oblik i veličinu. Takođe su određivani oblik i veličina dobijenih nanočestica i način stabilizacije nanočestica srebra polimerom.

### Rezultati i diskusija

#### *Eksperimentalni deo*

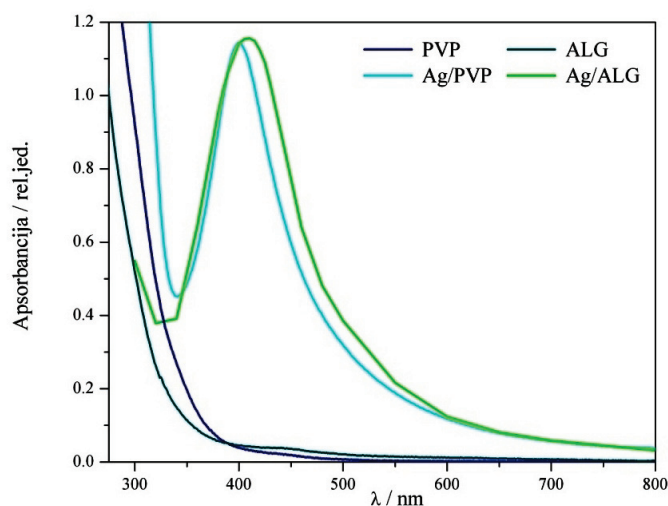
Nanočestice srebra su dobijene iz vodenog rastvora koji je sadržao 3,9 mM AgNO<sub>3</sub> (M.P. Hemija d.o.o., Beograd, Srbija), 0,1 M KNO<sub>3</sub> (Centrohem, Stara Pazova, Srbija) i poli(*N*-vinil-2-pirolidon), PVP (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Munich, Germany), odnosno Na-alginat (A 2158 Sigma, St. Louis, MO, SAD). Molekulske strukture poli(*N*-vinil-2-pirolidon)-a (slika 1a) i Na-alginata (slika 1b) su prikazane na slici 1. Prilikom elektrohemijske sinteze<sup>6</sup> korišćen je uređaj Reference 600 Potentiostat/Galvanostat/ZRA (Gamry Instruments, Warminster, PA, SAD), u ćeliji koja je sadržala Pt pločice kao radnu i pomoćnu elektrodu, a kao referentna korišćena je zasićena kalomelova elektroda.



Slika 1. Molekulske strukture (a) PVP i (b) Na-alginata

#### *UV-Vis spektroskopija*

Na slici 2 prikazani su apsorpcioni spektri rastvora PVP, alginata (ALG) i koloidnih rastvora nanočestica Ag i PVP (Ag/PVP), odnosno alginata (Ag/ALG) dobijenih elektrohemijском sintezom. Sa slike 2 se vidi da rastvori polimera, kako PVP, tako i alginata, ne pokazuju maksimum apsorpcije u oblasti ispitivanog dela spektra. Nasuprot tome, na apsorpcionim spektrima koloidnih rastvora nanočestica srebra, u prisustvu PVP, kao i u prisustvu alginata, pojavljuje se maksimum apsorpcije na talasnoj dužini od oko 405 nm, što potvrđuje prisustvo nanočestica srebra.

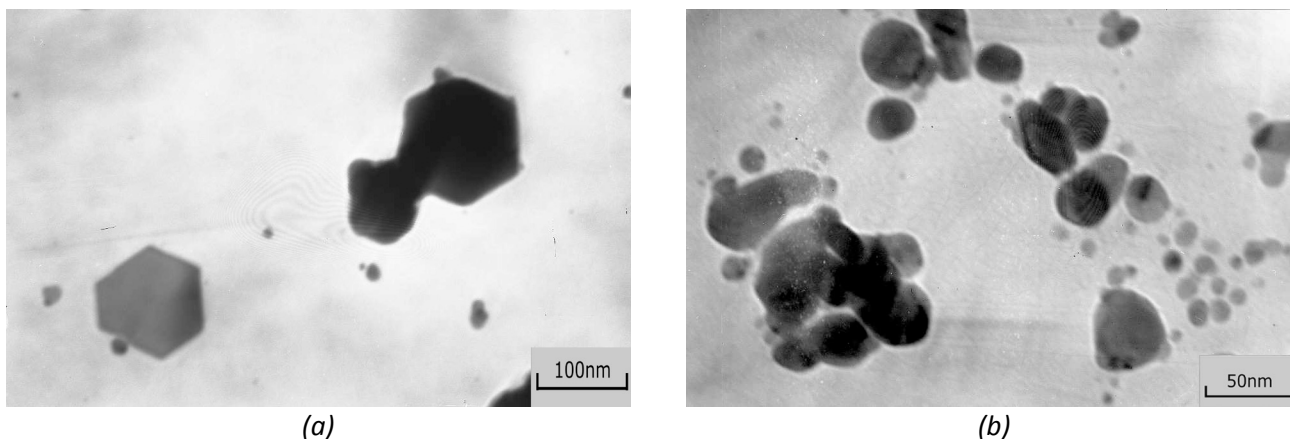


Slika 2. Apsorpcioni spektri rastvora PVP, alginata (ALG) i koloidnih rastvora nanočestica Ag dobijenih elektrohemijom u prisustvu PVP (Ag/PVP), odnosno alginata (Ag/ALG)

Sa slike 2 se takođe može primetiti da se intenziteti maksimuma apsorpcije ne razlikuju značajno, što ukazuje na podjednaku efikasnost redukcije jona srebra iz rastvora iste koncentracije (3,9 mM), bez obzira na vrstu polimera koji se koristi za stabilizaciju nanočestica srebra.

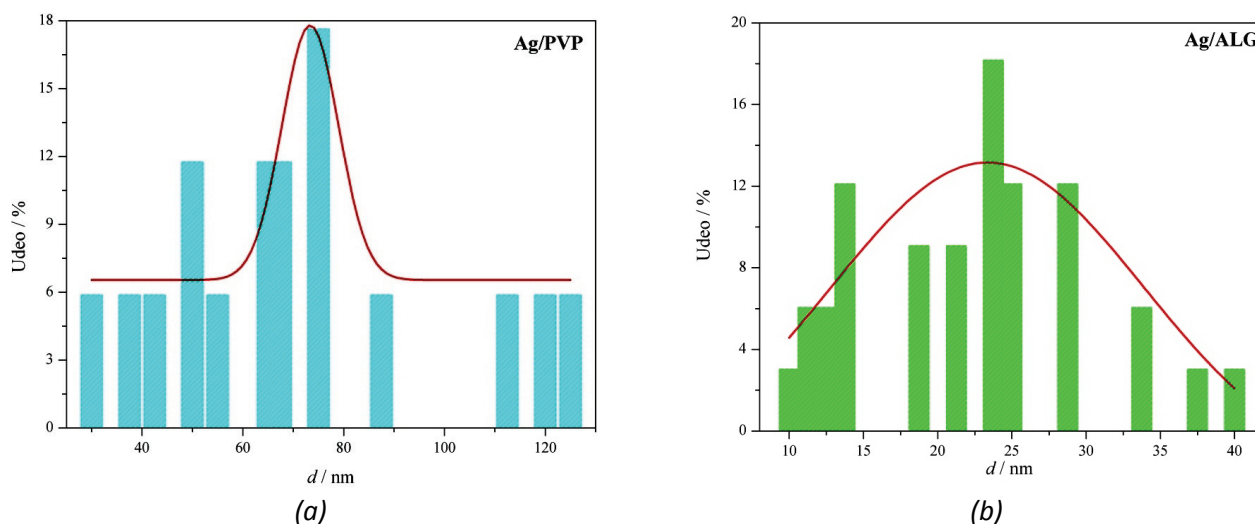
#### TEM analiza

Na slici 3 su prikazane TEM mikrofotografije koloidnih rastvora nanočestica srebra dobijenih elektrohemijom u prisustvu PVP (slika 3a) i alginata (slika 3b). Sa slike 3 se uočava da PVP omogućava formiranje nanočestica heksagonalnog oblika, veličine oko 75 nm, dok se u prisustvu alginata dobijaju manje nanočestice (~ 30 nm) sfernog oblika.



Slika 3. TEM mikrofotografije nanočestica srebra dobijenih elektrohemijom u prisustvu (a) PVP i (b) alginata

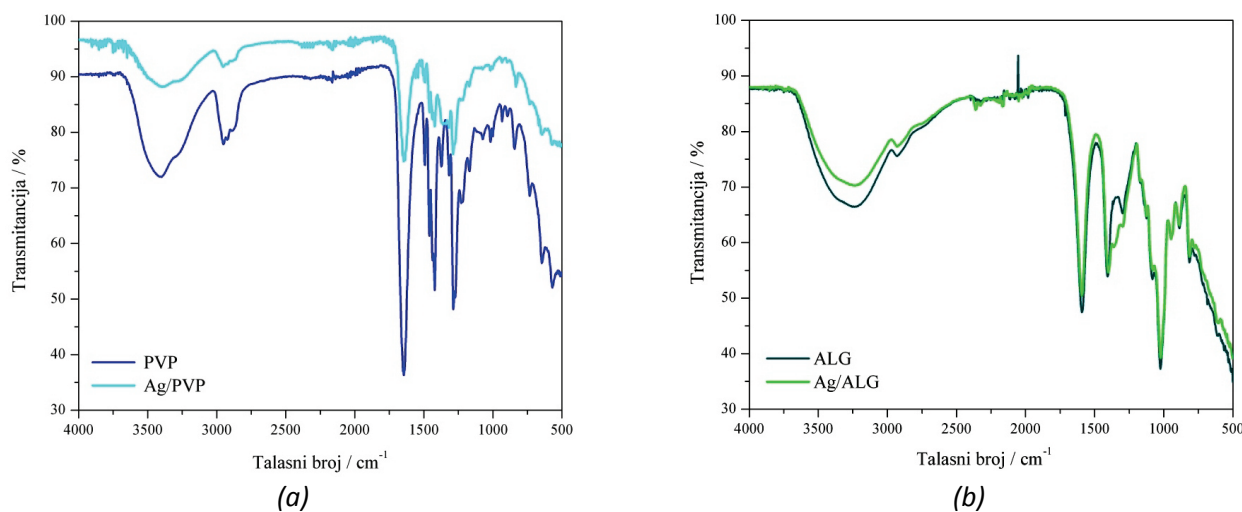
Na slici 4 prikazana je raspodela veličina nanočestica srebra dobijenih elektrohemijom u prisustvu PVP (slika 4a) i alginata (slika 4b). Može se uočiti da se u prisustvu PVP dobijaju veće čestice sa užom raspodelom veličina, dok se u prisustvu alginata dobijaju manje čestice, sa nešto većim razlikama u dimenzijama.



Slika 4. Raspodela veličina nanočestica srebra dobijenih elektrohemijom sintezom u prisustvu (a) PVP i (b) alginata

### FTIR spektroskopija

Na slici 5 su prikazani infracrveni spektri polimernih filmova dobijenih uparavanjem rastvarača iz rastvora PVP i alginata (ALG), kao i infracrveni spektri nanokompozitnih filmova dobijenih uparavanjem rastvarača iz koloidnih rastvora nanočestica Ag sa PVP (Ag/PVP), odnosno alginskom (Ag/ALG), dobijenih elektrohemijom sintezom.



Slika 5. Infracrveni spektri filmova dobijenih uparavanjem rastvarača iz rastvora (a) PVP i koloidnog rastvora nanočestica Ag dobijenih u prisustvu PVP (Ag/PVP), i (b) alginata (ALG) i koloidnog rastvora nanočestica Ag dobijenih u prisustvu alginata (Ag/ALG)

Infracrveni spektri Ag/PVP i Ag/ALG nanokompozitnih filmova prikazani na slici 4, pokazuju pomeranja pikova u odnosu na polimer na više mesta.

Za Ag/PVP, najvažnije je pomeranje u opsegu talasnog broja između 1695 i 1615 cm<sup>-1</sup>, koji predstavlja karakterističan opseg amid-karbonilne grupe.<sup>7</sup> PVP film sadrži amid-karbonilnu grupu koja pokazuje intenzivnu traku na 1645 cm<sup>-1</sup>. Infracrveni spektar Ag/PVP nanokompozitnog filma pokazuje pomeranje trake koja potiče od amid-karbonilne grupe na 1641 cm<sup>-1</sup>. Pomeraj ove apsorpcione trake u IC spektru Ag/PVP ka nižim frekvencijama ukazuje na koordinaciju između azota ili kiseonika amid-karbonilne grupe PVP i srebra. U literaturi<sup>8</sup> se ukazuje na uticaj veličine čestica srebra na interakciju sa amid-karbonilnom grupom PVP: za čestice prečnika manjeg od 50 nm, Ag – PVP interakcija nije uslovljena sternim efektima, što rezultuje formiranjem koordinativne veze između Ag i N. Sa povećanjem veličine nanočestica srebra, sterni efekat ima veći uticaj na koordinaciju, tako da, u slučaju većih čestica, umesto azota, Ag koordinira sa kiseonikom amid-karbonilne grupe.<sup>8</sup> Imajući u vidu veličinu čestica dobijenu u ovom radu (~ 75 nm), može se pretpostaviti da se

nanočestice srebra dobijene elektrohemijском sintezom preferencijalno vezuju za kiseonik amid-karbonilne grupe PVP.

Ag/ALG nanokompozitni film pokazuje samo mala pomeranja pikova u odnosu na alginatni film. Izostanak traka na oko  $1735\text{ cm}^{-1}$ , koja ukazuje na koordinativnu vezu nanočestica srebra i karboksilne grupe monomera alginata, govori o izostanku hemijskog vezivanja između nanočestica srebra i alginata, iz čega se može zaključiti da nanočestice srebra i alginat ostvaruju fizičke interakcije.

### Zaključak

Nanočestice srebra su uspešno sintetisane elektrohemijском sintezom u rastvoru, u prisustvu polimera, poli(*N*-vinil-2-pirolidon)-a, i alginata. Dobijene su nanočestice srebra različitih veličina i oblika, što ukazuje na činjenicu da promena polimera korišćenog za sintezu omogućava dobijanje nanočestica srebra različitih karakteristika.

Prisustvo nanočestica srebra u ispitivanim sistemima potvrđeno je UV-Vis spektroskopijom i transmisijom elektronskom mikroskopijom. Rezultati TEM analize su pokazali da prisustvo PVP omogućava formiranje nanočestica heksagonalnog oblika, veličine oko 75 nm, dok se u prisustvu alginata dobijaju nanočestice sfernog oblika, veličine oko 30 nm.

FTIR spektroskopija ukazuje na postojanje hemijskih veza između nanočestica srebra i PVP, kao i odsustvo hemijske veze između nanočestica srebra i alginata.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije u okviru projekta III 45019.

### The effect of polymer type on the size and shape of electrochemically synthesized Ag nanoparticles

*Electrochemical synthesis is a fast and efficient method for the synthesis of metal nanoparticles of high purity, with the possibility of a precise control of metal nanoparticle size and shape. Electrochemically synthesized metal nanoparticles have a potential applications in biomedicine, catalysis, optics.*

*In this work, the influence of the type of a biocompatible polymer used as a capping agent, on the size and shape of silver nanoparticles (AgNPs) from the aqueous solution containing 3.9 mM AgNO<sub>3</sub>, 0.1 M KNO<sub>3</sub> and alginate or poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone), PVP, was investigated. The presence of silver nanoparticles was confirmed by UV-Vis spectroscopy. TEM analysis shown that the use of alginate as a capping agent provided smaller (~ 30 nm) round shaped AgNPs, while PVP enabled formation of hexagonal AgNPs, of approximately 75 nm. FTIR spectroscopy pointed to chemical bonding between AgNP surfaces and PVP, but the chemical bonding between AgNP surfaces and alginate was not confirmed.*

### Literatura

1. L. Rodrigues-Sanchez, M. C. Blanco, M. A. Lopez-Quintela, *J. Phys. Chem. B* **104** (2000) 9683.
2. P. Jain, T. Pradeep, *Biotechnol. Bioeng.* **90** (2005) 59.
3. Z.-J. Jiang, C.-Y. Liu, L.-W. Sun, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 1730.
4. S. Saha, A. Pal, S. Kundu, S. Basu, T. Pal, *Langmuir* **26** (2010) 2885.
5. A.D. McFarland, R.P.V. Duyne, *Nanoletters* **3** (2003) 1057.
6. B. Obradović, V. Mišković-Stanković, Ž. Jovanović, J. Stojkowska, Republika Srbija, patentna prijava br. P-2010/0499 (2010).
7. A. Slistan-Grijalva, R. Herrera-Urbina, J.F. Rivas-Silva, M. Ávalos-Borja, F.F. Castellón-Barraza, A. Posada-Amarillas, *Mater. Res. Bull.* **43** (2008) 90.
8. Z. Zhang, B. Zhao, L. Hu, *J. Solid State Chem.* **121** (1996) 105.
9. A.A. Said, M.M.M. Abd El-Wahab, R.M. Hassan, *Thermochim. Acta* **233** (1994) 13.

## ATR-FTIR i XRD analiza kompozitnih hidroksiapatit/lignin prevlaka dobijenih postupkom elektroforetskog taloženja

Sanja Eraković, Đorđe Veljović, Papa Diouf\*, Tatjana Stevanović\*, Miodrag Mitrić\*\*,  
Đorđe Janačković, Vesna Mišković-Stanković

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija*

*\*Département des sciences du bois et de la forêt, Université Laval, Québec, Kanada*

*\*\*Institut za nuklearne nauke Vinča, Univerzitet u Beogradu, Mike Petrovića Alasa 12-14, Beograd, Srbija*

### Uvod

Sintetički hidroksiapatit (HAP,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) je bioaktivni keramički materijal koji poseduje veliku biokompatibilnost pošto formira hemijske veze sa koštanim tkivom.<sup>1,2</sup> Hidroksiapatit se, usled slabih mehaničkih osobina, uglavnom koristi u formi prevlaka na titanu ili kompozita.<sup>3</sup> Kako je hidroksiapatit vrlo krto i pokazuje značajno skupljanje tokom sinterovanja, postoji tendencija za razvojem kompozitnih HAP prevlaka. Poslednjih godina uočeno je da kompozitne prevlake unapređuju i druge funkcionalne osobine implanta, kao što su hemijska stabilnost, bioaktivnost, biokompatibilnost i antimikrobna svojstva.<sup>4</sup> Prirodni biorazgradivi polimeri se koriste u razvoju novih biokompozitnih prevlaka. Upotreba polimera omogućava da se termički tretman kompozitnih materijala postiže na znatno nižim temperaturama sinterovanja.<sup>5</sup> Lignin (Lig) je kompleksan, amorfni, visoko umrežen polifenolni prirodni polimer, koji se proučava u cilju primene u biomedicini.<sup>6</sup>

Cilj ovog rada je dobijanje kompozitnih HAP/Lig prevlaka na titanu postupkom elektroforetskog taloženja i ispitivanje uticaja koncentracije lignina na mikrostrukturu i fazni sastav kompozitnih prevlaka.

### Rezultati i diskusija

#### *Elektroforetsko taloženje HAP/Lig prevlaka na titanu iz etanolske suspenzije*

U cilju dobijanja kompozitnih prevlaka sa što je moguće boljim karakteristikama prilikom sinterovanja, za pripremu suspenzije korišćen je nanočestični HAP prah, dobijen modifikovanom precipitacionom metodom.<sup>7</sup> Etanolska suspenzija HAP/Lig praha je pripremljena dodavanjem  $10 \text{ g l}^{-1}$  HAP praha i 0,5-10 mas. % Lig praha u 100 ml apsolutno čistog etanola, a zatim je tretirana 15 min u ultrazvučnom kupatilu. pH vrednost suspenzija je podešena na 2,00 sa HCl. Pre početka taloženja, suspenzije su tretirane 30 min u ultrazvučnom kupatilu, u cilju homogenizacije suspenzije.

Elektroforetsko taloženje je izvedeno u elektrohemskoj ćeliji sa tri elektrode. Radna elektroda je Ti pločica, a dve Pt pločice paralelno postavljene na rastojanju od 1,5 cm u odnosu na radnu elektrodu su pomoćne elektrode.

HAP/Lig prevlake su taložene na titanu iz etanolske suspenzije kataforetskom metodom. Prevlake su taložene na konstantnom naponu od 60 V tokom 45 s. Dobijene HAP/Lig prevlake su osušene na vazduhu, na sobnoj temperaturi, a potom sinterovane na 900 °C u atmosferi argona tokom 30 min, brzinom zagrevanja od  $16 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . Pre sinterovanja prevlake su držane na 200 °C u atmosferi argona tokom 45 min zbog deoksidacije površine.

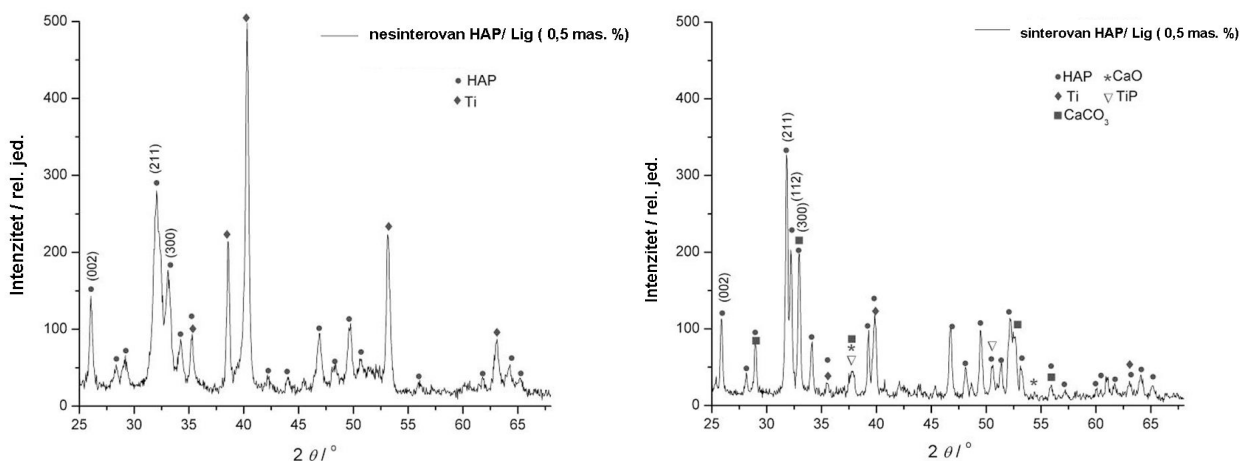
#### *Karakterisanje HAP/Lig prevlaka na titanu*

Fazni sastav HAP/Lig prevlaka pre i posle sinterovanja određen je difrakcijom X-zraka (XRD). Spektroskopija infracrvene svetlosti sa Furijeovom transformacijom u modu totalne refleksije (ATR-FTIR) korišćena je za identifikaciju prisustva specifičnih funkcionalnih grupa nesinterovanih i sinterovanih HAP/Lig prevlaka.

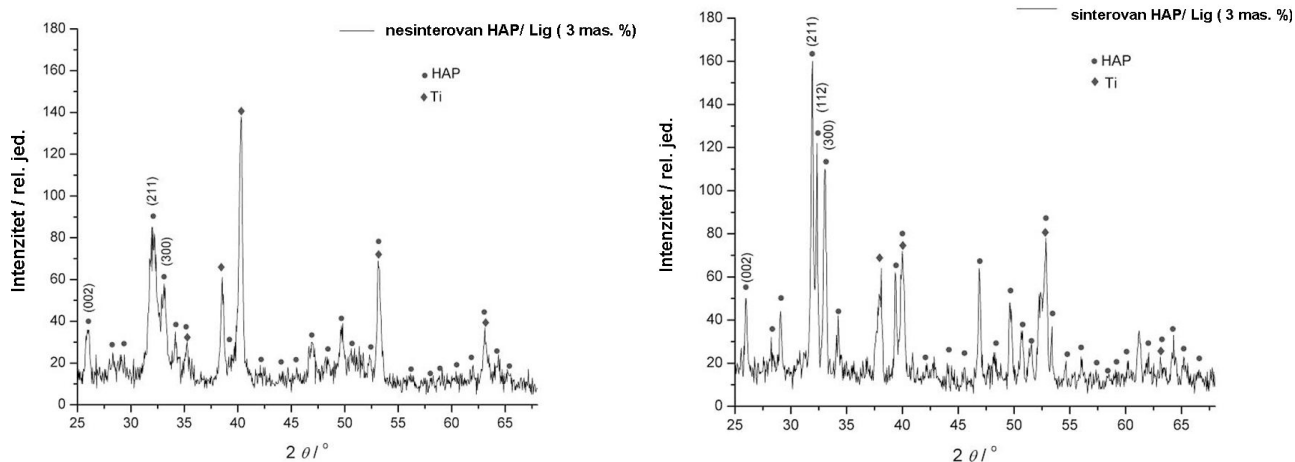
Pikovi na difraktogramima nesinterovanih HAP/Lig prevlaka, prikazani na slikama 1a, 2a i 3a, redom, pojavljuju se na potpuno istim uglovima karakteristični za čist HAP (JCDPS 09-0432), pa se stoga potvrđuje da je HAP u ispitanim prevlakama u čistom obliku. Razlika u intenzitetima nekih pikova na difraktogramima objašnjava se prisustvom Ti supstrata (pikovi karakteristični za Ti su prikazani na slikama 1a, 2a i 3a, radi poređenja).

U slučaju sinterovanih HAP/Lig prevlaka pikovi postaju viši i oštiji (slike 1b, 2b i 3b), što potvrđuje da su HAP/Lig prevlake uspešno sinterovane na temperaturi od 900 °C, znatno niže od uobičajene temperature sinterovanja, koja se kreće u rasponu od 1000 do 1300 °C.<sup>3</sup>

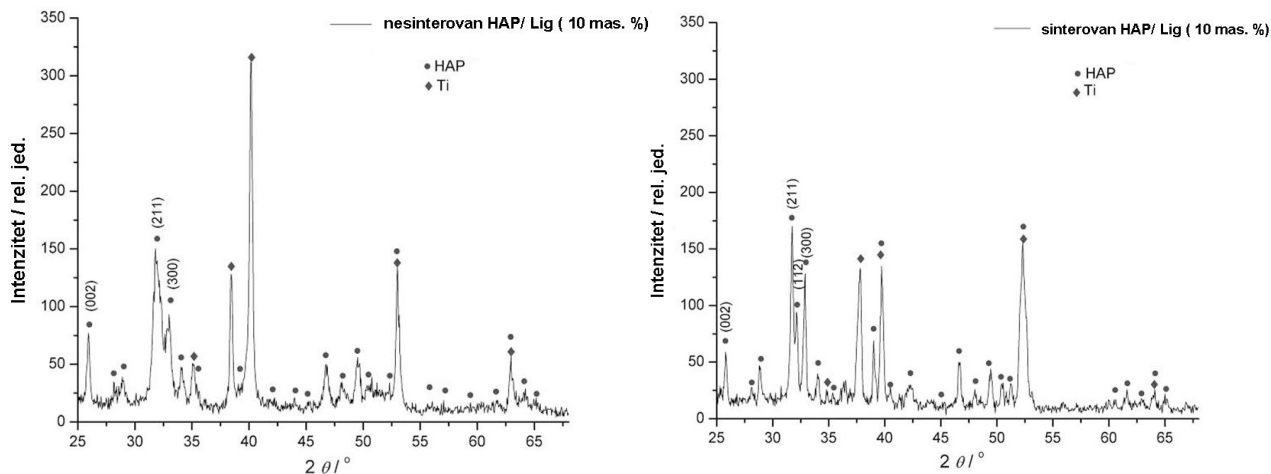




Slika 1. XRD difraktogram: (a) nesinterovane i (b) sinterovane HAP/ Lig prevlake sa 0,5 mas. % Lig.



Slika 2. XRD difraktogram: (a) nesinterovane i (b) sinterovane HAP/ Lig prevlake sa 3 mas. % Lig.

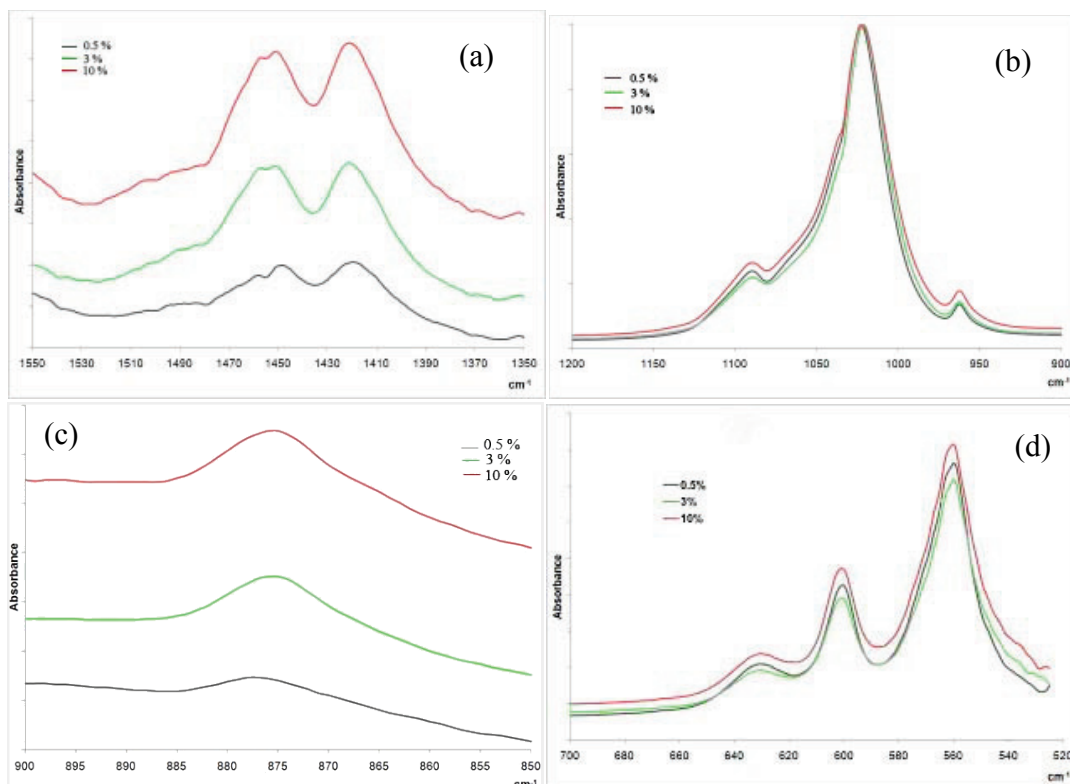


Slika 3. XRD difraktogram: (a) nesinterovane i (b) sinterovane HAP/ Lig prevlake sa 10 mas. % Lig.

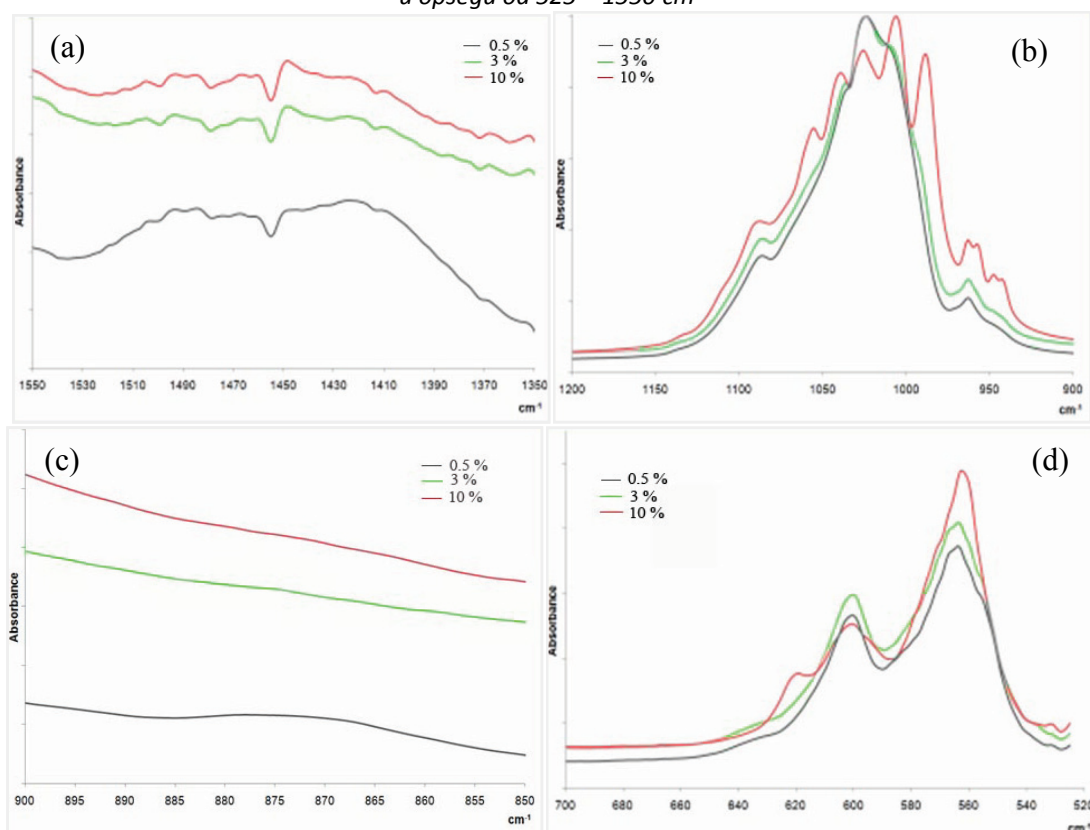
Novi pikovi na difraktogramu sinterovane HAP/Lig prevlake sa 0,5 mas. % Lig (slika 1b) potvrđuju delimičnu HAP dekompoziciju, a specifični pikovi ukazuju na prisustvo CaO, CaCO<sub>3</sub> i TiP. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima Jea (Ye) i saradnika,<sup>8</sup> prema kojima se karbonati i Ca(OH)<sub>2</sub> dobijaju u reakciji CaO sa atmosferskom vodom i CO<sub>2</sub>. Difraktogrami HAP/Lig prevlaka sa 3 i 10 mas. % Lig nemaju pikove koji odgovaraju karbonatima i CaO (slike 2b i 3b, redom), čime je potvrđeno da fazni sastav ostaje nepromenjen.

Poredeći difraktograme HAP/Lig prevlaka utvrđeno je da se HAP dekompozicija ne dešava pri koncentraciji lignina većoj od 0,5 mas. %.

ATR-FTIR spektri nesinterovanih i sinterovanih HAP/Lig prevlaka su prikazani na slikama 4 i 5.



Slika 4. ATR-FTIR spektri nesinterovanih HAP/Lig prevlaka sa 0,5; 3 i 10 mas. % Lig u opsegu od 525 – 1550  $\text{cm}^{-1}$



Slika 5. ATR-FTIR spektri sinterovanih HAP/Lig prevlaka sa 0,5; 3 i 10 mas. % Lig, u opsegu od 525 – 1550  $\text{cm}^{-1}$

Na slici 4 prikazani su spektri nesinterovanih HAP/Lig prevlaka, koji sadrže trake karakteristične za fosfatnu grupu. Traka na  $960\text{ cm}^{-1}$  se odnosi na  $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$  kao i trake na  $1030$  i  $1090\text{ cm}^{-1}$  koje se pripisuju  $\nu_3\text{PO}_4^{3-}$  (slika 4b). Takođe, trake na  $560$  i  $600\text{ cm}^{-1}$  (slika 4d) takođe odgovaraju  $\text{PO}_4^{3-}$  grupama ( $\nu_4\text{PO}_4^{3-}$ ), a karakteristična traka na  $630\text{ cm}^{-1}$  odgovara vibraciji strukturne  $\text{OH}^-$  grupe.<sup>9</sup> Trake na  $870$ - $885\text{ cm}^{-1}$  (slika 4c) se pripisuje C-H vibraciji aromatičnog prstena što potvrđuje prisustvo lignina.<sup>10</sup> Znači da je lignin dobro inkorporiran u HAP/Lig prevlaci tako da ne utiče na formiranje i strukturu HAP.

Na slici 4a detektovane trake na 1420 i 1450  $\text{cm}^{-1}$  ukazuju na metoksilnu grupu u ligninu. Većina funkcionalnih grupa lignina, posebno fenolne hidroksilne grupe imaju tendenciju za formiranjem vodoničnih veza. Stoga, može se pretpostaviti vodonična veza (P-O ... OH) između -OH grupe / lignin i  $\text{PO}_4^{3-}$  grupe / HAP, koja je potvrđena pojavom novog pika na 1090  $\text{cm}^{-1}$  (slika 4b).

Nakon sinterovanja uočene su promene u obliku spektara u opsegu od 1350-1550 i 850-900  $\text{cm}^{-1}$  u slučaju nesinterovanih HAP/Lig prevlaka (slike 4a i 4b) i sinterovanih HAP/Lig prevlaka (slike 5a i 5b). U slučaju sinterovanih HAP/Lig prevlaka (slike 5a i 5c) intenzitet traka na 1410 i 1460  $\text{cm}^{-1}$  se smanjuje, ali nema pomeranja traka. Slaba traka na 865-880  $\text{cm}^{-1}$  na spektru sinterovane HAP/Lig prevlake sa 0,5 mas. % (slika 5c) potvrđuje prisustvo  $\text{CO}_3^{2-}$  grupe, što ukazuje da se tokom procesa sinterovanja odvija HAP dekompozicija. Poređenje ATR-FTIR spektara sinterovanih prevlaka ukazuje da nema razgradnje hidroksiapatita tokom sinterovanja za HAP/Lig prevlake sa 3 i 10 mas. %, što dovodi do zaključka da koncentracija lignina veća od 0,5 mas. % sprečava HAP dekompoziciju vezivanjem za OH<sup>-</sup> grupu HAP rešetke. Ovi rezultati su u skladu sa XRD rezultatima.

### Zaključak

Rezultati XRD analize pokazuju da su HAP i HAP/Lig prevlake uspešno sinterovane na temperaturi od 900 °C, koja je znatno niža od uobičajene temperature sinterovanja, koja se kreće u rasponu od 1000 do 1300 °C, što je posledica korišćenja nanočestičnog HAP praha. Pojava novih pikova na difraktogramu sinterovane HAP prevlake sa 0,5 mas. % Lig koji odgovaraju prisustvu karbonata, CaO i TiP, potvrđuju delimičnu razgradnju hidroksiapatita. Izostanak pikova koji odgovaraju pomenutim fazama na difraktogramu sinterovanih HAP/Lig prevlaka sa 3 i 10 mas. % Lig ukazuju da koncentracija lignina veća od 0,5 mas. % štiti rešetku hidroksiapatita tokom procesa sinterovanja. ATR-FTIR rezultati potvrđuju da u slučaju sinterovane kompozitne HAP/Lig prevlake, koncentracija lignina veća od 0,5 mas. % štiti HAP rešetku od dekompozicije tokom sinterovanja vezujući se za hidroksilne grupe HAP rešetke, jer pojava novih traka na ATR-FTIR spektru sinterovane HAP/Lig prevlake sa 0,5 mas.% Lig koje odgovaraju karbonatima, potvrđuju da dolazi do razgradnje HAP rešetke.

### ATR-FTIR and XRD evaluation of composite hydroxyapatite/lignin coatings obtained by electrophoretic deposition method

*Calcium hydroxyapatite (HAP,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) is one of the calcium phosphate based bioceramic material and clinically widely used due to its structural and chemical similarity to the natural bone. Owing to its inferior mechanical properties the main application of HAP is in a form of composites or coatings. In order to improve the mechanical properties, adhesion and overcome brittleness of the HAP coating, the HAP composite coatings containing biopolymers have become of great interest. Lignin (Lig), amorphous polyphenolic natural polymer, used in this study was obtained from organosolv pulping of mixed hardwoods. The aim of this work was to produce electrodeposited HAP/Lig biocomposite coatings on titanium and to investigate the effect of lignin concentration on microstructure and phase composition of composite coatings. HAP/Lig coatings were obtained from ethanol suspension of 10  $\text{g l}^{-1}$  HAP and 0.5 – 10 wt. % Lig powders on titanium at constant voltage of 60 V for 45 s. Obtained ATR-FTIR and XRD results proved that lignin is well incorporated into HAP lattice and does not influence the structure of HAP, but protects HAP decomposition during sintering at concentrations higher than 0.5 wt. %.*

### Literatura

1. O. Albayrak, O. El-Atwani, S. Altintas, *Surf. Coat. Tech.* **202** (2008) 2482-2487.
2. A. Kodama, S. Bauer, A. Komatsu, H. Asoh, S. Ono, P. Schmuki, *Acta Biomater.* **5** (2009) 2322-2330.
3. C. Wang, J. Ma, W. Cheng, R. Zhang, *Mater. Lett.* **57** (2002) 99-105.
4. X. Pang, I. Zhitomirsky, *Mater. Charac.* **58** (2007) 339-348.
5. X. Pang, I. Zhitomirsky, *Mater. Chem. Phys.* **94** (2005) 245-251.
6. A.-M. Boudet, *Plant Physiol. Biochem.* **38** (2000) 81-96.
7. E. Palcevskis, A. Dindune, L. Kuznecova, A. Lipe, Z. Kanepe, *Latv. J. Chem.* **2** (2005) 128-138.
8. H.Z. Ye, X.Y. Liu, H.P. Hong, *J. Mater. Sci.-Mater. M.* **20** (2009) 843-850.
9. J. Zhao, X. Lu, K. Duan, L.Y. Guo, S.B. Zhou, J. Weng, *Colloid. Surface. B* **74** (2009) 159-166.
10. B. Scholze, D. Meier, *J. Anal. Appl. Pyrol.* **60** (2001) 41-54.

## UV-Vis spectroelectrochemical study of substituted 4-oxothiazolidine derivatives in aprotic medium

Isidora Cekić-Lasković\*\*\*, Dragica M. Minić\*\*\*, Rade Marković\*\*\*\*, Elena Volanschi\*\*\*\*

\*Faculty of Physical Chemistry, University of Belgrade, Studentski trg 12, Belgrade, Serbia

\*\*Center for Chemistry ICTM, P.O. Box 473, 11001 Belgrade, Serbia

\*\*\*Faculty of Chemistry, University of Belgrade, Studentski trg 16, 11001 Belgrade, Serbia

\*\*\*\*Department of Physical Chemistry, University of Bucharest, Blvd Elisabeta 4-12, RO-030018, Bucharest, Romania

### Introduction

Over the last decade the chemistry of an extensive series of 5-substituted and unsubstituted 4-oxothiazolidines, as exemplified by typical structure **1**, bearing the trisubstituted exocyclic C-C double bond at the C(2) position, has been the subject of work in our laboratory<sup>1</sup>. The *push-pull* effect<sup>2,3</sup> imparts decisive influence on both, the dynamic behaviour and the chemical reactivity of these compounds. They can exist in different configurational and conformational forms as previously confirmed by <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR, IR, UV, MS spectroscopy and X-ray structural analysis<sup>4</sup>.

Several structural features of these compounds, that is, their polifunctional nature, the stereogenic center at the C(5) position of the thia-zolidine ring, the *Z*- or *E*-geometry of the exocyclic donor-acceptor substituted C=C bond, and also importantly, the *cis*-configured –S–C=C–C=O unit of the *Z*-isomers, make them interesting substrates for investigating their properties and reactivity. Proved biological activity<sup>5</sup> and utility as organic intermediates for the synthesis of different heterocyclic compounds<sup>6</sup> increase an interest for compounds of that type.

As a continuation of our investigation on electrochemical activity of these systems the object of this paper is to study a typical compound of this series, (5-ethoxycarbonylmethylidene-4-oxothiazolidine-2-ylidene)-*N*-phenylethanone **1** (Fig. 1), isolated according to procedure reported by our research group<sup>7</sup> as a mixture of (2*E*,5*Z*)-**1a** and (2*Z*,5*Z*)-**1b** isomers. Thus, the role of the electron withdrawing substituent (EWG) on the electrochemical behaviour of selected 4-oxothiazolidines on reduction mechanism and the reactivity of the intermediate species in aprotic DMSO has been investigated. Research on redox properties of **1** may provide a better understanding of electron transfer processes involving heterocyclic *push-pull* alkenes, as well as their electronic structure and reactivity of these compounds.

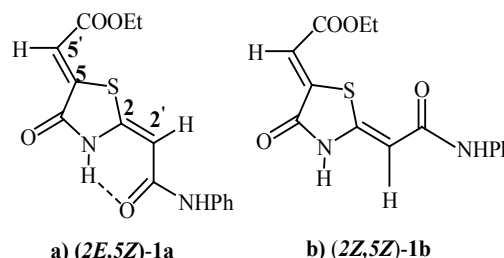
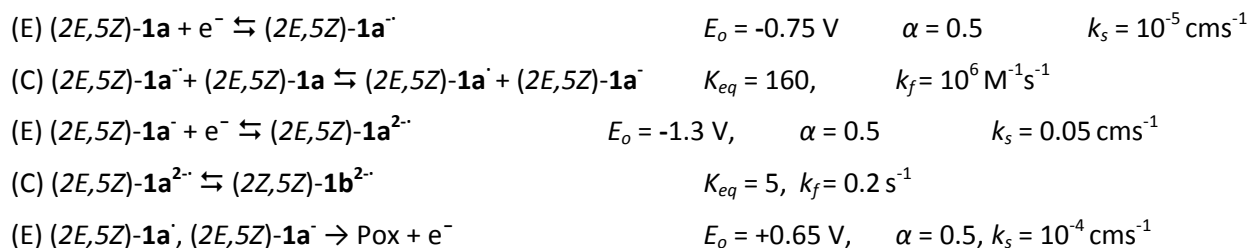


Fig. 1. a) (2*E*,5*Z*)-**1a** and b) (2*Z*,5*Z*)-1 5-ethoxycarbonylmethylidene-4-oxothiazolidin-2-ylidene)-*N*-phenylethanone

### Results and discussion

The electrochemical results are in accordance to an ECECE reaction sequence, whereas the chemical step is a rapid proton transfer occurring between the electrogenerated base (EGB) anion radical and the substrate, i.e., the self-protonation reaction, as verified by the DigiSim simulations:



The *E/Z* isomerization is favored in DMSO, most probably after the second ET, apparently *via* corresponding dianion radicals.

In order to provide more detailed information on the reaction mechanism and identification of the intermediate transient species involved in the reduction process, UV-Vis absorption spectroelectrochemical technique was used. UV-Vis spectra were recorded during the electrochemical and chemical

(tetrabutylammonium hydroxide, TBOH) reduction of **1** in DMSO. The evolution of the spectra obtained on electrochemical reduction at a potential value between the first and second wave is depicted at -0.6 and -1 V on cyclic voltammograms (Fig. 2a).

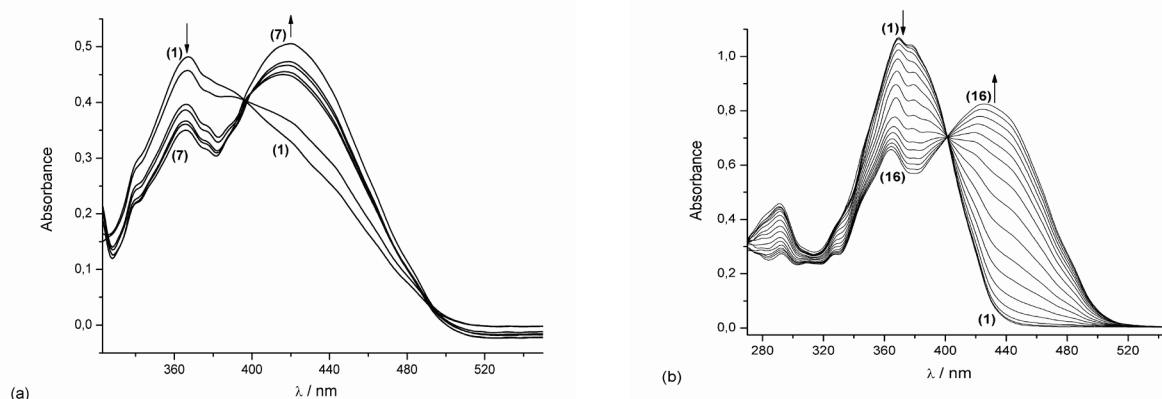


Fig. 2. (a) Absorption spectra recorded during the electrochemical reduction of compound **1** in 0.1 M TBAHFP/DMSO at the potential between the first and second reduction wave, (curves 1-7) and (b) UV-Vis spectra of **1** at  $c_{\text{TBOH}}/c_{\text{Substrate}}$  molar ratios from 0:1 to 1.5:1 (curves 1-16).

The starting compound shows absorption bands at 286 and 370 nm. During the electrolysis at the potential of the first reduction wave, the band at 370 nm decreases with simultaneous appearance of new broad and asymmetric absorption band with maximum at 422 nm with an isobestic point around 397 nm. The UV changes upon TBOH addition in the range 0-(1.5:1) molar ratios are presented in Fig. 2b. The new band at 427 nm, which increases with the TBOH concentration, was assigned to the conjugate base of the substrate, the (2*E*,5*Z*)-**1a**<sup>-</sup> anion, formed by an abstraction of the acidic lactam hydrogen. Similar UV-Vis spectroelectrochemical family of curves in Fig. 2a with the spectra recorded in the presence of TBOH (Fig. 2b) points out to the role of the anion-radical as EGB and in addition supports the self-protonation reaction, following the first ET.

At prolonged reduction or higher potential values, as well as upon TBOH addition above the 1:1 molar ratio, this band decreases, indicating an asymmetry (shoulder) at 440 nm. This signal which was sufficiently stable to be well characterized by EPR spectroscopy was tentatively assigned to the dianion radical (2*E*,5*Z*)-**1a**<sup>2-</sup>, accumulated on continuous electrochemical reduction. Simultaneously, a band with maximum at 364 nm is observed. The time variation of the absorbance intensity ratio  $A_{370 \text{ nm}}/A_{364 \text{ nm}}$  emphasizes that the two bands belong to the same species and therefore the band at 364 nm was assigned to the residual of the starting compound. By acidifying the 1.5:1 TBOH/substrate molar ratio solution with gradual addition of trichloroacetic acid ( $c = 7.01 \text{ mM}$ ), the band of the starting compound is entirely recovered, indicating the reversibility of the process.

Semiempirical PM3-MO calculations were performed in order to account for the experimental results regarding the redox behaviour of compound **1** and to understand the reactivity of the intermediate species identified by electrochemical and spectral data, in terms of the electronic structure. Therefore, both, the neutral molecules and the all intermediate species in reduction processes, that is, anion radicals, dianions, non radical anions, dianion radicals were calculated, in gas phase and in DMSO, using the COSMO model of solvation. The formation enthalpy values for the major configurational isomer (2*E*,5*Z*)-**1a** (neutral molecule), as well as for other intermediate species evidenced by experimental results, are presented in Table 1.

Table 1. The formation enthalpy values,  $\Delta H^f$ , for the species of isomer (2*E*,5*Z*)-**1a** in gas phase and in DMSO

Species of isomer <b>1a</b>	Neutral compound <b>1a</b>	Anion radical <b>1a</b> <sup>-</sup>	Anion <b>1a</b> <sup>-</sup>	Dianion radical <b>1a</b> <sup>2-</sup>	Dianion <b>1a</b> <sup>2-</sup>	Freeradical <b>1a</b> <sup>•</sup>
$\Delta H^f_{\text{gas phase}} / \text{kcal mol}^{-1}$	-85.60	-135.34	-127.22	-99.30	-91.70	-45.40
$\Delta H^f_{\text{DMSO}}^a / \text{kcal mol}^{-1}$	-99.33	-195.25	-192.93	-276.68	-270.73	-57.60

<sup>a</sup> The formation enthalpy in DMSO, including solvation energy

The reaction enthalpies, calculated as  $\Delta^{\ddagger}H = \sum_{\text{prod}} \Delta H^{\ddagger} - \sum_{\text{react}} \Delta H^{\ddagger}$  with the values in Table 1, show that both ET steps are highly exothermic in DMSO as against the gas phase (-95.92 vs. -49.74 kcal for the first, and -83.75 vs. +27.92 kcal for the second ET) due to the enhanced electro-affinities in polar solvent. The chemical step, the protonation of the anion radical by the substrate (self-protonation), is slightly less endothermic in DMSO than in gas phase. Therefore, the energetics of the overall ECE sequence is largely exothermic for DMSO ( $\Delta H = -135.62 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) as against the gas phase ( $\Delta H = +26.5 \text{ kcal mol}^{-1}$ ).

The geometry of the anion radicals of both isomers is similar to that of the corresponding neutral molecules. The increased distance between the NH-C=O groups (2.37 Å) is an indication of the weaker H-bond interaction and allows the facile lactam proton abstraction by EGB. The shapes of the single occupied MO (SOMO) of the anion radical (Fig. 3a) and in dianion radical (Fig. 3b) are similar, indicating the delocalization of the odd electron within the oxothiazolidine ring and the carbonyl group of EWG (CONHPh), as well as an antibonding character in both C(2)=C(2') and C(5)=C(5') bonds, resulting in a higher mobility around these bonds in the reduced (negatively charged) species. However, the phenyl of the EWG group is less twisted in the dianion radical (-26 °) as against the corresponding anion radical (-68 °), thus allowing a higher delocalization of the odd electron on the adjacent phenyl group.

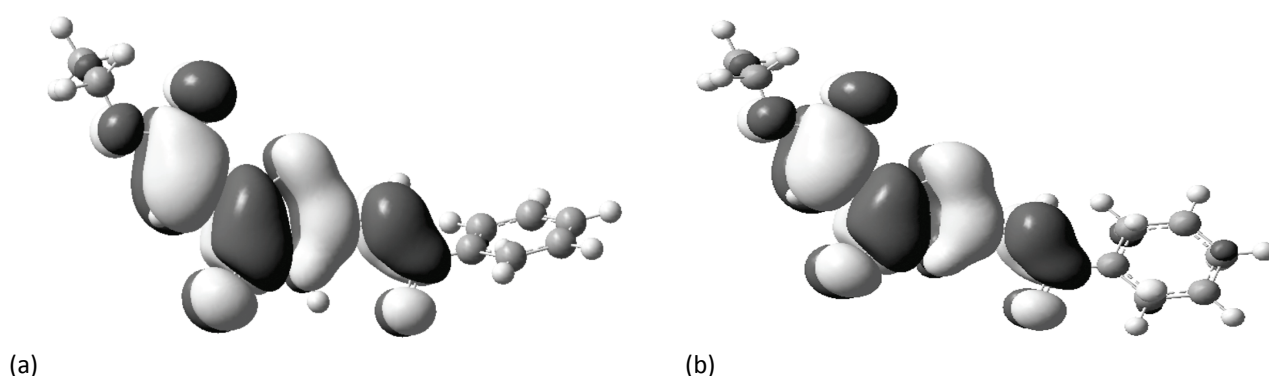


Fig. 3. The SOMO at the optimized geometry of (a) the anion radical (2E,5Z)-1a<sup>•-</sup> and (b) dianion radical (2E,5Z)-1a<sup>2•-</sup>.

The antibonding character of SOMO in the C(2)=C(2') bond in both radical species shows a possible *E/Z* isomerisation, but the higher value of the  $\alpha$ -bond distance (1.40 Å) in the dianion radical suggests that this process is more likely to occur for this species than for the anion-radical ( $d = 1.37 \text{ Å}$ ). Therefore, the potential energy surface for the *E/Z* isomerization was calculated for both the anion radical and the dianion radical, in the gas phase and solvent. The evolution of the formation enthalpy, including solvation energy ( $\Delta H_{\text{rel}}$ ) along the reaction coordinate (the dihedral angle -S-C(2)=C(2')-H) for the rotation around the C(2)=C(2') bond for the anion radical and the dianion radical (2E,5Z)-1a<sup>•-</sup>/(2Z,5Z)-1b<sup>2•-</sup> in DMSO, is presented in Figure 4.

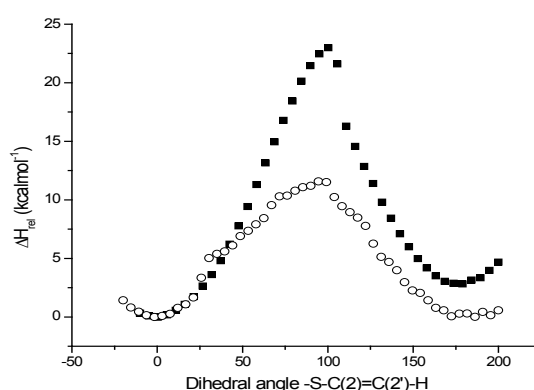


Fig. 4. Potential energy surface calculated in DMSO for the (2E,5Z)/(2Z,5Z) isomerization of the anion radical (full symbols) and dianion radical (open circles), with respect to the rotation around C(2)=C(2') bond; dihedral angle (S-C(2)=C(2')-H).  $\Delta H_{\text{rel}}$  represents the formation enthalpy including solvation with respect to the minimum of the (2E,5Z)-1a isomer of the anion radical and dianion radical, respectively.

The left minimum corresponds to the fully optimized species  $(2E,5Z)\text{-1a}^{\cdot-}$  whereas the right minimum to species  $\mathbf{1b}^{\cdot-}$ . It may be observed that the anion radical  $(2E,5Z)\text{-1a}^{\cdot-}$  is more stable than the isomer  $(2Z,5Z)\text{-1b}^{\cdot-}$  by about 3 kcal mol<sup>-1</sup>, due to the stabilizing effect of the H-bond between the lactam N-H and O=C in the EWG (Fig. 4). The calculated energy barrier for the *E/Z* isomerization of the anion radical is 23 kcal mol<sup>-1</sup> indicating possible but slow isomerisation. The similar plot for the dianion radicals shows that both isomers are equally stable because in this case the ionization of the lactam proton prevents any H-bond interaction in the  $(2E,5Z)\text{-1a}^{2-}$ . The energy barrier is about 11 kcal mol<sup>-1</sup>, i.e. the half of the value for the anion radicals. Consequently, the *E/Z* isomerization is much more probable after the second ET.

### Conclusion

Electrochemical behavior of (5-ethoxycarbonylmethylidene-4-oxothiazolidine-2-ylidene)-*N*-phenyl-ethanone was investigated in DMSO by UV-Vis spectroelectrochemistry in the absence and presence of exogenous base, in order to provide: a) more detailed information on the reaction mechanism and the identification of the intermediate transient species involved in the reduction process and b) to outline the role of the anion radical as EGB. Gas phase and solvent dependent semi-empirical PM3-MO calculations provided theoretical support for the proposed ECECE mechanism and allowed insight into the electronic structure and reactivity of the different intermediates observed by the experimental results. The influence of solvation on both, energetics and reactivity of the intermediate species involved in the proposed mechanism, is outlined.

*Acknowledgement:* The financial support by the Ministry of Science of the Republic of Serbia, Grant No. 172020 (to R.M.) is acknowledged.

### ULj -VID spektroeletrohemijsko proučavanje supstituisanih 4-oksotiazolidinskih derivata u nevodenoj sredini

*U cilju predlaganja reakcionog mehanizma i identifikacije reakcionih intermedijera (5-etoksikarbonilmetiliden-4-oksotiazolidin-2-iliden)-1-feniletanon proučavan je u DMSO spregnutim ciklo-voltametrijskim i ULj-V spektroeletrohemijskim metodama. Upoređivanjem eksperimentalnih podataka sa teorijskim krivama dobijenim primenom softvera DigiSim, ukazano je na ECECE mehanizam kao glavnu reakcionu sekvencu. Hemijski stupanj koji sledi prvi prenos elektrona je deprotonacija početnog jedinjenja pod uticajem elektrogenerisane baze, anjon radikala. Uzimajući u obzir uticaj rastvarača, izvršeni su semiempirijski MO proračuni kako bi se objasnile redoks osobine ispitivanog jedinjenja u pogledu elektronske strukture i reaktivnosti.*

### References

1. R. Marković, J.G.Pavlović, M. Baranac, Phosphorus, *Sulphur and Silicon* **180** (2005) 1411-1415.
2. Z. Džambaski, R. Marković, M. Baranac, V. Jovanović, *J. Chem. Educ.* **81(7)** (2004) 1026-1029.
3. R.G. Giles, N.J. Lewis, J.K. Quick, M.J. Sasse, M.W.J. Urquhart, *Tetrahedron* **56** (2000) 4531-4537.
4. R. Marković, M. Baranac, N. Juranić, S. Macura, I. Cekić, D. Minić, *J. Mol. Struct.* **800** (2006) 85-92.
5. K. Yoneda, A. Ota, Y. Kawashima, *Chem. Pharm. Bull.* **41** (1993) 876-881.
6. R. Marković, M. Stojanović, *Synlett* (2009) 1997-2002.
7. R. Marković, Z. Džambaski, M. Baranac, *Tetrahedron* **57** (2001) 5833-5841.

## Volfram-karbid kao nosač nanočestica Pt u elektrohemijskoj oksidaciji metanola

M. D. Obradović, B. M. Babić\*, N. V. Krstajić\*\*, S. Lj. Gojković\*\*

*Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija*

*\*Institut nuklearnih nauka Vinča, Beograd, Srbija*

*\*\*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija*

### Uvod

Interes za ispitivanje volfram-karbida u oblasti elektrokatalize datira od 1973. godine kada su Levy i Boudart<sup>1</sup> otkrili da se ovaj materijal ponaša slično platini u reakciji izomerizacije alkena. Kasniji eksperimenti, takođe izvedeni u gasnoj fazi, pokazali su da je površina WC aktivnija za disocijaciju metanola i vode od Pt i Ru i da se CO desorbuje na nižoj temperaturi sa WC nego sa Pt i Ru.<sup>2</sup> Ovi rezultati, kao i dobra elektronska provodnost i mehaničke karakteristike volfram-karbida, njegova relativna stabilnost u kiseloj sredini i niska cena, inicirali su ispitivanja elektrohemijske oksidacije metanola na čistom volfram-karbidu i na volfram-karbidu čija je površina modifikovana platinom.**Error! Bookmark not defined.**<sup>6</sup> Objavljeni rezultati nisu potpuno saglasni, pa je tako nađeno da je čist WC približne aktivnosti kao Pt**Error! Bookmark not defined.** ili čak aktivniji od nje,**Error! Bookmark not defined.****Error! Bookmark not defined.** ali i da je čist WC potpuno neaktivan za oksidaciju metanola**Error! Bookmark not defined.** i da je prisustvo WC ne utiče na aktivnost Pt za pomenutu reakciju.**Error! Bookmark not defined.****Error! Bookmark not defined.**

U ovom radu prikazane su elektrohemijske karakteristike sintetizovanog volfram-karbida razvijene površine, koji je zatim korišćen kao nosač nanočestica Pt (Pt/WC). Ispitana je aktivnost Pt/WC za oksidaciju metanola u kiseloj sredini i rezultati su upoređeni sa komercijalnim katalizatorom u kome je nosač nanočestica uglj razvijene površine (Pt/C).

### Eksperimentalni deo

Volfram-karbid je sintetizovan metodom sol-gel polikondenzacije rezocinola i formaldehida u prisustvu  $(\text{NH}_4)_2\text{WO}_4$  kao izvora volframa i cetiltrimetilamonijum-bromida kao površinski aktivne supstance.<sup>7</sup> Uzorak je termički tretiran na 900 °C tokom 1 h u atmosferi Ar (označen kao WC-T1), a zatim još 2 h na 950 °C u atmosferi  $\text{H}_2$  (WC-T2). Metodom difrakcije X-zraka (XRD) je određen fazni sastav oba uzorka.

Nanočestice Pt su nanete na pripremljene uzorke redukcijom  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  pomoću natrijum-borhidrida u alkalnom rastvoru (pH = 10), pri čemu je udeo Pt bio 10 mas. %.

Prahovi WC-T1, WC-T2, Pt/WC-T1 i Pt/WC-T2 su suspendovani u vodi uz dodatak 50  $\mu\text{L cm}^{-3}$  rastvora Nafiona<sup>®</sup> (alkoholni rastvor, 5 mas %, 1100 E.W, Aldrich) u ultrazvučnom kupatilu tokom 1 h. U svim slučajevima suspenzija je sadržala 3,6 mg WC u 1  $\text{cm}^3$   $\text{H}_2\text{O}$ . Po 10  $\mu\text{L}$  suspenzije je zatim naneto na rotirajuću disk elektrodu sa diskom od staklastog ugljenika (GC) površine 0,196  $\text{cm}^2$ . Nakon sušenja tokom noći na vazduhu i sobnoj temperaturi ispitivane su karakteristike ovako pripremljenih tankih slojeva praha metodom ciklične voltimetrije u 0,10  $\text{mol dm}^{-3}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Na Pt/WC-T1 i Pt/WC-T2 je u istim rastvorima ispitana reakcija oksidacije CO, prethodno adsorbovanog na potencijalu 0,10 V tokom 30 min. U svrhu određivanja elektrohemijski aktivne površine Pt, na istim katalizatorima je taložen Cu na potpotencijalima iz rastvora koji je sadržao  $2,0 \cdot 10^{-3}$   $\text{mol dm}^{-3}$   $\text{CuSO}_4$ , a zatim je snimljen voltamogram njegovog anodnog rastvaranja. Takođe je ispitana oksidacija metanola ( $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$   $\text{CH}_3\text{OH}$ ) snimanjem polarizacionih krivih potenciodinamičkom metodom sa brzinom linearne promene potencijala 50  $\text{mV s}^{-1}$ . Rezultati su upoređeni sa istim na komercijalnom katalizatoru Pt/C (Pt nanočestice na uglju XC-72R, proizvođač E-Tek).

Elektrohemijska merenja su urađena u standardnoj ćeliji sa zasićenom kalomelovom elektrodom kao referentnom i Pt žicom kao pomoćnom elektrodom, na temperaturi  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  u atmosferi  $\text{N}_2$  visoke čistoće. Svi potencijali u radu su izraženi prema reverzibilnoj vodoničnoj elektrodi u istom rastvoru (RHE). Elektroliti su pripremani od hemikalija visoke čistoće (Merck) sa visko prečišćenom vodom (Millipore, 18  $\text{M}\Omega$  cm).

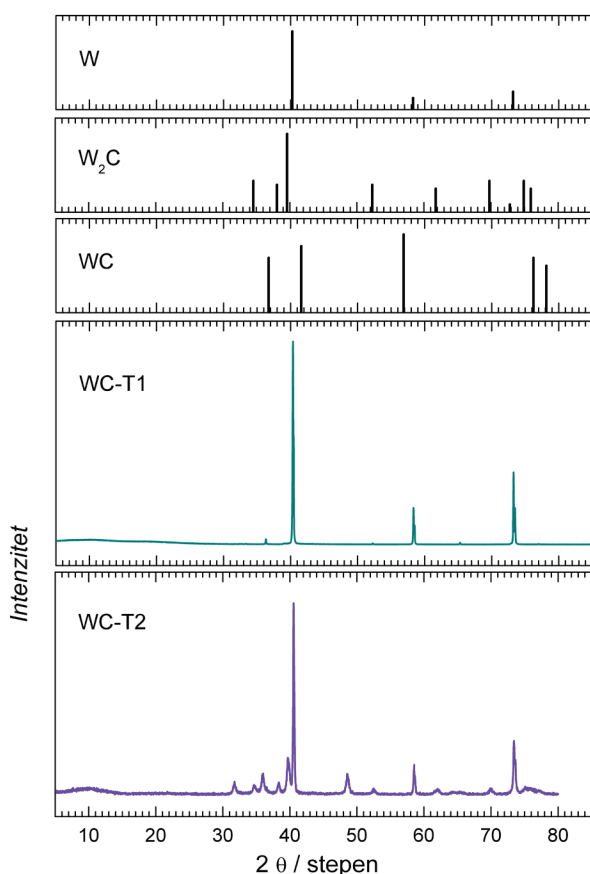
### Rezultati i diskusija

Nakon sinteze, prahovi WC-T1, WC-T2 su ispitani metodom XRD. Na sl.1 su prikazani dobijeni rezultati zajedno sa pozicijama pikova za refleksije faza koje se mogu očekivati u datim uzorcima. Kao što se vidi, uzorak WC-T1 pokazuje isključivo pikove karakteristične za čist W, što znači da je termički tretman na 900 °C tokom 1 h nedovoljan za formiranje karbida. Ovaj uzorak je uslovno označen kao WC-T1, jer je kasnije metodom ciklične voltame-

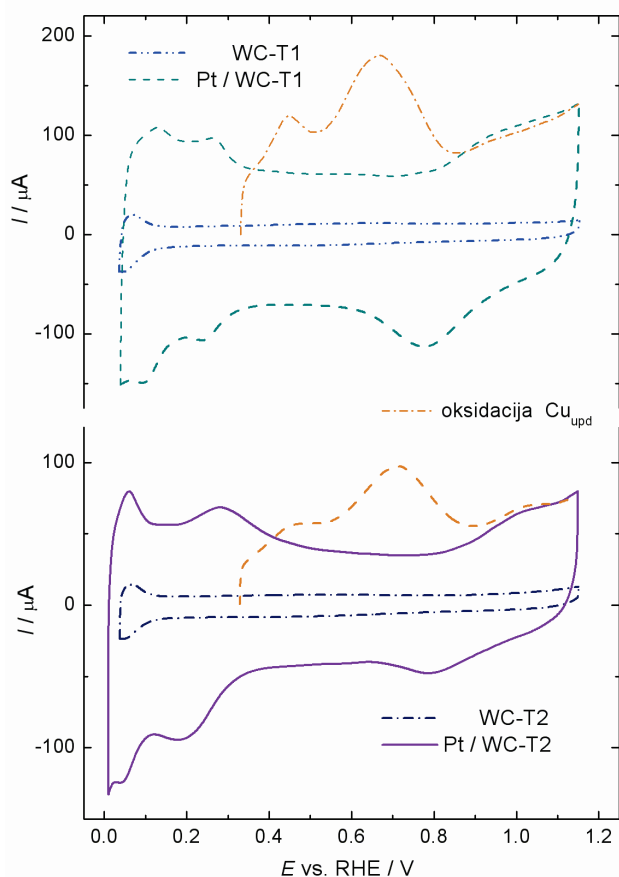


trije pokazano da na njegovoj površini ipak dominiraju karbidi volframa. Ovde treba imati u vidu da metoda XRD, zbog dubine prodiranja X-zraka, odražava sastav uzorka po masi, dok ciklična voltametrijia odražava isključivo karakteristike površine. Difraktogram uzorka WC-T2 pokazuje da je on smeša WC,  $W_2C$  i neprореagovalih W i C, što znači da ni dodatni termički tretman nije u potpunosti doveo do formiranja volfram-karbida. Ciklični voltamogrami uzoraka WC-T1 i WC-T2 su snimljeni u oblasti potencijala koja odgovara njihovoj primeni kao nosača katalizatora za reakcije u gorivim spregovima. Kao što sl.2 pokazuje, oba uzorka su elektrohemijski stabilna, odnosno nema znakova anodnog rastvaranja. Treba napomenuti da anodno rastvaranje čistog volframa počinje već na 0,7 V. Par anodnih i katodnih pikova uz samu negativnu granicu potencijala se mogu pripisati sorpciji vodonika u nekom od hidratiranih oksida volframa, koji su uvek prisutni na površini u vodenim rastvorima. **Error! Bookmark not defined.**

Na cikličnom voltamogramu uzorka Pt/WC-T1 jasno se uočavaju strujni pikovi koji potiču od adsorpcije i desorpcije vodonika, kao i strujni talas formiranja oksida Pt i pik njegove redukcije, što su sve karakteristike polikristalne Pt. Struje u oblasti dvojnog sloja Pt su znatno veće od struja samog nosača WC-T1, što bi moglo biti posledica promene njegove površine tokom hemijskog postupka nanošenja nanočestica Pt. Za razliku od Pt/WC-T1, ciklični voltamogram Pt/WC-T2 pokazuje par pikova koji su pripisani sorpciji vodonika u oksidima volframa na površini WC-T2, ali i par pikova na 0,20/0,30 V. Poslednji par pikova je zapažen i na voltamogramu tankog filma smeše prahova WC i Pt i objašnjen je interkalacijom vodonika u volframatnim vrstama koje nastaju rastvaranjem površine WC i koje se preferencijalno talože na površini Pt. **Error! Bookmark not defined.** Da bi se mogle porediti aktivnosti različitih katalizatora za neku elektrohemijsku reakciju, neophodno je izmerene struje normalizovati po elektrohemijski aktivnoj površini katalitički aktivnog metala. Površina Pt se najčešće određuje iz naelektrisanja desorpcije vodonika, (oblast 0,05 V < E < 0,30 V na voltamogramu Pt/WC-T1). Međutim, ukoliko se u ovoj oblasti potencijala odigrava još neka reakcija na površini, koja maskira pik desorpcije vodonika kao što je to slučaj sa Pt/WC-T2, mora se koristiti neka druga metoda. Ovde je primenjena metoda taloženja bakra na potpotencijalima,<sup>8</sup> pri čemu se formira monosloj Cu, koji se zatim u osnovnom rastvoru anodno rastvori i iz naelektrisanja ispod odgovarajućih strujnih pikova izračuna broj atoma Pt na površini, odnosno elektrohemijski aktivna površina Pt. Na sl.2 su prikazani profili anodnog rastvaranja Cu iz kojih je izračunato da površina Pt u uzorku Pt/WC-T1 iznosi  $79 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , a u uzorku Pt/WC-T2  $41 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , što odgovara sfernim česticama prečnika 3,5 nm, odnosno 6,8 nm.



Sl.1. XRD difraktogram prahova WC-T1 i WC-T2.

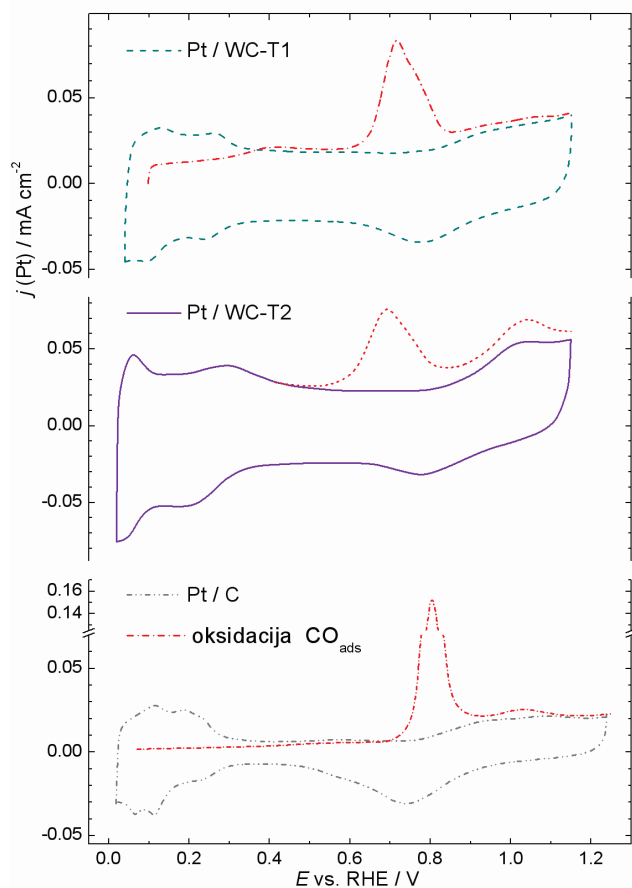


Sl.2. Ciklični voltamogrami: WC-T1, Pt/WC-T1, WC-T2 i Pt/WC-T2.

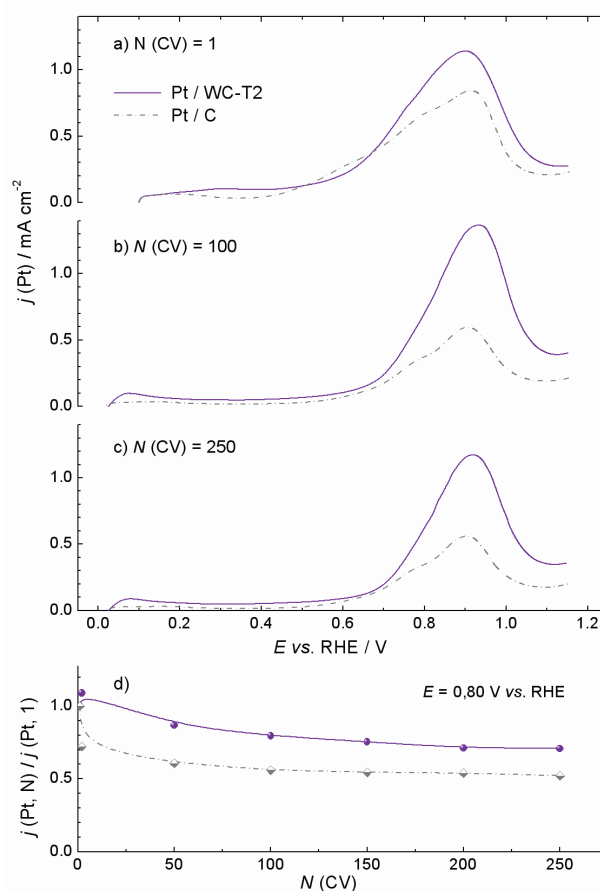
*Pt/WC-T2 snimljeni u 0,10 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pri 20 mV s<sup>-1</sup>; i  
vltamogrami anodnog rastvaranja Cu<sub>upd</sub>.*

U elektrohemijskoj oksidaciji metanola na Pt uvek se formira adsorbovani ugljen-monoksid, koji se mora dalje oksidovati da ne bi došlo do trovanja površine katalizatora. Zato je od ključne važnosti za aktivnost jednog katalizatora da je oblast potencijala oksidacije CO<sub>ads</sub> što negativnija. Na sl.3 prikazani su voltamogrami oksidacije CO<sub>ads</sub> na oba sintetizovana katalizatora, kao i na komercijalnom katalizatoru Pt/C. Kao što se može videti, na Pt/WC-T1 i Pt/WC-T2 katalizatorima oksidacija CO<sub>ads</sub> počinje za oko 100 mV ranije nego na Pt/C, a toliko iznosi i razlika potencijala maksimuma tih strujnih pikova. To pokazuje da WC, odnosno sloj hidratiziranih oksida na njegovoj površini olakšava oksidaciju CO<sub>ads</sub>, tako što obezbeđuje kiseonične vrste neophodne za oksidaciju CO<sub>ads</sub> na potencijalima koji su negativniji od onih na kojima se kiseonične vrste formiraju na Pt. Ovakav uticaj neke hemijske vrste na aktivnost Pt za oksidaciju CO<sub>ads</sub> ili nekog organskog molekula je poznat kao bifunkcionalni efekat.<sup>9</sup>

Aktivnost sintetizovanih katalizatora za elektrohemijšku oksidaciju metanola je ispitana potenciodinamičkim snimanjem polarizacionih krivih. Na sl.4a prikazane su prve polarizacione krive snimljene u anodnom smeru odmah nakon dodavanja metanola u rastvor za katalizatore Pt/WC-T2 i Pt/C. Kao što se može zapaziti, reakcija počinje na približno istom potencijalu na oba katalizatora, ali su na potencijalima preko 0,65 V gustine struja nešto veće na Pt/WC-T2. U cilju ispitivanja stabilnosti katalizatora tokom oksidacije metanola, potencijal elektrode je kontinualno cikliziran u granicama od 0,05 V do 1,15 V. Na sl.4b i 4c prikazani su rezultati snimljeni u 100-tom i 250-tom ciklusu, koji pokazuju da se razlika u gustinama struja na Pt/WC-T2 i Pt/C povećala u odnosu na prvi ciklus. Rezultati testa stabilnosti su sumirani na sl.4d na kojoj je prikazano opadanje aktivnosti na konstantnoj vrednosti potencijala tokom cikliziranja. Aktivnost je izražena kao odnos gustine struje u datom ciklusu i gustine struje određene u prvom ciklusu. Može se primetiti da se aktivnost oba katalizatora smanjuje tokom vremena, pri čemu je do 250-og ciklusa katalizator Pt/C izgubio 50% od svoje početne aktivnosti, a katalizator Pt/WC-T2 samo 30%.



Sl.3. Ciklični voltamogrami Pt/WC-T1, Pt/WC-T2, Pt/C i odgovarajući voltamogrami desorpcije adsorbovanog CO; snimljeni u 0,10 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pri 20 mV s<sup>-1</sup>.



Sl.4. Oksidacija metanola na Pt/WC-T2 i Pt/C u 0,10 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0,5 M CH<sub>3</sub>OH pri 50 mV s<sup>-1</sup>: a) prvi, b) 100-ti c) 250-ti ciklični voltamogram; d) normalizovane vrednosti struja na 0,8 V.

Veće gustine struja oksidacije metanola na Pt/WC-T2 u odnosu na Pt/C na potencijalima preko 0.65 V verovatno su posledica brže oksidacije adsorbovanog CO na Pt/WC-T2, kao što pokazuje sl.3. Međutim, činjenica da WC nema efekta na potencijal na kojem počinje reakcija, ukazuje da ne dolazi do elektronske modifikacije platine volframom.

### Zaključak

Metodom sol-gel polikondenzacije sintetizovan je volfram-karbid. Pokazano je da je za formiranje karbida neohodan termički tretman materijala na 950 °C u atmosferi H<sub>2</sub>, ali da i pri takvim uslovima zaostaje izvesna količina neproreagovalog volframa i ugljenika. Nađeno je da je elektrohemijska stabilnost sintetizovanog materijala zadovoljavajuća u oblasti potencijala relevantnoj za oksidaciju metanola, te da se može koristiti kao nosač čestica katalizatora za ovu reakciju. Stoga su na njega deponovane nanočestice Pt redukcijom H<sub>2</sub>PtCl<sub>6</sub> pomoću natrijum-borhidrida. Elektrohemijski aktivna površina Pt je određena na osnovu naelektrisanja za rastvaranje monosloja Cu taloženog na potpotencijalima i ona je odgovarala veličini sfernih čestica od 6,8 nm. Oksidacija prethodno adsorbovanog CO na nanočesticama Pt na nosaču od volfram-karbida i na nosaču od uglja je pokazala da prisustvo volfram-karbida pomera oblast potencijala odigravanja ove reakcije ka negativnijim potencijalima. Ovaj efekat se objašnjava bifunkcionalnim mehanizmom koji potiče od oksida na površini volfram-karbida. U pogledu oksidacije metanola, sintetizovani katalizator i katalizator sa nosačem od uglja pokazuju približno istu početnu aktivnost, ali je opadanje aktivnosti prvog katalizatora tokom vremena manje.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je finansiralo Ministarstvo nauke Republike Srbije (projekat br. 172054).

### Tungsten carbide as support of Pt nanoparticles in electrochemical methanol oxidation

*High surface area tungsten carbide was synthesized by sol-gel polycondensation and used as Pt support. Pt nanoparticles were deposited by borohydride reduction method. Phase composition of the support was found to be a mixture of WC and W<sub>2</sub>C. The material is electrochemically stable within the potential window relevant for methanol oxidation. Electrochemical oxidation of pre-adsorbed CO and methanol were investigated in acid solution. Contrasting the results with those on the commercial Pt/C catalyst, it was concluded that CO oxidation on Pt is promoted by the presence of WC. Methanol oxidation onset potential was found to be the same on Pt/WC and Pt/C catalysts, but at higher potentials Pt/WC exhibited larger current densities. It was assumed that larger current densities at higher potentials originate in the facilitated oxidation of adsorbed CO, while the same onset potentials on both catalysts indicate that electronic modification of Pt by W is not significant. The loss of the activity for methanol oxidation over time exhibited by Pt/WC was found to be lower comparing to the Pt/C catalyst.*

### Literatura

1. R.B. Levy, M. Baudart, *Science* **181** (1973) 547.
2. E.C. Weigert, M.B. Zellner, A.L. Stottlemyer, J.G. Chen, *Top. Catal.* **46** (2007) 349.
3. C.A. Angelucci, L. J. Deiner, F. C. Nart, *J. Solid State Electrochem.* **12** (2008) 1599.
4. M.D. Obradović, B.M. Babić, A. Kowal, V.V. Panić, S.Lj. Gojković, *J. Serb. Chem. Soc.* **73** (2008) 1197.
5. J.B. Joo, J.S. Kim, P. Kim, J. Yi, *Mater. Lett.* **62** (2008) 3497.
6. A.L. Stottlemyer, E.C. Weigert, J.G. Chen, *Ind. Eng. Chem. Res.* **50** (2011) 16.
7. R. Ganesan, D.J. Ham, J.S. Lee, *Electrochem. Commun.* **9** (2007) 2576.
8. C. L. Green, A. Kucernak, *J. Phys. Chem. B* **106** (2002) 1036.
9. M. Watanabe, S. Motoo, *J. Electroanal. Chem.* **60** (1975) 267.

## Koroziona stabilnost prevlaka viniltrioksisilana na aluminijumu u rastvorima NaCl

Željka S. Jovanović, Ingrid Milošev\*, Radmila M. Jančić-Heinemann, Jelena B. Bajat,  
Vesna B. Mišković-Stanković

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija*  
*\*Institut Jožef Stefan, Jamova c. 39, Ljubljana, Slovenija*

### Uvod

Silani su hibridna, organsko-neorganska jedinjenja, opšte formule  $X_3Si(CH_2)_nY$  (X - alkoksi grupa, podložna hidrolizi (metoksi-, etoksi-), Y - organofunkcionalna grupa (amino-, merkpto-)). Prevlake silana se sve više ispituju kao ekološki pogodna zamena za hromatne prevlake, koje su do skoro bile najšire primenjivane prevlake na različitim metalnim supstratima, a koje zbog toksičnosti moraju biti zamenjene nekim drugim vrstama zaštitnih prevlaka. Silani pružaju dobru zaštitu od korozije različitim metalima i legurama, a pošto zbog svoje prirode mogu da obezbede i dobru adheziju organskih prevlaka na metalnim supstratima, oni se koriste i kao vezujući agensi.<sup>1-6</sup>

Cilj ovog rada je ispitivanje korozione stabilnosti prevlaka viniltrioksisilana (VTES) na aluminijumu. Prevlake silana su taložene hemijskim putem, potapanjem u rastvor 2 i 5vol.% VTES, a potom su pečene na 100 °C tokom 10 ili 30 min. Koroziona stabilnost prevlaka silana je karakterisana elektrohemijskim analizama: spektroskopijom elektrohemijske impedancije (SEI), kao i praćenjem promene potencijala otvorenog kola u 0,03mas.% NaCl. Dobijeni rezultati su poređeni sa standardizovanim ispitivanjima u slanoj komori. Udeo površine uzorka koji je prekriven korozionim produktima određen je snimanjem uzoraka optičkim mikroskopom i analizom slike kompjuterskim programom Image-Pro Plus.

### Rezultati i diskusija

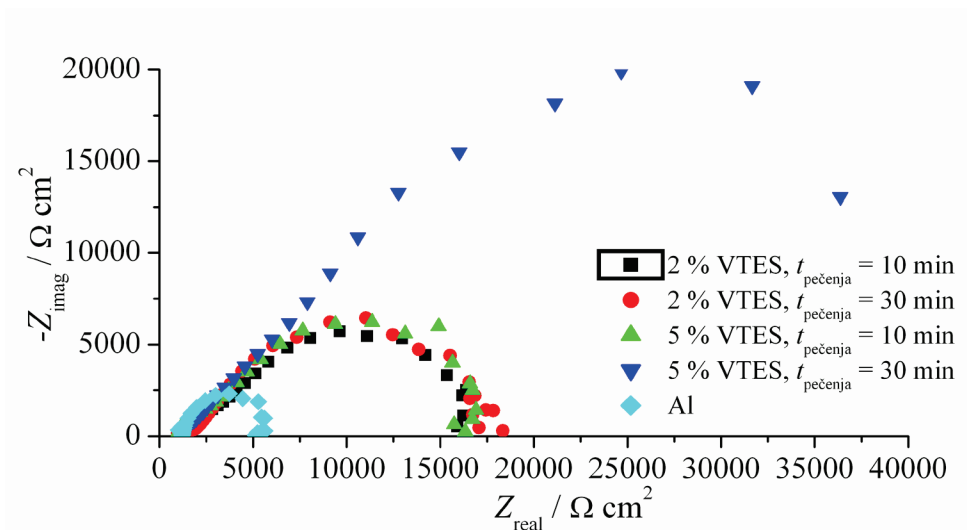
#### *Priprema površine metalnog supstrata*

Pločice aluminijuma (99,5%) su odmašćene alkalnim odmašćivačem,<sup>4</sup> tokom 30 s na 65-75 °C, potom su isprane destilovanom vodom i osušene na vazduhu. Prevlake silana su formirane potapanjem pločica aluminijuma (10 min) u prethodno pripremljene rastvore silana (2 i 5vol.% VTES) koji su nakon mešanja na magnetnoj mešalici tokom 1 h, odstajali na sobnoj temperaturi 2 dana radi dostizanja što većeg stupnja hidrolize. Ovako formirane prevlake su sušene na sobnim uslovima tokom 2 h i pečene na 100 °C (10 min 30 min).

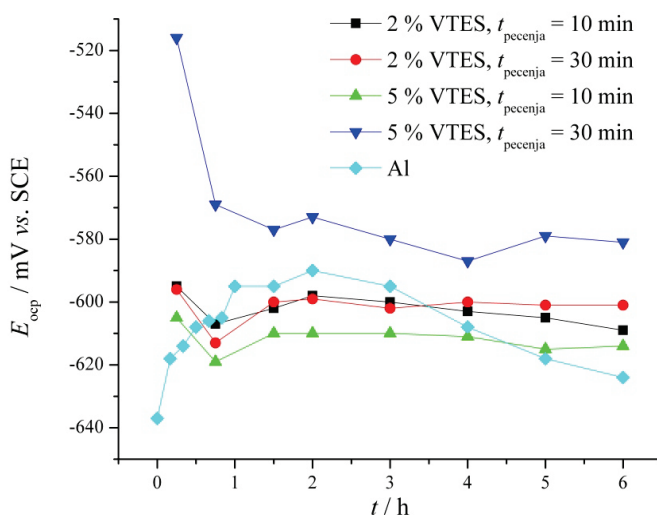
#### *Elektrohemijske karakteristike prevlaka viniltrioksisilana*

Elektrohemijska svojstva VTES prevlaka na aluminijumu su ispitivana impedansnim merenjima i praćenjem promene potencijala otvorenog kola ( $E_{ocp}$ ) sa vremenom delovanja korozionog agensa. Da bi se pratio uticaj vrste VTES prevlaka na aluminijumu izabran je blagi agens korozije, odnosno rastvor 0,03mas.% NaCl. Na slici 1 prikazani su impedansni dijagrami (Najkvistovi) za prevlake VTES na aluminijumu, taložene iz VTES rastvora različitih koncentracija i za različita vremena pečenja na 100 °C, posle 6 h izlaganja dejstvu 0,03mas.% NaCl. Veličina polukruga na realnoj osi ( $Z_{real}$ ) na sl. 1 ukazuje na vrednosti otpornosti pojedinih uzoraka. Sa sl. 1 se vidi da sve ispitivane VTES prevlake, nezavisno od uslova taloženja, imaju veće otpornosti u odnosu na čist aluminijum, pri čemu najveću otpornost ima prevlaka dobijena taloženjem iz 5% VTES sa 30 min pečenja. Ovaj uzorak je karakterisan sa dve vremenske konstante, dok se kod ostalih uzoraka javlja samo jedna vremenska konstanta u ovom, početnom, vremenu delovanja NaCl. Vremenska konstanta na visokim frekvencijama se odnosi na samu prevlaku silana, a vremenska konstanta na niskim frekvencijama odgovara procesima na površini aluminijuma, u osnovi pora prevlaka silana. Bolja svojstva prevlaka silana dobijene taloženjem iz 5% VTES sa 30 min pečenja u odnosu na druge ispitivane prevlake mogu se videti i na slici 2, koja prikazuje promenu potencijala otvorenog kola sa vremenom delovanja 0,03% NaCl.

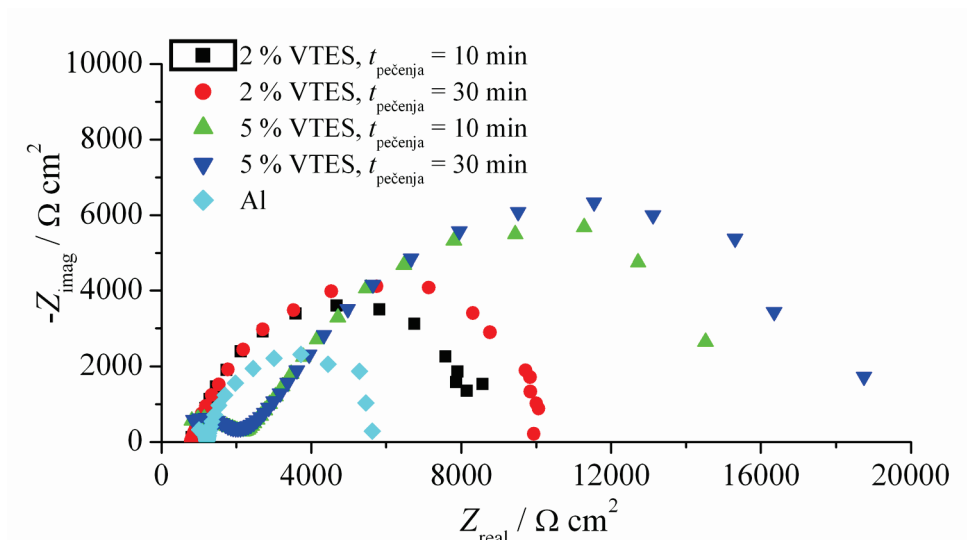
Uticaj koncentracije VTES rastvora za taloženje i vremena pečenja je više izražen tokom dužeg vremena delovanja agensa korozije (Slika 3). Posle 11 dana izlaganja rastvoru NaCl, otpornosti prevlaka silana dobijenih taloženjem iz 5% VTES su znatno veće u odnosu na otpornosti prevlaka silana dobijenih iz rastvora manje koncentracije, što ukazuje na njihovu veću korozionu stabilnost. Ovi uzorci su karakterisani sa dve vremenske konstante, za razliku od onih dobijenih taloženjem iz VTES rastvora manje koncentracije, što takođe ukazuje na njihovu veću korozionu otpornost. Na osnovu rezultata prikazanih na sl. 3 može se zaključiti i da prevlake silana dobijene sa dužim vremenom pečenja imaju veće otpornosti, za obe ispitivane koncentracije VTES, što je verovatno posledica veće umreženosti i manje poroznosti prevlaka dobijenih dužim pečenjem.<sup>4</sup>



Slika 1. Impedansni dijagrami u kompleksnoj ravni za prevlake VTES formirane pod različitim uslovima, posle 6 h delovanja 0,03mas.% NaCl



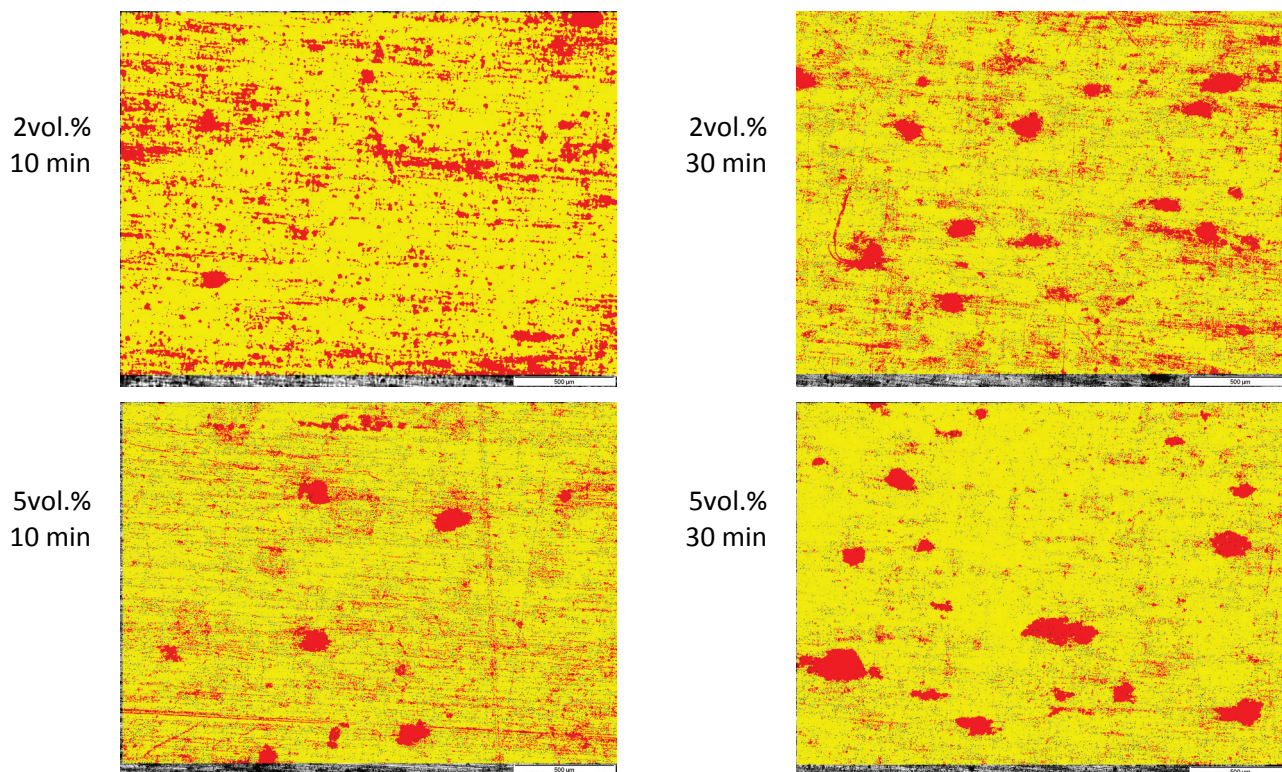
Slika 2. Zavisnost potencijala otvorenog kola,  $E_{otp}$ , od vremena delovanja 0,03mas.% NaCl za prevlake VTES formirane pod različitim uslovima



Slika 3. Impedansni dijagrami u kompleksnoj ravni za prevlake VTES formirane pod različitim uslovima, posle 11 dana delovanja 0,03mas.% NaCl

### Ispitivanja u slanoj komori

Svi ispitivani uzorci su analizirani standardnim postupkom u slanoj komori. Uzorci su periodično vađeni iz slane komore, ispirani i snimani optičkim mikroskopom. Na osnovu različitih osvetljenja na slikama delovi slika koji predstavljaju korozione produkte su obojeni i primenom programa Image-Pro Plus određena je površina prekrivena produktima korozije na svakom uzorku. Izgled ovako dobijenih slika posle 6 dana u slanoj komori prikazan je na slici 4.



Slika 4. Uzorci sa VTES prevlakama na aluminijumu posle 6 dana u slanoj komori. Crvenom bojom su označeni korozioni proizvodi, a žutom prevlake silana

Rezultati dobijeni analizom u slanoj komori, snimanjem uzoraka i njihovom analizom primenom programa Image-Pro Plus prikazani su u tabeli 1. Najveće crveno obojenje, ukazujući na najveću površinu uzorka prekrivenog produktima korozije, je vidljivo na VTES prevlaci dobijenoj taloženjem iz 2% VTES sa 10 min pečenja, a najmanje na VTES prevlaci dobijenoj taloženjem iz 5% VTES sa 30 min pečenja. Može se zaključiti da je posle 6 dana u slanoj komori potvrđena najveća koroziona stabilnost prevlake dobijene taloženjem iz 5% VTES sa 30 min pečenja. Uticaj koncentracije rastvora silana na korozionu stabilnost prevlaka viniltrioksilana na aluminijumu je potvrđen, odnosno, prevlake taložene iz rastvora koncentracije 5vol.% pokazuju bolja zaštitna svojstva, odnosno manju koroziju. Takođe je potvrđen i uticaj vremena pečenja za prevlake dobije taloženjem iz obe koncentracije VTES, odnosno dužim vremenom pečenja se dobijaju stabilnije prevlake, koje su karakterisane manjom površinom produkata korozije. Uticaj koncentracije VTES rastvora, kao i vremena pečenja je u saglasnosti sa elektrohemijским merenjima.

Tabela 1. Procenat površine prekrivene produktima korozije za VTES prevlake formirane pod različitim uslovima, posle 6 dana u slanoj komori

$c_{VTES}$ / vol. %	2		5	
$t_{pečenja}$ / min	10	30	10	30
Udeo površine sa korozionim proizvodima, %	22,9	21,9	19,2	12,0

### Zaključak

Elektrohemijske karakteristike prevlaka silana na aluminijumu su određene metodom potencijal – vreme i metodom spektroskopije elektrohemijske impedancije. Na osnovu rezultata dobijenih ovim metodama

pokazan je uticaj koncentracije rastvora silana i vremena pečenja na korozionu stabilnost prevlaka viniltrietskoksilana (VTES) na aluminijumu – prevlake taložene iz rastvora koncentracije 5vol.% pokazuju najbolja zaštitna svojstva. Prevlake dobijene taloženjem iz 5% VTES su karakterisane sa dve vremenske konstante na impedansnim dijagramima, za razliku od onih dobijenih taloženjem iz 2% VTES rastvora, što ukazuje na njihovu veću korozionu otpornost. Pokazano je i da prevlake silana dobijene sa dužim vremenom pečenja imaju veće otpornosti, za obe ispitivane koncentracije VTES, što je verovatno posledica veće umreženosti i manje poroznosti prevlaka dobijenih dužim pečenjem.

Rezultati dobijeni analizom u slanoj komori, snimanjem uzoraka i njihovom analizom primenom programa Image-Pro Plus potvrđuju najveću korozionu stabilnost prevlake dobijene taloženjem iz 5% VTES sa 30 min pečenja. Uticaj koncentracije VTES rastvora, kao i vremena pečenja je u saglasnosti sa elektrohemijskim merenjima.

*Zahvalnica:* Zahvaljujemo se Ministarstvu prosvete i nauke (Projekat br. III 45019).

### **Corrosion stability of Vinyltriethoxysilane Coatings on Aluminium in Sodium Chloride Solutions**

*In this work the corrosion stability of vinyltriethoxysilane (VTES) coatings on aluminium was investigated. The silane coatings were deposited chemically, by immersion in 2 and 5vol.% VTES, and then cured at 100 °C during 10 or 30 min. The corrosion stability of silane coatings was determined by electrochemical methods: electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and by tracking the change of the open circuit potential in 0.03wt.% NaCl. The results obtained were compared with the standardized analysis in the salt spray chamber. The corroded area on each sample was determined by analysis of microphotographs, obtained by optical microscopy and analyzed with Image-Pro Plus computer programme. The influence of both VTES concentration and curing time on the corrosion stability of silane films on aluminium was shown. The highest corrosion stability was obtained by silane films deposited from 5% VTES solution with 30 min curing, while the lowest stability was determined for silane films deposited from 2% VTES solution with 10 min curing.*

#### **Literatura**

1. E. P. Plueddemann, Silane Coupling Agents, Plenum Press, New York, 1991.
2. F. Deflorian, S. Rossi, L. Fedrizzi, *Electrochim. Acta* **51** (2006) 6097.
3. F. Zucchi, V. Grassi, A. Frignani, G. Trabanelli, *Corros. Sci.* **46** (2004) 2853.
4. J. B. Bajat, I. Milošev, Ž. Jovanović, R. M. Jančić-Heinemann, M. Dimitrijević, V. B. Mišković-Stanković, *Corros. Sci.* **52** (2010) 1060.
5. D. Zhu, W. J. van Ooij, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 1113.
6. J. B. Bajat, I. Milošev, Ž. Jovanović, V. B. Mišković-Stanković, *Appl. Surf. Sci.* **256** (2010) 3508.

## Segregacija u fluidizovanom sloju voda-polidisperzna smeša čestica

Mihal M. Đuriš, Zorana Lj. Arsenijević, Željko B. Grbavčić\*, Radmila V. Garić-Grulović

*Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju - Centar za katalizu i hemijsko inženjerstvo,  
Univerzitet u Beogradu, Njegoševa 12, Beograd, Srbija*

*\*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija*

### Uvod

Filtracija vode je osnovna operacija čiji je cilj da iz vode uklone sve mehaničke čestice (nerastvorne materije) koje su dispergovane u njoj. Ovaj separacioni proces se sastoji u prolasku mešavine tečne i čvrste faze kroz porozni materijal, filter koji zadržava čvrstu materiju a dozvoljava da tečnost slobodno protiče. Uglavnom se koriste različita kućišta filtera sa odgovarajućim filter ulošcima raznih poroziteta, a postoji čitava paleta poluautomatskih i automatskih filtera, koji se mogu ispirati tokom rada, te nema diskontinuiteta u radu zbog zamene ili čišćenja filter uložaka. Kod jače zaprljanih voda mogu se koristiti klasični peščani filtri sa višeslojnom silikatnom ispunom različite granulacije<sup>1</sup>.

U praksi filtriranje vode u kontrolisanim uslovima izvodi se u sporim filterima, brzim gravitacionim filterima i filterima pod pritiskom. Filtraciona jedinica, u svim ovim slučajevima sastoji se od objekta izrađenog od betona i čelika sa perforiranom podlogom i nosećim pakovanim slojem preko kog se sakuplja filtrirana voda. Isti sistem se koristi i za pranje filtera sa kretanjem vode odozdo na gore. Ispiranje filtra vrši se propuštanjem vode odozdo naviše tako da sloj peska počne da fluidizuje. Prilikom fluidizacije polidisperznih smeša istih gustina, fluidizovani slojevi tečnosti čestice imaju osobinu da će se fluidizovani materijal jasno razdvojiti po veličini zrna<sup>2,3</sup>. Najkrupnije čestice će fluidizirati na dnu sloja, a najsitnije na vrhu. Pri tome, poroznost sloja neće biti konstantna, pri dnu je najmanja a pri vrhu najveća. U slučaju kada su čestice istih dimenzija a različitih gustina tada dolazi do razdvajanja po gustinama. Najgušće čestice će biti skoncentrisane pri dnu a najlakše na vrhu. Ova osobina fluidizovanog sloja tečnosti/čestice se može iskoristiti za klasifikaciju materijala.

### Rezultati i diskusija

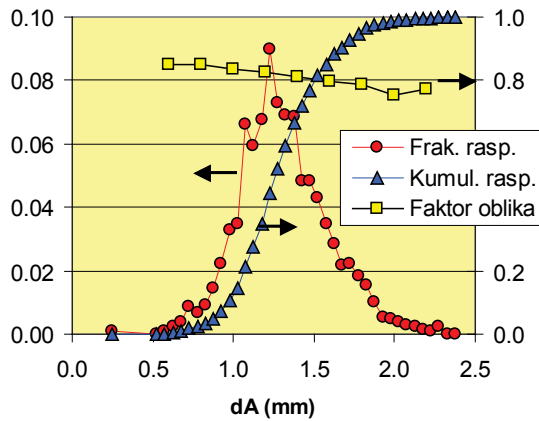
Fluidizacioni eksperimenti izvršeni su sa jednom frakcijom filtracionog (kvarcnog) peska granulacije  $d_p=0.75\div 1.25$  mm, čiji je srednji prečnik dobijen prosejavanjem  $d_m=1.0$  mm, a karakterističan odnos prečnika najkrupnijih prema najsitnijim česticama u populaciji  $d_R=1.25/0.75=1.67$ . U cilju određivanja raspodele veličine čestica unutar ovog intervala izorak od 1230 nasumično izabranih čestica je skeniran i analiziran pomoću softvera SigmaScan u cilju određivanja projektovanog prečnika i faktora oblika<sup>3</sup>. Ove dve veličine definisane su izrazima

$$d_A = \frac{1}{N} \sqrt{\frac{4}{\pi} \sum A_i} \quad (1)$$

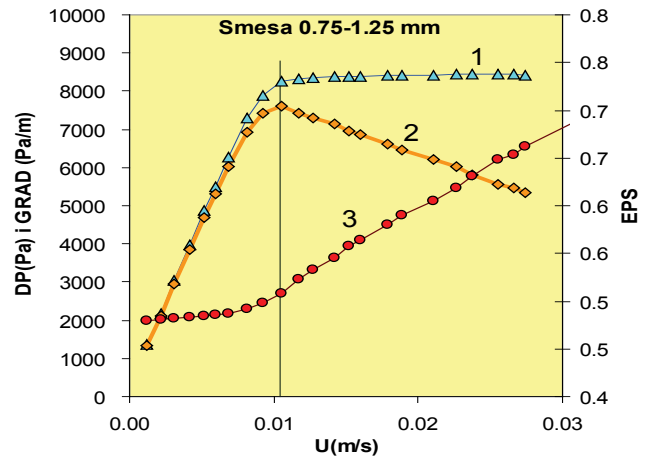
$$\varphi = \frac{1}{N} \sum \frac{4\pi A_i}{L_i^2} \quad (2)$$

Isti uzorak iskorišćen je za određivanje srednjeg zapreminskog prečnika smeše čestica  $d_v=(6M/N\rho_p\pi)^{1/3}=1.065$  mm, gde je M-masa uzorka od N=1230 čestica, a  $\rho_p$ -gustina čestica. Na sl. 1. prikazane su frakciona i kumulativna raspodela veličine čestica. Može se uočiti da se raspodela veličina čestica približno pokorava normalnom zakonu raspodele sa srednjom vrednošću  $d_A=1.32$  mm. Na istom dijagramu prikazana je zavisnost faktor oblika  $\varphi$  od  $d_A$ . Interesantno je uočiti da  $\varphi$  blago opada sa porastom  $d_A$  indicirajući da su sitnije čestice u populaciji pravilnijeg oblika. U analizi sistema fluid-čestice najčešće se kao reprezentativni prečnik nesferične čestice koristi površinsko-zapreminski prečnik  $d_{sv}$ , a kao reprezentativni faktor oblika sferičnost  $\psi^4$ . Ove dve veličine nije jednostavno odrediti, za razliku od  $d_A$  i  $\varphi$ , međutim, može se smatrati da će raspodela  $d_{sv}$  i  $\psi$  biti slična. Uzorak peska granulacije  $d_p=0.75\div 1.25$  mm fluidiziran je vodom ( $t=15^\circ\text{C}$ ) u standardnoj fluidizacionoj koloni prečnika  $D_c=144$  mm. Početna visina sloja iznosila je  $H_0=1.033$  m. Na sl.2. prikazana je zavisnost  $-\Delta P$ ,  $-dP/dz$  i  $\varepsilon$  od površinske brzine vode (U). Minimalna brzina fluidizacije ( $U_{mf}$ ) i odgovarajuća poroznost sloja ( $\varepsilon_{mf}$ ) određeni su na osnovu položaja maksimuma na krivoj  $-dP/dz=f(U)$ . Eksperimentalni podaci su pokazali da se zavisnost između poroznosti sloja i površinske brzine vode pokorava relaciji Richardson-Zakija<sup>5</sup>:





Sl. 1. Frakciona i kumulativna raspodela veličine čestica i faktor oblika  $\phi$  u zavisnosti od  $d_A$

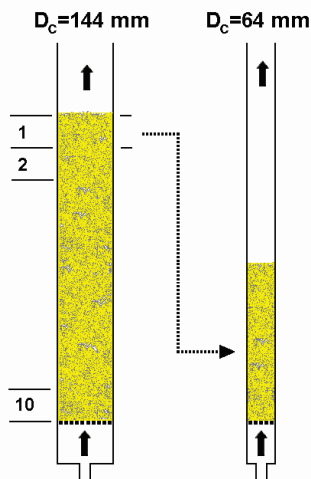


Sl. 2. Zavisnost  $-\Delta P$  (1),  $-dP/dz$  (2) i  $\varepsilon$  (3) od površinske brzine vode ( $U$ ) -određivanje parametara minimalne fluidizacije

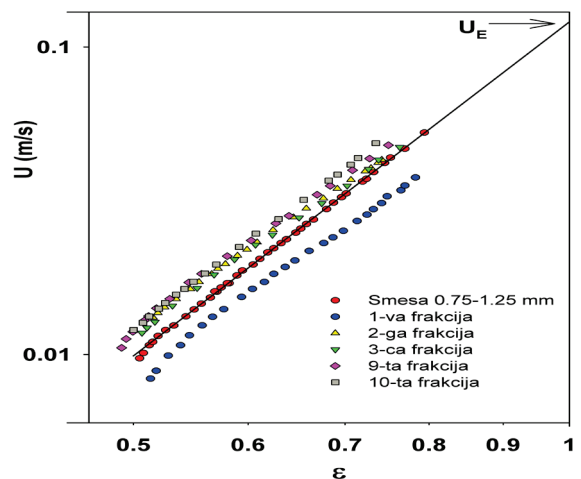
$$U = U_E \cdot \varepsilon^n \tag{3}$$

gde je  $U_E$  ekstrapolisana vrednost brzine vode za  $\varepsilon=1$  a  $n$ -indeks ekspanzije koji zavisi od Reynolds-ovog broja za česticu pri brzini  $U_t$  (gde je  $U_t$ -brzina slobodnog taloženja usamljene čestice) i faktora stešnjenja (odnos prečnika čestice prema prečniku kolone). Kada je u pitanju polidisperzna smeša čestica  $\varepsilon$  predstavlja srednju poroznost sloja. U originalnoj korelaciji Richardson-Zaki-ja<sup>5,6</sup>  $U_E=U_t$ , međutim, kasnija ispitivanja su pokazala da je  $U_E < U_t$  (i do 30%) zavisno od sistema<sup>7</sup>. Ekstrapolisana vrednost  $U_E$  za ovu smešu čestica iznosi  $U_E=0.1205$  m/s. Ova vrednost je upoređena sa brzinom slobodnog taloženja „paketa“ od oko 30 čestica. Pošto je u pitanju polidisperzna smeša tokom taloženja „oblak“ čestica će formirati karakterističnu elipsoidnu strukturu koja se izdužuje tokom kretanja. Srednje izmerne vrednosti brzina taloženja su bile: vrh oblaka (najkrupnije čestice) 0.159 m/s, sredina oblaka („srednje“ čestice) 0.127 m/s i vrh oblaka (najsitnije čestice) 0.093 m/s.

Nakon ovog oglada izvršena je hidraulička klasifikacija čestica. Smeša čestica  $d_p=0.75\div 1.25$  mm fluidizirana je u koloni  $D_c=144$  mm pri brzini vode  $U=0.0215$  m/s, čemu je odgovarala ukupna ekspanzija sloja  $E=35.9\%$ , pri čemu je  $E=100(H-H_0)/H_0$ , gde je  $H$ -aktuelna visina sloja. Potom je iz sloja hidrauličkim putem isisano 10 frakcija po visini (sl.3) i svaka frakcija je osušena i izmerena. Nakon ovoga za svaku frakciju su u koloni prečnika  $D_c=64$  mm određeni fluidizacioni parametri ( $U_{mFi}$ ,  $\varepsilon_{mFi}$ ) i parametri ekspanzije prema relaciji (3) ( $U_{Ei}$  i  $n_i$ ). Dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli I. Uslovi pri kojima je vršena hidraulička klasifikacija smeše ( $U=0.0215$  m/s i  $E=35.9\%$ ) su odabrani imajući u vidu da se u većini praktičnih primena ispiranje peščanih filtera vrši pri ekspanziji sloja ( $E$ ) od 30 do 50%. Na sl.4. prikazane su zavisnosti brzina vode-poroznost sloja za smešu čestica 0.75÷1.25 mm i nekoliko karakterističnih frakcija. Može se uočiti da su zavisnosti  $U(\varepsilon)$  u logaritamskom dijagramu prave linije u saglasnosti sa relacijom Richardson/Zaki-ja<sup>6</sup>.



Sl. 3. Šematski prikaz eksperimentalnog sistema fluidizacije

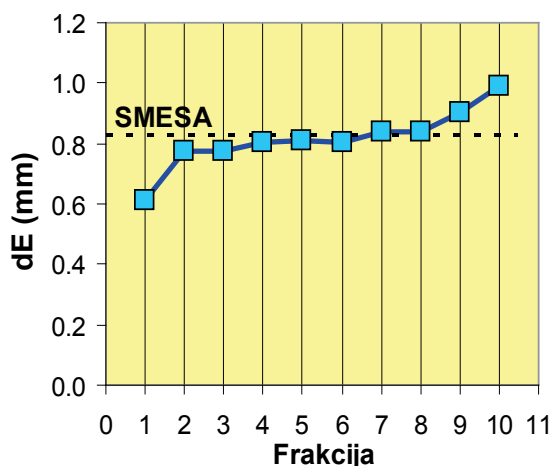


Sl. 4. Ekspanzija sloja - zavisnost  $U=f(\varepsilon)$

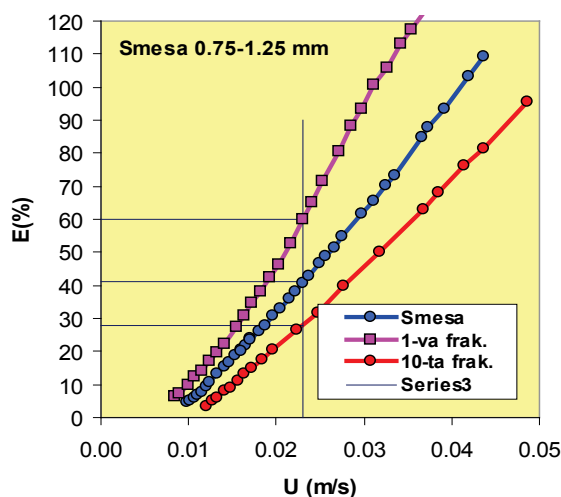
Tabela I. Eksperimentalni podaci

Frakcija	$U_{mF}$ m/s	$\epsilon_{mF}$	$U_E$ m/s	n	$d_E$ mm	$Re_p$
Smeša (0.75÷1.25 mm)	0.01047	0.5086	0.1204	3.5915	0.8268	84
1	0.00953	0.5180	0.0884	3.4134	0.6124	45
2	0.01058	0.5000	0.1126	3.2017	0.7728	73
3	0.01072	0.4970	0.1132	3.2368	0.7768	74
4	0.01075	0.5010	0.1172	3.4300	0.8041	79
5	0.01083	0.4950	0.1180	3.3692	0.8096	80
6	0.01128	0.5071	0.1174	3.3411	0.8055	79
7	0.01139	0.5071	0.1225	3.3624	0.8406	87
8	0.01154	0.4960	0.1225	3.3137	0.8406	87
9	0.01156	0.4910	0.1315	3.4362	0.9035	100
10	0.01164	0.5000	0.1440	3.5664	0.9925	120

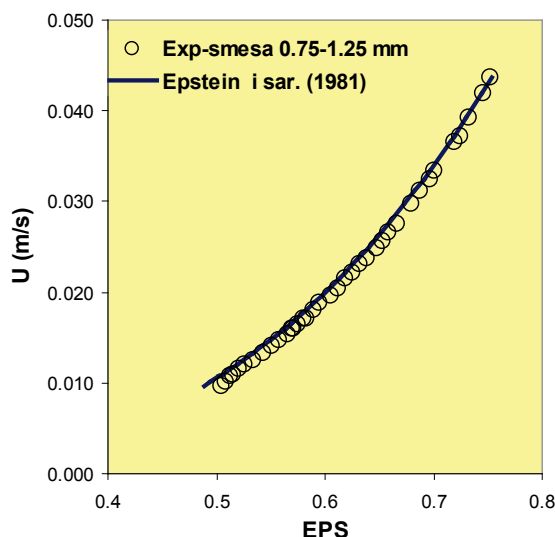
Da bi se procenila veličina čestica u svakoj frakciji izračunat je efektivni «hidraulički prečnik čestica», koji je definisan kao prečnik sfere iste gustine čija je brzina slobodnog taloženja jednaka  $U_E$ . Rezultati su prikazani na sl.5. Srednji hidraulički prečnik smeše iznosi  $d_E=0.823$  mm. Može se uočiti da su pri fluidizaciji polidisperzne smeše čestica  $d_p=0.75\div 1.25$  mm, pri ekspanziji od  $E=35.9\%$  u gornjih 10% sloja skoncentrisane najsitnije čestice, dok su u donjih 20% sloja skoncentrisane najkrupnije čestice. U najvećem delu sloja (70%) hidraulički prečnik čestica je približno konstantan indicirajući da je ova zona sloja okarakterisana dobrim mešanjem čestica bez segregacije. Iako je u ispitivanoj polidisperznoj smeši čestica raspon prečnika relativno mali ( $d_R=1.67$ ), pri fluidizaciji kada je prosečan stepen ekspanzije od 41%, stepen ekspanzije na vrhu sloja iznosi 60%, a pri dnu 28% (sl.6). Sa iste slike se uočava da bi se sa povećanjem brzine vode ove razlike značajno uvećale. Kada je u pitanju fluidizacija polidisperzne smeše nesferičnih čestica u literaturi ne postoji jedinstvena korelacija koja bi omogućila pouzdano predviđnje ekspanzije sloja. Osnovni problemi su karakterizacija polidisperzne smeše i određivanje reprezentativnog faktora oblika čestica, kao i uticaj oblika čestica na  $U_E$  i n. Prema nekim autorima<sup>4,8</sup>, koncept „srednje“ čestice nije primenljiv ako je odnos prečnika najkrupnijih prema najsitnijim česticama u populaciji  $d_R > 1.3$ . Jedan od najranijih i najjednostavnijih pristupa je „serijski“ model Epstein-a i sar.<sup>9</sup>. Prema ovom modelu ukupna ekspanzija polidisperzne smeše pri određenoj brzini vode je zbir ekspanzija pojedinih (približno monodisperznih) frakcij pri istoj brzini vode, odnosno.



Sl. 5. Ekvivalentni prečnik različitih frakcija koje čine fluidizovanu smešu



Sl. 6. Zavisnost procentualne ekspanzije sloja (E) od površinske brzine vode (U)

Sl.7. Upoređenje eksperimentalnih podataka sa modelom Epstein i sar.<sup>5</sup>

$$\frac{1}{1 - \varepsilon_s} = \sum_{i=1}^N \frac{x_i}{1 - \varepsilon_i} \quad (4)$$

gde je  $\varepsilon_s$ -srednja poroznost smeše čestica pri određenoj površinskoj brzini vode (U),  $\varepsilon_i$ -poroznost i-te frakcije pri istoj brzini vode a  $x_i$ -težinski udeo i-te frakcije. Poroznost i-te frakcije računata je po korelaciji

$$\varepsilon_i = \left( \frac{U}{U_{Ei}} \right)^{1/n_i} \quad (5)$$

gde je  $U_{Ei}$ -efektivna brzina slobodnog taloženja dobijena ekstrapolacijom podataka na dijagramu  $\log U \div \log(\varepsilon)$  za  $\varepsilon=1$ , a  $n_i$ -indeks ekspanzije i-te frakcije. Podaci na sl.7. pokazuju dobro slaganje eksperimentalnih podataka sa jednačinom (5).

### Zaključak

Ekspanzija fluidizovane polidisperzne smeše peska vodom se pokorava opštoj zakonitosti Richardson-Zaki-ja  $U=U_E \varepsilon^n$ . Ekstrapolisan vrednost brzine slobodnog taloženja ( $U_E$ ) je u dobroj saglasnosti sa eksperimentalno određenom brzinom slobodnog taloženja «oblaka» čestica. U ispitivanom opsegu  $Re_p$  (84÷120) indeks ekspanzije je približno konstantan ( $n=3.39$ ). U ispitivanoj polidesperznoj smeši čestica peska odnos prečnika najvećih i najmanjih čestica je bio relativno mali,  $d_R=1.67$ . Međutim, i pri ovakvom odnosu u fluidizaciji dolazi do delimične segregacije čestica na taj način što su u gornjoj zoni skoncentrisane najsitnije čestice, a u donjoj najkрупnije. U najvećem delu sloja (oko 70% ukupne mase) čestice su dobro izmešane.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je podržalo Ministarstvo nauke Srbije kroz projekat 172022.

### Literatura

1. F. R. Spellman, *Handbook of Water and Wastewater treatment Plant Operations*, Lewis, New York, USA, 2003, p.42.
2. D. Kunii, O. Levenspiel, *Fluidization engineering*, Butterworth-Heinemann, 2<sup>nd</sup> Edition, USA, 1991
3. C.Y.Wen, Y.H. Yu, *Mechanics of fluidization*, Chem. Eng. Prog. Symp. Ser. 62 (1966) 100-111
4. J.P. Couderc, *Incipient fluidization and particulate systems*, Fluidization, 2<sup>nd</sup> Edition (Edited by J.F. Davidson, R. Clift and D. Harrison), pp. 1-46, Academic Press, London, 1985
5. J.F. Richardson, W.N.Zaki, *Sedimentation and fluidization: part I*, Trans. Inst. Chem. Eng. 32 (1954) 35-53.
6. D. Geldart, *Estimation of basic particle properties for use in fluid—particle process calculations*, Powder Technology 60 (1990) 1-13
7. O.Akgiray, E. Soyer, E. Yuksel, *Prediction of filter expansion during backwashing*, Water science & technology : Water supply 4(5-6) (2004) 131-138 ISSN 1474-3876
8. R. Di Felice, *Hydrodynamics of liquid fluidization*, Chem. Eng. Sci. 50 (1995) 1213-1245.
9. N.Epstein, B.P.Leclair, B.B. Pruden, *Liquid fluidization of binary particle mixtures-I*, Chem.Eng. Sci. 36 (1981) 1803-1809

### Segregation in fluidization bed water-polydisperse particle mixtures

*During a fluidization of polydisperse particle mixtures of same density, fluidization of water-particle layer have the property that will clearly separate material by grain size. The largest particles will fluidized at bottom layer, and smallest will fluidized at top layer. In this study experimental investigations were conducted in the cylindrical column of 144 mm in diameter with one filtering fraction of sand, grain size of the sand was  $d_p=0.75-1.25$  mm, with an average diameter obtained by sieving  $d_m = 1.0$  mm, and a characteristic ratio of the diameter of the largest against the smallest particles in the population is  $d_R=1.25/0.75=1.67$ . In order to determined the size distribution of particles within this interval, the samples of 1230 randomly selected particles is scanned and analyzed using the SigmaScan software to determine the projected diameter and shape factor. To analysis clasification of sand particles in fluidized column, the layer of sand is divide into ten equal fractions by height, each of this fraction was dried and than measured. For each of this fraction, fluidization parameter ( $U_{mf}$ ,  $\varepsilon_{mf}$ ) and the parameters of the expansion according the Richardson-Zaki equation has been determined in column  $D_c=64$  mm in diameter. The experimentally obtained values of expansion of polydisperse sand layer were correlated according to Epstein model.*

## Modeling of the kinetics of aqueous Pb sorption on synthetic and natural apatite

Tatjana Kaluđerović Radoičić, Slavica Raičević\*

*Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia*

*\*Vinca Institute for Nuclear Sciences, Belgrade, Serbia*

### Abstract

The contamination of soils due to the presence of toxic metals can result in serious negative consequences, such as loss of ecosystems, damaged water resources and human health problems. Lead is one of the most wide-spread heavy metals present in the environment.<sup>1</sup> Pb leaching from contaminated soils is a constant source of surface and ground water contamination. The *in situ* immobilization of metals in soils using inexpensive amendments is considered a promising technique for the remediation of contaminated sites. In this work, two types of apatites were used for Pb contamination remediation: synthetic hydroxyapatite and natural mineral apatite from Lisina. Experimental data of the kinetics of aqueous Pb sorption by HAP and LA were fitted with two kinetic models: pseudo-first order model and pseudo-second order model. Based on the results obtained it can be concluded that calculated  $q_e$  values, obtained using the pseudo-second order equation, agree well with experimental values. Based on  $q_e$  and  $R^2$  the pseudo-second order model was chosen as more appropriate for both systems at all the temperatures investigated. The influence of temperature on these two systems is different. The rate constant of sorption reaction in Pb-HAP system gradually decreases with increase of temperature. In the case of Pb-LA system  $k_2$  (25 °C) >  $k_2$  (37 °C)  $\approx$   $k_2$  (50 °C). These values of rate constants could indicate that two different mechanisms are involved in Pb sorption by HAP and LA.

### Introduction

The contamination of soils due to the presence of toxic metals can result in serious negative consequences, such as loss of ecosystems and of agricultural productivity, damaged water resources and human health problems. Many heavy metals are extremely toxic, non-biodegradable and tend to accumulate in living organisms. Because the contamination of soil with heavy metals, especially with lead and cadmium is recognized as health hazard, the clean up of contaminated sites is considered an urgent task. Lead is one of the most wide-spread heavy metals present in the environment due to the historical use of Pb-containing products such as paint, petrol and pesticides<sup>1</sup>. Pb leaching from contaminated soils is a constant source of surface and ground water contamination.

Currently, several technologies can be employed to clean up the soils contaminated by heavy metals, including thermal, biological and physical/chemical procedures or their combinations. These techniques usually require the removal of contaminated soil, its subsequent treatment and either replacement on-site or disposal in specific landfills, creating a secondary disposal problem.

Recently, more attention has been focused on the development of *in situ* immobilization methods for metals present in soil<sup>2</sup>. These methods are generally less expensive and non-disruptive for the natural environment than the conventional methods. The *in situ* immobilization of metals in soils using inexpensive amendments such as minerals or waste by-products is considered a promising alternative to existing methods. Using these materials, heavy metals present in soil are transformed to more insoluble phases, thus limiting their bioavailability and preventing them from accumulating in the biosphere.

This approach can be used for Pb contamination as, in most cases, Pb is present in environment in the form of highly soluble minerals. For remediation of Pb contamination, phosphate minerals, especially apatites, were suggested, including synthetic apatites and naturally occurring apatite minerals which can represent low cost alternative to synthetic HAP<sup>3-5</sup>. The stability of the reaction product is of the highest importance when using *in situ* remediation techniques, as the contaminant is not removed from the environment<sup>6</sup>. Therefore, before the use of any natural mineral for *in situ* remediation of contaminated sites, it is important to investigate the mechanisms involved in detail.

In this work, the kinetics of Pb sorption by two apatite minerals: stoichiometric hydroxyapatite (HAP) and natural apatite from phosphate ore deposits in Lisina (LA), Serbia. Stoichiometric HAP was synthesized in the laboratory by a slow titration of Ca(OH)<sub>2</sub> solution with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> at elevated temperature in nitrogen atmosphere<sup>7</sup>. Chemical analysis confirmed that the product was stoichiometric hydroxyapatite with the

formula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Lisina apatite is natural apatite from the phosphate ore deposits near Bosilegrad (Serbia)<sup>8</sup>. This phosphate ore contains 43.3% apatite. It has following chemical composition:  $\text{Ca}_{2.94}\text{Na}_{0.03}\text{K}_{0.05}\text{Al}_{1.38}\text{Fe}_{0.22}\text{Si}_6\text{P}_{1.96}\text{S}_{0.16}\text{Cl}_{0.04}\text{F}_{0.11}\text{O}_{22.28}$ <sup>9</sup>. Experimental data was modeled using pseudo-first and pseudo-second kinetic models.

### Kinetic models

In order to determine the rate constants of the process of lead sorption by synthetic and natural apatite, the two most widely used kinetic models in sorption processes (pseudo-first and pseudo-second order models) have been applied to experimental data.

#### *The pseudo-first order model*

The Lagergren pseudo-first order equation can be expressed as:

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q) \quad (1)$$

where  $q$  is amount of metal sorbed at time  $t$ ,  $q_e$  is the amount of metal sorbed at equilibrium and  $k_1$  is sorption rate constant.

Integrating equation (1) for the boundary conditions  $t = 0$  to  $t = t$  and  $q = 0$  to  $q = q_t$ , and rearranging it for linearized data plotting the following equation is obtained:

$$\log(q_e - q) = \log q_e - \frac{k_1}{2.303} t \quad (2)$$

This model can be applied if  $\log(q_e - q_t)$  versus  $t$  gives a straight line, in which case  $q_e$  and  $k_1$  can be calculated from the intercept and slope of the plot.

#### *The pseudo-second order model*

Since the introduction of pseudo-second order model in 1999, it has been widely applied in liquid-phase adsorption systems. The pseudo-second order rate model is based on sorbent capacity and can be expressed as a differential equation:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad (3)$$

Integrating equation (3) for the same boundary conditions, it can be rearranged in the following linear form:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (4)$$

A plot of  $t/q_t$  versus  $t$  should give a straight line with a slope of  $1/q_e$  and intercept of  $1/k_2 q_e^2$ . Furthermore, the initial sorption rate  $h$  (mmol/g min), when  $t \rightarrow 0$ , can also be calculated as follows:

$$h = k_2 q_e^2 \quad (5)$$

### Results and discussion

Lagergren pseudo-first order and pseudo-second order rate equations were applied to experimental data for Pb-HAP and Pb-LA systems at temperatures 25 °C<sup>9</sup>, 37 °C and 50 °C<sup>10</sup>. Rate constants, calculated  $q_e$  values and regression coefficients ( $R^2$ ) for pseudo-first and pseudo-second order kinetic models are presented in Table 1. Calculated  $q_e$  values, obtained using the Lagergren pseudo-first order equation, are substantially different from the experimental ones, while  $q_e$  values obtained from pseudo-second order equation agree well with experimental values. Based on  $q_e$  and  $R^2$  the pseudo-second order model was chosen as more appropriate for both systems at all the temperatures investigated. Pseudo-second order model assumes that two reactions are occurring in the process, the first one is fast and reaches equilibrium quickly and the second is a slower reaction that can continue for long time periods<sup>11</sup>.

Table 1. Experimental and calculated amounts of Pb sorbed at equilibrium ( $q_e$ ), sorption rate constants ( $k_1$  and  $k_2$ ) and corresponding regression coefficients ( $R^2$ ), for pseudo-first and pseudo-second order kinetic models

	temp.	$q_{e, exp.}$ mmolPb/g	Pseudo-first order model			Pseudo-second order model			
			$k_1$ , min <sup>-1</sup>	$q_{e, cal.}$ mmolPb/g	$R^2$	$k_2$ , g/mmol Pb min	$q_{e, cal.}$ mmolPb/g	$h$ , mmol Pb/g min	$R^2$
HAP	25 °C	0.480	0.220	0.119	0.870	11.05	0.480	2.5640	1.000
	37 °C	0.379	0.0409	0.126	0.718	1.187	0.398	0.1880	0.999
	50 °C	0.351	0.0390	0.251	0.984	0.3455	0.366	0.0462	0.999
LA	25 °C	0.053	0.0614	0.0983	0.667	73.83	0.0522	0.0110	0.953
	37 °C	0.056	0.0271	0.0140	0.584	7.970	0.0570	0.0260	0.996
	50 °C	0.060	0.0966	0.0347	0.781	7.418	0.0599	0.0266	0.996

The results for pseudo-second order rate model for Pb-HAP and Pb-LA systems are shown in Figs. 1a) and 1b). The influence of temperature on these two systems is completely different. The rate constant of sorption reaction in Pb-HAP system gradually decreases with increase of temperature:  $k_2$  (25 °C) >  $k_2$  (37 °C) >  $k_2$  (50 °C). In the case of Pb-LA system, the results are different and more complicated to explain as  $k_2$  (25 °C) >  $k_2$  (37 °C)  $\approx$   $k_2$  (50 °C). These values of rate constants could indicate that two different mechanisms are involved in Pb sorption by LA: one of them dominates at 25 °C, while at elevated temperatures the other mechanism controls the process. Based on our previous work<sup>9,10</sup> and present data we postulate that the mechanism of Pb sorption by HAP is surface complexation in the first rapid phase and dissolution of HAP followed by precipitation of pyromorphite in the second slower phase. The reaction of Pb sorption by Lisina apatite is also a two-step process: the rapid first phase could be attributed to surface complexation followed by the incorporation of Pb ions into the LA lattice. However, in this case further research is needed as the temperature dependence of rate constants suggests that different mechanisms might be dominant at different temperatures.

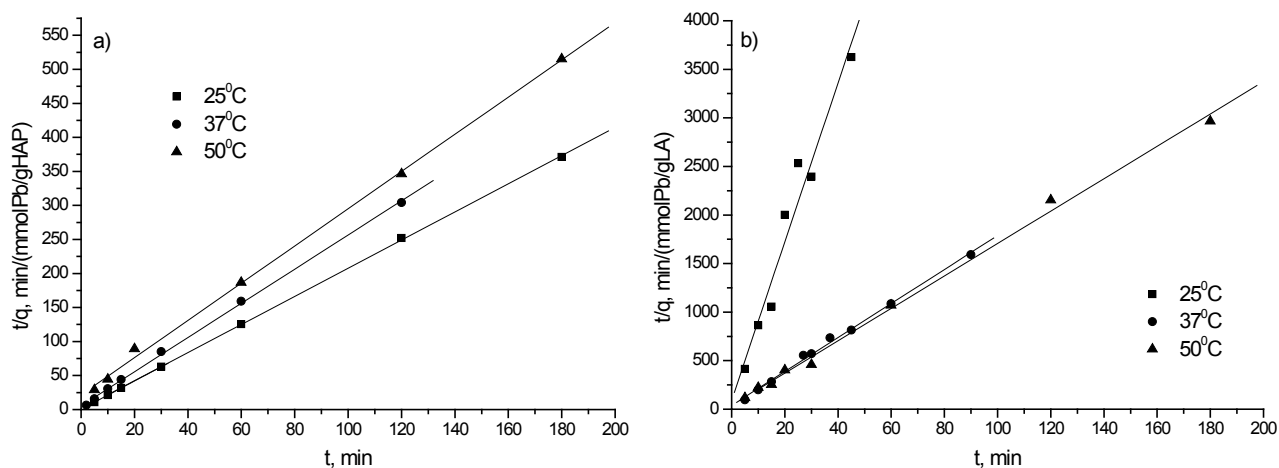


Figure 1. Results of pseudo-second order model experimental data fitting for a) Pb-HAP system b) Pb-LA system

## Conclusion

In order to determine the most appropriate adsorption isotherm for lead sorption by synthetic and natural apatite, the experimental data were substituted into five isotherm models. The most appropriate model for Pb sorption by synthetic hydroxyapatite is Redlich-Peterson model, and for Pb sorption by Lisina apatite Freundlich isotherm model. The results of this study show that natural apatite from Lisina ore deposit in South Serbia can be an effective way of Pb contamination treatment. Synthetic hydroxyapatite used in this study has larger sorption capacity and affinity to Pb than Lisina apatite, but based on the greater cost of synthetic mineral, the use of Lisina apatite can be suggested.

## Modelovanje kinetike sorpcije olova na prirodnom i sintetičkom apatitu

Zagađenje zemljišta usled prisustva toksičnih metala dovodi do brojnih negativnih uticaja na prirodnu sredinu, kao što su uništenje ekosistema, zagađenje izvora vode i negativni uticaj na zdravlje ljudi. Olovo predstavlja jednu od najrasprostranjenijih zagađujućih materija. Ispiranjem iz zagađenih zemljišta, olovo dospeva u podzemne i povišinske vode. In situ imobilizacija teških metala korišćenjem jeftinih mineralnih sirovina predstavlja pogodnu tehniku remedijacije zagađenog zemljišta. U ovom radu su korišćene dve vrste apatita: sintetički hidroksiapatit (HAP) i prirodni apatit iz ležišta Lisina (LA). Na eksperimentalne podatke kinetike sorpcije olova iz vodenog rastvora korišćenjem HAP i LA, primenjena su dva kinetička modela: model pseudo prvog reda i model pseudo drugog reda. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da vrednosti  $q_e$  dobijene primenom modela pseudo-drugog reda pokazuju dobro slaganje sa eksperimentalnim rezultatima. Na osnovu izračunatih vrednosti  $q_e$  i  $R^2$ , za oba sistema je odabran kinetički model pseudo-drugog reda. Uticaj temperature na ova dva sistema je različit. Konstanta brzine reakcije u sistemu Pb-HAP opada sa porastom temperature. U sistemu Pb-LA, konstante brzine reakcije imaju slične vrednosti na temperaturama 37 °C i 50 °C, dok je vrednost na temperaturi 25 °C ~~veća~~ veća. Ovi rezultati ukazuju na različite mehanizme reakcije sorpcije prisutne u ova dva sistema.

### References

1. D.W. Hardison, L.Q. Ma, T. Luongo, W.G. Harris, *Sci Total Environ* **328** (2004) 175
2. D.C. Adriano, W.W. Wenzel, J. Vangronsveld, N.S. Bolan, *Geoderma* **122** (2004) 121
3. X. Cao, L.Q. Ma, S.P. Singh, O. Zhou, *Environ Pollut* **152** (2008) 184
4. A.S. Knox, D.I. Kaplan, M.H. Paller, *Sci Total Environ* **357** (2006) 271
5. H.Y. Xu, L. Yang, P. Wang, Y. Liu, M.S. Peng, *J Environ Manage* **86** (2008) 319
6. C.E. Martinez, A.R. Jacobson, M.B. McBride, *Environ Sci Technol* **38** (2004) 5584
7. I.D. Smičiklas, S.K. Milonjić, P. Pfenndt, S. Raičević, *Sep Purif Technol* **18** (2000) 185
8. S. Raicevic, T. Kaludjerovic Radoicic, A.I. Zouboulis, *J Hazard Mater* **117** (2005) 41
9. T. Kaludjerovic Radoicic, S. Raicevic, *Chem Eng J* **160** (2010) 503
10. Y. Khambhaty, K. Mody, S. Basha, B. Jha, *Chem Eng J* **145** (2009) 489



## Prenos toplote zid-pseudofluid u vertikalnom toku tečnost krupne čestice

Radmila V. Garić-Grulović, Željko B. Grbavčić\*, Nevenka M. Bošković-Vragolović\*, Zorana Lj. Arsenijević

*Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Njegoševa 12, Beograd, Srbija*

*\*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija*

### Izvod

Ispitivan je prenos toplote u vertikalnom jednofaznom i dvofaznom toku fluid inertne sferične čestice prečnika 1.20, 1.94 i 2.98 mm, u bakarnoj transportnoj cevi prečnika 25.4 mm, sa omotačem za zagrevanje zasićenom vodenom parom.

Vertikalni dvofaznom tok tretiran je kao pseudofluid i uveden je modifikovani koeficijent trenja smeše fluid-čestice sa zidom cevi ( $f_w$ ) i modifikovani Reynoldsov broj za smešu fluid-čestice ( $Re_m$ ). Takodje, prikazana je zavisnost promene bezdimenzionog faktora prenosa toplote ( $j_H$ ) i modifikovanog koeficijenta trenja ( $f_w$ ) od Reynoldsovog broja za smešu.

Eksperimentalni rezultati pokazuju da je koeficijent prelaza toplote zid-pseudofluid u vertikalnom dvofaznom toku, znatno viši u odnosu na jednofazni tok za niže vrednosti Reynoldsovog broja ( $Re_m < 15000$ ), dok za više vrednosti Reynoldsovog broja ( $Re_m > 15000$ ), izmedju koeficijenata nema značajnije razlike.

Eksperimentalna ispitivanja prenosa toplote u vertikalnom dvofaznom toku čestica, tj. hidrauličkom transportu, ukazuju da postoje dva karakteristična režima strujanja: turbulentni fluid-čestice tok i paralelni fluid-čestice tok. Eksperimentalni podaci, takodje, pokazuju da je koeficijent prenosa toplote dosta viši u turbulentnom od koeficijenta prenosa toplote u paralelnom toku.

### Uvod

Proučavanje vertikalnog dvofaznog toka fluid-čestice kao i odgovarajućih fenomena prenosa je od velikog značaja za hemijske i biohemijske procese. Za razliku od mnogobrojnih istraživanja prenosa toplote u fluidizovanim sistemima tečnost-čestice<sup>1,2</sup>, u raspoloživoj literaturi malo je podataka za prenos toplote izmedju zida cevi i sloja u hidrauličkom transoprtu krupnih čestica.

Cilj naših ispitivanja je razvoj novih sistema sa fontanskim i modifikovanim fontansko fluidizovanim slojevima fluid-čestice sa umetnutom cevi, u ulozi hemijskih i biohemijskih reaktora, gde je najčešće neophodna termička regulacija procesa.

Na osnovu ispitivanja hidrauličkog transporta čestica<sup>3</sup>, pokazalo se da trenje zid-čestice nije zanemarljivo i da u interakciji smeše fluida i čestica sa zidom cevi predstavlja znatan udeo u ukupnom padu pritiska. Stoga, ispitivan je i uticaj koeficijenta trenja zid-dvofazni tok na koeficijent prenosa toplote.

### Eksperimentalna ispitivanja

Eksperimentalna ispitivanja prenosa toplote u hidrauličkom transportu izvršena su sa staklenim sferama prečnika 1.20, 1.94 i 2.98 mm. Eksperimentalni sistem šematski je prikazana na slici 1. Transportna cev snabdevena je omotačem (d) za toplotnu razmenu, dužine 700 mm. Zagrevanje transportne cevi vršeno je zasićenom vodenom parom koja je uvođena u omotač na vrhu, a odvođena sa dna omotača kao kondenzat. Transportna cev (c) uronjena je u modifikovani fontanski sloj (h) koji ima ulogu dozera čvrstih čestica. Zona zagrevanja nalazi se 320 mm iznad pozicije uvođenja čestica u transportnu cev, što je dovoljno da se tok smeše u oblasti grejanja nalazi van zone ubrzavanja čestica. Na dnu fontanskog sloja ugrađena je mlaznica (a) prečnika 20 mm kroz koju se uvodi voda za transport čestica. Aksijalno rastojanje transportne cevi od mlaznice (L, sl.1) je 20 mm.

Ukupan protok fluida i čestica meren je pomoću specijalno dizajnirane kutije (g). Pad pritiska duž transportne cevi je meren piezometrima (i).

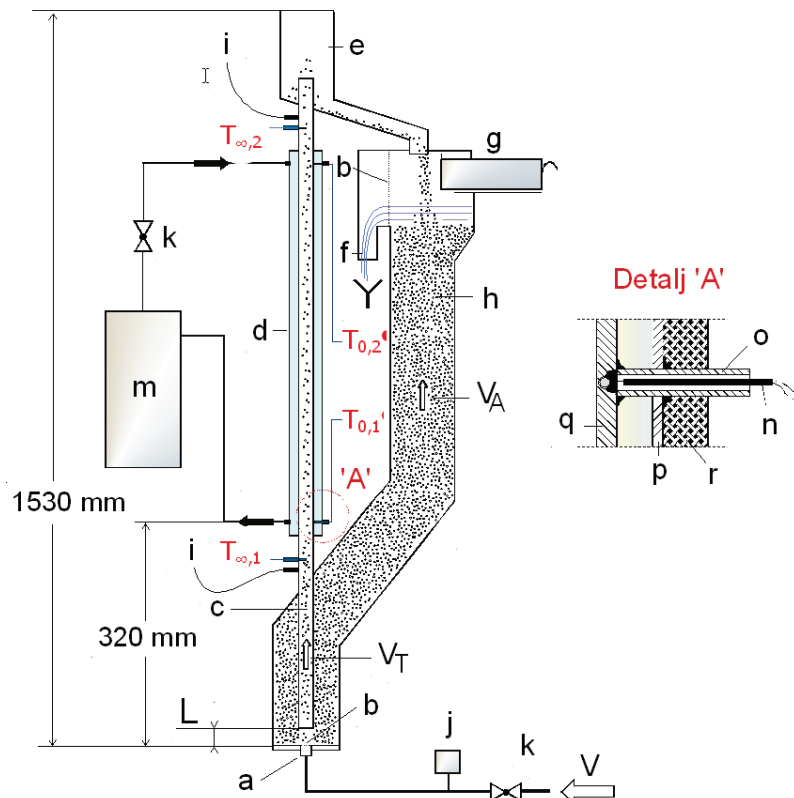
Temperatura vode na ulazu u transportnu cev održavana konstantnom (cca 15°C). Temperatura zida cevi je merena na ulazu i izlazu zone grejanja, tako što je termopar ugrađen u zid transportne cevi, kako je prikazano na slici 1 (Detalj "A"). Temperatura smeše fluida i čestica je merena termoparovima postavljenim u osu transportne cevi. Pretpostavljeno je da su temperature čestica i fluida na ulazu i izlazu zone grejanja iste. Ulazni protok ( $V$ , sl.1) se deli na protok kroz cev  $V_T$  i protok kroz anulus  $V_A$ . U našim eksperimentima odnos  $V_T/V$  je varirao izmedju 0.48 i 0.93. Koeficijent prenosa toplote određivan je iz toplotnog bilansa:

$$\alpha = \frac{(G_f c_{pf} + G_p c_{pp})(T_2 - T_1)}{(D_t \pi L_{t,Q}) \Delta T_{ln}} \quad (1)$$

gde je  $\Delta T_{ln}$  - srednja logaritamska razlika temperatura zida i fluida:

$$\Delta T_{ln} = \frac{(T_{0,2} - T_{\infty,2}) - (T_{0,1} - T_{\infty,1})}{\ln \left( \frac{T_{0,2} - T_{\infty,2}}{T_{0,1} - T_{\infty,1}} \right)} \quad (2)$$

U ovim ispitivanjima obuhvaćeni su različiti režimi strujanja, od retkog do vrlo gustog transporta. Poroznost dvofaznog toka u transportnoj cevi određena je na osnovu merenog masenog protoka čestica  $G_p$  i fluida  $G_f$  i pada pritiska  $-dp/dz^3$ . Karakteristike čestica kao i obim eksperimenta-inih uslova su prikazani u Tabeli 1. Kao transportni medijum korišćena je voda.



Slika 1. Šematski prikaz eksperimentalnog sistema:

a - mlaznica 20 mm u prečniku, b - mreža, c - transportna cev 25.4 mm u prečniku, d - omotač za održavanje konstantne temperature zida dužine 700mm, e - preliv čestica i vode, f - preliv za vodu, g - kutija, h - dozer čvrstih čestica (modifikovani fontansko-fluidizovani sloj, 70x70mm u preseku), i - piezometri, j - merač protoka, k - ventil, L - rastojanje transportne cevi od mlaznice, m - generator pare, 30kW,  $T_{0,1}$ ,  $T_{0,2}$  - termoparovi za merenje temperature zida transportne cevi,  $T_{\infty,1}$ ,  $T_{\infty,2}$  - termoparovi za merenje temperature smeše fluid-čestice, V - ukupni protok vode,  $V_T$  - protok vode kroz transportnu cev,  $V_A$  - protok vode kroz dozer čvrstih čestica.

Detalj A: n - termopar (termoparovi  $T_{0,1}$ ,  $T_{0,2}$ ), o - bakarna cev 8/6mm, p - omotač oko transportne cevi, q - zid transportne cevi, r - izolacija.

Tabela 1. Karakteristike čestica i operativni uslovi

$d_p$ / mm	1.20	1.94	2.98
$\rho_p$ / kg/m <sup>3</sup>	2641	2507	2509
$U_t$ / (m/s) /8/	0.188	0.2878	0.3698
$U/U_t$	0.43-2.15	0.31-2.86	0.29-2.11
$W_p$ / kg/m <sup>2</sup> s	6.5-86.9	0.7-226.2	6.0-239.3
$G_p/G_f$	0.08-0.237	0.08-0.302	0.07-0.328
$\varepsilon$	0.780-0.895	0.751-0.884	0.715-0.864

**Rezultati i diskusija**

*U hidrauličkom transportu krupnih čestica zapažena su dva karakteristična režima strujanja:*

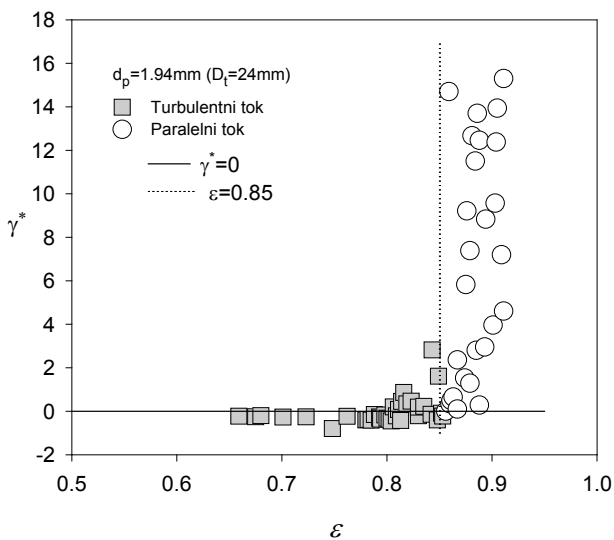
- a) Turbulentni fluid-čestice tok, u kome se čestice kreću vertikalno uz radijalne varijacije u odnosu na paralelne strujnice ( $Re < 10000$ ).
- b) Paralelni fluid-čestice tok, u kome se čestice kreću po pravolinijskim paralelnim putanjama i ovaj režim je karakterističan za veće brzine čestica i fluida ( $Re > 10000$ ).

U našem prethodnom radu<sup>3</sup> pokazali smo da se kriterijum za definisanje režima strujanja u pneumatskom transportu - "choking"<sup>4</sup> takodje, može primeniti za definisanje režima strujanja i u hidrauličkom transportu čestica:

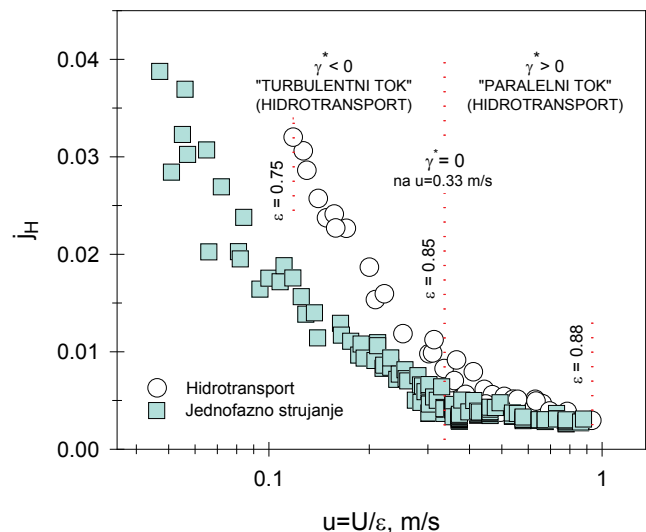
$$\gamma^* = \frac{\rho_p v^2 - \rho_f u^2}{\rho_f U_t^2} \tag{3}$$

Na osnovu eksperimentalnih ispitivanja pokazalo se da je  $\gamma^* = 0$  i u hidrauličkom transportu granica između turbulentnog i paralelnog toka smeše fluid-čestice (slika. 2).

Zavisnosti  $j_H = f(u)$  za vertikalni tok fluid-čestice i jednofazni tok fluida, prikazane su na slici 3. U paralelnom režimu strujanja ( $\gamma^* > 0$ ), vrednosti  $j_H$  faktora za ova dva sistema su bliske i sa porastom brzine fluida vrednosti  $j_H$  faktora asimptotski se približavaju vrednostima za jednofazni tok fluida (čestice kreću po paralelnim trajektorijama gde je kontakt sa zidom cevi minimalan). U turbuletnom režimu kretanja čestica ( $\gamma^* < 0$ ) zbog izraženih radijalnih varijacija u trajektorijama čestica,  $j_H$  faktor raste relativno brže u odnosu na jednofazni tok fluida. Sa smanjivanjem brzine fluida (kao i poroznosti) razlika se povećava tako da je pri poroznosti u vertikalnom toku tečnost-čestice od  $\varepsilon = 0.75$   $j_H$  faktor dva puta veći u odnosu na jednofazni tok<sup>5</sup>.



Slika 2. Zavisnost  $\gamma^* = f(\varepsilon)$  za vertikalni dvofazni tok fluida i čestica ( $d_p = 1.94 \text{ mm}$ ).



Slika 3. Zavisnost faktora prenosa toplote od međučestične brzine fluida u vertikalnom toku tečnost-čestice ( $d_p = 1.94 \text{ mm}$ ) i jednofaznom strujanju

*Koncept pseudofluida primenjen na vertikalni tok fluid-čestice*

Posmatrajući smešu fluida i čestica kao pseudofluid srednje gustine:

$$\rho_m = \varepsilon \rho_f + (1 - \varepsilon) \rho_p \tag{4}$$

i viskozitetom<sup>6</sup>,

$$\mu_m = \mu \cdot \exp\left(\frac{5(1-\varepsilon)}{3\varepsilon}\right) \tag{5}$$

analogno jednačini za jednofazni tok fluida<sup>7,8</sup>

$$F_f = 2 f_f \rho_f U^2 / D_t \tag{6}$$

modifikovani koeficijent trenja smeša-zid, pri hidrauličkom transportu je:

$$f_w = \frac{F_w D_t}{2\rho_m U_m^2} \quad (7)$$

gde je  $f_w$  - koeficijent trenja pseudofluid-zid transportne cevi.

U jednačini (7),  $U_m$  je srednja površinska brzina pseudofluida i predstavlja ukupni zapreminski protok čestica i fluida po jedinici transportne cevi<sup>6</sup>:

$$U_m = U + c_s = \frac{G_f}{\rho_f A_t} + \frac{G_p}{\rho_p A_t} \quad (8)$$

Modifikovani Reynoldsov broj za smešu fluid-čestice (pseudofluid) je:

$$Re_m = \frac{D_t \rho_m U_m}{\mu_m} \quad (9)$$

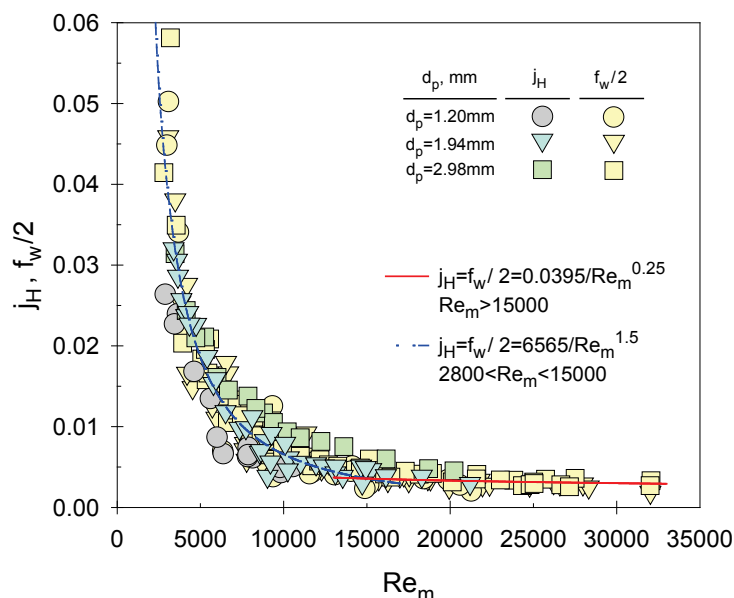
Eksperimentalni podaci za faktor prenosa toplote i koeficijent trenja pseudofluida o zid cevi u zavisnosti od Reynoldsovog broja za pseudofluid korelisani su dvema jednačinama:

$$j_H = \frac{f_w}{2} = \frac{6565}{Re_m^{1.5}}, \quad 2800 < Re_m < 15000 \quad (10)$$

$$j_H = \frac{f_w}{2} = \frac{0.0395}{Re_m^{0.25}}, \quad 15000 < Re_m < 32000 \quad (11)$$

Koeficijenti u jednačini za koeficijent trenja pseudofluida o zid cevi (za  $Re_m > 15000$ ; jedn. 11), identični koeficijentima u Blasiusovoj jednačini za jednofazno strujanje fluida u turbulentnom režimu strujanja ( $f_f/2 = 0.0395/Re^{0.25}$ ). Na slici 4 prikazani su uporedo eksperimentalni podaci za faktor prenosa toplote i koeficijent trenja pseudofluida o zid cevi u zavisnosti od Reynoldsovog broja za pseudofluid za sve čestice sa kojima su vršena eksperimentalna ispitivanja ( $d_p = 1.20, 1.94$  i  $2.98$  mm).

Navedene korelacije opravdavaju tretiranje vertikalnog toka tečnost-čestice kao toka pseudofluida i ukazuju na postojanje analogije prenosa količine kretanja i toplote u ovim sistemima<sup>9</sup>.



Slika 4. Zavisnost faktora prenosa toplote i koeficijenta trenja pseudofluida od Reynoldsovog broja za pseudofluid za sve ispitivane čestice.

## Zaključci

U vertikalnom toku fluida i čestica, utvrđena su dva karakteristična režima strujanja: turbulentni i paralelni tok čestica. Parametar  $\gamma^*$  je kriterijum za ocenu režima strujanja. U turbulentnom toku ( $\gamma^* < 0$ ), interakcija između čestica i zida transportne cevi je intenzivnija, čestice remete laminarni granični sloj fluida na zidovima cevi. Kao

posledica ovakvog ponašanja, koeficijenti prelaza toplote se značajno povećavaju u odnosu na odgovarajuće vrednosti u jednofaznom toku. U paralelnom toku ( $\gamma^* > 0$ ) prisustvo čestica ima vrlo mali uticaj na koeficijent prelaza toplote.

Vertikalni dvofazni tok krupnih sfernih čestica tretiran je kao pseudofluid i uvedene su veličine: modifikovani koeficijent trenja smeše fluid čestice - zid ( $f_w$ ) i modifikovani Reynoldsov broj za smešu ( $Re_m$ ). Pri niskim  $Re_m$  brojevima, tj. u oblasti turbulentnog fluid-čestice toka, trenje smeše fluid-čestice-zid i do 15 puta je veće u odnosu na paralelni fluid-čestice tok ( $Re_m > 15000$ ).

#### Literatura

1. Jamialahmadi, M., Malayeri, R.M., Muller-Steinhagen, H., *Can. J. Chem. Engng.* **73** (1995) 444-455.
2. Kang, Y., Fan, L.T., Kim, S.D., *AIChE J.*, **37** (1991) 1101-1106.
3. Z.B.Grbavcic, R.V.Garic, D.V.Vukovic, Dz.E.Hadzismajlovic, H.Littman, M.H.Morgan III and S.Dj. Jovanovic, *Pow. Techn.*, **72** (1992), 183-191.
4. Day, J. Y., Littman, H., Morgan, M. H., III, *Chem. Engng. Sci.* **45(1)** (1990), 355-360.
5. R. Garić-Grulović, N. Bošković-Vragolović, Ž Grbavčić, Z. Arsenijević, *Inter. J. Heat Mass Trans.*, **51** (2008) 5942–5948.
6. Garić-Grulović, R.V., Grbavčić, Ž.B., Arsenijević, Z.Lj., *J. Serb. Chem. Soc.*, **70(5)** (2005) 775-784.
7. Nakamura, K., Capes, C. E., *Can. J. Chem. Engng.*, **51** (1973) 39-46.
8. R.B.Bird, W.E.Stewart and E.N.Lightfoot, *Transport Phenomena*, J.Wiley, New York, 1960.
9. Garić-Grulović, R.V., Grbavčić, Ž.B., Arsenijević, Z.Lj., *Powder Technol.*, **145** (2004) 163-171.

### Wall-to-pseudofluid heat transfer in vertical flow of liquid coarse particles

*Heat transfer in single-phase and vertical two phase flow of inert spherical particles 1.20, 1.94 and 2.98 mm in diameter in a 25.4 mm I.D. copper tube equipped with a steam jacket, was studied.*

*The vertical two-phase flow is treating as the pseudofluid, and is introduced modified mixture-wall friction coefficient ( $f_w$ ) and modified mixture Reynolds number ( $Re_m$ ). Also, there is represent the dependence of changes for the heat transfer factor ( $j_H$ ) and modified mixture-wall friction coefficient ( $f_w$ ) of modified mixture Reynolds number ( $Re_m$ ).*

*Wall-to-pseudofluid heat transfer in hydraulic transport of particles is much higher than in single-phase flow for lower Reynolds numbers ( $Re_m < 15000$ ), while for high Reynolds numbers ( $Re_m > 15000$ ), there is no significant difference.*

*In our hydraulic transport experiments the two characteristic flow regimes were observed: turbulent fluid-particle flow and parallel fluid-particle flow. Our experimental data show that the heat transfer coefficients in turbulent fluid-particle regime are much higher than in parallel fluid-particle flow.*

## Ravnoteža tečnost-tečnost u vodenim rastvorima tečnih polietilen glikola sa toluenom

Gorica Ivaniš, Jelena Vuksanović, Zoran Višak\*, Emila Živković, Nikola Grozdanić, Mirjana Kijevčanin

*Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija*

*\*Centro Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa,  
Avenida Rovisco Pais, 1049-001, Lisabon, Portugal*

### Apstrakt

Toluen je važan organski rastvarač, koji rastvara i brojne neorganske supstance i značajan je kako sa industrijskog tako i sa ekološkog aspekta. Toluen je manje toksičan od benzena pa se često koristi umesto njega kao rastvarač u industrijskim procesima.

S druge strane, polietilen glikol (PEG) ima izuzetno nisku toksičnost, tako da ulazi u sastav lekova kao i kozmetičkih preparata. S obzirom na velike mogućnosti upotrebe PEG, značajno je ispitati njegovo ponašanje u različitim rastvorima, na primer mogućnost da polarni PEG menja svoju polarnost (prilagođava je) prema okolini (solventu).

U ovom radu su eksperimentalnim određivanjem ravnoteže tečnost-tečnost, ispitivane mogućnosti korišćenja tečnih polietilen glikola (PEG 200 i PEG 400) i njihovih vodenih rastvora kao "zelenih" rastvarača za prečišćavanje i izdvajanje štetnih supstanci.

### Uvod

U industriji su često prisutne smeše štetnih supstanci koje je potrebno razdvojiti, s obzirom da se ponekad zajedno koriste kao rastvarači, kao na primer toluen i benzen, benzen i tetrahidrofuran, različiti alkoholi itd.

U ovom radu su ispitivane mogućnosti upotrebe tečnih polietilen glikola (PEG) i njihovih rastvora kao "zelenih" rastvarača za različite toksične supstance. Polietilen glikoli imaju jako široku primenu, od industrijske proizvodnje različitih kozmetičkih preparata do medicine. Njihova najveća prednost je što su neškodljivi za okolinu, što ih čini idealnim rastvaračima. Poslednjih godina je posebna pažnja posvećena upravo proučavanju primene PEG<sup>1-3</sup>.

### Hemikalije

U eksperimentima su korišćeni benzen (Sigma-Aldrich), minimalne čistoće 99,9% mas, o-ksilen (p.a.) (Sineks laboratory), tetrahidrofuran (Merck), minimalne čistoće 99,5% mas, cikloheksan (Merck), minimalne čistoće 99,0% mas, n-heksanol (Merck), minimalne čistoće 98% mas, n-oktanol (Merck), minimalne čistoće 99% mas, n-dekanol (Merck), minimalne čistoće 97% mas, PEG 200 i PEG 400 (Sigma-Aldrich), minimalne čistoće 99% mas i toluen (Merck), minimalne čistoće 99,5% mas. PEG 200 je dodatno sušen (sadržaj vode 0.03% mas), kao i PEG 400 (sadržaj vode 0.06% mas). Za rastvore sa vodom korišćena je milipor voda.

### Eksperimentalni deo

Eksperimentalni deo rada se sastojao iz dva dela – ispitivanja rastvorljivosti PEG u organskim rastvaračima i određivanja ravnoteže tečnost-tečnost vodenih rastvora PEG u toluenu.

U prvom delu rada proučavana je rastvorljivost tečnih polietilen glikola u različitim, industrijski veoma rasprostranjenim rastvaračima. Rezultati rastvorljivosti su dati u tabeli 1.

U slučajevima kada je čist PEG bio potpuno rastvoran u izabranom rastvaraču, pravljene su rastvori PEG+voda. Na ovaj način je smanjivana rastvorljivost u rastvaračima koji su nerastvorni u vodi.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da sa povećanjem molarne mase polietilen glikola (PEG 400 u odnosu na PEG 200) raste i njihova rastvorljivost u posmatranim rastvaračima.

Takođe, sa povećanjem broja CH<sub>3</sub> grupa na benzenovom prstenu smanjuje se rastvorljivost PEG u datom rastvaraču. Sličan efekat, uslovljen povećanjem broja atoma ugljenika, je primećen i kod alkohola.

Tabela 1. Rastvorljivost PEG-ova u različitim rastvaračima u opsegu temperatura od 273.15 K do 333.15 K

	PEG 200	PEG 400
<b>toluen</b>	delimično rastvoran	potpuno rastvoran
<b>benzen</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>o-ksilen</b>	slabo rastvoran	delimično rastvoran
<b>tetrahidrofuran</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>cikloheksan</b>	nerastvoran	nerastvoran
<b>Piridin</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>nikotin</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>n-heksanol</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>n-oktanol</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran
<b>n-dekanol</b>	potpuno rastvoran	potpuno rastvoran

U drugom delu rada proučavana je rastvorljivost, odnosno određivana ravnoteža tečnost-tečnost, tečnih polietilen glikola i njihovih vodenih rastvora u toluenu.

Fazni dijagrami temperatura-sastav, ravnoteže tečnost-tečnost, konstruisani su na atmosferskom pritisku i u temperaturnom intervalu od 273.15 K do 333.15 K, koristeći vizuelni metod zamućenja rastvora (cloud-point) koje prethodi faznoj separaciji. U eksperimentima su korišćene ćelije od Pyrex stakla sa magnetnim mešačem. Ćelija se sastoji od male komore na dnu, uskog vrata-kapilare (ID=0.1 mm) i ventila na vrhu. Postoji mogućnost zatvaranja ćelija pomoću teflonskog čepa sa navojem, pa se moglo koristiti i vodeno kupatilo. Za određivanje ravnoteže na povišenim temperaturama korišćeno je vodeno kupatilo u vidu staklene čaše od 2 l napunjene vodom. Dug i uzak vrat omogućava rad pri većim temperaturama jer se ćelija može uroniti dublje u vodu i smanjena je mogućnost isparavanja supstanci iz ćelije. Rastvori su pripremani u ćeliji, dodavanjem tečnosti kroz pomenuti vrat pomoću Hamilton-ovog šprica sa dugačkom iglom. Sastavi su mereni gravimetrijski korišćenjem analitičke vage tačnosti  $\pm 2 \times 10^{-5}$  u masenim udelima.

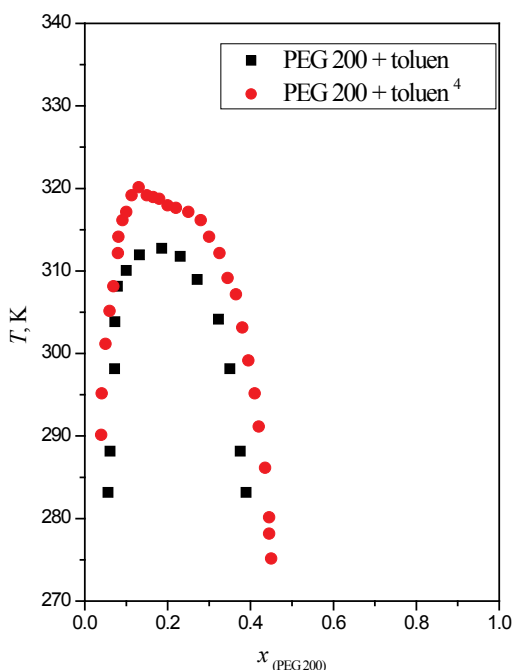
Rastvori su zagrevani, uz kontinualno mešanje, a proces je uvek ponavljan nekoliko puta (2-3 puta), s tim što je poslednji eksperiment izvođen najsporije. Za mešanje i zagrevanje je korišćena mešalica (Heidolph instruments), koja ima mogućnost održavanja konstantne temperature.

Eksperiment je izvođen titracijom i zagrevanjem rastvora poznatog sastava. Pri titraciji je temperatura održavana konstantnom i u supstancu u ćeliji je ukapavana druga supstanca do pojave zamućenja. A za smeše poznatog sastava se, polazeći iz dve tečne faze, zagrevanjem prelazi u jednu tečnu fazu da bi se hlađenjem došlo do temperature na kojoj se pojavljuju prvi znaci zamućenja u rastvoru i ta temperatura je uzimana kao temperatura fazne transformacije tečnost-tečnost. Temperatura je merena termoparom.

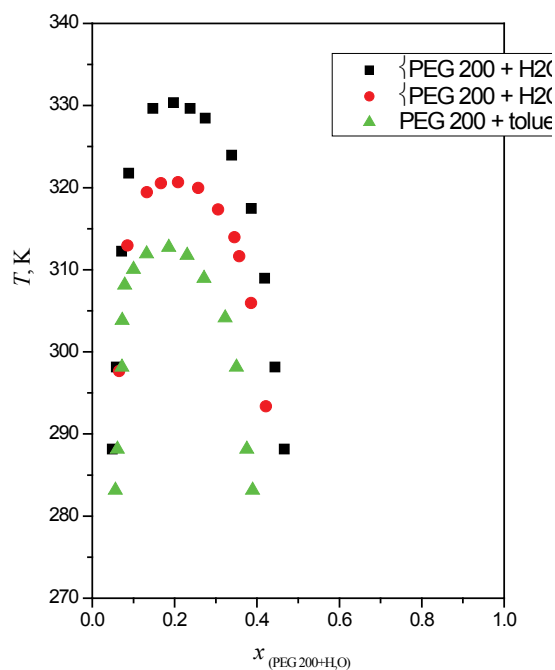
## Rezultati

Na slici 1. je prikazan diagram stanja ravnoteže za PEG 200 i toluen, kao i poređenje sa literaturnim podacima<sup>4</sup>. U ovom radu je korišćen PEG 200 koji je pre sušenja imao 0.3 % mas vode, da bi se sušenjem taj udeo smanjio na 0.03 % mas. Sa slike 1 se vidi da je došlo do delimičnog neslaganja dobijenih rezultata za PEG 200 sa literaturnim vrednostima<sup>4</sup>, najverovatnije zbog različitog sadržaja vlage u korišćenim hemikalijama (u literaturi<sup>4</sup> nije navedeno da je urađeno dodatno sušenje PEG), a uticaj sadržaja vode na rastvorljivost polietilen glikola u toluenu je jako veliki, što se može videti na slici 2.

Sa slike 2 se vidi da dodavanje vode u PEG 200 smanjuje rastvorljivost dobijenog rastvora u toluenu. Primećuje se da je uticaj sadržaja vode veliki i da postoji jasna zavisnost između udela vode u PEG 200 i maksimalne temperature postojanja ravnoteže tečnost-tečnost. Slični rezultati su dobijeni i za PEG 400, što se može videti na slici 3.



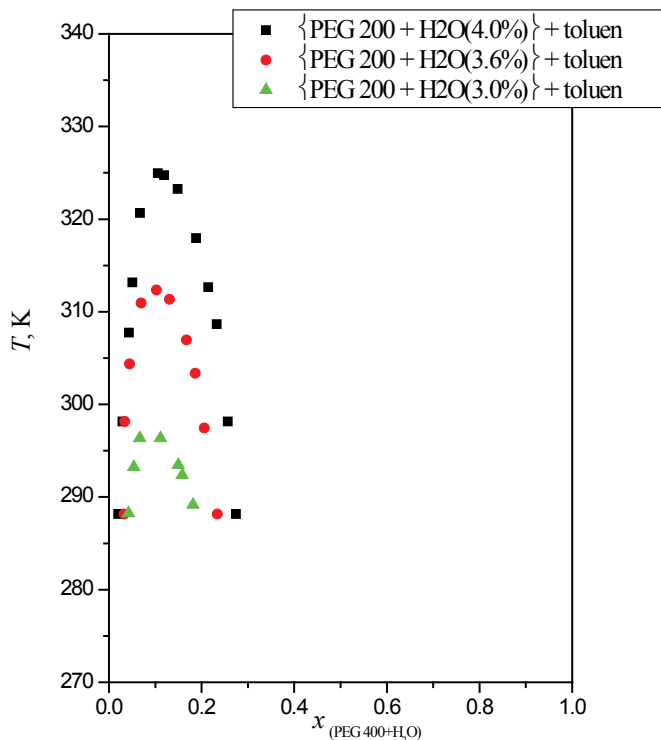
Slika 1. Fazni dijagram PEG 200 + toluen



Slika 2. Ispitivanje uticaja sadržaja vode u PEG 200 na njegovu rastvorljivost u toluenu

Sa slike 3 se može zaključiti da su vodeni rastvori PEG 400 rastvorljiviji u toluenu u odnosu na rastvore PEG 200, kao i da je čist PEG 400 u posmatranom opsegu temperatura od 273.15 K do 333.15 K potpuno rastvoran u toluenu. Takođe, primećuje se da je uticaj vode na rastvorljivost izraženiji kod PEG 400 nego kod PEG 200, kao i da se dvofazna oblast pojavljuje pri nižim koncentracijama smeše PEG 400 i vode u toluenu.

Eksperimenti su pokazali da se PEG 200 i PEG 400, kao i njihovi vodeni rastvori, mogu koristiti kao rastvarači za toluen u cilju njegovog odvajanja od drugih rastvarača.



Slika 3. Ispitivanje uticaja sadržaja vode u PEG 400 na njegovu rastvorljivost u toluenu.

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj na finansijskoj pomoći za izradu ovih istraživanja (projekat broj 172063), kao i Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu.



## Liquid-Liquid Equilibria in Aqueous Solution of Liquid Polyethylene Glycol and Toluene

*Toluene is an important organic solvent, but is also capable of dissolving a number of inorganic chemicals and it represents a substance of diverse importance – industrial and ecological. Toluene is less toxic than benzene, and has consequently largely replaced it as an aromatic solvent in process industry.*

*On the other hand, polyethylene glycol (PEG) has an extremely low toxicity and is used in a variety of products, for example as a constituent of medicaments and beauty products etc. Bearing in mind very wide industrial application of PEGs, studying their behavior is very important especially examination the possibility of the polar PEGs to change their polarity according to the solvent behavior.*

*In this work, the possibility of using liquid polyethylene glycol (PEG 200 and PEG 400) and its aqueous solutions as "green" solvents for toxic substances have been investigated by measurement of liquid-liquid equilibria.*

### Literatura

1. Z.P. Visak, S.L. Yague, J.N.Canongia Lopes, L.P.N. Rebelo, *Journal of Physical Chemistry B*, **111** (2007) 7934
2. Z.P. Visak, J.N.Canongia Lopes, L.P.N. Rebelo, *Monatshefte für Chemie*, **138** (2007) 1153
3. Z.P.Visak, *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (8) 1161–1165 (2010).
4. E. Sabadini, *Estudo Físico-Químico de Polietileno Glicol com Água e Solventes Aromáticos*, PhD Thesis, Universidade Campinas, Brasil, 1993

## Temperature influence on change of thermodynamic and transport properties of the binary systems containing dimethylphthalate (or dimethyladipate) and alcohols

Andjela Knežević-Stevanović, Divna Bajić\*, Jovan Jovanović\*, Dušan Grozdanić\*, Ivona Radović\*, Slobodan Šerbanović\*, Mirjana Kijevčanin\*

*Metro Vancouver, 4330 Kingsway, Burnaby BC V5H 4G8 Canada*

*\*Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija*

### Abstract

Density, refractive index and viscosity data of the four binary systems of dimethylphthalate (or dimethyladipate) + 1-butanol and dimethylphthalate (or dimethyladipate) + 2-butanol have been measured at eight temperatures (288.15, 293.15, 298.15, 303.15, 308.15, 313.15, 318.15 and 323.15) K and atmospheric pressure. Densities, refractive indices and viscosities were measured with an Anton Paar DMA 5000 digital vibrating tube densimeter, Anton Paar RXA 156 refractometer and Anton Paar SVM 3000/G2 digital viscometer, respectively. Excess molar volumes ( $V^E$ ), deviations of refractive indices ( $\Delta n_D$ ) and viscosity deviations ( $\Delta \eta$ ) were determined from these densities, refractive indices and viscosities data, respectively and were fitted by the Redlich-Kister polynomial.

### Introduction

Mixing effects for thousands of compounds and their mixtures used in the process industry are not known, hence knowledge of densities, refractive indices and viscosities, as well as excess molar volumes ( $V^E$ ), refractive indices and viscosity deviations ( $\Delta n_D$  and  $\Delta \eta$ , respectively) of organic mixtures at various temperatures is of great importance. Selection of systems for analysis was based on molecular structure of the individual components, as well as their industrial and ecological importance. When mixing compounds with different and complex molecular structure, various intermolecular interactions take place resulting in non-ideal behaviour of mixtures. Therefore, knowledge of thermodynamic and transport properties of individual components and their mixtures aids in understanding of the complex structure of liquids.

This work is a continuation of our study of the thermodynamic and transport properties of liquid mixtures containing different important organic solvents<sup>1-4</sup>. Density  $\rho$ , refractive index  $n_D$  and viscosity  $\eta$  measurements of the systems of dimethylphthalate or dimethyladipate with 1-butanol, or 2-butanol at (288.15 - 323.15) K and atmospheric pressure have been performed. Using the measured  $\rho$ ,  $n_D$  and  $\eta$  data, the excess molar volumes  $V^E$ , deviations of refractive indices  $\Delta n_D$  and viscosity deviations  $\Delta \eta$ , respectively were calculated and correlated by the Redlich-Kister<sup>5</sup> polynomial.

### Experimental Section

#### Chemicals

All chemicals were of high mass purity of dimethylphthalate >0.99 (Fluka), dimethyladipate >0.99 (Merck), 1-butanol  $\geq 0.995$  (Merck) and 2-butanol >0.99 (Merck) and were used without further purification.

#### Measurements

The mixtures were prepared by mass using a Mettler AG 204 balance, with a precision of  $1 \cdot 10^{-4}$  g. All molar quantities were based on the IUPAC relative atomic mass table. The uncertainty of the mole fraction calculation was less than  $\pm 1 \cdot 10^{-4}$ . The densities  $\rho$  of the binary mixtures, and corresponding pure substances were measured with an Anton Paar DMA 5000 digital vibrating U-tube densimeter with a stated accuracy  $\pm 5 \cdot 10^{-3}$  kg m<sup>-3</sup>. The temperature in the cell was measured by means of two integrated Pt 100 platinum thermometers with the stability better than  $\pm 0.002$  K; temperature was regulated to  $\pm 0.001$  K with a built-in solid-state thermostat. The refractive index was measured by an Anton Paar RXA 156 refractometer with a stated accuracy of  $\pm 5 \cdot 10^{-5}$ , and the temperature was controlled with an internal Peltier thermostat to  $\pm 0.03$  K. The viscosities were measured with an Anton Paar SVM 3000/G2 digital Stabinger viscometer with a stated accuracy of  $\pm 0.1\%$  of the measurement value and the temperature was regulated with the uncertainty of  $\pm 0.01$  K with a built in solid-state thermostat.

The experimental uncertainty in the density, refractive index and viscosity measurements were about  $\pm 1 \cdot 10^{-2}$  kg m<sup>-3</sup>,  $\pm 1 \cdot 10^{-4}$  and  $< 1.5\%$ , respectively, while the average uncertainty in excess molar volume, refractive index deviation and viscosity deviation have been estimated at  $\pm 3 \cdot 10^{-9}$  m<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>,  $\pm 2 \cdot 10^{-4}$  and better than  $\pm 3 \cdot 10^{-3}$  mPas, respectively.

## Results and Discussion

Excess molar volumes  $V^E$  were calculated from the density data by the equation:

$$V^E = \sum_{i=1}^N x_i M_i \left[ \left( \frac{1}{\rho} \right) - \left( \frac{1}{\rho_i} \right) \right] \quad (1)$$

where  $N$  is the number of components;  $x_i$  is the mole fraction of component  $i$  in the mixture;  $M_i$  is its molecular weight;  $\rho$  and  $\rho_i$  are the measured densities of the mixture and the pure component  $i$ , respectively.

The refractive index deviations,  $\Delta n_D$ , were calculated as follows:

$$\Delta n_D = n_D - \sum_{i=1}^N x_i n_{Di} \quad (2)$$

where  $n_D$  and  $n_{Di}$  are the measured refractive indices of the mixture and the pure component  $i$ , respectively.

The viscosity deviations  $\Delta \eta$  were calculated from the equation:

$$\Delta \eta = \eta - \sum_{i=1}^N x_i \eta_i \quad (3)$$

where  $N$  is the number of components;  $x_i$  is the mole fraction of component  $i$  in the mixture; and  $\eta$  and  $\eta_i$  are the measured viscosities of the mixture and the pure component  $i$ , respectively.

The results of  $V^E$ ,  $\Delta n_D$  and  $\Delta \eta$  were correlated with the Redlich-Kister (RK) equation<sup>5</sup>:

$$Y^E(\Delta Y) = x_i x_j \sum_{p=0}^k A_p (2x_i - 1)^p \quad (4)$$

where  $Y^E(\Delta Y)$  denotes  $V_{ij}^E / 10^{-6} \text{ m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $\Delta n_D$ , or  $\Delta \eta / \text{mPas}$ ;  $A_p$ , are the adjustable parameters of the related property, and the number of adjustable parameters ( $k + 1$ ) has been determined using the F-test.

The root-mean-square deviations (rmsd) of the correlation for the  $V^E$ ,  $\Delta n_D$  and  $\Delta \eta$  at each temperature separately are given in Table I. rmsd is defined by the equation:

$$\sigma = \left( \sum_{i=1}^m (Y_{\text{exp},i}^E - Y_{\text{cal},i}^E)^2 / m \right)^{1/2} \quad (5)$$

where  $m$  is the number of experimental data points.

Data for all investigated binary systems: dimethylphthalate, or dimethyladipate + 1-butanol, or 2-butanol at temperatures (288.15, 293.15, 298.15, 303.15, 308.15, 313.15, 318.15 and 323.15) K along with the RK correlation results are presented in Figures 1 ( $V^E$ ), 2 ( $\Delta n_D$ ) and 3 ( $\Delta \eta$ ), respectively.

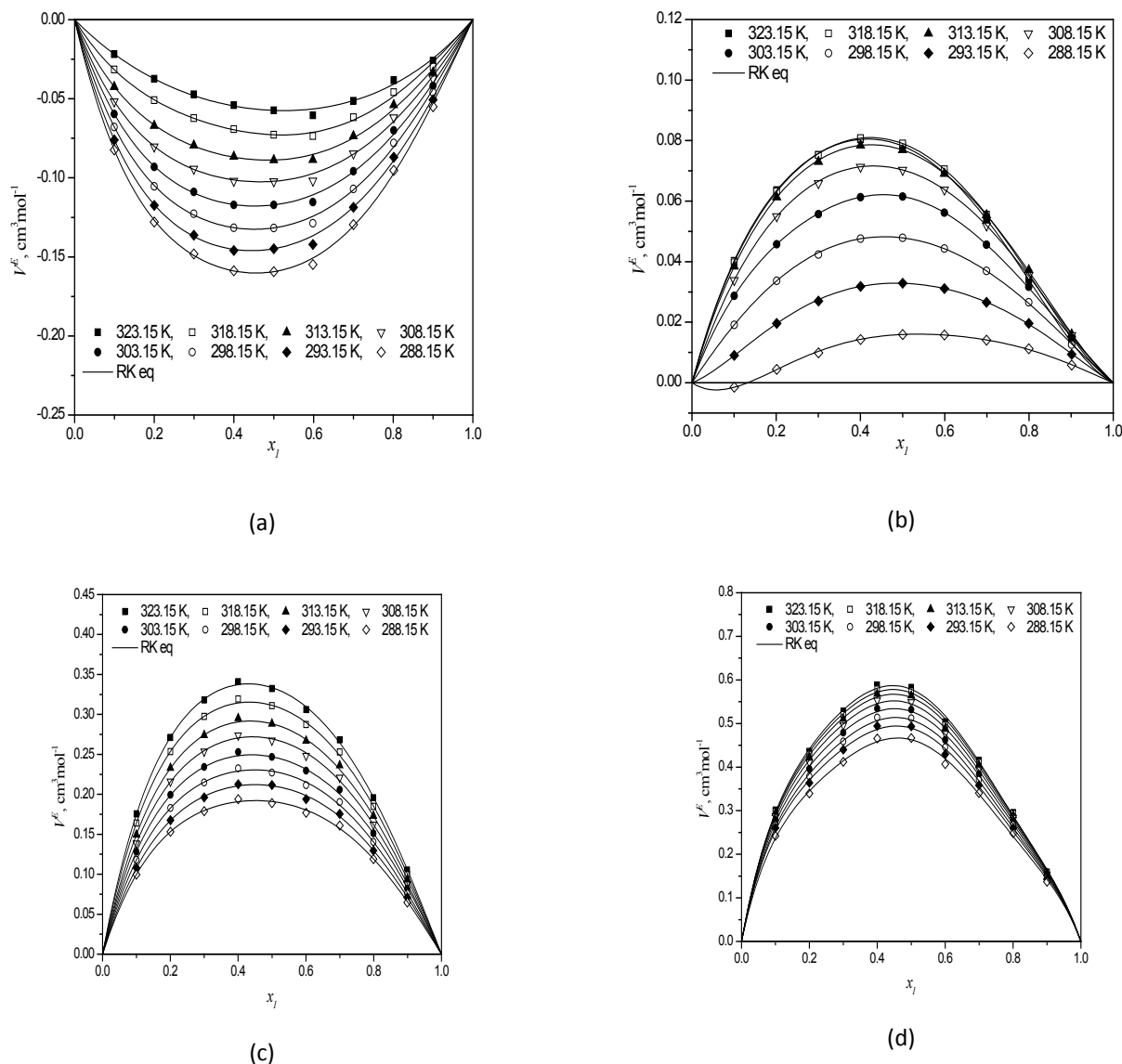


Fig. 1.  $V^E$  data for the binary systems : (a) dimethylphthalate (1) + 1-butanol (2), (b) dimethylphthalate (1) + 2-butanol (2), (c) dimethyladipate (1) + 1-butanol (2) and (d) dimethyladipate (1) + 2-butanol (2). Symbols refer to experimental data points. Lines present the results calculated by eq (4).

As shown in Figure 1, temperature and position of the hydroxyl group in the molecule of alcohol strongly impact  $V^E$  for all four studied binary systems.  $V^E$  for the dimethylphthalate + 1-butanol mixture is negative, indicating a dominant influence of the hydrogen bond, while in the system containing dimethylphthalate + 2-butanol, as well as dimethyladipate + 1-butanol, or + 2-butanol, steric hindrance plays a major role. Temperature influence on  $\Delta n_D$  is almost negligible, particularly for the binaries containing dimethylphthalate, while it is evident for the systems with dimethyladipate. Temperature affects  $\Delta \eta$  significantly for all four binary systems, although its effect is more pronounced for the binary systems containing dimethylphthalate.

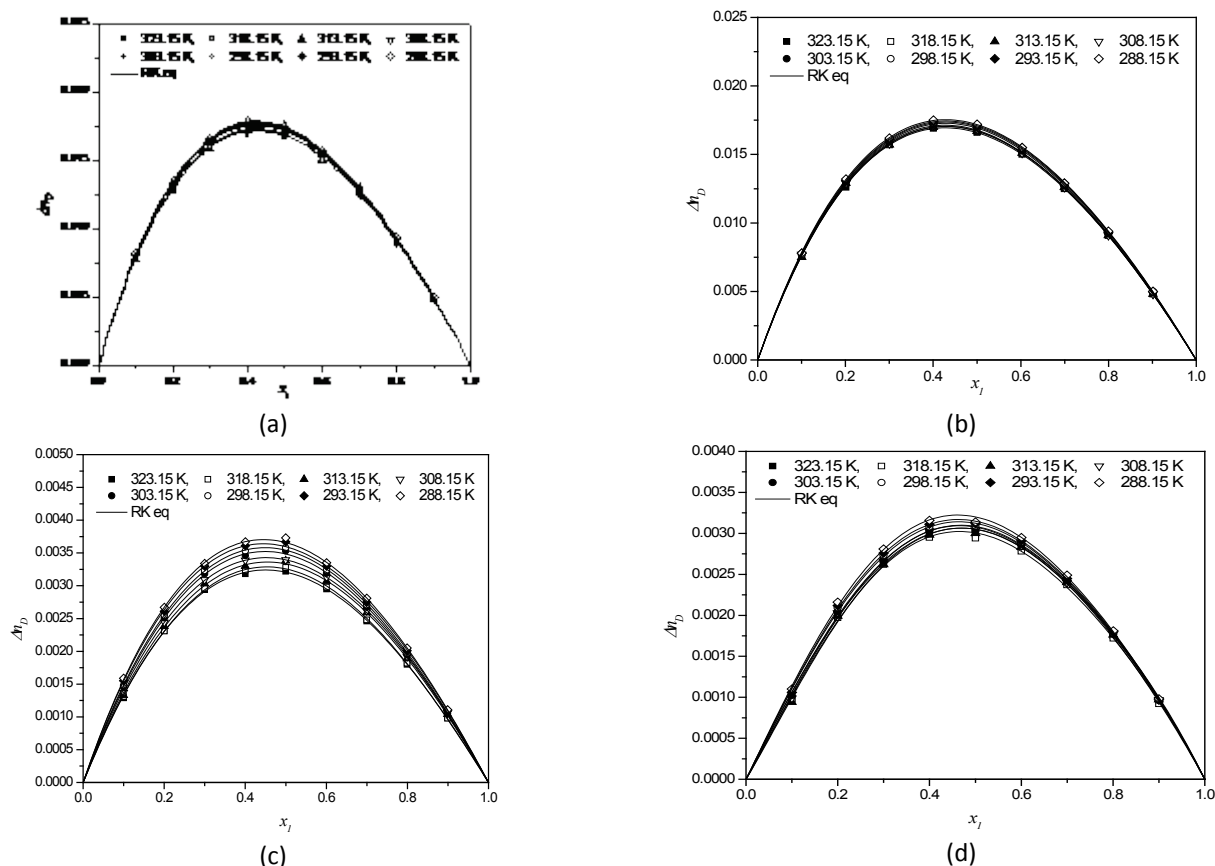


Fig. 2.  $\Delta h_D$  data for the binary systems : (a) dimethylphthalate (1) + 1-butanol (2), (b) dimethylphthalate (1) + 2-butanol (2), (c) dimethyladipate (1) + 1-butanol (2) and (d) dimethyladipate (1) + 2-butanol (2). Symbols refer to experimental data points. Lines present the results calculated by eq (4).

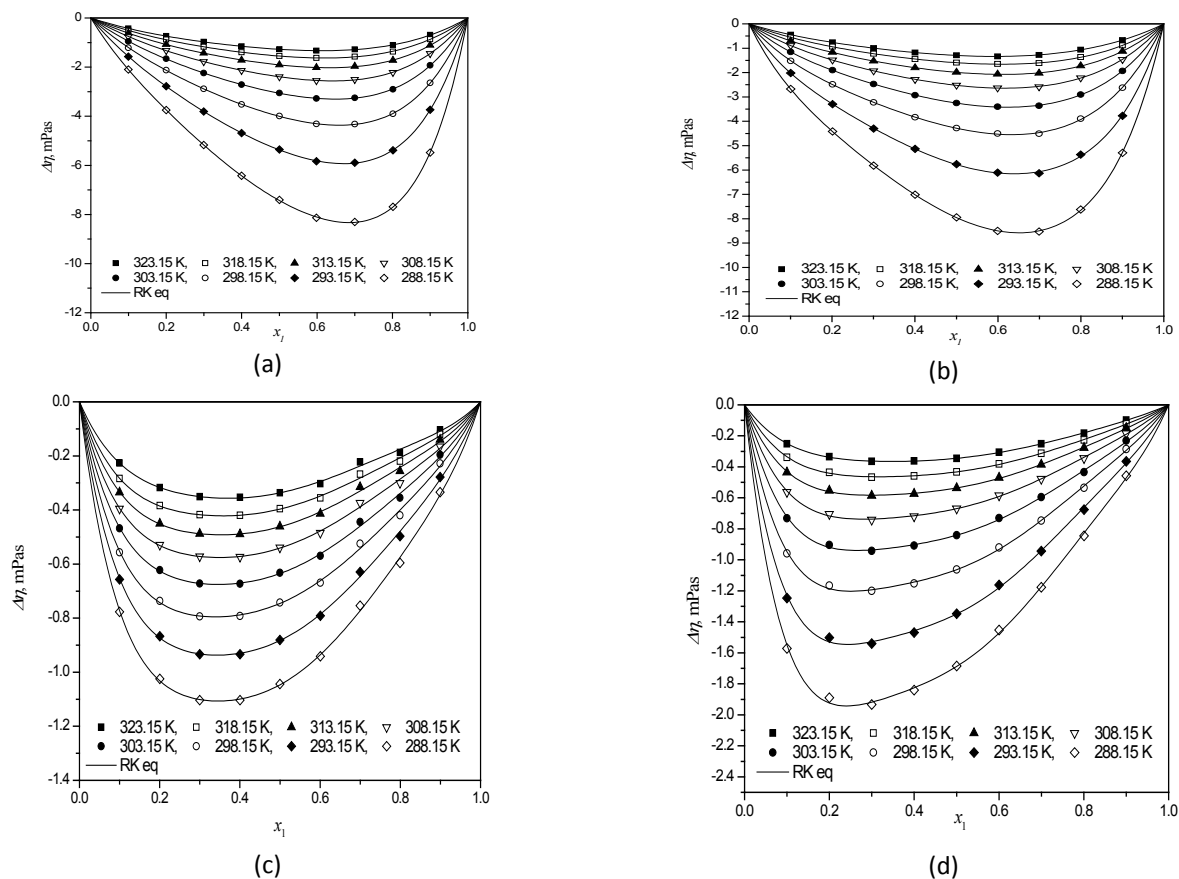


Fig. 3.  $\Delta \eta$  data for the binary systems: (a) dimethylphthalate (1) + 1-butanol (2), (b) dimethylphthalate (1) + 2-butanol (2), (c) dimethyladipate (1) + 1-butanol (2) and (d) dimethyladipate (1) + 2-butanol (2). Symbols refer to experimental data points. Lines present the results calculated by eq (4).

The authors gratefully acknowledge the financial support received from the Research Fund of Ministry of Science and Technological Development (project No 172063), Serbia and the Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade.

### Uticaj temperature na promenu termodinamičkih i transportnih osobina binarnih smeša dimetilftalata (ili dimetiladipata) i alkohola

*Ekperimentalno su određene gustine, indeksi refrakcije i viskoznosti četiri binarna sistema: dimetilftalat (ili dimetiladipat) + 1-butanol i dimetilftalat (ili dimetiladipat) + 2-butanol, na osam temperatura (288.15, 293.15, 298.15, 303.15, 308.15, 313.15, 318.15 i 323.15) K i na atmosferskom pritisku. Merenja gustina, indeksa refrakcije i viskoznosti su izvršena pomoću Anton Paar DMA 5000 digitalnog gustinomera, odnosno Anton Paar RXA 156 refraktometra i Anton Paar SVM 3000/G2 digitalnog viskozimetra. Iz podataka za gustine, indekse refrakcije i viskoznosti smeša izračunate su dopunske molarne zapremine ( $V^E$ ), promene indeksa refrakcije ( $\Delta n_D$ ) i promene viskoznosti ( $\Delta \eta$ ), koje su zatim korelisane Redlich-Kisterovim polinomom.*

#### Literature

1. I.R. Radovic, S.P. Serbanovic, B.D. Djordjevic, M.Lj. Kijevcanin, *J.Chem.Eng. Data*, **56** (2011) 344-349
2. M. Lj. Kijevcanin, I.R. Radovic, S.P. Serbanovic, E.M. Zivkovic, B.D. Djordjevic, *J.Chem.Eng. Data*, **55** (2010) 1739-1744
3. E.M. Zivkovic, M.Lj. Kijevcanin, I.R. Radovic, S.P. Serbanovic, B.D. Djordjevic, *Fluid Phase Equilib.*, **299** (2010) 191-197.
4. B. D. Djordjević, S. P. Šerbanović, I. R. Radović, A. Ž. Tasić, M. Lj. Kijevčanin, *J. Serb. Chem. Soc.*, **72** (2007) 1437
5. O. Redlich, A. T. Kister, *Ind. Eng. Chem.*, **40** (1948) 345

## Mechanical and optical properties of composite material poly (methyl methacrylate)-bismuth-silicon-oxide

Ivana M. Radović, Dušica B. Stojanović, Petar S. Uskoković, Slobodanka N. Kostić\*, Milka M. Jakovljević\*, Vesna J. Radojević, Radoslav R. Aleksić

*Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, \*Institut za fiziku, Pregrevica 118, Zemun, Srbija*

### Abstract

The results obtained through processing and characterization of composite material PMMA-Bi<sub>12</sub>SiO<sub>20</sub> are presented and discussed. Samples of pure PMMA and composite with 0.5 mas% and 1.0 mas% of powder. Characterization of starting components as well as composite was performed using FTIR and spectroscopic ellipsometry methods. Measurements of refraction indices using spectroscopic ellipsometry method have shown that addition of BSO has increased refraction index of composite material compared to pure PMMA sample. Results of tensile testing have shown increase of Young's modulus with the addition of BSO powder.

### Introduction

The aim of the research was to make scintillating composite material by introducing heavy inorganic scintillating powders in the plastic matrix. These scintillators should exhibit higher energy resolution value<sup>1</sup> than plastic ones and are meant for usage in EM sampling calorimeters, which have found wide use in particle physics experiments<sup>2</sup>.

Bismuth silicon oxide, Bi<sub>12</sub>SiO<sub>20</sub> (BSO), belongs to a family of sillenites<sup>3,4</sup> along with other compounds presented with chemical formula Bi<sub>12</sub>MO<sub>20</sub>, where M presents one of four-valente ions Si, Ge, Ti, Mn or combination of two ions. They belong to I23 space group<sup>5</sup>. The tetrahedron of oxygen atoms surrounding metal atom is able to expand or contract without effecting remaining atomic arrangements and therefore, body-centered cubic (b.c.c.) structure of BSO can host varieties of metal atoms in the formula BSO. The photorefractive effect expressed by BSO crystals is connected with the trapping and releasing rate of the photogenerated charge carriers<sup>6</sup>. The electro-optic effect produces an internal charge redistribution leading to refractive index modification<sup>7</sup>. When exposed to ionizing radiation, BSO exhibit excellent scintillating properties, emitting light. High electrical resistivity, strong piezoelectric effect and photoconductivity are some of the useful physical properties shown by BSO crystals. They exhibit high response rate, large holographic storage, unlimited recyclability and highest photorefractive sensitivity known so far<sup>4,8-10</sup>. Therefore, BSO crystals have found application in various optical devices<sup>11,12</sup>. In recent years, mentioned scintillating potential of BSO has gained attention of researchers.

The BSO could be used for production of scintillating polymer optical fibers (POF). For that purpose, poly (methyl methacrylate) (PMMA) has been used in this study as a matrix material. The poly (methyl methacrylate) is a transparent amorphous thermoplastic polymer with numerous excellent properties, such as light weight, high light transmittance, chemical resistance, colorlessness, weathering corrosion resistance, high impact resistance and good insulation. It also has some flaws which need to be taken into account during usage and processing. The glass transition temperature of PMMA is relatively low at around 100 °C, which limits its applications in optical-electronic industries and it also possesses low surface hardness<sup>13</sup>. It is widely used, the most of all the methacrylates<sup>14</sup>.

During the past decade, many attempts have been made to develop cheap heterogenous EM-calorimeters, called sampling calorimeters<sup>1</sup>, which have fiberoptic readout system. Heavy scintillators have been proposed for the purpose of increasing both detection efficiency of soft  $\gamma$ -quanta and energy resolution, the value that indicates the relation of the light output to the energy level of the entering  $\gamma$ -ray.

In this study, BSO powder has been dispersed into the PMMA by using mixing molder. Influence of the content of heavy powder on the mechanical and optical properties of the composites were investigated.

## Experimental

Single crystals of  $\text{Bi}_{12}\text{SiO}_{20}$  were grown by the Czochralski technique. Powdering was conducted by hand grinding of the BSO crystal and then mixed with the polymer matrix. The obtained powder had average particle size of  $5.47 \mu\text{m}$ .

The composites were prepared by melt compounding in a Laboratory Mixing Molder (Atlas, USA), at a working temperature of  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  and a rotor speed of 90 rpm for 30 minutes. The polymer component of the composite was extrusion grade PMMA (pellets), Acryrex<sup>®</sup> CM-205, Chi Mei Corporation, Taiwan. Samples of pure PMMA and composites with 0.5 *mas%* and 1.0 *mas%* of BSO were prepared.

Infrared (IR) spectrum of the powder, pure PMMA and the composites were obtained with a Fourier transform infrared (FTIR) transmission-KBr disk spectroscopy (Hartmann & Braun, MB-series). The scanning range of FTIR was between  $4000$  and  $400 \text{ cm}^{-1}$  with a resolution of  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

Spectroscopic ellipsometry method for measuring refraction indices of pure PMMA and composites with contents of 0.5 *mas%* and 1.0 *mas%* of BSO single crystal powder was performed with SOPRA GES5E IRSE spectroscopic ellipsometer in wavelength range from 400 nm to 800 nm.

The tensile testing of samples was performed on Universal hydraulic tensile-compressive testing machine INSTRON, Germany.

## Results and discussion

The FTIR spectrum (figure 1) shows well-defined peaks located at  $831$ ,  $609$ ,  $580$ ,  $536$  and  $476 \text{ cm}^{-1}$ . The peak located at  $831 \text{ cm}^{-1}$  is due to the stretching vibration mode of Bi–O–Si bonds. In the present case, in the Bi–O–Si bonds, when the vibrations of the Bi–O and Si–O are in phase, the absorption is located at  $840 \text{ cm}^{-1}$  and  $812 \text{ cm}^{-1}$ . The shift observed in the bands location can be associated with the difference between the atomic masses of silicon and bismuth atoms.

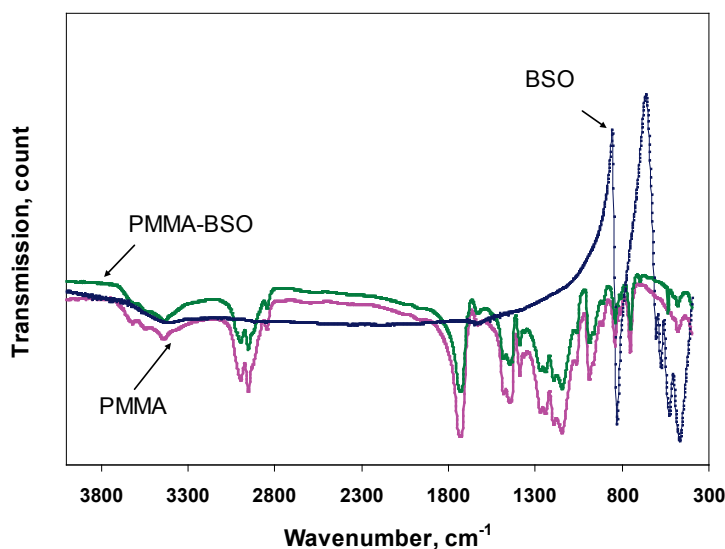


Figure 1. FTIR spectrum of BSO powder, pure PMMA and BSO-PMMA composite

The peak at  $606 \text{ cm}^{-1}$  related with cationic vibrations in the network or Bi–O vibration. The peak located at  $536 \text{ cm}^{-1}$  is associated with the bending vibration mode of distorted tetrahedron formed by  $(\text{SiO}_4)^{4-}$  groups. The band located at  $528 \text{ cm}^{-1}$  is assigned to deformation vibration of isolated  $(\text{SiO}_4)^{4-}$  groups. The band located at  $468 \text{ cm}^{-1}$  is related with Si–O bond rocking and interaction by  $[\text{BiO}_6]$  polyhedron. In the FTIR spectrum of composite there are well defined peaks for PMMA and some of vibration mode of Bi–O–Si bonds –  $536$  and  $730 \text{ cm}^{-1}$ .

A complex index of refraction can be presented with the following equation:

$$\tilde{n} = n + i\kappa$$

where, the real part  $n$  is the refractive index indicating the phase speed, while  $\kappa$  is *extinction coefficient*, which indicates the amount of absorption loss when the light propagates through the material. Both  $n$  and  $\kappa$  are dependent on the wavelength. Figure 2 shows refraction indices and extinction coefficient of pure PMMA and composites in visible region of spectar. It is obvious that the index of refraction of composites increases as the BSO content increased. The coefficient of extinction shows good transpance of composite in visible range of spectra.



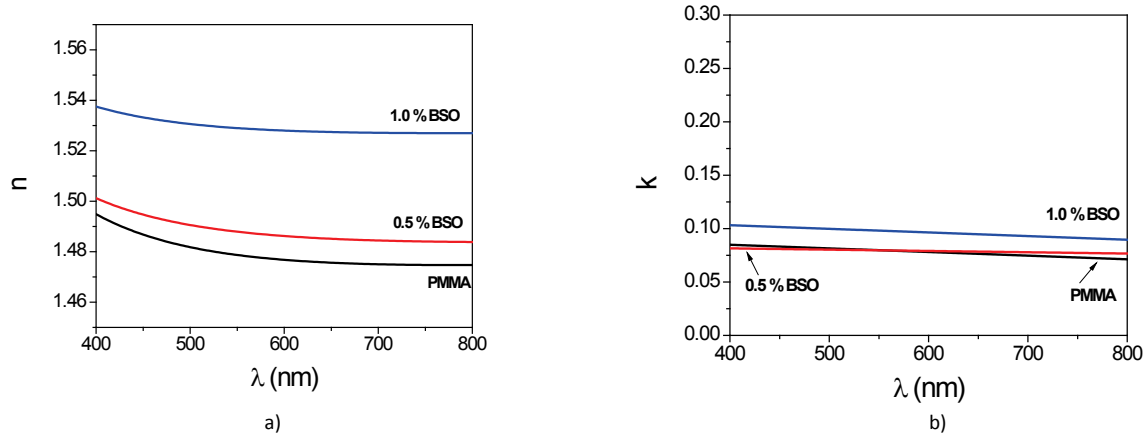


Figure 2.a) Refraction indices and b) extinction coefficients of pure PMMA and BSO-PMMA composites

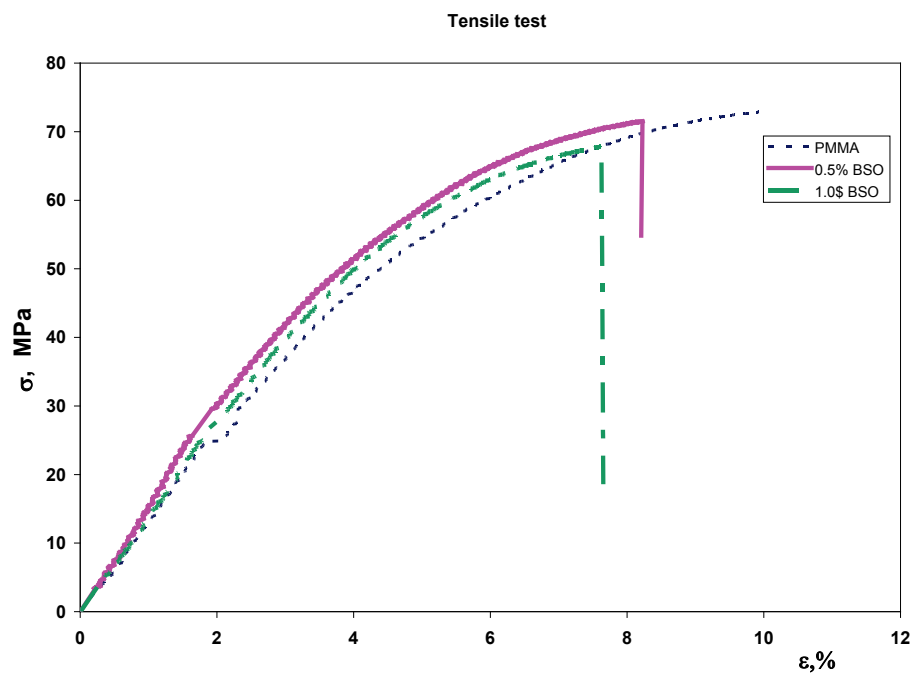


Figure 3. Stress-strain curves for pure PMMA and BSO-PMMA composites

Stress-strain curves for pure PMMA and composites are presented in figure 3. Modulus of elasticity of composites are higher than for pure PMMA, but elastic modulus value decreases with the increase of the single crystal powder content in the composite. Pure sample of PMMA showed value of 1394 MPa (Table 1). For content of 0.5 *mas%* rises significant increase up to 1654 MPa, while mild increase to the value of 1445 MPa has been noticed for content of 1.0 *mas%* BSO. This may be due to the competition of beneficial effects of BSO on material augmentation against the adverse effects of sporadic inadequately dispersed (still agglomerated) "clumps" of BSO particles, which occurs at the crystal content of 1.0 *mas%*. Nonuniform distribution of particles represents a limitation for utilization of melt compounding method. It is evident that samples have become more brittle with increasing content of BSO powder. Table 1 shows that the elongation ( $\epsilon_{max}$ ) values decrease with the addition of  $\text{Bi}_{12}\text{SiO}_{20}$  crystals. Since BSO crystals are very brittle, this is consistent with the expectations.

Table1. Tensile testing results

$c_{BSO}$ , %	$E$ , MPa	$R_m$ , MPa	$\varepsilon_{max}$ , %
0	1394	73,529	10,941
0.5	1654	71,532	8,224
1.0	1445	67,901	7,652

## Conclusion

This study reports research related to processing and characterization of scintillating polymer composite with particle reinforcement. Powder of single crystal  $Bi_{12}SiO_{20}$  was dispersed in the PMMA matrix by melt compounding. Samples of pure PMMA and composites containing 0.5 *mas%* and 1.0 *mas%* of crystals were prepared. Characterization of samples performed by FTIR method identified BSO crystals and showed that no other bounds were created during the processing. Spectroscopic ellipsometry results showed increase of refractive indices with increased content of the powder. Tensile testing indicated that adding of BSO powder improved the mechanical properties of composite, but there was agglomeration in composite with higher content of BSO. It can be utilized with the small content of the powder, showing that larger content leads to formation of clusters and nonuniform dispersion of particles in the host matrix, which decreases improvement of mechanical properties. Optimal content of the particles for the significant mechanical improvement with this processing method was 0.5 *mas%*. Further investigations are needed in the area of processing composites with improved deagglomeration of the particles.

*Acknowledgement* :This work has been supported by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Projects 34011 and 45019).

## Mehanička i optička svojstva kompozitnog materijala poli (metilmetakrilat)-bizmut-silicijum-oksida

*U radu su predstavljeni i diskutovani rezultati dobijeni pri procesiranju i karakterisanju kompozitnog materijala PMMA- $Bi_{12}SiO_{20}$ . Uzorci čistog PMMA i kompozita sa udelom čestica monokristalnog  $Bi_{12}SiO_{20}$  (BSO) od 0,5 *mas%* i 1,0 *mas%*, dobijeni su na laboratorijskom uređaju za umešavanje kompozita sa termoplastičnom matricom. Karakterizacija polaznih komponenti kao i kompozita izvedena je metodama FTIR i spektroskopskom elipsometrijom. Rezultati merenja indeksa refrakcije metodom spektroskopske elipsometrije pokazuju da vrednost indeksa refrakcije kompozita u odnosu na čist PMMA raste sa porastom udela BSO. Ispitivanjem na zatezanje utvrđeno je da modul elastičnosti raste sa dodatkom BSO.*

## References

1. G. I. Britvich, I. G. Britvich, V. G. Vasil'chenko, V. A. Lishin, V. F. Obraztsov, V. A. Polyakov, A. S. Solovjev, V. D. Ryzhikov, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, **469** (2001) 77
2. R. C. Fernow, *Introduction to experimental particle physics*, Cambridge University Press, Cambridge, 1986
3. A. Golubović, S. Nikolić, R. Gajić, S. Đurić, A. Valčić, *J.Serb.Chem.Soc*, **67** (2002) 279
4. S. Nikolić, A. Valčić, V. Radojević, *Proc. XLI Yugoslav Conf. ETRAN, Zlatibor*, **4** (1997) 457
5. J. -C. Chen, L. -T. Liu, C. -C. Young, *Journal of Crystal Growth*, **198/199** (1999) 476
6. R. N. Panda, A. Pradhan, *Materials Chemistry and Physics*, **78** (2002) 313
7. L. Escobar-Alarcón, E. Haro-Poniatowski, M. Fernández-Guasti, A. Perea, C. N. Afonso, T. Falcón, *Appl. Phys. A*, **69** (1999) 949
8. G. González, A. Zúñiga, L. F. Magaña, *REVISTA MEXICANA DE FÍSICA*, **54** (2008) 433
9. J. Potter, R. C. Spooncer, P. R. Hobson, *Holographics International*, **1732** (1992) 470
10. A. Veber, Š. Kunej, D. Suvorov, *Ceramics International*, **36** (2010) 245
11. M. T. Santos, L. Arizmendi, D. Bravo, E. Diéguez, *Materials Research Bulletin*, **31** (1996) 389
12. I. F. Vasconcelos, M. A. Pimenta, A. S. B. Sombra, *JOURNAL OF MATERIALS SCIENCE*, **36** (2001) 587
13. J. -K. Chen, S. -W. Kuo, H. -C. Kao, F. -C. Chang, *Polymer*, **46** (2005) 2354
14. M. Dixit, S. Gupta, V. Mathur, K. S. Rathore, K. Sharma, N. S. Saxena, *Chalcogenide Letters*, **6** (2009) 131.

## Investigation of archaeometallurgical findings from Šetaće and Paulešti localities near Bor

Dragana Živković, Nada Štrbac, Miroslav Sokić\*, Velibor Andrić\*\*,  
Branka Andjelić\*\*\*, Igor Jovanović\*\*\*\*, Marija Jovičić\*\*\*\*, Dušica Nikolić\*\*\*\*

*Technical Faculty, University of Belgrade, Bor, Serbia*

*\*ITNMS, Belgrade, Serbia,*

*\*\*Institute of nuclear sciences Vinča, Belgrade, Serbia*

*\*\*\*Mining and Metallurgy Institute, Bor, Serbia*

*\*\*\*\*Mining and Metallurgy Museum, Bor, Serbia*

### Introduction

A surrounding of Bor is typical for numerous archaeometallurgical localities, having in mind continuous development of mining and metallurgy in this area from prehistory up to nowadays<sup>1-4</sup>. Nevertheless, no systematic research of these localities has been done until now, except occasional physicochemical investigations of some artifacts from only a few, main localities<sup>5-10</sup>. The results of investigation of archaeometallurgical slag findings by using adequate analytical methods are presented in this work, in order to confirm early metallurgical activities at two less known localities – Šetaće and Paulešti.

Šetaće presents an antic locality in the area Smolnica, village Zlot, on the right bank of Vinogradarski stream at 12km from Bor by new road Bor-Zlot. Museum of Mining and Metallurgy in Bor performed probe archaeological investigations at a small-scale level and Šetaće locality was determined to be a late-antic fortification from the end of IV and beginning of V century A.D. Based on collected archaeological material and slag findings, it can be concluded that there was a metal processing activity, but most probably not so large, because greater quantities of slag, which could indicate to a larger metallurgical object, were missing and mentioned fortification was assumed to be of a military-strategic importance.

Concerning Paulešti locality, village Luka, there are just a few data. The slag findings are originated from the place called Grindu Goleš and they were firstly brought to the Museum of Mining and Metallurgy by an land-owner, together with some fragments of prehistoric ceramics, most probably from Eneolithic period (IV millennium B.C.). The quantity of material was not enough for more precise archaeological dating, and no organized probe archaeological investigations were done at mentioned locality.

### Experimental

Following research methods were used for experimental investigations in this work: chemical analysis, differential thermal analysis, X-ray diffraction method and EDXRF spectroscopy. Chemical analysis was done using optic emission spectrograph apparatus Jarrell-Ash with microphotograph, model 70.000.

DTA was performed for thermal analysis of investigated samples by apparatus NETSCH STA 409EP. The experiments were done at a heating rate of 10<sup>o</sup>/min, in an air atmosphere up to a maximum temperature of 1000<sup>o</sup>C, using Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as a referent material.

XRD method was used for determination of phase composition of investigated samples by apparatus PHILIPS, model PW-1710, with curved graphite monochromator and scintillating counter, at a voltage of 40kV and electric current of 30mA. The intensities of diffracted CuK $\alpha$  radiation  $\lambda=1.54178$  were measured at room temperatures in the intervals 0.02<sup>o</sup>2 $\theta$  within the range of 4-65 <sup>o</sup>2 $\theta$ .

EDXRF spectroscopy was done at apparatus Canberra with radio isotopes for excitation Cd-109 (22.1keV).

Among numerous investigated slag samples from mentioned archaeological localities, results for two chosen samples – sample Z1 (Šetaće) and sample P1 (Paulešti) (given in Fig.1.) are presented in this paper.

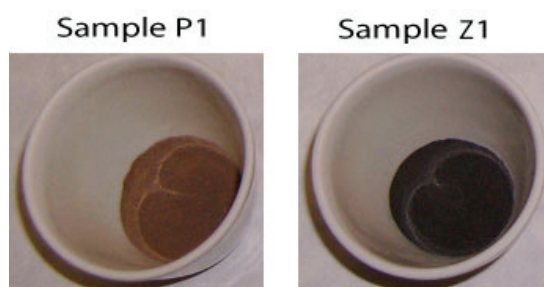


Fig. 1. The appearance of powdered investigated samples Z1 and P1

**Results and discussion**

The results of chemical analysis are presented in Table 1, while thermograms obtained by differential thermal analysis are given in Figs.2 and 3.

Table 1. Chemical composition of investigated sample P1 and Z1

	Composition, %	
	Sample P1	Sample Z1
SiO <sub>2</sub>	52,32	65,38
Fe	4,58	4,00
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15,29	14,45
K <sub>2</sub> O	1,28	3,59
Na <sub>2</sub> O	2,01	2,47
S	∅	∅
CaO	7,70	6,59
Cu	0,031	0,009
MgO	10,77	4,02
TiO <sub>2</sub>	0,58	0,52
FeO	0,81	0,30
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,06	2,25
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1,54	3,04

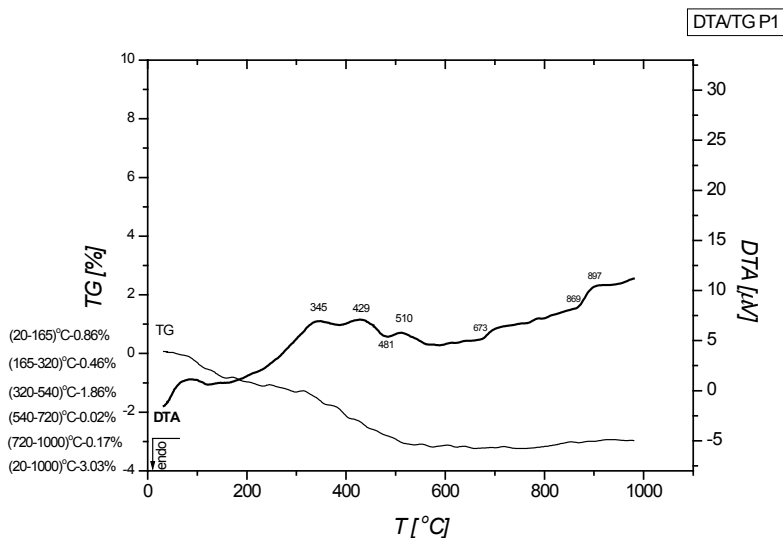


Fig. 2. DTA/TG curves for the sample P1

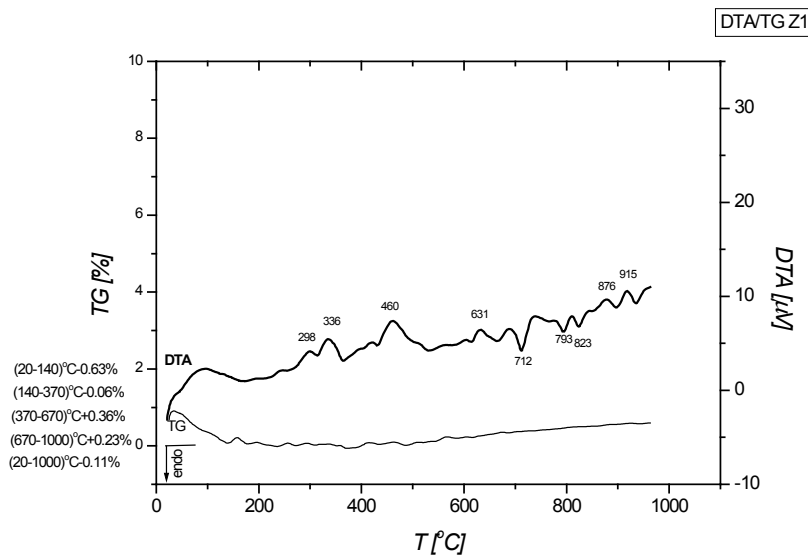


Fig. 3. DTA/TG curves for the sample Z1

The presence of following minerals have been determined in investigated samples: a) feldspar (plagioclase), quartz, maghemite, carbonates (calcite, dolomite, syderite), chalcopyrite, smectite, illite, amphibole in sample P1; and b) feldspar, quartz, maghemite, carbonates in sample Z1, similarly.

The results of EDXRF spectroscopy are shown in Figs.4 and 5.

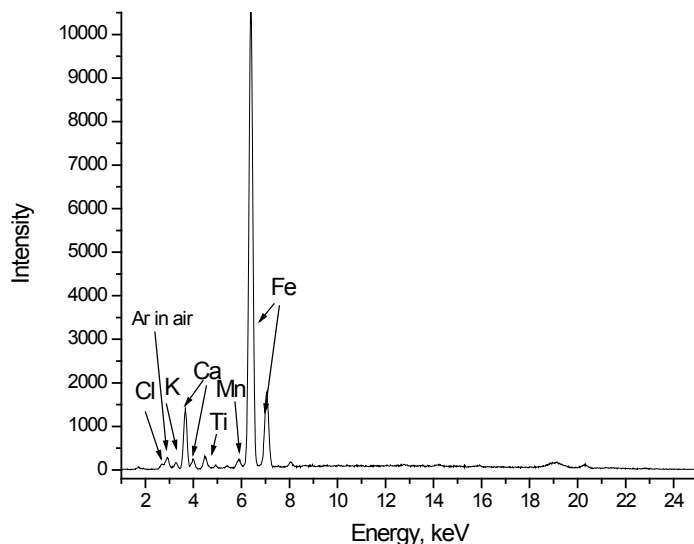


Fig. 4. EDXRF spectra for sample P1

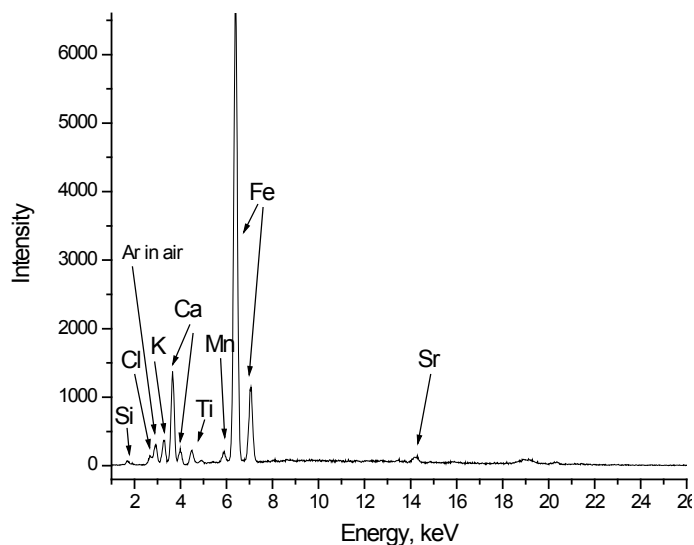


Fig. 5. EDXRF spectra for sample Z1

Obtained results shows similarity between investigated two slag samples and indicates to early metal processing activities at archaeological localities Šetaće and Paulešti near Bor. Determined content of iron and iron oxides, as well as present content of SiO<sub>2</sub>, CaO, MgO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and low copper percentage, lead to the traces of ferrous metallurgy, which was already confirmed at other archaeological localities in the region<sup>4,5,8</sup>. Having in mind that archaeological studies proved presence of late-antic fortification IV-V century A.D. at Šetaće locality, it is clear that, i.e. at least weapons production or repair existed there. It is a little bit more difficult to make more definite conclusions about Paulešti locality, which is typical for lack of artifact-material and which is much older than previous considered locality. Especially, if one takes into account that Paulešti locality is dated to Eneolithic, when metallurgical activities in copper production were more expected than in ferrous

metallurgy. But, the hystorical development of metallurgy in Bor surroundings is a fact, and every locality possesses more time-defined layers, which tells about the continuity of metallurgy in the region.

### Conclusions

The results obtained by chemical analysis, DTA, XRD and EDXRF of investigated samples from archaeological localities Šetaće and Paulešti near Bor are presented in this paper.

### LITERATURE:

1. B. Jovanović, Beginning of the metal age in the Central Balkans according to the results of the archaeometallurgy, *J. Min. Metall., Sect.B – Metall.*, 45 (2) (2009) 143-148.
2. B. Jovanović, Continuity of the prehistoric mining in the Central Balkans, in *Ancient mining and metallurgy in Southeast Europe*, Ed.by P.Petrović and S.Djurdjekanović, Bor-Belgrade, 1995., pp.29.
3. E. Pernicka, Eneolithic and Early Bronze Age copper artifacts from the Balkans and their relation to Serbian copper ores, *Praehistorische Zeitschrift*, **68 (1)** (1993) 1-54.
4. V. Kondić, Bor and its surroundings in the Roman period, , in *Ancient mining and metallurgy in Southeast Europe*, Ed.by P.Petrović and S.Djurdjekanović, Bor-Belgrade, 1995., pp.191.
5. D.Živković, N.Štrbac, J.Lamut, et al., Investigation of archaeometallurgical findings from Felix Romuliana locality, *J. Min. Metall., Sect.B – Metall.*, **45 (2)** (2009) 207-212.
6. I. Janković, P. Bugarski, S. Janjić, Copper slags as a proof of smelting and casting of copper in the period of late Bronze Age in Bor territory, *Proceedings of the Museum of Mining and Metallurgy in Bor*, **5-6** (1991) 13-19. (in Serbian)
7. D. Živković, Ž. Živković, M. Vuksan, The application of physico-chemical characterization methods in investigation of archaeometallurgical sites in Timok region, XXVII October conference on mining and metallurgy, D. Milanovac (Yugoslavia), 1994., *Proceedings*, pp.333-336. (in Serbian)
8. D.Živković, N.Štrbac, M.Vuksan, et al., Aspects of metallurgical activities at site Čoka Kazak (Timok region, Eastern Serbia), *Metallurgija-Journal of Metallurgy*, **12 (2-3)** (2006) 165-172.
9. D. Krajnović, S. Janković, B.Jovanović, I. B. Lorenz, M. K.Pavićević, G. A.Wagner, Early copper production in Serbia: potential ore sources and archaeometallurgical studies on slags, , in *Ancient mining and metallurgy in Southeast Europe*, Ed.by P.Petrović and S.Djurdjekanović, Bor-Belgrade, 1995., pp.59.
10. B. Milosavljević, Determination of low-content ingredient elements in bronze archaeological findings by mass spectrometry method, *Proceedings of the Museum of Mining and Metallurgy in Bor*, **5-6** (1991) 21-24. (in Serbian)

### Ispitivanje arheometalurških nalaza sa lokaliteta Šetaće i Paulešti u okolini Bora

*U okolini Bora se nalazi značajan broj arheometalurških lokaliteta imajući u vidu kontinuiran razvoj rudarstva i metalurgije na ovom području od praistorije, pa do današnjih dana. U ovom radu su predstavljeni rezultati ispitivanja arheometalurških nalaza šljake metodama hemijske analize i DTA, kao i XRD i EDXRF metodama, u cilju potvrđivanja ranih metalurških aktivnosti na dva manje poznata lokaliteta – Šetaće i Paulešti.*

## Fazne promene tokom oksidacije halkopiritnog i polimetalnog koncentrata ležišta "Rudnik"

Miroslav Sokić, Nada Štrbac\*, Branislav Marković, Vladislav Matković, Dragana Živković\*, Ivan Mihajlović\*,  
Ljubiša Balanović\*, Aleksandra Mitovski\*

*Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Beograd, Republika Srbija,  
\*Tehnički fakultet u Boru, Univerzitet u Beogradu, Bor, Republika Srbija*

### Uvod

Halkopirit je najznačajniji i u zemljinoj kori najzastupljeniji mineral bakra. Oksidaciono prženje halkopirita je važna faza u procesu proizvodnje bakra klasičnim pirometalurškim postupkom<sup>1,2</sup>. Ispitivanje i određivanje kinetike i mehanizma odvijanja procesa oksidacije je od velikog značaja za definisanje optimalnih uslova vođenja procesa.

U tom cilju vršena su brojna istraživanja oksidacionog prženja čistog minerala halkopirita, halkopiritnih i kompleksnih sulfidnih koncentrata<sup>1-9</sup>. Iako postoje naznatne razlike u redosledu faznih promena, predložene su glavne reakcije koje se odigravaju tokom prženja halkopirita<sup>1</sup>:



Maunier i dr.<sup>3</sup> su proučavali ponašanje halkopirita u struji vazduha na temperaturi 573-1173 K. Na temperaturi 773 K utvrdili su prisustvo bornita prekrivenog slojem  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  i  $\text{CuSO}_4$ , a na 1073 K prisustvo  $\text{CuO}$  i  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  sa  $\text{CuFe}_2\text{O}_4$ . Zagrevanjem u prisustvu kiseonika na 773-823 K, sulfidni minerali se transformišu u sulfate i okside na višim temperaturama, što je potvrđeno mikroskopskim ispitivanjima<sup>4</sup>.

Složenost procesa oksidacije halkopirita usled istovremenog odvijanja velikog broja reakcija i njihovih međusobnih uticaja, čini navedenu problematiku i dalje veoma interesantnom. Ovo se prvenstveno odnosi na oksidaciju halkopiritnih i kompleksnih sulfidnih koncentrata u kojima su, pored halkopirita često prisutni sulfidni minerali cinka, olova, železa i dr.

U cilju boljeg poznavanja mehanizma procesa, u ovom radu su prikazani rezultati oksidacije halkopiritnog i polimetalnog koncentrata ležišta "Rudnik", korišćenjem termijske (DTA-TG) i rendgenske analize (XRD) produkata oksidacije na odabranim temperaturama.

### Eksperimentalni postupak

Za eksperimentalna ispitivanja su korišćeni halkopiritni i polimetalni koncentri ležišta Rudnik. U tabeli 1 je prikazan njihov hemijski sastav, a u tabeli 2 je prikazan sadržaj glavnih sulfidnih minerala.

Tabela 1. Hemijski sastav halkopiritnog i polimetalnog koncentrata

Tip koncentrata	Sadržaj (%)			
	Cu	Zn	Pb	Fe
Halkopiritni	27,97	3,93	2,67	27,47
Polimetalni	8,92	8,79	12,66	19,80

Tabela 2. Mineraloški sastav halkopiritnog i polimetalnog koncentrata

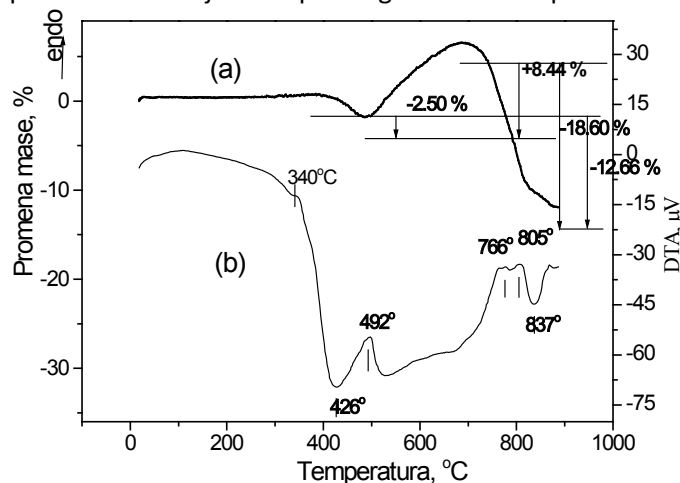
Tip koncentrata	Sadržaj (%)			
	$\text{CuFeS}_2$	$\text{ZnS}$	$\text{PbS}$	$\text{FeS}$
Halkopiritni	80,76	5,85	3,08	7,86
Polimetalni	25,62	13,01	14,62	15,70

DTA/TG ispitivanja su izvršena na uređaju firme NETZSCH model 409 Ep, a koji se sastoji iz peći za zagrevanje uzorka, TG/DTA termovaga, komandnog dela i kompjutersa sa programom za obradu rezultata. Za eksperimente je korišćen uzorak mase 100mg. Zagrevanje je vršeno na vazduhu pri brzini 10 °C/min do temperature 1173 K.

Za određivanje faznog sastava međuprodukata koji nastaju tokom oksidacije halkopiritnog koncentrata korišćena je rendgenska difrakciona analiza (XRD). Uzorci su analizirani na rendgenskom difraktometru marke "PHILIPS", model PW-1710, sa zakrivljenim grafitnim monohromatorom i scintilacionim brojačem.

### Rezultati i diskusija

Rezultati DTA-TG ispitivanja procesa oksidacije halkopiritnog koncentrata prikazani su na slici 1.

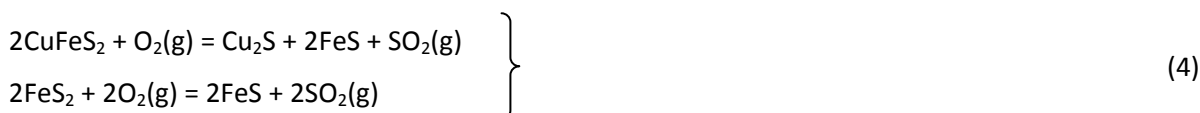


Slika 1. TG i DTA krive halkopiritnog koncentrata

DTA kriva prikazana na slici 1 je sastavljena iz dva dela: prvog, niskotemperaturnog, koji odgovara oksidaciji sulfida i uključuje tri egzotermna pika i drugog koji sadrži endotermne pikove, koji odgovaraju disocijaciji prethodno formiranih sulfata i oksisulfata bakra. Delimična oksidacija površinskog sloja halkopirita počinje na 340°C i praćena je malim egzotermnim pikom bez značajnijeg gubitka mase:



Reakcija oksidacije se, daljim porastom temperature brzo prenosi na unutrašnje slojeve halkopirita, što se uočava kao jasno izražen egzotermni pik sa maksimumom na temperaturi 426°C. Istovremeno se odvija i reakcija oksidacije pirita, mada je njegovo prisustvo u halkopiritnom koncentratu neznatno. Istovremeno se na TG krivoj uočava blagi pad mase uzorka u intervalu 430-490°C zbog sagorevanja dela sulfidnog sumpora do SO<sub>2</sub> gasa:



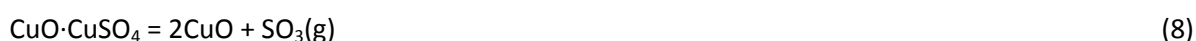
Daljim zagrevanjem masa uzorka raste i praćena je egzotermnim pikom koji dostiže maksimum na temperaturi 520°C. Tokom ove faze dolazi do formiranja železo(II)-sulfata, bakar-sulfata i bakar-oksisulfata i može se zbirno prikazati:



Sa daljim rastom temperature počinje disocijacija železo(II)-sulfata koja je reflektovana kroz sporiji porast mase uzorka i slabo izraženim endotermnim pikom sa maksimumom na temperaturi 580°C:



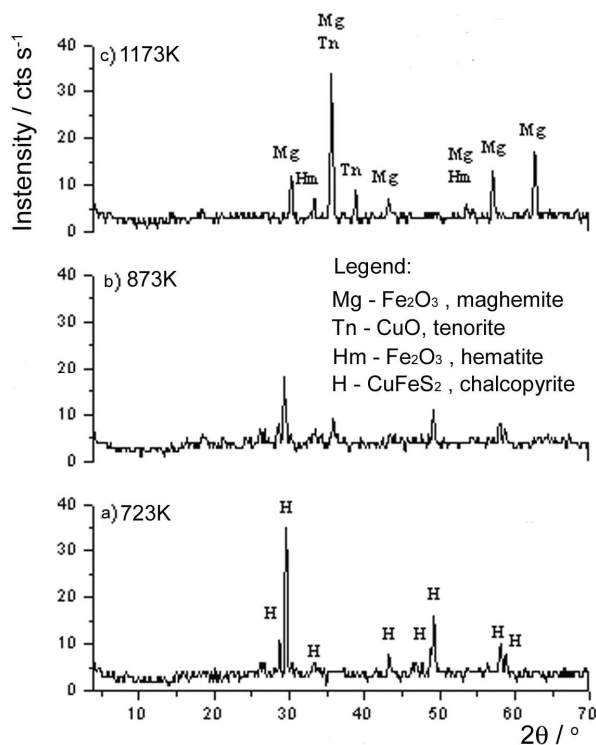
Na temperaturama višim od 750 °C počinje disocijacija prethodno formiranih sulfata bakra



što je manifestovano sa dva endotermna pika na 766°C i 805°C na DTA krivim i gubitkom mase na TG krivim.



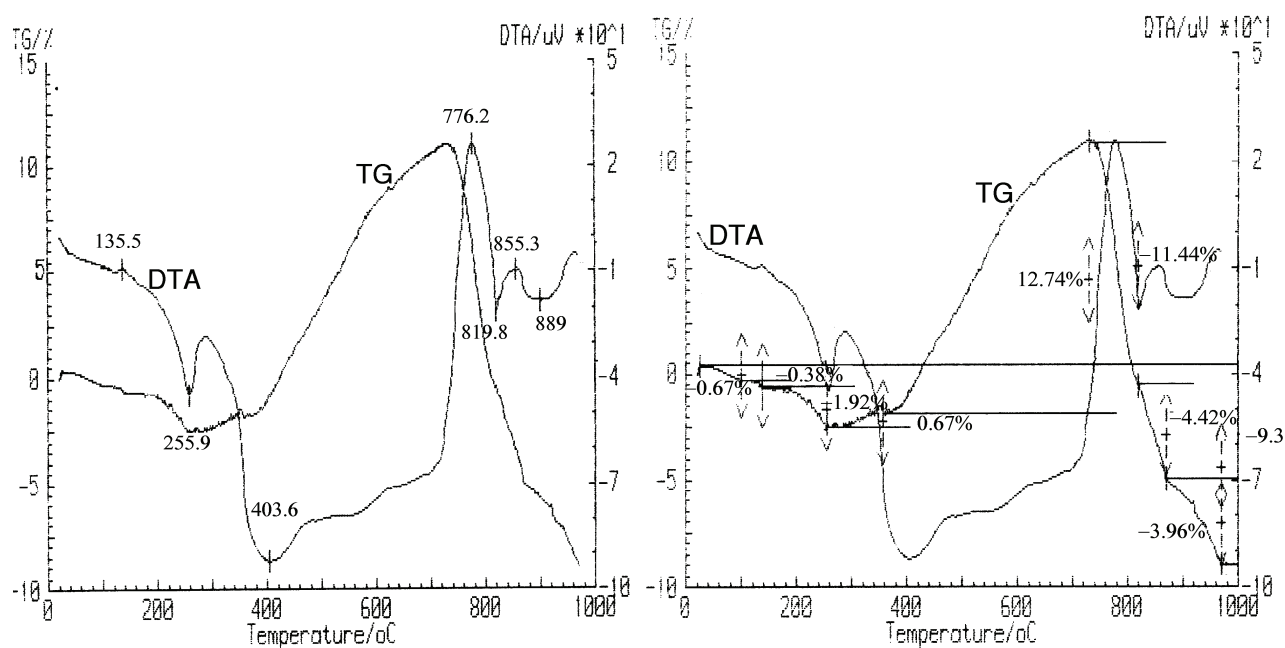
Rendgenogrami produkata oksidacije na 450, 600 i 900 °C su prikazani na slici 5.15. Na rendgenogramima nije utvrđeno prisustvo sulfata i nižih sulfida formiranih tokom oksidacije na nižim temperaturam. Razlog za to je nedovoljno vreme za njihovu kristalizaciju.



Slika 2. XRD produkata oksidacije halkopiritnog koncentrata na 450°C (a), 600°C (b) i 900°C (c)

Rezultati prikazani na slici 2 potvrđuju prethodno izloženi mehanizam oksidacije i postojanje Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i CuO kao finalnih produkata ispitivanog procesa. Kompleksni mahanizam procesa oksidacije halkopiritnog koncentrata, uključujući brojne reakcije, od kojih neke protiču istovremeno, pokazuju određenu sličnost sa literaturnim podacima<sup>2,6,7,10</sup>. Ali, priroda i poreklo koncentrata i asocijacije sa primesama koje koncentrat sadrži imaju značajan uticaj na fazne transformacije pri termičkom tretmanu sulfida.

Rezultati DTA-TG ispitivanja procesa oksidacije polimetalnog koncentrata prikazani su na slici 3.



Slika 3. TG i DTA krive polimetalnog koncentrata

Na TG i DTA krivim polimetaličnog koncentrata (slika 3) uočljiv je mali gubitak mase do 300°C praćen blagim endotermnim (135°C) i oštrim egzotermnim pikom (255°C) koji je posledica gubitka apsorbovane vode i sagorevanja organskih materija koje su prisutne u koncentratu usled njegove prethodne flotacije. Pri daljem zagrevanju dolazi do povećanja mase koju prate manje ili više izraženi egzotermni efekti (do 730°C) koji su rezultat prisustva više vrsta sulfida koji se različito oksidišu<sup>7</sup>. Daljim zagrevanjem dolazi do naglog gubitka mase što se takođe dešava u više stupnjeva, što govori da je prisutno više različitih sulfata. Ove gubitke mase prate endotermni efekti, od kojih su jasno izraženi na 776°C (disocijacija CuSO<sub>4</sub>) i 855°C (disocijacija CuSO<sub>4</sub>·CuO). Oksidacija halkopirita se odvija u intervalu 320-720°C uz izražene egzotermne efekte do krajnjih produkata Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i CuSO<sub>4</sub> odnosno CuSO<sub>4</sub>·CuO. Potom se u intervalu 750-850°C dešavaju endotermni procesi disocijacije CuSO<sub>4</sub> i CuSO<sub>4</sub>·CuO do CuO i SO<sub>3</sub>. Pirotin se oksidiše u temperaturnom intervalu 430-750°C uz obrazovanje hematita-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, a sfalerit na nešto višim temperaturama (620-900°C), pri čemu nastaje cinkit-ZnO. Oksidacija galenita se dešava na višim temperaturama (790-880°C) i užem temperaturnom intervalu od sulfida bakra, železa i cinka. Disocijacija počinje na temperaturi iznad 840°C i iskomplikovana je usled formiranja intermedijarnih oksisulfata PbO·PbSO<sub>4</sub>, 2PbO·PbSO<sub>4</sub> i 4PbO·PbSO<sub>4</sub>.

### Zaključak

Uredna DTA i TG analiza oksidacije halkopiritnog koncentrata u atmosferi vazduha ukazuje na složenost procesa i njegovo odvijanje kroz brojne hemijske reakcije praćenih formiranjem intermedijatnih faza. XRD analiza produkata oksidacije halkopiritnog koncentrata pokazuje da su Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i CuO finalni proizvodi na 900°C. Na DTA krivoj u niskotemperaturnoj oblasti uočavaju se egzotermni pikovi koji odgovaraju oksidaciji halkopirita do železo(II)-sulfata, bakar-sulfata i bakar-oksisulfata. Sa porastom temperature dolazi do disocijacije sulfata i to najpre železo(II)-sulfata na 580°C, a potom bakar-sulfata na 766°C i bakar-oksisulfata na 805°C, što je praćeno endotermnim pikovima na DTA krivoj.

DTA i TG analizom polimetaličnog koncentrata potvrđeno je prisustvo više sulfidnih minerala sa delimičnim preklapanjem egzotermnih pikova oksidacije pojedinih minerala. Izraženi endotermni pikovi na 776°C i 855°C su, pak, karakteristični za disocijaciju CuSO<sub>4</sub> i CuSO<sub>4</sub>·CuO.

*Zahvalnica:* Rezultati prikazani u radu predstavljaju deo istraživanja na projektu TR34023 "Razvoj tehnoloških procesa prerade nestandardnih koncentrata bakra u cilju optimizacije emisije zagađujućih materija" čiju realizaciju finansira Ministarstvo za prosvetu i nauku Republike Srbije.

### Phase changes during oxidation of chalcopyrite and polimetallic concentrate from the ore body "Rudnik"

*This paper presents the results of investigation of the chalcopyrite and polimetallic concentrate from the ore body "Rudnik" oxidation process. Aiming to determination of the investigated process mechanism, DTA-TG analyses in the air atmosphere and temperature ranges 298-1173 K were performed. Products of chalcopyrite concentrate oxidation at 723, 873 and 1173 K were analysed using the XRD investigations. According to the results obtained this way, the mechanism of chalcopyrite concentrate oxidation, including the chemical reactions of certain by-products development, was proposed. Oxidation of sulphide minerals from the polimetallic concentrates is resulting with sulphate generation at low and followed with their dissociation at higher temperatures.*

### Literatura:

1. S.Prasad, B.D.Panday, *Minerals Engineering*, **11** (1998) 8, 763-781.
2. N.Štrbac, D.Živković, Ž.Živković, I.Mihajlović, Sulfidi – termijska, termodinamička i kinetička analiza, Tehnički fakultet Bor, 2005. (in Serbian)
3. L. Meunier, H. Vanderpoorten, *ATB Met.*, **1** (1957) 31 – 35.
4. T.A. Henderson, *Bull. Inst. Mining Met.*, **620** (1958) 497-520.
5. M. Sokić, I. Ilić, D. Živković, N. Vučković, *Metalurgija*, **47** (2008) 109-113.
6. M. Aneesuddin, P.N. Char, M.R. Hussain, E.R. Sexena, *Indian J. Thermal Anal.*, **26** (1983) 205-216.
7. Ž. Živković, N. Mitevska, V. Savović, *Thermochim. Acta*, **282/283** (1996) 121-130.
8. M.Al-Harashseh, S.Kingman, F.Rutten, D.Briggs, *International Journal of Mineral Processing*, **80** (2006) 205-214.
9. S. Kelebek, B.Nanthakumar, P.D.Katsabanis, *Canadian Metallurgical Quarterly*, **46** (2007) 279-284.
10. R. Dimitrov, B. Boyanov, *Thermochim. Acta*, **64** (1983) 27-37.

## Decolorization of the textile dye Reactive Blue 19 by the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process

Miljana D. Radović, Jelena Z. Mitrović, Ivana S. Kostić, Danijela V. Bojić,  
Branislava D. Kocić\*, Aleksandar Lj. Bojić

*Faculty of Science and Mathematics, University of Niš, Višegradska 33, Niš, Srbija*  
*\*Institute of Public Health, Centre for Microbiology, Niš, Srbija*

### Introduction

Dye pollutants from textile industry are important sources of environmental contamination. Wastewaters from the textile industries contain different types of synthetic dyes, which are mostly toxic, mutagenic and cancerogenic. Reactive dyes, which have good water solubility and are easily hydrolyzed into insoluble forms, are extensively used in dyeing processes, and about 20 – 40% of these dyes remain in the effluent.<sup>1,2</sup> Also, they are widely used because of good resistance to washing, and because of the relatively simple dyeing procedures.<sup>3,4</sup>

Advanced Oxidation Processes (AOPs) have been successfully applied for the treatment of the various organic water pollutants. Homogenous advanced oxidation process that includes hydrogen peroxide with UV light has been found as very effective in the degradation of dyes. This process is based on the production of hydroxyl radicals ( $\bullet\text{OH}$ ), extremely reactive and strong oxidizing agent ( $E^0 = 2.8 \text{ V}$ ), capable to mineralize different organic contaminants.<sup>4-6</sup> Reaction of hydroxyl radicals generated in the presence of an organic substrate may occur via one of the three general pathways: (1) hydrogen abstraction; (2) electrophilic addition and (3) electron transfer<sup>6</sup>. The method is inexpensive and non-toxic for treatment of water.<sup>7</sup>

For practical applications of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process for dye contaminated wastewater treatment, it is important to determine the optimal experimental conditions. In this paper were examined the effects of initial pH, initial dye concentration and initial concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on decolorization of reactive dye C.I. Reactive Blue 19 (RB19) by UV radiation in presence of hydrogen peroxide.

### Results and discussion

At specified time intervals, samples were collected and analyzed by UV-Vis spectrophotometer to determine the decolorization rate. Combination of UV radiation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produce  $\bullet\text{OH}$  radicals by photolysis of the hydrogen peroxide.<sup>5</sup> The hydroxyl radical is a non-selective and very power oxidizing agent, which can initiate the decolorization reactions by reacting with the dye molecules.



#### *Effect of initial pH*

The effect of pH on the rate of decolorization of textile dye RB19 was studied at pH values of 3, 7 and 11. The desired pH of the dye solution was adjusted by addition of HCl or NaOH. For initial dye concentration of 50.0 mg dm<sup>-3</sup> and initial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration 25 mmol dm<sup>-3</sup>, the initial decolorization rate at different pH values are shown in Fig. 1. Decolorization efficiency increased with the increase of pH from 3 to 11. At alkaline pH, the conjugate base of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increases (reaction 4). HO<sub>2</sub><sup>-</sup> has a higher cross-section at 254 nm than H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which favors the absorption of light by the reactive and should normally increase the  $\bullet\text{OH}$  production (reaction 5).<sup>5</sup>



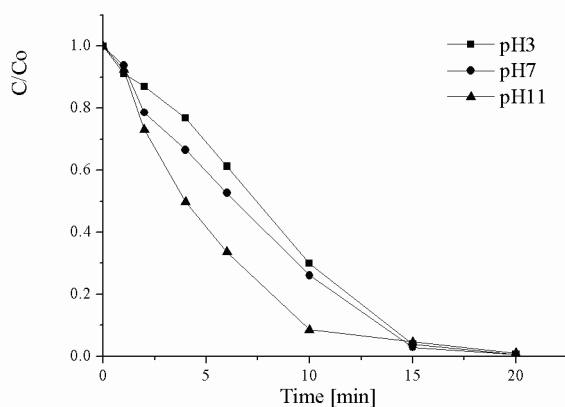


Fig. 1. Effect of pH on the rate of decolorization of RB19. Initial dye concentration was  $50.0 \text{ mg dm}^{-3}$ , initial  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration was  $25.0 \text{ mmol dm}^{-3}$ , and UV radiation intensity was  $1950 \mu\text{W cm}^{-2}$ .

#### Effect of initial dye concentration

The effect of initial dye concentration on decolorization by the UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  process is shown in Fig. 2. It is found that by increasing of initial dye concentration from 10 up to  $100 \text{ mmol dm}^{-3}$ , at pH 7, decolorization efficiency decreased. After 10 minutes of treatment, samples with lower initial concentrations were totally decolorized. The decrease in the decolorization efficiency with the increase of dye initial concentration can be explained by internal filter effect. An increase in dye concentration induces a rise of the internal optical density and the solution becomes more and more impermeable to UV irradiation. By this way, hydrogen peroxide can only be irradiated by small portion of UV light to form lower free radicals and the color removal decreases.<sup>5,8</sup>

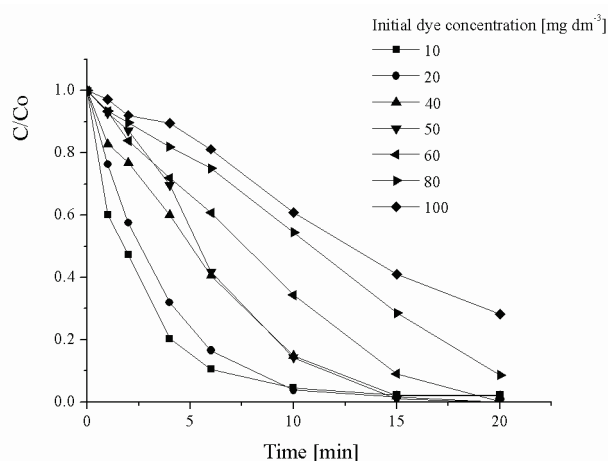


Fig. 2. Effect of initial dye concentration on the rate of decolorization of RB19. Initial pH was 7, initial  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration was  $25.0 \text{ mmol dm}^{-3}$  and UV radiation intensity was  $1950 \mu\text{W cm}^{-2}$ .

#### Effect of initial $\text{H}_2\text{O}_2$ concentration

Hydrogen peroxide concentration is an important parameter for the degradation of the dye by UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$  process. The  $\bullet\text{OH}$  free radicals produced upon photolysis of  $\text{H}_2\text{O}_2$  can react with dye molecules, but also with an excess of  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Excess of hydrogen peroxide and high  $\bullet\text{OH}$  radical concentration result in competitive reactions, producing an inhibitory effect on the decolourisation.<sup>4,5,8,9</sup> The effect of initial  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration on decolorization of RB19 dye has been studied at initial  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration from 10 up to  $100 \text{ mmol dm}^{-3}$ . Results show (Fig. 3.) that the increase of  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration brings to an increase of decolorization rate until the concentration of peroxide reaches approximately 30 mM, while above this concentration process rate decreases. At low concentration of  $\text{H}_2\text{O}_2$  hydroxyl radicals for dye oxidation are not formed in enough amount, which results by low decolorization rate. By increasing peroxide concentration more and more hydroxyl radicals are generated. When the initial peroxide concentration is very high, generated  $\bullet\text{OH}$  are mostly reacting with excess of peroxide and produce  $\text{HO}_2\bullet$  radicals, according to reaction 6.<sup>5,6</sup> It is obvious that  $\text{HO}_2\bullet$  radicals are less reactive than  $\bullet\text{OH}$  radicals and decolorization rate decrease.<sup>6</sup>

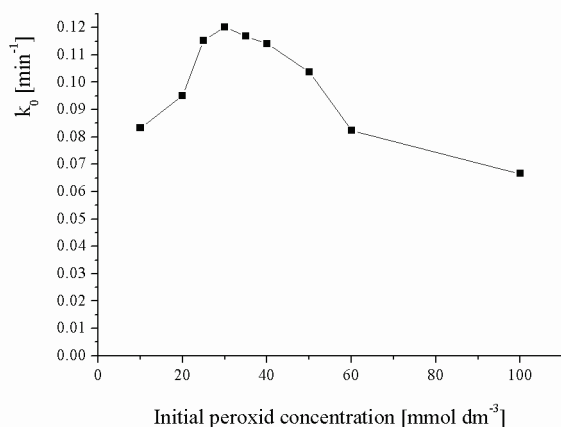
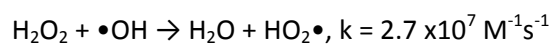
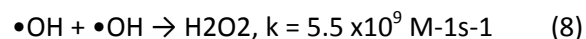
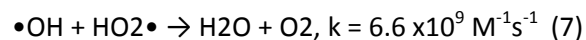


Fig. 3. Effect of initial peroxide concentration on the rate of decolorization of RB19. Initial pH 7, initial dye concentration was 50.0 mg dm<sup>-3</sup>, UV radiation intensity was 1950 μW cm<sup>-2</sup>



Generated  $\bullet\text{OH}$  radical can also react with  $\text{HO}_2\bullet$  and produce water and dioxygen (reaction 7) or dimerize to  $\text{H}_2\text{O}_2$  (reaction 8).<sup>5,6</sup>



Therefore, the optimum value of hydrogen peroxide concentration for maximum decolorization rate of RB19 was approximately 30 mM (Fig. 3.).

## Conclusion

This study shows that UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process is promise treatment for degradation of dye RB19 in water. Decolorization efficiency increased with the increase of pH from 3 to 11. Increase of dye concentration has reduced effect to UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process due to the absorption of UV radiation. Decolorization rate of dye RB19 by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process is very high at the beginning of the treatment at low initial dye concentration, and considerably decreases by the end of the treatment at all concentrations. The increase of concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> brings to an increase of decolorization rate until the concentration of peroxide reaches approximately 30 mM and then, efficiency of process decreases by the end of the treatment.

*Acknowledgements:* Authors would like to acknowledge for financial support to the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Project TR34008).

## Dekolorizacija tekstilne boje Reactive Blue 19 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> procesom

*Predmet ovog rada je ispitivanje uticaja pH, inicijalne koncentracije boje i koncentracije peroksida na razgradnju tekstilne boje Reactive Blue 19 (RB19) UV zračenjem u prisustvu vodonik-peroksida, u vodenoj sredini. Tretman je vršen u UV reaktoru sa živinim lampama niskog pritiska čiji je maksimum energije zračenja na talasnoj dužini 254 nm. Rezultati pokazuju da sa povećanjem inicijalnog pH, raste efikasnost procesa dekolozacije boje RB19. Sa porastom inicijalne koncentracije boje od 10 do 100 mg dm<sup>-3</sup> smanjuje se brzina njenog razlaganja u prisustvu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Uticaj inicijalne koncentracije peroksida na dekolozaciju tekstilne boje RB19 UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> procesom proučavan je u opsegu od 10 do 100 mmol dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Pokazalo se da sa povećanjem koncentracije peroksida najpre raste efikasnost procesa, do koncentracije od oko 30 mM, dok iznad ove koncentracije brzina procesa opada.*

## References

1. N. Modirshahla, M. A. Behnajady, *Dyes Pigments* **70** (2006) 54
2. S. Song, J. Yao, Z. He, J. Qiu, J. Chen, *J. Hazard. Mater.* **152** (2008) 204
3. T. Kurbus, Y. M. Slokar, A. M. Le Marechal, *Dyes Pigments* **54** (2002) 67
4. M. Muruganandham, M. Swaminathan, *Dyes Pigments* **62** (2004) 269
5. A. Aleboyeh, Y. Moussa, H. Aleboyeh, *Dyes Pigments* **66** (2005) 129
6. N. Daneshvar, M. Rabbani, N. Modirshahla, M. A. Behnajady, *J. Hazard. Mater. B* **118** (2005) 155
7. S. Bilgi, C. Demir, *Dyes Pigments* **66** (2005) 69
8. H. Ghodbane, O. Hamdaoui, *Chem. Eng. J.* **160** (2010) 226
9. A. Rezaee, M. T. Ghaneian, S. J. Hashemian, G. Moussavi, A. Khavanin, G. Ghanizadeh, *J. Applied Sci.* **8** (2008) 1108
10. M. A. Behnajady, N. Modirshahla, M. Shokri, *Chemosphere* **55** (2004) 129
11. A. Aleboyeh, H. Aleboyeh, Y. Moussa, *Dyes Pigments* **57** (2003) 67

## Depozit hlorthirifosa u zasadu višnje i šljive

Bojana D. Špirović, Milica M. Mojašević, Vesela Ž. Karan, Majda E. Milak, Nenad D. Tamaš

*Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun, Beograd, Srbija*

### Uvod

Folijarna primena pesticida je tehnika koja se najčešće koristi u zaštiti bilja od bolesti, štetočina i korova. Količina pesticida koja se zadržava na površini listova/plodova biljaka, ili drugim tretiranim površinama, naziva se inicijalni depozit. On predstavlja polaznu tačku za dalja proučavanja direktnih (biološka efikasnost) i niza sporednih efekata na ne ciljane organizme i životnu sredinu, praćenje ostataka pesticida, itd. Pored toga, kvantitativni podaci o depozitu su od interesa za poboljšanja kvaliteta primene pesticida i mogu se dobiti upotrebom prirodnih (listovi) ili različitih inertnih podloga (filter papir, staklo i dr.). Razumevanje karakteristika depozita i distribucije pesticida predstavlja vezu između otvorenih pitanja o utvrđivanju količine primene i efikasnosti pesticida<sup>1,2</sup>.

Na depozit pesticida utiče i folijarna gustina<sup>3</sup>. Stabla u komercijalnim zasadima voća se obično orezuju jednom godišnje da bi se promenila struktura grana i redukovala gustina listova, što ima za rezultat veće i kvalitetnije plodove i omogućava bolju penetraciju pesticida<sup>4</sup>.

Cilj ovog rada bio je da se izmeri i proceni inicijalni depozit insekticida hlorthirifosa u poljskim uslovima posle primene jednog komercijalnog preparata (Radar 300EW) koji sadrži hlorthirifos kao aktivnu supstancu (a.s). Količina depozita ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) u dva ogleda koji su izvedeni 2009. godine u zasadu višnje i šljive, praćena je na filter papirima koji su postavljani u krošnje biljaka i na zemljište ispod stabala. Sadržaj hlorthirifosa određivan je pomoću gasne hromatografije (GC) korišćenjem plameno-fotometrijskog detektora (FPD).

### Eksperimentalni deo

#### *Opis eksperimenta*

Eksperimenti u zasadu višnje i šljive su izvedeni maja 2009. godine na Oglednom dobru Poljoprivrednog fakulteta "Radmilovac" prema protokolu ogleda za ispitivanje efikasnosti insekticida<sup>5</sup>. Oba eksperimenta su obavljena u po četiri ponavljanja (A,B,C,D) koja su se sastojala od po pet stabala u nizu/ponavljanje i razmakom između ponavljanja od 1.5 m. Preparat Radar 300EW (sa 300 g/L hlorthirifosa kao a.s.) primenjen je pomoću leđnog atomizera "Solo 423" u koncentraciji od 0.25% (30 mL preparata u 12 L vode za svaki eksperiment). Pošto su u zasadu stabla bila raspoređena u redove jedno do drugog, pri čemu je razmak između dva reda 4 m, primena insekticida je obavljena prvo sa jedne strane reda, a zatim sa druge. Strana koja je prvo tretirana označena je kao "prednja" (PS), a ona druga kao "zadnja" (ZS). Depozit hlorthirifosa je praćen na filter papirima (prečnika 9 cm) koji su pričvršćeni u krošnje voćaka tako da imitiraju listove, i stavljani na površinu zemljišta neposredno ispod krošnje stabala. Postavljena su po dva filter papira sa "prednje" i dva sa "zadnje" strane svake voćke, što znači da se svako ponavljanje sastojalo od po 10 filter papira za obe strane krošnje i obe strane površine ispod krošnje, odnosno površine zemljišta.

#### *Priprema uzoraka za analizu*

Po sušenju filter papira posle primene insekticida, uzorci su grupisani prema mestu uzorkovanja (PS i ZS strane krošnje ili površine zemljišta) i zatim za svako ponavljanje, „grupu“ i zasad stavljani u posebnu staklenu Petri šolju prečnika 9 cm i do analize čuvani u zamrzivaču na  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Za dalja ispitivanja je korišćena polovina ukupne površine osnovnih uzoraka. Ona je dobijena tako što je svaki od 10 filter-papira koji je predstavljao uzorak, presečen na dva jednaka dela, od kojih je po jedan makazama još malo usitnjen i pomoću pincete prenet u flašicu od 40 mL sa zatvaračem a zatim ekstrahovan sa 40 mL etil-acetata na mehaničkoj mućkalicu u toku 1 sata. Pre instrumentalne analize alikvoti od po 1 mL ekstrakta uzoraka preneti su u flašice od 1.5 mL.

#### *Kvantitativna analiza*

Od analitičkog standarda hlorthirifosa (čistoće 98.4 %) u normalnom sudu od 10 mL napravljen je osnovni rastvor hlorthirifosa koncentracije 1 mg/mL u etil-acetatu. Od ovog rastvora razblaživanjem je zatim napravljeno 9 radnih standarda u opsegu koncentracija (0.005 – 0.5 mg/mL) koji su korišćeni za kalibraciju instrumenta i kvantifikaciju. Dobra linearnost odgovora detektora na injektovane količine hlorthirifosa (1 $\mu\text{L}$ ) potvrđena je visokim koeficijentom korelacije,  $R= 0.9998$ . Na osnovu jednačina linearne regresije standarda

(tipična vrednost  $y=166395.04x-254.33$ ), izmerenih površina signala hlorspirifosa u ekstraktima uzoraka i površine uzoraka ( $63,6 \text{ cm}^2$ ), izračunat je depozit hlorspirifosa ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Za GC/FPD korišćen je instrument firme Agilent (model 6890N) i kolona HP-5 Trace Analysis 5 % Phenyl Methyl ( $30 \times 0.25 \text{ m}$ ,  $0.25 \mu\text{m}$ ).

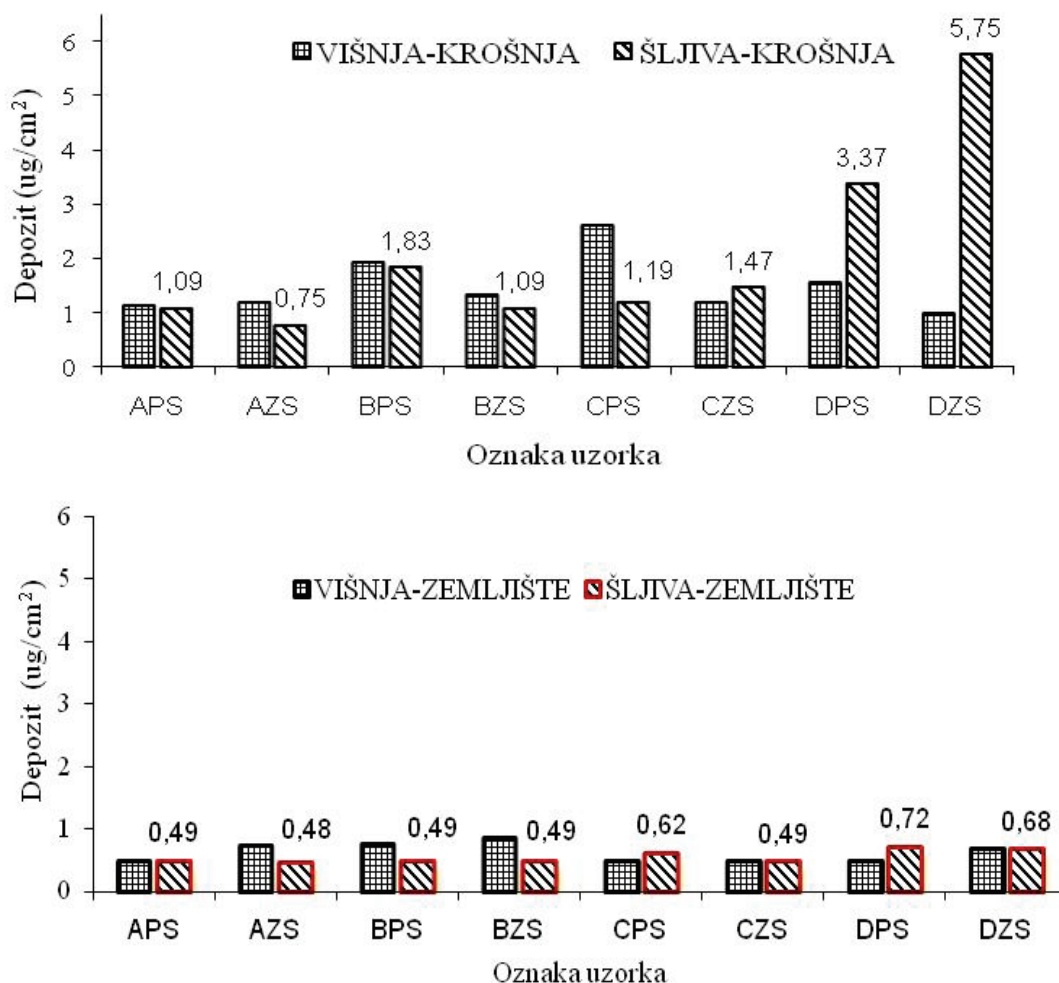
#### Provera efikasnosti analitičkog postupka

Za proveru efikasnosti analitičkog postupka ('recovery') korišćen je preparat razblažen vodom u odnosu 1:120. Na po 10 filter papira (prečnika 9 cm) pipetom je naneto po 0.08; 0.8 i 2.4 mL ovako pripremljene emulzije, čime su dobijena 3 „teoretska nivoa“ depozita a.s. Uzorci su zatim osušeni na vazduhu, ekstrahovani etil-acetatom i analizirani na prethodno opisani način. Za sva tri nivoa sadržaja a.s. (sa  $n=10$  ponavljanja) efikasnost je bila  $> 90\%$ , uz koeficijent varijacije  $CV < 8\%$ .

#### Rezultati i diskusija

Pojedinačni rezultati dobijeni merenjem depozita hlorspirifosa u zasadima višnje i šljive prikazani su na slici 1. Kao što se može zapaziti, za iste grupe uzoraka količine hlorspirifosa ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) u krošnji su znatno veće od onih na zemljištu, što je i poželjno sa stanovišta zaštite bilja. Depozit na zemljištu je takođe ujednačeniji nego u krošnji, što je posebno izraženo kod uzoraka iz ponavljanja D u zasadu šljive (slika 1).

Imajući u vidu da merenje depozita na pojedinačnim ciljanim biljkama često pokazuje veliku varijabilnost, koja se delom može objasniti slučajnim preklapanjima do kojih dolazi prilikom prskanja, važno je znati varijabilnost. Najniži depozit ograničava biološku efikasnost, dok najviši može uticati na neciljane organizme. U poljskim uslovima je realnije porediti niske vrednosti depozita nego srednje vrednosti. Pojedinačne visoke vrednosti depozita povećavaju srednju vrednost ali ne dokazuju efikasnost<sup>3</sup>.



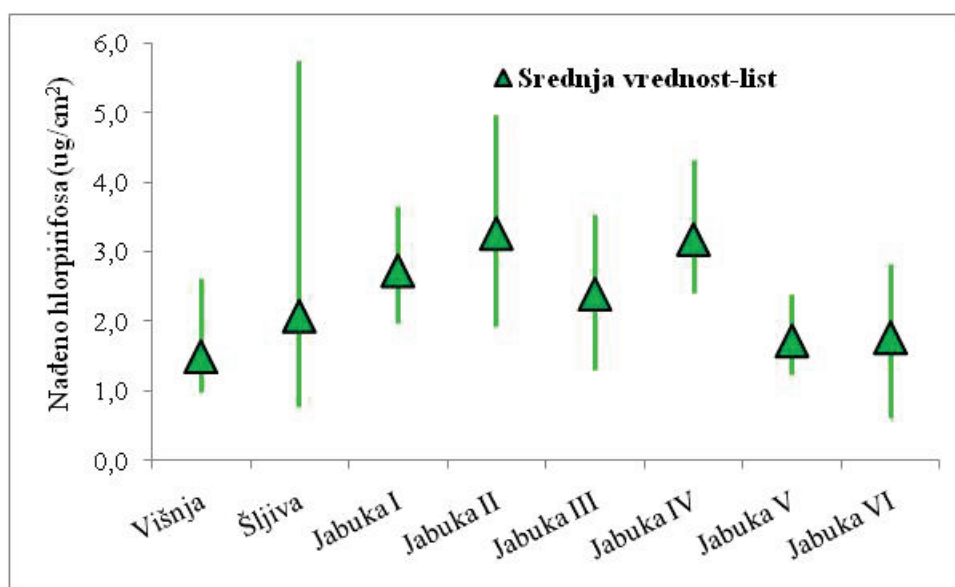
Slika 1. Depozit hlorspirifosa u uzorcima sa krošnji i sa površine zemljišta u ogledima u zasadu višnje i šljive

Ako se rezultati posmatraju iz ovog ugla, može se zaključiti da je u tretmanu izvedenom u zasadu višnje, depozit hlorspirifosa na filter papirima koji su se nalazili u krošnji bio u rasponu od  $0.98 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  do  $2.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  uz CV od 36 % i imao srednju vrednost od  $1.49 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Iako je srednja vrednost depozita u krošnji zasada šljive

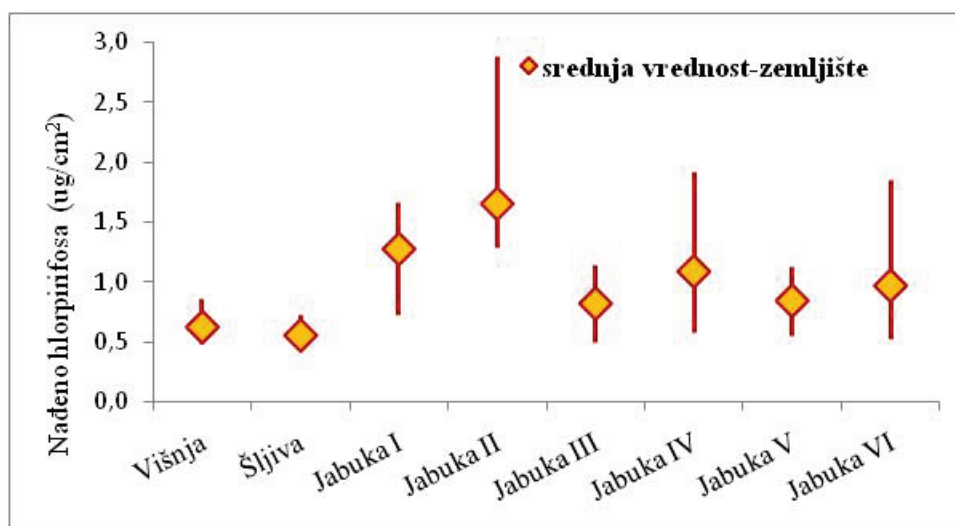
bila istog reda veličine ( $2.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), CV je bio čak 82 % uz raspon minimalne i maksimalne vrednosti od 0.75 do  $5.75 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (slika 2).

Važan aspekt merenja depozita je veličina tretiranog uzorka. Zbog velike varijabilnosti depozita na pojedinačnim listovima ili delovima lišća trebalo bi da je uzorak što je moguće veći. Statistička procena veličine uzorka zahteva znanje o varijaciji ispitivanog parametra (depozit u celom zasadu). Varijacije su rezultat međudejstva različitih faktora kao što su npr. podešavanje uređaja (kalibracija) za primenu pesticida, gustina i površina lisne mase zasada, smer vetra i drugi<sup>3,4</sup>.

U cilju potpunijeg sagledavanja podataka za procenu depozita, na slici 2 su prikazani i rezultati dobijeni u šest sličnih oglada u zasadima jabuke<sup>6</sup>. U ovim tretmanima korišćen je isti tip prskalice i protokol oglada kao i u zasadu višnje i šljive s tim što je primenjeni preparat hlorpirifosa (šifre MCW – 3031) sadržao 250 g a.s./L. Četiri tretmana su izvedena maja 2009. godine u selu Kusadak, a dva juna 2010. godine na „Radmilovcu“. Korišćene su koncentracije primene preparata od 0.20% (oznake tretmana: jabuka I i III) i 0.25% (oznake: jabuka II, IV, V,VI). U ogledima u Kusadaku (I, II, III i IV, slika 2) izmeren depozit u zasadu jabuke 2009. godine na filter papirima postavljenim u krošnje je bio u rasponu od  $1.9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  do  $5.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , uz CV od 27 % do 37 % za pojedine grupe uzoraka. Količina hlorpirifosa 2010. godine na filter papirima postavljenim u krošnje jabuke (Radmilovac 1 i 2) se kretala od  $0.61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  do  $2.8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , a CV bio 27 % (Radmilovac 1) i 37 % (Radmilovac 2). Depozit hlorpirifosa na filter papirima sa zemljišta u svih osam oglada u 2009. i 2010. godini, bio je sličan (slika 3).



Slika 2. Srednje vrednosti, minimumi i maksimumi depozita hlorpirifosa u uzorcima sa krošnji stabala u 8 oglada u zasadima višnje, šljive i jabuka



Slika 3. Srednje vrednosti, minimumi i maksimumi depozita hlorpirifosa u uzorcima sa površine zemljišta u 8 oglada u zasadima višnje, šljive i jabuka



## Zaključak

Dobijeni rezultati pokazuju da se depozit hlorspirifosa na filter papirima postavljenim u krošnji i na zemljištu nije značajno razlikovao u zavisnosti od zasada u kome su izvedeni eksperimenti i preparata koji je korišćen (slike 2 i 3). Varijabilnost izražena preko CV je u svim ogleđima bila istog reda veličine, uz izuzetak tretmana u šljivi, gde je varijabilnost depozita kod jednog uzorka iz krošnje bila veća nego u ostalim. Pored toga, može se zaključiti da filter-papir predstavlja pogodnu inertnu podlogu za procenu uniformnosti depozita u poljskim uslovima. I pored toga što on nema iste depozitne karakteristike kao lišće i plodovi, prednost upotrebe filter papira je jednostavna analiza (jer na nivou koncentracija od interesa praktično nema koekstrahovanih nečistoća) i neograničena mogućnost uzorkovanja u jednom zasadu.

## Chlorpyrifos deposit in sour cherry and plum orchards

*Foliar application of pesticides is the predominant procedure in plant protection and results in the initial spray deposit on the plant surface. The initial deposit on plants is the starting point of any effect of pesticides like biological efficacy, side effects on non-target-organisms, residues, etc. The investigation of such deposits is of major interest with respect to the evaluation of sprayer function, improvement of application quality, investigation of dose response and efficacy as well as environmental issues.*

*Our study presents deposit levels ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) obtained after the application of a commercial formulation of chlorpyrifos (Radar 300EW) in a sour cherry and a plum orchard. Treatments consisted of four replicates with 5 trees/replicate. Filter paper (diameter 9 cm) was used as the sampling surface and placed in the tree canopy (to simulate leaves) and on the soil below. For each replicate 20 „leaf“ and „soil“ samples were collected. Prior to GC/FPD analysis samples were extracted with ethyl acetate. Recovery for 3 spiking levels was > 90%.*

*Obtained results indicated that the average chlorpyrifos deposit measured on the „leaves“ was of the same order of magnitude in both experiments:  $1.49 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (cherries) and  $2.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  (plums). Variability (CV%) was higher for plums. Average deposits on filter papers placed under the trees was considerably lower:  $0.63 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  and  $0.56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ .*

## Literatura

1. X. Xu, P. Wu, P. Thorbek and K. Hyder, Variability in initial spray deposit in apple trees in space and time, *Pest Management Science* **62** (2006) 947 – 956
2. H. Koch and H. Knewitz, Methodology and sampling technique of spray deposit and distribution measurement in vineyards, *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz*, **60** (2008) 25–30
3. N. Montemurro, F. Grieco, G. Lacertosa, A. Visconti, Chlorpirifos Decline Curves and Residue Levels from Different Commercial Formulations Applied to Oranges, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, (2002) 5975 – 5980
4. J. W. Travis, Effect of Canopy Density on pesticide Deposition and Distribution in Apple Trees, *plant Disease*, **71**, 1987, p. 613 – 615
5. Anonymous, EPPO standards: Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products –Introduction, General and Miscellaneous guidelines, New and Revised Guidelines, Volume I, 1999a, p. 31 - 36
6. B. Špirović, M. Milak, M. Mojašević, V. Karan, Kvalitet primene i depozit hlorspirifosa posle primene u zasadima jabuke, *X savetovanje o zaštiti bilja*, Zbornik rezimea radova, Zlatibor, Srbija, 29. novembar – 3. decembar, 2010, p. 118 – 119

## Kvalitet vode Dunava, Donjeg Podunavlja, u periodu od 1999. do 2009. godine

Rodoljub D. Čučulović, Ana A. Čučulović\*, Dejan P. Marković, Dragan A. Marković

*Univerzitet Singidunum, Fakultet za primenjenu ekologiju Futura, Danijelova32, Beograd, Srbija,*

*\*INEP-Institut za primenu nuklearne energije, Banatska 31b, Zemun, Srbija, anas@inep.co.rs*

### Uvod

Voda je osnovni element životne sredine u kojoj je nastao život i bez koje ne bi bilo života, osnovni je sastojak svake žive materije, neprekidno se obnavlja i smatra neiscrpnim prirodnim izvorom. Vodni resursi neposredno određuju način života i socioekonomski razvoj društva<sup>1</sup>.

Svetska zdravstvena organizacija smatra da je neka voda zagađena kada su njen sastav ili njeno stanje do te mere promenjeni da u manjoj meri odgovara namenama kojima bi trebalo da služi u svom prirodnom stanju. Razvoj industrije, urbanizacije i hemizacije dovodi do sve većeg stepena zagađenja voda. Najveći zagađivači vode su: industrija, poljoprivreda, naselja i vodeni saobraćaj.

Na osnovu Uredbe o klasifikaciji voda<sup>2</sup>, Uredbe o klasifikaciji voda međurepubličkih vodotoka, međudržavnih voda i voda obalnog mora Jugoslavije<sup>3</sup>; Pravilnik o opasnim materijama u vodi<sup>4,5</sup>; i ciljeva upotrebe i mogućnosti korišćenja vode se svrstavaju u četiri klase. Klase kvaliteta voda se određuju pomoću sledećih parametara: suspendovane materije, ukupni suvi ostatak, pH, rastvoreni kiseonik, BPK-5, stepen saprobnosti po Libmanu, stepen biološke produktivnosti, najveći broj koliformnih klica, vidljive otpadne materije, primetna boja i primetan miris, zasićenje kiseonikom % O<sub>2</sub>, HPK, toksične materije, stepen radioaktivnosti.

Dunav je 27 reka po veličini na svetu, a 32 po slivu (porečju), a u Evropi je druga reka iza Volge. Ta moćna i silna reka nastaje od dve reke: Brege i Brigaha, koje izvire u Švarcvaidu i spajaju se kod mesta Donaušingena i odatle teku pod imenom Dunav. Reč Dunav znači sjaj nebeskog života. Dugačak je 2897,6 km sa slivom-bazenom koji obuhvata 816947 km<sup>2</sup>. U Dunav utiče oko 300 pritoka. Najvažnije pritoke Dunava u Srbiji su: Tisa, Sava, Tamiš, Morava, Nera i Timok. Kroz Srbiju Dunav je plovni tokom, dužine toka od 588 km i površine sliva od 102350 km<sup>2</sup>. Dunav je širine od 147 m do 2000 m (na Đerdapskom jezeru) i prosečne dubine od 3 do 17 m. Dunav protiče kroz ili čini granicu 10 država: Nemačku, Austriju, Slovačku, Mađarsku, Hrvatsku, Srbiju, Rumuniju, Bugarsku, Moldaviju i Ukrajinu i uliva se u Crno more<sup>6</sup>.

Za analizu kvaliteta vode Dunava, Donjeg Podunavlja, korišćeni su podaci merenja i osmatranja sa tri merne stanice: Tekija, Brza Palanka i Radujevac, koje su reprezentativne za dato područje. Svi dobijeni podaci su publikovani u Godišnjacima Republičkog Hidrometeorološkog Zavoda Srbije (RHMZS)<sup>6</sup>. Analiza je izvršena za period od 1999. do 2009. godine.

Stanica TEKIJA, nalazi se na 44° 42' 00" SGŠ i 22° 25' 27" IGD, na reci Dunav. Stanica je počela sa radom 1991. godine i nalazi se uzvodno od HE Đerdap I. Udaljenost stanice od ušća Dunava u Crno more je 956 km. Stanica BRZA PALANKA, nalazi se na 44° 27' 57" SGŠ i 22° 27' 16" IGD, na reci Dunav. Stanica je počela sa radom 1991. godine i nalazi se ispod HE Đerdap I, a iznad HE Đerdap II. Površina sliva do stanice iznosi 576.527 km<sup>2</sup>, a udaljenost stanice od ušća Dunava u Crno more je 883,8 km. Stanica RADUJEVAC, nalazi se na 44° 15' 45" severne geografske širine i 22° 41' 10" istočne geografske dužine, na reci Dunav. Stanica je počela sa radom 1965. godine i nalazi se ispod HE Đerdap II<sup>7</sup>. Udaljenost od ušća Dunava u Crno more je 851,2 km.

### Rezultati i diskusija

U tabeli 1. prikazane su srednje mesečne vrednosti ispitivanih parametara vode Dunava uzete na mernim stanicama Tekija, B. Palanka i Radujevac i klasifikacija vode Dunava u periodu od 1999. do 2009. godine. Voda Dunava uzorkovana na mernim stanicama u periodu od 1999. do 2000. godine je bila bez mirisa i vidljivih otpadnih materija i samim tim I klase. Voda Dunava, uzorkovane sa stanica od 1999-2002. godine bila ili zelene, sivo zelene, sivo žute ili sivomasalinaste boje (SMB), što govori da je u sebi imala povišen sadržaj rastvorenih soli gvožđa, huminskih ili fulvokiselina ili algi. Od 2002. godine voda Dunava uzorkovana na navedenim mernim stanicama je bila bez boje ili sa slabo primetnom bojom, što govori da u uzorcima vode nije bilo zagađenja i da je voda Dunava od 2003. godine I, odnosno II klase, a u aprilu 2005. i marta 2007. godine III klase. Temperatura vode Dunava je bila od 1,2 °C (februar 2003., Tekija) do 30,0 °C (jun 2005., Radujevac). Srednja godišnja vrednost (SGV) temperature vode je bila od 12,7 °C (2005., B. Palanka) do 17,2 °C (2002., Radujevac). Srednja mesečna vrednost (SMV) elektroprovodljivosti vode Dunava kod Tekije je bila najniža u

junu (368  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), a najvža u januaru (450  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), kod B. Palanke je od 354  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (jun) do 443 (januar) i kod Radujevca je od 383  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (jun) do 479  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (januar). SMV elektroprovodljivosti u vodi Dunava su niske u letnjem periodu na svim stanicama. SMV pH vode Dunava kod Tekije je od 7,8 (jun i jul) do 8,0 (oktobar), kod B. Palanke je od 7,7 (jul) do 8,1 (mart) i kod Radujevca je od 7,6 (januar) do 8,0 (oktobar). pH vrednost vode Dunava u posmatranom periodu je bila I/II klase. SMV ukupnog alakaliteta vode Dunava uzorkovanoj na stanici Tekija je od 152 (jul) do 183 mg/L  $\text{CaCO}_3$  (februar), na stanici B. Palanka je od 150 (jun) do 197 mg/L  $\text{CaCO}_3$  (februar) i na stanici Radujevac je od 156 (jul) do 182 mg/L  $\text{CaCO}_3$  (februar). SMV ukupnog alkaliteta vode Dunava najmanje u letnjem periodu, a najviše u februaru na svim mernim stanicama. SMV rastvorenog kiseonika u vodi Dunava na stanici Tekija je od 7,1 (avgust) do 12,7 mg/L  $\text{O}_2$  (februar), na stanici B. Palanka je od 6,9 (avgust) do 13,1 mg/L  $\text{O}_2$  (februar) i na stanici Radujevac je od 7,2 (avgust) do 12,9 mg/L  $\text{O}_2$  (februar). SMV sadržaja rastvorenog kiseonika u vodi Dunava su niže leti jer se kiseonik manje rastvara u toploj vodi i na svim mernim stanicama su u opadanju. SMV biološke potrošnje kiseonika (BPK-5) u vodi Dunava uzete na stanici Tekija je od 2,0 (mart, april, oktobar i novembar) do 2,6 mg/L  $\text{O}_2$  (februar), na stanici B. Palanka je od 2,0 (april, novembar) do 3,1 mg/L  $\text{O}_2$  (februar) i na stanici Radujevac je od 1,8 (oktobar) do 3,6 mg/L  $\text{O}_2$  (januar). Veći sadržaj organskih materija u vodi Dunava je u zimskom periodu (januar, februar). Voda Dunava je bila najčešće II klase, a 1999. i 2009. godine I klase. Prikazane SGV BPK-5 u vodi Dunava su u opadanju u periodu od 1999-2009. godine, kao i medijana koncentracije BPK-5 u vodnom području Dunav u periodu od 1999-2009. godine. Pretpostavlja se da je smanjenje industrijske proizvodnje tokom posmatrane dekade uzrok ove pojave. Hemijska potrošnja kiseonika (HPK) u vodi Dunava je od 1,7 (jun 2001) do 7,1 mg/L  $\text{O}_2$  iz  $\text{KMnO}_4$  (decembar 2000). SMV HPK u vodi Dunava uzete na stanici Tekija je od 2,9 (oktobar) do 3,9 mg/L  $\text{O}_2$  iz  $\text{KMnO}_4$  (februar), na stanici B. Palanka je od 3,2 (jun, avgust, oktobar, novembar) do 3,8 mg/L  $\text{O}_2$  iz  $\text{KMnO}_4$  (januar, decembar) i na stanici Radujevac je od 3,1 (oktobar) do 4,8 mg/L  $\text{O}_2$  iz  $\text{KMnO}_4$  (januar). Kvalitet vode Dunava kada se kao indikator kvaliteta vode prati HPK je I klase. SMV koncentracije suspendovanih materija u vodi Dunava uzete kod Tekije je najmanja u novembru (4,4 mg/L), a najveća u martu (31 mg/L), kod B. Palanke je najmanja u septembru (2,6 mg/L), a najveća u martu (22 mg/L), kod Radujevca je najmanja u januaru (3,5 mg/L), a najveća u martu i aprilu (18 mg/L). SMV suspendovanih materija u vodi Dunava je bila od 3,0 do 31 mg/L što govori da je bila I i II klase. Na osnovu klasifikacije vode Signifikanzpapier/LAWA 2003, u periodu od 1999. do 2009. godine voda Dunava uzorkovana na mernim stanicama Tekija, B. Palanka i Radujevac je bila od I do II-III klase. SGV nitrata u vodi Dunava, ako se zanemare vrednosti ispod granice detekcije instrumenta, su bile najviše 1999. godine, kada je bilo bombardovanje naše zemlje. U vodi Dunava svih mernih stanica srednja godišnja koncentracija pokazuje trend opadanja. Ovo govori o poboljšanju kvaliteta vode Dunava u posmatranom periodu. Pretpostavlja se da je smanjenje industrijske proizvodnje tokom posmatrane dekade uzrok ove pojave. Nitriti nisu prisutni u prirodnim vodama, ili su njihove koncentracije veoma niske. Ako se zanemare merenja gde je koncentracija nitrita u vodi ispod granice detekcije, rezultati ukazuju da je minimalna koncentracija nitrita u vodi Dunava u posmatranom periodu 1999.-2009. god. od 0,007 mg/L (februar) do 0,034 mg/L (jun). SMV amonijum jona u vodi Dunava, kod Tekije, ako se zanemare merenja ispod granice detekcije instrumenta, je najmanja u februaru i aprilu (0,06  $\text{NH}_4^+$  mg/L), a najveća u avgustu (0,105  $\text{NH}_4^+$  mg/L), kod B. Palanke je najmanja u junu (0,05  $\text{NH}_4^+$  mg/L), a najveća u avgustu i decembru (0,13  $\text{NH}_4^+$  mg/L) i kod Radujevca je najmanja u septembru (0,07  $\text{NH}_4^+$  mg/L), a najveća u januaru i avgustu (0,19  $\text{NH}_4^+$  mg/L). SGV amonijum jona u vodi Dunava na stanicama Tekija i B. Palanka je u opadanju, što govori o poboljšanju kvaliteta vode Dunava. U vodi Dunava uzorkovanoj na stanici Radujevac su povećane SMV i SGV amonijum jona, što govori o pogoršanju kvaliteta vode Dunava. Pretpostavlja se da je to posledica rada HIP Prahovo. SMV koncentracije ukupnog fosfora u vodi Dunava kod Tekije je najmanja u septembru mesecu (0,063 mg/L P), a najveća u februaru (0,206 mg/L P), kod B. Palanke je najmanja u novembru (0,063 mg/L P), a najveća u februaru i martu (0,105 mg/L P) i kod Radujevca je najmanja u februaru (0,093 mg/L P), a najveća u septembru (0,407 mg/L P). Analizirajući podatke zaključuje se da je u vodi Dunava uzorkovanoj na stanici Radujevac povećana srednja mesečna i srednja godišnja vrednost sadržaja ukupnog fosfora u periodu od 1999. do 2009. godine, verovatno zbog rada HIP Prahovo. Vrednosti srednjeg mesečnog i godišnjeg sadržaja ukupnog fosfora u vodi Dunava uzorkovane na mernim stanicama Tekija i B. Palanka su približne. Po klasifikaciji voda na prisustvo koncentracije ukupnog fosfora u vodi sledi da se kvalitet vode Dunava za ispitivani parametar nalazi od I (Tekija i B. Palanka) do IV klase (Radujevac). SMV koncentracije ortofosfata u vodi Dunava sa stanice Tekija je od 0,045 do 0,087 mg/L  $\text{PO}_4^{3-}$ , na stanici B. Palanka je od 0,052 do 0,094 mg/L  $\text{PO}_4^{3-}$  i na stanici Radujevac je od 0,065 do 0,320 mg/L  $\text{PO}_4^{3-}$ . U vodi Dunava uzorkovanoj na stanici Radujevac je veći sadržaj ortofosfata nego u vodi uzorkovanoj na stanicama Tekija i B. Palanka. Kvalitet vode Dunava za ispitivani parametar je od I (Tekija i B.

Palanka) do IV klase (Radujevac). Nivo ukupne  $\beta^-$  radioaktivnosti (Bq/L) u vodi Dunava uzete u periodu od 1999. do 2009. god. na stanici Tekija je do 0,24 Bq/L, na stanici Brza Palanka do 0,47 Bq/L i na stanici Radujevac do 0,65 Bq/L. Zabeleženi nivoi ukupne  $\beta^-$  radioaktivnosti u vodi Dunava su niski i nemaju uticaja na zdravlje ljudi Donjeg Podunavlja.

U tabeli 1 prikazana je klasifikacija vode Dunava na mernim stanicama Tekija, B. Palanka i Radujevac za period 1999. do 2009. godine. Prostornim planom Republike Srbije definisana je obaveza Republike Srbije da zaštitu voda u slivu Dunava rešava sa onim zemljama podunavskog sliva iz kojih dolaze zagađenja, uključujući i kontrolu razloga zašto se ne sprovede dogovori iz Dunavske konvencije i ostalih dokumenata.

Tabela 1. Srednje mesečne vrednosti ispitivanih parametara vode Dunava uzete na mernim stanicama Tekija, B. Palanka i Radujevac i klasifikacija vode Dunava u periodu od 1999. do 2009. godine

Srednje mesečne vrednosti	Tekija			Brza Palanka			Radujevac			
	Min.	Max.	klasa	Min.	Max.	klasa	Min.	Max.	klasa	*
Elektroprovodljivost $\mu\text{S cm}^{-1}$	368	450	I, II	354	443	I,II	383	479	I,II	II
pH	7,8	8,0	I/II	7,7	8,1	I/II	7,6	8,0	I/II	II
Ukupni alkalitet $\text{mg L}^{-1} \text{CaCO}_3$	152	183	II	150	197	II	156	182	II	II
Rastvoljivost kiseonika $\text{mg L}^{-1}$	7,1	12,7	II/III	6,9	13,1	II/III	7,2	12,9	II/III	II
BPK-5	2,0	2,6	I-III	2,0	3,1	I-III	1,8	3,6	I-III	II
HPK	2,9	3,9	I	3,2	3,8	I	3,1	4,8	I	II
Suspendovane materije $\text{mg L}^{-1}$	4,4	31	I-IV	2,6	22	I-IV	3,5	18	I-IV	II
Nitriti $\text{mg L}^{-1}$	0,8	3,2	I-II, II-III	0,9	2,7	I-II, II	1,0	3,9	I-II, II-III	II
Amonijum jon $\text{mg L}^{-1}$	0,06	0,105	I, II	0,05	0,13	I, II	0,07	0,19	I, II	II
Ukupni fosfor $\text{mg L}^{-1}$	0,063	0,206	I-IV	0,063	0,105	I-IV	0,093	0,407	I-IV	II
Ortofosfati $\text{mg L}^{-1}$	0,045	0,087	I-IV	0,052	0,094	I-IV	0,065	0,320	I-IV	II
Ukupna $\beta^-$ radioaktivnost $\text{Bq L}^{-1}$	---	0,24	I	---	0,47	I	---	0,65	I	I

\* zahtevana klasa

Vode Dunava se zagađuju iz gornjeg sliva, ali i iz Srbije, Rumunije i Bugarske što se odražava na kvalitet voda Đerdapskog jezera, pa je u tom smislu neophodno uspostaviti prekograničnu saradnju sa Rumunijom. Za Dunav se po ključnim planskim dokumentima zahteva da bude u II klasi. Realizaciju tog zahteva na uzvodnom sektoru onemogućavaju veoma loši pokazatelji kvaliteta na ulazu. Na ulazu u Republiku Srbije (kod Bezdana) kvalitet vode Dunava je po nekim pokazateljima van klase, dok je po više drugih parametara u III/IV klasi. I pored tako lošeg ulaznog kvaliteta vode, stanje kvaliteta vode na izlazu, nizvodno od ušća Timoka je najčešće u II, eventualno II/III klasi, što je rezultat superponiranog delovanja dva važna procesa: a) očigledno je na osnovu pokazatelja merenja, da je efluentni pritisak na Dunav zagađivača sa teritorije Srbije znatno manji od sposobnosti samoprečišćavanja te reke na teritoriji Srbije, b) dve đerdapske akumulacije, pre svega veliko Đerdapsko jezero, imaju veliki učinak na prečišćavanje vode, delujući poput velikog taložnika.

### Zaključak

U zaključku se može konstatovati da je kvalitet vode Dunava u Donjem Podunavlju najvećim delom II-III klase, uglavnom zahvaljujući velikom kapacitetu razblaživanja, što omogućava njegovo korišćenje za rekreaciju, ribolov, sportove na vodi i kampovanje.

Na bazi sistematskih merenja koje obavlja RHMZS mogu se izvući zaključci u pogledu promena parametara kvaliteta vode Dunava Donjeg Podunavlja. Srbija je jedna od retkih podunavskih zemalja koja se može pohvaliti da se na njenoj teritoriji kvalitet vode Dunava poslednjih godina poboljšava.

### **Water quality of the Danube, the Lower Danube, in the period 1999. by 2009.**

*Water in the Danube River is polluted from the different point and non point sources in upper and lower part of the river basin which influence also the quality of water in the Đerdap lake. In order to improve the current situation regarding water quality in the Đerdap lake it is necessary to enhance cross border cooperation between Serbia and Romania. According to the required standards the Danube water should be in II class. At present, quality of water in lower Danube is II-III class thanks to the high capacity of dilution which make it suitable for recreation, angling, water sports and camping. Based on results of permanent monitoring that has been conducted by Republic Hydrometeorological Bureau of Serbia changes of water quality in the lower Danube could be observed. Serbia is one of the rare country in the Danube basin where quality of water in the Danube River increases.*

#### **Literatura**

1. D.S. Veselinović, I.A. Gržetić, Š.A. Đarmati, D.A. Marković, Stanja i procesi u životnoj sredini, Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd, 1995
2. Uredba o klasifikaciji voda, Službeni glasnik SRS 5/68
3. Uredba o klasifikaciji voda međurepubličkih vodotoka, međudržavnih voda i voda obalnog mora Jugoslavije, Službeni list SFRJ, br. 6/78
4. Pravilnik o opasnim materijama u vodama, Službeni glasnik SRS, br. 31/82
5. Zakon o vodama, Službeni glasnik RS, br. 46/91
6. <http://sr.wikipedia.org/wiki/>
7. Godišnjaci Republičkog Hidrometeorološkog Zavoda Srbije, 1999-2009

## A proper evaluation of interaction between solvent and thiophene from the middle distillation fraction of oil through extraction

Yana K. Koleva, Yordanka Ts. Tasheva\*

*Department of Organic Chemistry, University "Prof. Assen Zlatarov",*

*1 Prof. Yakimov str., 8010 Bourgas, Bulgaria*

*\*Department of Industrial Technology and Management, University "Prof. Assen Zlatarov",*

*1 Prof. Yakimov str., 8010 Bourgas, Bulgaria*

### Introduction

Energy is one of the fundamental requirements in a civilized society to maintain the pace of modernization with respect to time. Petroleum is one of the most complex mixtures known with respect to the number of individual species, which probably ranges from 10,000 to 100,000.<sup>1</sup> The composition of crude oil can vary greatly from source to source. However, all crude oils are mainly composed of carbon and hydrogen in the form of alkanes, naphthenes and aromatics, i.e. hydrocarbons. In addition, minor amount of sulphur-, oxygen- and nitrogen-containing compounds, as well as trace amounts of metals like vanadium and nickel are also found. The abundance of these elements depends on the source of the oil. For example, which in turn is related to the geology of the oil field.<sup>2</sup> Although heterocycles containing S, O and N represent a minor portion in most crude oils, they are of crucial importance for exploration, production and refining of petroleum. Sulphur being the third most abundant element next to carbon and hydrogen poses a serious threat in view of both economy and environment. Generally, sulphur content in crude oils varies from 0.05 to 13.95 wt %.<sup>3</sup>

For many years, a great deal of attention has been paid to selective solvents for extracting aromatic compounds from hydrocarbon mixtures and petroleum fluids. One of these solvents, which have been used extensively for this purpose, is furfural.<sup>4</sup> Due to problems reported regarding the lube-oil extraction processes in which furfural is used as the solvent, attempts have been made to replace it with other solvents such as NMP.<sup>5</sup> The most important advantages of NMP over furfural are as follows: a) Lower energy consumption in the utilities section of the lube-oil extraction units, b) Lower solvent to oil ratio in the lube-oil extraction units, c) Lower toxicity, d) Lower fouling of rotating disk contactors used as extracting equipment.

QSPR (Quantitative Structure Activity Relationship) methods enable predictions of the properties of a wide range of chemical compounds based on the correlation between these properties and molecular descriptors. Many descriptors feature molecular electronic properties derived from quantum mechanics.<sup>6</sup> Others are mathematical indexes derived from the graph theory that characterize the shape and branching of the molecular skeleton.<sup>7</sup>

The aim of this work was to research the quantum-chemical calculations for the possible mechanism of interaction between the solvent (NMP) and S-containing compound (thiophene) in the extraction.

### Results and Discussion

Chemistry is the science of bond making and bond breaking. A thorough knowledge of these processes in the course of the chemical reaction lies at the heart of any reaction mechanism. In the heterolytic cleavage of a bond, the electron pair lies with one of the fragments, which becomes electron rich, while the other fragment becomes electron deficient. An electron-rich reagent gets attracted to the center of the positive charge and forms a bond with an electron-deficient species by donating electrons. The electron-rich species is known as a nucleophile, and the electron deficient one, as an electrophile.<sup>8-11</sup> The aim of the current work is to be suggested the possible mechanism of interaction between thiophene and a solvent (NMP) based on the local quantum-chemical descriptors.

Computing tools of the optimized approach based on a structural indices set software package<sup>12,13</sup> were used in this investigation, including an automatic three-dimensional model builder from molecular connectivity,<sup>14</sup> integrated molecular force-field optimizer, and interface to standard programs for computing the electronic structure.<sup>15</sup> Some global ( $E_{\text{HOMO}}$  and  $E_{\text{LUMO}}$ ) and local (donor and acceptor superdelocalizability) molecular descriptors related to the structures and their reactivity were calculated by semi empirical method (AM1).

The calculated global and local molecular descriptors of N-methyl pyrrolidone (Figure 1) are presented in Table 1.

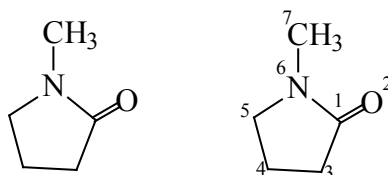


Figure 1. Structure of N-methyl pyrrolidone and number of the atoms

Table 1. Global and local molecular descriptors of N-methyl pyrrolidone.

Global descriptors		Local descriptors											
$E_{\text{HOMO}}$ , eV	$E_{\text{LUMO}}$ , eV	$C_1$		$O_2$		$C_3$		$C_4$ and $C_5$		$N_6$		$C_7$	
		A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.
-9.52	1.46	0.28	0.12	0.10	0.29	0.25	0.16	0.24	0.17	0.16	0.24	0.24	0.16

\*Acceptor delocalizability = A

\*\*Donor delocalizability = D

The global and local molecular descriptors of thiophene (Figure 2) are presented in Table 2.

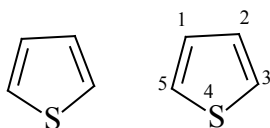


Figure 2. Structure of thiophene and number of the atoms

Table 2. Global and local molecular descriptors of thiophene.

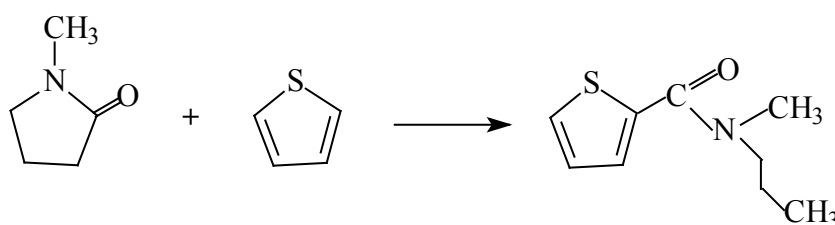
Global descriptors		Local descriptors									
$E_{\text{HOMO}}$ , eV	$E_{\text{LUMO}}$ , eV	$C_1$		$C_2$		$C_3$		$S_4$		$C_5$	
		A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.	A, a.u.	D, a.u.
-9.22	0.24	0.24	0.21	0.24	0.21	0.26	0.22	0.23	0.33	0.26	0.22

\*Acceptor delocalizability = A

\*\*Donor delocalizability = D

All atoms of both molecules (N-methyl pyrrolidone and thiophene) are calculated for their donor and acceptor reactivity. The electrophilic site of N-methyl pyrrolidone is the carbon atom of carbonyl group and the nucleophilic site of thiophene are the carbon atoms of heterocyclic.

A probable mechanism of electrophilic substitution between both compounds (N-methyl pyrrolidone and thiophene) was suggested on the Scheme 1.


 Scheme 1. Mechanism of electrophilic substitution ( $S_E$ ) between N-methyl pyrrolidone and thiophene

## Conclusion

The mechanistic study of both compounds (N-methyl pyrrolidone and thiophene) by their quantum-chemical descriptors (donor and acceptor superdelocalizability) has been done. The carbon atom of the carbonyl group of N-methyl pyrrolidone is suggested as an electrophilic center, while the carbon atom to sulphur atom of heterocyclic is a probable center of nucleophilicity. A mechanism of electrophilic substitution between N-methyl pyrrolidone and thiophene was suggested.

## REFERENCES

1. A.G. Marshall, R.P. Rodgers, *Accounts of Chemical Research* **37** (2004) 53.
2. S.K. Panda, Liquid Chromatography and High Resolution Mass Spectrometry for the Speciation of High Molecular Weight Sulfur Aromatics in Fossil Fuels, NRW Graduate School of Chemistry University of Münster, Germany, 2006.
3. C.D. Czogalla, F. Boberg, *Sulfur Reports* **3** (1983) 121.
4. M. Bertagnolio, *Hydrocarbon Processing* (1983) 103.
5. A. Bondi, *Physical Properties of Molecular Crystals, Liquids and Glasses*, Wiley, New York, 1968.
6. M. Karelson, V.S. Lobanov, A.R. Katritzky, *Chem. Rev.* **96** (1996) 1027.
7. J. Devillers, A.T. Balaban, *Topological indices and related descriptors in QSAR/QSPR*, Gordon & Breach, New York, 1999, p. 59.
8. F.A. Carey, R.J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry; Part B: Reactions and Synthesis*, 4th ed.; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2001.
9. T.H. Lowry, K.S. Richardson, *Mechanism and Theory in Organic Chemistry*, 3rd ed.; Harper & Row: New York, 1987.
10. M.B. Smith, J. March, *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th ed.; John Wiley & Sons: New York, 2001.
11. P. Sykes, *A Guidebook to Mechanism in Organic Chemistry*, 6th ed.; Orient Longman Limited: New Delhi, 1970.
12. O.G. Mekenyan, S.H. Karabunarliev, D.G. Bonchev, *Comput. Chem.* **14** (1990) 193.
13. O.G. Mekenyan, S.H. Karabunarliev, J.M. Ivanov, D.N. Dimitrov, *Comput. Chem.* **18** (1994) 173.
14. J.M. Ivanov, S.H. Karabunarliev, O.G. Mekenyan, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **34** (1994) 234.
15. J.J.P. Steward, *MOPAC 93. Steward Computational Chemistry*, Colorado Springs, CO, USA, 1993.



## Primena unapređenih oksidacionih postupaka, AOP-a, za uklanjanje boje Ractive black 5 iz vode

Milica N. Sentić, Goran Roglič, Dragan Manojlović, Jelena Nešić, Biljana Dojčinović\*

*Hemijski fakultet, Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Srbija*

*\*IHTM, Centar za hemiju, Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Srbija*

### Uvod

Boje su našle primenu u mnogim industrijskim granama, kao što su tekstilna industrija, industrija kože, proizvodnja plastičnih masa, zbog čega u procesu bojenja nastaju zabrinjavajuće velike količine obojenih otpadnih voda. Obojenost sprečava prodiranje sunčeve svetlosti zbog čega je onemogućen proces fotosinteze u vodenoj sredini, što u velikoj meri utiče na biološku aktivnost vodenih organizama. Sav dostupan kiseonik se troši na proces degradacione oksidacije prisutnih organskih supstanci, pa ovakva sredina vrlo brzo postaje anaerobna. Mnoge od ovih boja su visoko toksične i predstavljaju ozbiljnu opasnost za vodene organizme. Azo boje, u koje spada ispitivana Reactive black 5, (RB 5), su najtoksičniji tip tekstilnih boja.

Obrada otpadnih voda predstavlja postupke pomoću kojih se vrši smanjenje prisutnog zagađenja do onih količina ili koncentracija s kojima prečišćene otpadne vode ispuštene u prirodne vodene sisteme ne predstavljaju opasnost za žive organizme i ne uzrokuju neželjene promene u životnoj sredini. U zavisnosti od sastava otpadne vode i željenog kvaliteta prečišćene vode, prečišćavanje se najčešće ostvaruje kombinacijom osnovnih procesa obrade, koji mogu biti mehaničkog, fizičko-hemijskog ili biološkog tipa<sup>1</sup>.

Biološki tretman obojenih voda nije pogodna metoda za njihovu degradaciju, jer su azo boje u velikoj meri rezistentne prema ovom tipu degradacije. Oksidacione metode su visoko efikasne i u velikoj meri se primenjuju unapređeni oksidacioni postupci (*eng. Advanced Oxidation Process - AOPs*), u kojima nastaju visoko reaktivni, hidroksilni radikali ( $\text{OH}\bullet$ ), koji predstavljaju oksidacionu vrstu odgovornu za degradaciju zagađivača. Hidroksilni radikali su sposobni da oksiduju gotovo sva organska jedinjenja do  $\text{CO}_2$  i vode ili do manje toksičnih i biodegradabilnih intermedijera, i na taj način uklone zagađenje<sup>2,3</sup>.

### Rezultati i diskusija

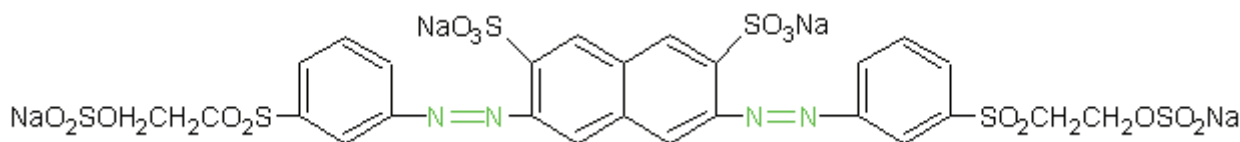
Predmet i cilj ovog rada bio je ispitivanje efikasnosti različitih unapređenih oksidacionih postupaka, AOPs, za degradaciju tekstilne boje Reactive Black 5. Praćen je procenat dekolorizacije u zavisnosti od vremena tretmana rastvora boje različitim oksidacionim sredstvima. Takođe su ispitivani optimalni uslovi za date sisteme, kako bi se postigla što veća efikasnost dekolorizacije.

U ovom radu, na primeru boje Reactive black 5, ispitan je stepen degradacije boje Reactive black 5 (merenjem apsorpcije) u funkciji od vremena izlaganja rastvora različitim oksidacionim sistemima. Početna koncentracija rastvora boje, Reactive black 5, je iznosila 40,00 mg/L. Ispitani su sledeći oksidacioni sistemi: oksidacija pomoću ozona ( $\text{O}_3$ ), pri čemu je ispitan uticaj početne vrednosti pH rastvora na stepen dekolorizacije, sistem  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , gde je ispitan i uticaj različitih početnih koncentracija  $\text{H}_2\text{O}_2$  na stepen dekolorizacije, sistem  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , Fentonov reagens ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ ) i foto-Fentonov reagens ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ). Početne vrednosti pH rastvora 9,00, 7,00 i 5,00 pri ozonolizi i 3,00 za Fentonov reagens, su podešene pomoću rastvora 0,1 M NaOH i 0,1 M sumporne kiseline.

Kao generator ozona korišćen je ozonizator Lifepool 1.0, Lifetech, Češka Republika. Ozonizator radi na principu električnog pražnjenja kroz vazduh, pri čemu se iz kiseonika, koji je prisutan u vazduhu stvara ozon u gasovitom stanju. Vazduh, koji je uveden u ozonizator, je prethodno osušen provođenjem kroz kolonu napunjenu molekulskim sitima (4 Å). Kroz ozonizator je provoden vazduh sa protokom od 10 L/min. Protok vazduha kroz ozonizator je meren rotametrom. Ovaj model ozonizatora proizvodi 1 g/h ozona. Sva creva kroz koja se provodi ozon su bila od politeflona, pošto je on otporan prema ozonu. Protok vazduha kroz sistem sušač-ozonizator je ostvaren pomoću vodene pumpe.

Korišćena je protočna UV lampa Bulego SH-500, Italy, snage 38 W sa maksimumom emisije na 253,7 nm. Protok rastvora od 210 ml/min kroz lampu je ostvaren pomoću peristaltičke pumpe.

U radu je korišćena komercijalna reaktivna azo boja za tekstil Reactive Black 5 (Clariant, Nemačka), čija je hemijska formula prikazana, Slika 1 :



Slika 1. Reactive Black 5

Efekat dekolorizacije je definisan kao smanjenje procenta asorbancije prema sledećoj jednačini (1):

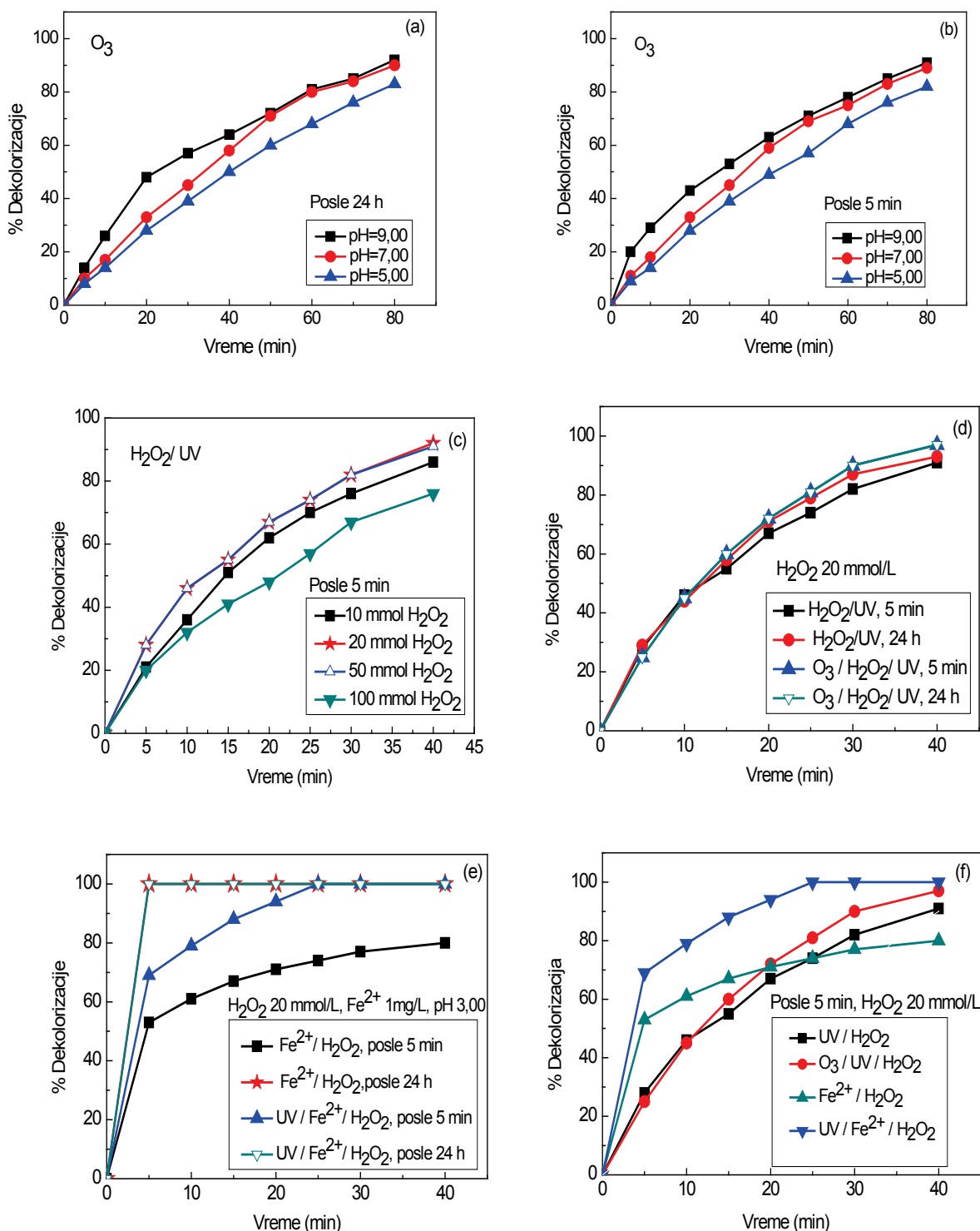
$$\% \text{dekolorizacije} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

gde je  $A_0$  apsorbcija merena na talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma ( $\lambda_{\text{max}}=590 \text{ nm}$ ) početnog rastvora boje i  $A$  je apsorbcija merena na talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma rastvora boje nakon tretiranja. Spektrofotometrijska određivanja izvedena su na spektrofotometru GBC Cintra 6 (GBC Scientific Equipment Pty Ltd.) sa kvarcnim kivetama kod kojih je dužina optičkog puta 1 cm, odmah (nakon 5 minuta) i nakon 24 h od uzorkovanja. U sistemu sa  $\text{H}_2\text{O}_2$ , koncentracija vodonik-peroksida je iznosila 10, 20, 50, 100 mmol/L.  $\text{H}_2\text{O}_2$  je dodavan neposredno pre tretiranja rastvora boje. U sistemu sa  $\text{Fe}^{2+}$ , koji je korišćen kao homogeni katalizator, sadržaj gvožđa je bio 1 mg/L. Zapremina rastvora boje koja se tretira iznosi 1,5 L. U eksperimentima sa ozonom, ozon je uveden u rastvor boje pri protoku ozona 3 mg/min (protok vazduha 2 L/min).

Na Slici 2a predstavljen je uticaj različitih početnih vrednosti pH rastvora boje u sistemu sa ozonom. Najviši procenat dekolorizacije je dobiven za početnu vrednost pH rastvora 9,00, a najniži za početnu vrednost pH 5,00. Trend opadanja dekolorizacije boje sa smanjenjem pH, se objašnjava prisustvom hidroksilnih radikala u višoj koncentraciji na višim pH vrednostima, što je direktna posledica dekompozicije  $\text{O}_3$  hidroksilnim jonima, dok je na nižim pH vrednostima glavna oksidaciona vrsta molekularni ozon, koji ima manju oksidacionu moć od hidroksilnih radikala<sup>4</sup>. U daljem radu eksperimenti su izvođeni na pH 9,00, jer na ovoj pH vrednosti ozon daje najbolje rezultate. Nakon 24 h od tretiranja rastvora u ovim oksidacionim sistemima nema povećanja % dekolorizacije usled male rastvorljivosti ozona i visoke reaktivnosti hidroksidnih radikala<sup>5</sup>. Na Slici 2c predstavljena je promena % dekolorizacije rastvora boje u zavisnosti od koncentracije  $\text{H}_2\text{O}_2$  u sistemu  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ . Stepenn dekolorizacije je najveći za koncentracije  $\text{H}_2\text{O}_2$  od 20 mmol/L i 50 mmol/L, a dobiveni efekat dekolorizacije je isti za ove dve koncentracije. Više koncentracije  $\text{H}_2\text{O}_2$  ubrzavaju reakciju u kojoj nastali  $\cdot\text{OH}$ , reagujući sa  $\text{H}_2\text{O}_2$  daju manje reaktivne vodonik-peroksidne radikale ( $\text{HO}_2\cdot$ ).  $\text{H}_2\text{O}_2$  tada igra ulogu sakupljača  $\cdot\text{OH}$ , što rezultuje nižim % dekolorizacije boje. Za optimalne uslove možemo reći da 20 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  daje najbolje rezultate, jer se daljim porastom koncentracije ne postiže veći efekat dekolorizacije boje<sup>6</sup>. Poređenjem sistema  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  i  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ , kao što je predstavljeno na Slici 2d, zaključujemo da u prisustvu  $\text{O}_3$ , koji predstavlja dodatni izvor  $\cdot\text{OH}$ , sistem  $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  postiže viši % u dekolorizaciji boje. Malo povećanje stepena dekolorizacije tokom vremena od 24h od tretmana rastvora boje u ova dva sistema potiče usled dejstva stabilnijih  $\text{HO}_2\cdot$ , sa dužim vremenom polu-života od  $\cdot\text{OH}$ , koji vrše dalju oksidaciju boje stajanjem rastvora. Na slici 2i je prikazana promena % dekolorizacije tretiranjem rastvora boje Fentonovim i foto-Fentonovim reagensom. Primenom optimalnih uslova pH=3,00,  $\text{H}_2\text{O}_2$  koncentracije 20 mmol/L i odgovarajuće koncentracije  $\text{Fe}^{2+}$  jona u rastvoru, postiže se visok % dekolorizacije rastvora boje usled prisustva visokih koncentracija oksidativne vrste  $\cdot\text{OH}$ . U sistemu sa Foto-Fentonom UV zračenje dodatno pospešuje nastajanje  $\cdot\text{OH}$ , stoga je efikasnost dekolorizacije bolja u odnosu na sam Fentonov reagens. Nakon 24 h od vremena tretmana rastvora boje u oba sistema je postignut isti stepen dekolorizacije, jer vodonik-peroksidnih radikala, koji imaju odloženo dejstvo, ima u dovoljnim koncentracijama i u slučaju samog Fentonovog-reagensa za potpunu dekolorizaciju rastvora stajanjem<sup>7</sup>.

### Zaključak

Ispitana je efikasnost različitih oksidacionih procesa na % dekolorizacije boje Reactive black 5. Praćena je promena dekolorizacije rastvora boje Reactive black 5 u funkciji od vremena izlaganja rastvora različitim oksidacionim sistemima. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je optimalna vrednost pH 9,00 u sistemu sa  $\text{O}_3$  i da je optimalna koncentracija 20 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Najveća efikasnost dekolorizacije od 100 % se postiže oksidacijom boje foto-Fentonovim reagensom i to za najkraće vreme od 25 min.  $\text{O}_3/\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$  je sledeći po efikasnosti od ispitanih oksidacionih procesa u dekolorizaciji boje sa procentom dekolorizacije od 97 %, za vreme tretiranja rastvora od 40 minuta. Zatim sledi kombinacija UV zračenja i  $\text{H}_2\text{O}_2$  bez ozona, sa procentom dekolorizacije koji iznosi 91% za vreme od 40 minuta. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su ispitani oksidacioni postupci vrlo efikasna metoda za prečišćavanje voda zagađenih tekstilnim bojama.



Slika 2. Promena dekolorizacije u zavisnosti od vremena tretmana rastvora boje različitim oksidacionim sistemima: (a) O<sub>3</sub> posle 5 min; (b) O<sub>3</sub> posle 24 h; (c) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV (d) poređenje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV i O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV; (e) poređenje Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV; (f) poređenje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV

### The application of advanced oxidation processes, AOPs, for removing Reactive black 5 dye from the water

This study evaluated the effectiveness of decolorizing C. I. Reactive Black 5 (RB 5) in oxidant systems by a combination of O<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV, Fe<sup>2+</sup> as catalyst. Decolorization of 40 mg/L solution of Reactive black 5 was examined using following oxidation systems: oxidation by ozone (O<sub>3</sub>), where the effect of initial pH of dye solutions determined the degree of decolorization, the system H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, where the influence of dosage of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the decolorization rate was examined, the system O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, Fenton reagent (Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and photo-

*Fenton reagent ( $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$ ). According to the results, we can conclude that the optimal pH value is 9,00 in the systems with  $O_3$  and the optimal concentration of  $H_2O_2$  is 20 mmol/L. All measurements were performed immediately (after 5 min), and 24 h after the treatment of dye solutions. Based on the results, it could be concluded that photo-Fenton and  $O_3/H_2O_2/UV$  systems are very efficient methods for removal of Reactive black 5 dye from the water. The most effective decolorization of 100 % was obtained by photo-Fenton during the period of 25 minutes. The second most efficient process of the examined oxidative processes was the combination of  $O_3/H_2O_2/UV$ , with 97 % decolorization rate for a reaction time of 40 minutes. Our results indicate that studied Advanced Oxidation Processes may be effectively used for decolorization of dye wastewater.*

#### Literatura

1. R.L. Droste, *Theory and practise of water and wastewater treatment*, John Willey & Sons, New York, 1997, 219-234.
2. Walter Z.Tang, *Physicochemical Treatment of Hazardous Waste*. Lewis Publishers, 2004.
3. J. M. Poyatos, M. M. MuñioM. C. Almecija, J. C. Torres, E. Hontoria, F. Osorio, *Water Air Soil Pollut*, **205** (2010) 187-204.
4. Young Ku, Wei-Jeng Su, Yung-Shuen Shen, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **35** (1996) 3369-3373.
5. Rip G.Rice and Aharon Netzer, *Handbook of ozone technology and applications*, Ann Arbor Science Publishers, Inc.
6. Mariana Neamtua, Ilie Siminiceanua, Ayfer Yedilerb, Antonius Kettrup, *Dyes and Pigments*, **53** (2002) 93–99.
7. Marco S. Lucas, Jose´ A. Peres, *Dyes and Pigments*, **71** (2006) 236-244.

## Concentration levels of POPs in the biotic material in Novi Sad, Serbia

Tamara Vukavić\*, Mirjana Vojinović Miloradov, Ivana Mihajlović, Maja Turk Sekulić, Jelena Radonić

*Department of Environmental Engineering and Occupational Safety and Health,  
Faculty of Technical Sciences, University of Novi Sad, Serbia*

*\*Institute of Child and Youth Health Care, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Serbia*

In the frame of the FP5 project APOPSBAL and Project funded by the Secretariat for Science and Technological Development of the Autonomous Province of Vojvodina (Determination of Persistent Organic Pollutants in Abiotic and Biotic Matrix of South Bačka) the residual quantities of persistent organic pollutants (POPs) were monitored in human milk. Human milk is a subtle eco-indicator of contamination of the female population and the newborn as well as a valuable indirect indicator of environmental pollution. Determination of 7 EPA polychlorinated biphenyl (PCB) congeners and 11 organochlorine pesticides (OCPs) was performed to 22 human milk samples and 5 infant formulas (one manufactured in Serbia and four imported). Average concentrations of PCBs and OCPs (n=22) in human milk samples were in ranges 0.094 - 0.565 ng/g and 0.15-4.74 ng/g, respectively. Concentration levels of target POPs in milk formulas were about ten times lower. Only one compound from the group of OCPs (aldrin) was found in infant formula manufactured in Serbia. Results within this study pointed out that long year environmental presence of POPs caused bioaccumulation and biomagnifications in human organisms and also mother-child transfer by human milk. These research in Serbia is very scarce and till now, performed only by this group of authors.

### Introduction

Persistent organic pollutants (POPs), such as polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) are lipophilic substances with high resistance to degradation and long half-lives for most molecules of OCPs and congeners ranging from months to years. POPs enter the environment dominantly as a result of anthropogenic activities. Once released into the environment, POPs tend to absorb strongly to organic matters of soil, sediment and aerosols in air. This prevalent contamination by POPs is due in part to their stable chemical nature and the fact that they can survive long range transport through the atmosphere being an important pathway for the global distribution of these contaminants<sup>1,2,3</sup>.

PCBs and OCPs, due to their chemical persistence and lipophilicity, have a tendency to bioaccumulation and biomagnification in fatty tissues, blood and breast milk through the food chain. More than 90% of POPs daily intake in humans is via food. Exposure to PCBs and OCPs, particularly to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and its metabolites has been associated with adverse health effects, including neurodevelopmental delay, reproductive effects, preterm and small-for-gestational-age babies, and immunotoxicity<sup>4,5,6</sup>. In response to the adverse effects seen in wildlife and humans, the production and use of OCPs and PCBs were restricted and banned in Europe and North America during the 1970s and, consequently, the levels of POPs in humans are now decreasing. Although the production of PCBs has been regulated by Stockholm Convention, they still continue to be of environmental concern.

Human milk is a subtle biological matrix which is the only food during the 1<sup>st</sup> months of life of human neonates. Continuous monitoring of POPs in human milk could point out, not only to the level of exposure of very young children, but also to changes in the environment. Therefore, human milk serves as a valuable biological matrix for the assessment of public and environmental health.

Monitoring of PCBs and OC pesticide residues (DDT with metabolites and  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - hexachlorocyclohexane isomers) in human milk which donors were healthy mothers living in South Bačka started in 1982<sup>7,8,9,10,11,12</sup>. For last measurements, different group of OC pesticide residues, except for DDT, metabolites and  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - HCH, were chosen: aldrin, endrin, endosulfan I, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin aldehyde, heptachlor and endosulfan II in samples of early human milk (3<sup>rd</sup> day lactation). This kind of monitoring has received increasing attention in the last decades since it provides simultaneous information on POP body burden in women of reproductive age, as well as on the perinatal exposure of the foetus and the nursing infant. The objective of this research was to determine concentrations of PCB congeners and OCPs in early human milk in mothers living in Novi Sad and to compare these concentration levels with the concentrations of the same target substances in five infant formulas of artificial milk (one manufactured in Serbia and four imported).

## Material and methods

Monitoring of POPs was performed for 3<sup>rd</sup> day colostrum samples from 22 healthy mothers living in the city of Novi Sad. Mothers expressed colostrum into specially prepared glass containers. Samples were frozen at -20°C until analyzed. n-hexane and conc. sulfuric acid were added to milk samples, cooled and stood overnight at room temperature. The hexane layer was separated and cleaned up twice with conc. sulfuric acid and through the Florisil column, and the eluate evaporated and analysed by GC-ECD (HP 5890 supplied with a Quadrex fused silica column 5% Ph for PCBs). In addition, five milk formulas were analyzed in order to compare concentrations of POPs to the concentrations in human milk samples. All analytical determinations of POPs in were performed at the Institute of Occupational Health in Novi Sad.

## Results and discussion

Concentrations of 7 EPA PCB congeners were monitored in 22 human milk samples in healthy mothers living in Novi Sad and its surrounding. PCB 118 was not found in any of human milk samples. PCB 118 is mono-ortho congener with chemical formula 2,3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. It belongs to the group of dioxin like PCBs and its toxic equivalency factor is 0.001, while bioconcentration factor of PCB 118 is in range 3.6-5.4. From the group of seven EPA congeners, the most toxic congener was not detected, indicating that the dioxin like compounds were undetectable. 2,2',4,5,5' -pentachlorobiphenyl (PCB 101) and 2,2',3,3',4,4', 5,5',6,6'-decachlorobiphenyl (PCB 209) which are less toxic were found in one and two milk samples, respectively. Average concentrations of PCB congeners varied from 0.094 (PCB 209) to 0.565 ng/g (PCB 101). Synthetic products of artificial manufactured milk for infant feeding were parallel tested. Concentrations of PCBs in milk formulas were below average values in human colostrum; formula manufactured in Serbia (F-1) did not contain any of PCB congeners. In other four imported formulas (F-2 to F-5) PCB congeners 153, 138 and 180 were detected in a concentration range from 0.015 to 0.120 ng/g (Table 1).

Table 1. Concentrations of PCB congeners (ng/g whole milk) in human milk (n=22) and infant formulas\*

Congeners	Colostrum					
	(average concentrations n=22 with SD)	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
PCB 52	<b>0.285 (0.202)</b>					
PCB 101	<b>0.565 (0.000)</b>					
PCB 153	<b>0.255 (0.328)</b>		0.107	0.019	0.028	
PCB 138	<b>0.206 (0.316)</b>		0.095	0.015	0.033	0.116
PCB 180	<b>0.319 (0.533)</b>		0.120	0.030	0.026	0.105
PCB 209	<b>0.094 (0.038)</b>					

\*Infant formulas of artificial milk for infant feeding were labelled as F-1 to F-5 for commercial reasons

Average concentrations (ng/g whole milk) of OCPs detected in human milk are presented in Figure 1. Aldrin (3.88, 4.99), endrin (4.74, 6.72) and 4,4-DDT (4.61, 4.53) were founded in highest concentrations (ng/g - mean, SD) in human milk. Ratio of DDT/DDE was 1.82. DDE, as an indicator of recent influx of total DDT in the environment, continued its significant fall, while DDT increased significantly but the source of new exempt amount of DDT is unfamiliar to us. DDE is more lipophilic metabolite and tend to higher accumulation in the human bodies. Concentrations of OCPs in infant formulas were ten times lower than in human milk samples. In milk formula manufactured in Serbia only one pesticide compound (aldrin) was found in lowest concentrations compared to other 4 infant formulae. In milk formula F-2 imported from EU all target substances were detected in a concentrations from 0.02 (endrin) to 1.79 ng/g (aldrin).

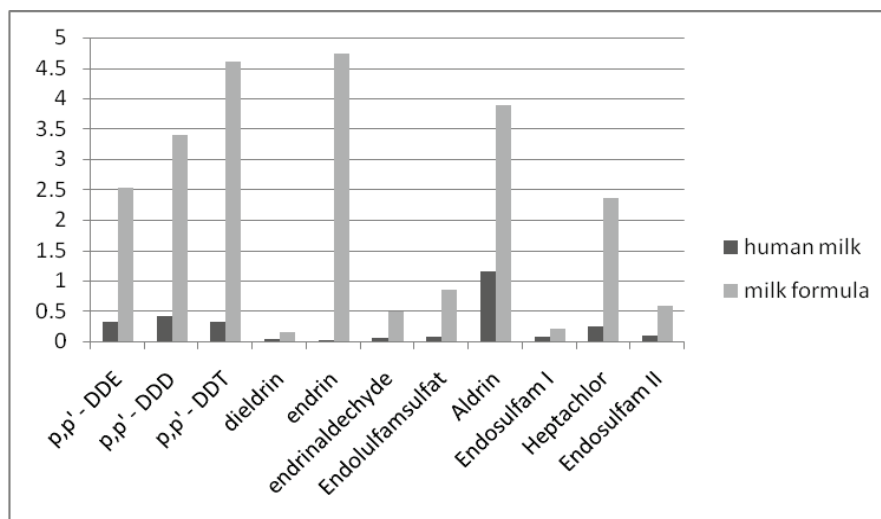


Figure 1. Average concentrations of OCPs (ng/g whole milk) in human milk (n=22) and milk formulas (n=5)

## Conclusions

Results presented in this paper were obtained within the three years project FP5 APOPSBAL<sup>13</sup> and Project funded by the Secretariat for Science and Technological Development of the Autonomous Province of Vojvodina (Determination of Persistent Organic Pollutants in Abiotic and Biotic Matrix of South Bačka). In human milk samples 6 EPA congeners were detected, dioxin like congener 118 was not detected. Measurements of POPs in human milk and infant formulas pointed out to a great environmental concern caused by persistent presence of POPs. DDT/DDE ratio 1.82 indicated recent input of DDT in environment and the rise of DDE is expected in future, as the consequence of this recent DDT environmental influx. POPs concentrations in infant formulas were ten times lower than in human milk samples. The lowest concentrations of POPs were detected in infant formula manufactured in Serbia. These research in Serbia is very scarce and till now, performed only by this group of authors.

*Acknowledgements:* This study was supported and funded by Project No. 114-451-00603 of Secretariat for Science and Technological Development of the Autonomous Province of Vojvodina.

## References

- Ras-Mallorquí, M.R., Marcé-Recasens, R.M., Francesc Borrull-Ballarín, F., Determination of volatile organic compounds in urban and industrial air from Tarragona by thermal desorption and gas chromatography–mass spectrometry, *Talanta*, **72** (2007) 941–950.
- Klasmeier, J., Matthies, M., Macleod, M., Fenner, K., Scheringer M., Stroebe, M., Christineelegall, A., Mckone, T., Demeent, D., Wania, F., Application of Multimedia Models for Screening Assessment of Long-Range Transport Potential and Overall Persistence. *Environ. Sci. Technol.*, **40** (2006) 1.
- Stocker, J., Scheringer, M., Wegmann, F., Hungerbühler, K., Modeling the effect of snow and ice on the global environmental fate and long-range transport potential of semi-volatile organic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, **41** (2007) 6192-6198.
- Cooper, G.S., Martin, S.A., Longnecker, M.P., Sandler, D.P., Germolec, D.R., Associations between plasma DDE levels and immunologic measures in African-American farmers in North Carolina, *Environ. Health Perspect.*, **112** (2004) 1080–1084.
- Dalvie, M.A., Myers, J.E., Thompson, M.L., Robins, T.G., Dyer, S., Riebow, J., Molekwa, J., Jeebhay, M., Millar, R., Kruger, P., The long-term effects of DDT exposure on semen, fertility, and sexual function of malaria vector-control workers in Limpopo Province, South Africa, *Environ. Res.*, **96** (2004) 1–8.
- Ribas-Fitó, N., Cardo, E., Sala, M., Eulàlia de Muga, M., Mazón, C., Verdú, A., Kogevinas, M., Grimalt, J.O., Sunyer, J., Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants, *Pediatrics* **111** (2003) e580–e585.
- Vukavic, T., Pavkov, S., Cusic, S., Roncevic, N., Vojinovic, M., Tokovic, B., Pesticide residues in human colostrum: Seasonal variations, *Arch Environ Contam Toxicol*, **15** (1986) 525 - 528.
- Vukavic, T., Vojinovic-Miloradov, M., Pavkov, S., Djilas, S., Pesticide residues and polychlorinated biphenyls in human colostrum - seasonal variations in Yugoslavia a decade later, *Fresenius Environ Bull*, **12** (2003) 215 – 218.
- Vukavic, T., Vojinovic-Miloradov, M., Pavkov, S., Nikolic, Lj., Exposure of newborns to Pesticide residues and PCBs in colostrum during UN Security Council sanctions for Yugoslavia, *Prenat Neonat Med*, **2** (1 - 4) (1997) 356 - 359.

10. Vukavic, T., Vojinovic-Miloradov, M., Ristivojevic, A., Hlpka, J., PCB pollution of early milk in the province of Vojvodina, *Environ Toxicol Pharmacol*, **25** (2008) 176 - 178.
11. Vukavić, T., Vojinović-Miloradov, M., Suđi, J., Mihajlović, I., Radonić, J., Turk-Sekulić, M., Djogo, M., Organochlorine pesticides in human milk as indicators of environmental pollution“, 10<sup>th</sup> International HCH and Pesticides Forum How many obsolete pesticides have been disposed of 8 years after signature of Stockholm Convention, Book of papers, ISBN 978-80-210-5098-3, RECETOX, Masaryk University, Brno, Czech Republic, September 2009, pp. 183-187.
12. Vukavić, T., Vojinović-Miloradov, M., Suđi, J., Ristivojević, A., Mihajlović, I., Estimated average daily intake of PCBs and DDT via human milk, 10<sup>th</sup> European Meeting on Environmental Chemistry, EMEC 10, Book of Abstracts, Limoges, France, December 2009, pp. 66.
13. APOPSBAL - Assessment of the selected POPs (PCBs, PCDDs/Fs, OCPs) in the atmosphere and water ecosystems from the waste materials generated by warfare in former Yugoslavia, <http://www.recetox.muni.cz/index-en.php?pg=research-and-development--list-of-grants&prid=2>

### **Koncentracioni nivoi perzistentnih organskih polutanata u biotskom materijalu u Novom Sadu, Srbija**

*U okviru Projekta FP5 APOPSBAL i Projekta koji je finansirao Sekretarijat za nauku i tehnološki razvoj Autonomne Pokrajine Vojvodine (Određivanje perzistentnih organskih polutanata u abiotskom i biotskom matriksu Južne Bačke) praćene su rezidualne količine perzistentnih organskih polutanata u humanom mleku. Humano mleko je suptilni pokazatelj kontaminacije ženske populacije i novorođenčeta kao i veoma značajan indirektni pokazatelj zagađenja životne sredine. Određivanje 7 EPA kongenera polihlorovanih bifenila (PCB) i 11 organohlorinih pesticida (OCP) je izvršeno u 22 uzorka humanog mleka i 5 uzoraka preparata mleka (jednog proizvedenog u Srbiji i 4 uvezena). Srednje vrednosti PCB-a i OCP-a (n=22) u uzorcima humanog mleka su analitički detektovane u opsezima 0.094 - 0.565 ng/g i 0.15-4.74 ng/g, redom. Koncentracioni nivoi ispitivanih perzistentnih organskih polutanata u uzorcima preparata „veštačkog“ mleka bili su oko deset puta niži od vrednosti u uzorcima humanog mleka. Samo jednasupstancija iz grupe organohlorinih pesticida (aldrin) je detektovana u preparatu mleka za odojčad proizvedenom u Srbiji. Rezultati u okviru ovog istraživanja ukazuju na dugogodišnje prisustvo POP-a u životnoj sredini koje je izazvalo bioakumulaciju i biomagnifikaciju u ljudskim organizmima kao i transfer ispitivanih jedinjenja sa majke na novorođenče preko mleka. Ovakva istraživanja su veoma osetljiva i retka i do sada sprovedena jedino od strane ove grupe autora u Srbiji.*



## Poređenje kolorimetrijskog i masenospektrometrijskog eseja za određivanje aktivnosti pankreasne fosfolipaze A<sub>2</sub>

Iva A. Vukićević, Tina Kamčeva, Maja Radisavljević, Marijana Petković

*Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija*

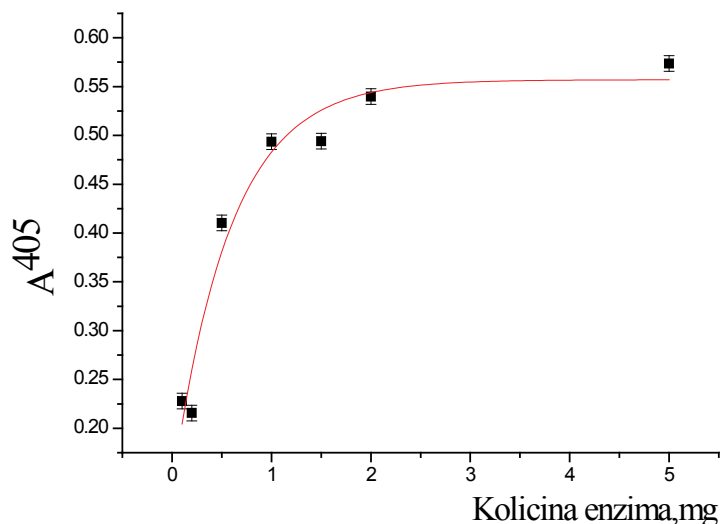
### Uvod

Superfamilijski fosfolipaza A<sub>2</sub> pripada velikom broju enzima koji su definisani prema sposobnosti da katalizuju hidrolizu estarskih veza na sn2 poziciji membranskih sn3 glicerofosfolipida. Proizvodi reakcije su slobodne masne kiseline i lizofosfolipidi koji imaju ulogu u prenošenju signala unutar ćelije<sup>1,2</sup>. Uspostavljeno je nekoliko eseja za određivanje specifične aktivnosti fosfolipaze A<sub>2</sub> koji se razlikuju prema osetljivosti, jednostavnosti, dužini trajanja i ceni. Najčešće korišćene procedure se zasnivaju na pH-stat potenciometrijskim titracijama ili razdvajanju radioaktivno obeleženih proizvoda tankoslojnom hromatografijom. Kolorimetrijski eseji se zasnivaju na promeni intenziteta apsorpcije na talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma indikatora. Promena boje je posledica promene pH reakcione sredine pri oslobađanju masne kiseline nakon enzimski katalizovane reakcije<sup>3</sup>. Esej omogućava brzu detekciju PLA<sub>2</sub> u frakcijama nakon hromatografskog razdvajanja. MALDI TOF MS (*matrix assisted laser desorption and ionisation time-of-flight mass spectrometry*) je brza, jednostavna, visoko osetljiva metoda sa visokom masenom rezolucijom<sup>4</sup> koja omogućava analizu velikog broja uzoraka u kratkom vremenskom periodu i jednostavnu pripremu male količine uzorka. Ova blaga jonizaciona tehnika omogućava i kvantitativnu analizu fosfolipida<sup>5</sup>, praćenje promene odnosa fosfolipid/lizofosfolipid ili istovremenu promenu oba u poređenju sa unutrašnjim standardom. Samim tim, MALDI TOF masena spektrometrija omogućava određivanje kinetičkih parametara hidrolize fosfolipida PL-om A<sub>2</sub> i određivanje strukturnih karakteristika i promena istih pri dodavanju metalnih kompleksa. Cilj ovog rada je poređenje dve metode za određivanje fosfolipaze A<sub>2</sub> i uspostavljanje osetljivog, specifičnog eseja koji će biti jednostavan i brz način za određivanje enzimskih parametara aktivnosti fosfolipaze A<sub>2</sub>. Poređeni su spektrofotometrijski esej i MALDI TOF masena spektrometrija. Korišćena je komercijalno dostupna fosfolipaza A<sub>2</sub> iz pankreasa svinje. Rezultati prikazani u ovom radu pokazuju da je primenom MALDI TOF masene spektrometrije moguće određivanje kinetičkih parametara, kao što su V<sub>max</sub> i K<sub>m</sub> fosfolipaze A<sub>2</sub>, kao i da je u poređenju sa kolorimetrijskim esejem, metoda jednostavnija, kraća i osetljivost detekcije aktivnosti PLA<sub>2</sub> veća.

### Rezultati i diskusija

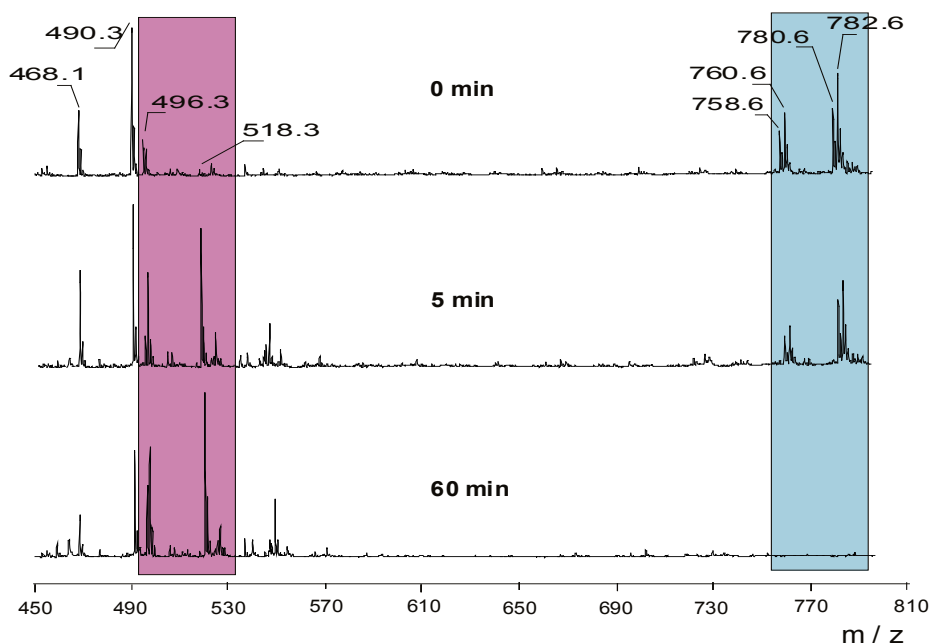
Za određivanje aktivnosti fosfolipaze A<sub>2</sub> kolorimetrijskim esejem korišćen je pH indikator 3-nitrofenol. Da bi se postigla najveća osetljivost eseja pH vrednost reakcione smeše je podešena da bude u blizini pK vrednosti boje. pK se definiše u medijumu koji se koristi za merenje fosfolipazne aktivnosti, odnosno u prisustvu supstrata, fosfatidil holina (lecitina) izolovanog iz žumanceta jajeta. Talasna dužina koja je određena za merenje intenziteta apsorpcije boje odgovara maksimumu apsorpcije osnovne forme boje<sup>3</sup>. U ovom radu, pH vrednost u reakcionoj smeši pre dodavanja enzima podešena je na 8,2, finalna koncentracija 3-nitrofenola u reakcionoj smeši koja je korišćena je 1,45 mM, talasna dužina na kojoj je merena apsorbanacija boje je 405 nm. Rastvor supstrata je pripremljen praviljenjem stabilne emulzije lecitina tako da su finalne koncentracije u rastvoru 4 mM lecitina u 4 mM natrijum deoksiholatu, 100 mM natrijum hloridu i 10 mM kalcijum hloridu. U reakcionu smešu dodavano je po 100 µL enzima u opsegu količina od 0,1 do 5 mg. Reakciona smeša inkubirana je na sobnoj temperaturi 15 minuta. Nakon isteka vremena inkubacije izmerena je apsorbanacija na 405 nm u svakom uzorku naspram slepe probe. Kao slepa proba korišćena je emulzija supstrata bez dodatog indikatora. Referentna apsorbanacija je apsorbanacija emulzije supstrata sa dodatim indikatorom naspram slepe probe. Od referentne vrednosti apsorbanacije oduzimaju se vrednosti apsorbanacije nakon reakcije, a kao rezultat dobija se smanjenje apsorbanacije ΔA. Konstruiše se grafik zavisnosti ΔA od količine dodatog enzima, slika 1. Sa linearnog dela grafika odredi se vrednost poromene apsorbanacije po miligramu dodatog enzima. Tako je enzimski aktivnost izražena kao smanjenje apsorbanacije po minuti po mg fosfolipaze. Ova aktivnost može da se prevede u µmole otpuštenih masnih kiselina po minuti po mg fosfolipaze, što je mereno u odnosu na opadanje apsorbanacije koje je posledica dodavanja poznate količine kiseline. U ovom radu dobijena je pomena apsorbanacije od 1,19 za 1 µmol hlorovodonične kiseline. Na osnovu toga određeno je da je specifična aktivnost fosfolipaze A<sub>2</sub> 0,036 U/mg. Dobijena je znatno manja aktivnost fosfolipaze A<sub>2</sub> u odnosu na komercijalno

dostupnu fosfolipazu A<sub>2</sub> čija je vrednost aktivnosti po proizvođaču 163 U/mg. Pored mogućnosti da je enzim izgubio deo aktivnosti u toku transporta i čuvanja, postoje dodatni problemi vezani za sam esej, koji mogu dovesti do ovog rezultata. Naime, hidrofobne boje mogu da inhibiraju enzim i pK boje može da se menja ako se boja inkorporira u micele koje mogu nastati od supstrata fosfolipida.



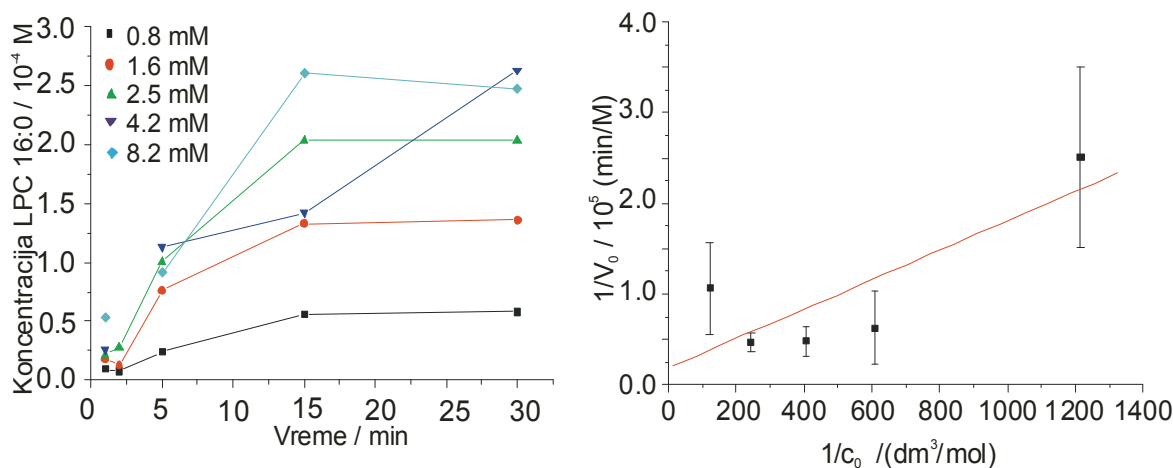
Slika 1: Grafik zavisnosti  $\Delta A$  pH indikatora od količine dodatog enzima fosfolipaze A<sub>2</sub>

Na osnovu prethodnih rezultata, može se pretpostaviti da bi MALDI TOF masena spektrometrija mogao biti bolji metod za određivanje aktivnosti fosfolipaze, jer bi se izbegle greške nastale usled korišćenja boje. Priprema eksperimenta za MALDI-TOF MS merenje je jednostavna i ne zahteva mnogo vremena, zbog čega je ova metoda pogodna i za ispitivanje uticaja prisustva različitih molekula na enzimsku aktivnost. Aktivnost fosfolipaze A<sub>2</sub> se u ovoj, relativno novoj metodi prati preko porasta količine produkta enzimski katalisane digestije fosfolipida<sup>6,7</sup>. Naime, dejstvo enzima se ogleda u digestiji supstrata – fosfolipida izolovanih iz kokošijeg jajeta, pri čemu dolazi do oslobađanja masne kiseline i odgovarajućeg lizolipida čija se promena količine u masenom spektru prati, kao što je prikazano na slici 2.



Slika 2. MALDI TOF spektar lipida, lizolipida i unutrašnjeg standarda za različita vremena inkubacije sa enzimom fosfolipaza A<sub>2</sub>

Dobijanje kinetičkih parametara za fosfolipazu A<sub>2</sub> podrazumevalo je kvantitativnu analizu MALDI TOF uređajem i upotrebu unutrašnjeg standarda<sup>8</sup>. Unutrašnji standard je morao da zadovolji nekoliko uslova: da nije prisutan u masenom spektru čistog supstrata; da se *m/z* vrednost pikova unutrašnjeg standarda ne poklapa sa *m/z* vrednostima proizvoda ili drugih komponenata u smeši, da bude inertan i po svojim fizičko hemijskim osobinama što sličniji proizvodu reakcije čiju promenu količine merimo. Priprema uzoraka je podrazumevala pravljenje nekoliko rastvora sa različitim početnim koncentracijama supstrata-fosfolipida u smeši Tris pufera (pH = 8,5), NaCl (100 mM), CaCl<sub>2</sub> (5 mM) i deterdženta deoksiholata (5,4 mM). Inkubacija istom količinom enzima PLA<sub>2</sub> (0,0125 mg/ml) izvođena je za različite vremenske intervale (0,5, 1, 5, 10, 30 min) i za različite početne koncentracije supstrata. Inkubacija je prekidana dodavanjem uvek iste količine unutrašnjeg standarda, a zatim dodavanjem smeše hloroforma i metanola (1:1, v:v), koja osim što inhibira enzim, fizički razdvaja supstrat, unutrašnji standard i produkte reakcije u organskom sloju i enzim u neorganskom sloju početne smeše. Posle kratkog vorteksa i centrifugiranja, hloroformski sloj se uparava i direktno rastvara u matrici DHB (2,5-dihydroxybenzoic acid) i nanosi na MALDI pločicu kao uzorak. Nakon snimanja masenih spektara, praćeno je povećanje koncentracije lizolipida LPC 16:0, u odnosu na poznatu koncentraciju unutrašnjeg standarda LPC 14:0. Maseni pikovi produkta lizolipida LPC 16:0 imaju *m/z* vrednosti 496,3 i 518,3 za vodonični i natrijumov adukt respektivno, dok maseni pikovi lizolipida LPC 14:0, korišćenog kao unutrašnji standard imaju *m/z* vrednosti 468,1 i 490,3 za vodonični i natrijumov jon, redom.



Slika 3. Određivanje kinetičkih parametara  $K_m$  i  $V_{max}$  za fosfolipazu A<sub>2</sub>

Za dobijanje kinetičkih parametara  $V_{max}$  i  $K_m$ , najpre se koncentracije formiranog proizvoda LPC 16:0, izračunate u odnosu na poznatu koncentraciju unutrašnjeg standarda predstave u zavisnosti od vremena za različite početne koncentracije supstrata i odrede se početne brzine reakcije iz nagiba linearizovanih pravih. Zatim se recipročne vrednosti, tako dobijenih početnih brzina predstave u zavisnosti od recipročnih vrednosti početnih koncentracija supstrata i konstruiše se Lineaweaver-Burk dijagram (Slika 3). Iz odsečka se preračuna vrednost za  $V_{max}$  ( $5,33 \pm 1,28$ )  $\cdot 10^{-5}$  M/min, a iz nagiba se dobija vrednost za  $K_m$  ( $8,63 \pm 3,62$ )  $\cdot 10^{-3}$  M (Slika 3).

### Zaključak

Fosfolipaza A<sub>2</sub> ima ključnu ulogu u procesima koji održavaju homeostazu ćelijske membrane i veoma je važno ustanoviti adekvatan i jednostavan esej za određivanje njene aktivnosti. U ovom radu upoređeni su kolorimetrijski esej i esej upotrebom masene MALDI TOF spektrometrije. Kolorimetrijski esej je pokazao nekoliko nedostataka. Pre svega, nije pogodan za određivanje kinetičkih parametara fosfolipaze A<sub>2</sub>. Jedan kolorimetrijski esej zahteva veliku količinu enzima i supstrata. Jedan od značajnijih problema za kolorimetrijsko određivanje aktivnosti fosfolipaze A<sub>2</sub> to što je supstrat nerastvoran u vodi. Tokom pripremanja stabilne emulzije supstrata moguće je da dolazi do spontane hidrolize supstrata, a upotreba deterdženta umanjuje homogenost rastvora i utiče na reproducibilnost rezultata. S druge strane, MALDI TOF MS je brza, efikasna, jeftina i pouzdana metoda za proveru aktivnosti fosfolipaze. Upotreba unutrašnjeg standarda i posebna eksperimentalna procedura u pripremi uzoraka i snimanju spektara, omogućavaju primenu ove meke jonizacione tehnike za kvantitativnu analizu i određivanje kinetičkih parametara. Snimanje spektara je veoma brzo, dok se proizvod hidrolize fosfatidilholina katalizovane fosfolipazom A<sub>2</sub> nalazi u pikomolarnom opsegu koncentracija.

## Comparison of colorimetric and mass spectrometric assays to determine the activity of pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>

*Phospholipase A<sub>2</sub> belongs to very large class of enzymes with the important role in cell membrane systems. Several activity assays are established, differing in sensitivity, simplicity and duration of experiment. The main problem is that most assays require chromogenic or radioactive labelling of substrate which can affect the enzyme activity and is not cost-effective. On the other hand, mass spectrometry is attractive method for determining the phospholipase A<sub>2</sub> activity, since it doesn't require substrate labelling, it is not time consuming, it is easy to perform and enables determination of kinetic parameters, using suitable internal standard. In this work, advantages of MALDI TOF MS assay in compare to colorimetric assay of phospholipase A<sub>2</sub> are described.*

### Literatura:

1. J. Burke, E. Dennis, *J. Lipid Res.* **50**. (2009) 237;
2. D. Six, E. Dennis, *BBA*, **1488**. (2000) 1;
3. De Araljio, F. Radvany, *Toxicon*, **25**. (1987) 1181;
4. M. Petković, *Primena MALDI TOF masene spektrometrije u analizi lipida i fosfolipida*, Izadvačko-štamarsko društvo "Cicero", Beograd, Srbija, 2010, 151;
5. L. Cohen, A. Gusev, *ABC*, **373**. (2002) 571;
6. M. Petković, J. Müller, M. Müller, J. Schiller, K. Arnold, J. Arnhold, *Anal. Biochem.* **308**. (2002) 61;
7. J. Schiller, R. Süb, J. Arnhold, B. Fuchs, J. LeBig, M. Müller, M. Petković, H. Spalteholz, O. Zschörnig, K. Arnold, *Prog. Lipid Re.s* **43**. (2004) 449;
8. M. W. Duncan, G. Martinović, A.C. Poljak, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **7**. (1993) 1090.

## Modeling Dopamine D2 Receptor Second Extracellular Loop

Vladimir Šukalović, Jelena Penjišević, Goran Roglić\*, Deana Andrić\*, Vukić Šoškić\*\*, Slađana Kostić-Rajačić

*ICTM Center for Chemistry, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia*

*\*Hemijski fakultet, Studentski trg 14-16, 11000 Belgrade, Serbia*

*\*\*Proteosys AG, 55129 Mainz, Germany*

### Introduction

The Dopamine (DA) receptor system has been aggressively targeted for drug development in the treatment of psychiatric illnesses, neurodegeneration, drug abuse, and other therapeutic areas<sup>1,2</sup>. Although the biophysical and pharmacological properties of D2 DA receptors have been subject of a number of studies<sup>3</sup>, many questions remain unresolved due to the lack of data on its three-dimensional structures and other experimental limitations.

In this paper we will focus on the D2 DA receptor extracellular loop area, particularly ecl2. Due to the fact that the crystal structures of D2 DA receptors and ligands are not available, *in silico* methods were used to gain further insight into the binding interactions between D2 DA receptors extracellular loop area and a series of dopaminergic arylpiperazines.

### Experimental

#### *Ligand Construction*

Ligand 3D structures were generated using the Discovery Studio program<sup>4</sup>. Assuming physiological conditions, the basic aliphatic nitrogen atom of the piperazine was protonated. The geometry was optimized using the CHARMM force field applying the conjugate gradient method until the energy difference between successive cycles was below 0.01 kcal/mol.

#### *Molecular Modeling of D2 Dopamine Receptor Extracellular Loops*

Starting point for molecular modeling was the currently accepted loop-less dopamine D2 receptor model<sup>5</sup>. Discovery Studio program package Loop Refinement was used to model D2 DA receptor loops sequences. Missing loops sequences were aligned with the D2 receptor sequence and this alignment was supplied along with the 3D coordinates of the templates as an input to the program. A key determinant of the correct orientation of the extracellular loops is the constraint imposed by a disulfide bond between the ecl2 and the top of TM domain 3. The Discovery Studio Loop Refinement uses Looper and CHARMM based molecular mechanics to generate multiple energy optimized variants of a selected segment by satisfying disulfide bond and spatial restraints. In order to obtain a relaxed conformation, the models generated were initially subjected to an energy minimization process by using the conjugate gradient method for about 4000 iterations and to 2-ns isothermal, constant-volume MD simulation, with CHARMM all-hydrogen amino acid parameters in the Discovery Studio program running on a PC workstation<sup>6</sup>. To assess the quality of the minimized models, PROTEINCHECK analysis was also undertaken. Here, we considered two aspects in choosing the best possible model: the receptor "energy minima" and the maximum number of receptor-ligand interactions.

#### *Docking Analysis*

Docking of the selected ligands presented in Table 1 was done by simulated annealing using the Affinity module from Discovery Studio module Libdock<sup>7</sup> on the PC workstation<sup>6</sup>. All ligands were docked as protonated, using the CHARMM force field. Amino acid residues charges were adjusted where needed. The protein binding site was determined by combining results from experimental data and the Discovery Studio bind site analysis module<sup>5</sup>. Initial position of the ligand in the binding site, was arbitrary, while protonated nitrogen on the ligand part was kept in close proximity of Asp 86 of the D2 receptor. After initial ligand placement, no further constraints were applied and the docking procedure based on Monte-Carlo methodology was carried out. Up to 100 structures were produced in every run and each finally optimized in order to remove steric interaction with a gradient limit of 0.0042 kJ/mol or 4000 optimization steps.

Obtained docked structures were examined, and those with the lowest total energy were further filtered to obtain docking structures with the best ligand fit. We selected structures based on the following criteria:

lowest total energy of the complex, shortest salt bridge formed between Asp 86 of the D2 receptor, and proton on nitrogen, chair conformation of arylpiperazine ring, and *N*-aryl part of the molecule positioned in the rear hydrophobic pocket of the receptor. After an initial criterion was satisfied, the second step was examination of different interactions that can be formed between receptor and ligand (hydrogen bonds, aromatic–aromatic interactions, etc.). In that way, the best possible docking structures were selected. Structures were visualized using DS Visualise v2.0<sup>8</sup> and obtained images were rendered using PovRay Raytracer v3.6<sup>9</sup>.

## Results and discussion

Receptor loop modeling is a challenging task, because, in contrast to  $\alpha$ -helix or  $\beta$ -sheet they do not have well defined 3D templates, and one has to carefully decide, how to make differentiate between a myriad of possible conformations.

Initial attempts to model the D2 receptor with loops *in silico*, using different existing templates, failed to produce a viable model. Construction of ecls should be done with care and guided by receptor-specific experimental data, rather than carried out in a high-throughput fashion and derived directly from the known crystal structure<sup>10</sup>. In order to solve this problem, we used docking analysis. Modeling of ecl2 was done as described in the experimental part. Generated DA D2 receptor models, with extracellular loops, were tested using docking analysis, until a satisfactory model that can explain binding and activities of selected ligands was obtained (Table 1). Preliminary ligand docking was done without any constrains in order to allow the ligand to position itself freely inside the binding site. After satisfactory ligand orientation was obtained (salt bridge formation between ASP 86 and protonated ligand nitrogen atom, *N*-aryl moiety positioned inside the hydrophobic pocket formed by PHE178, TRP182 and TYR212, one or more hydrogen bonds formed with SER 141 and/or SER 149), we applied fixed atom constrains on receptor amino acids backbone, excluding those in ecls, that are left to move freely. An additional docking run was executed, that allowed optimal positioning of ecl2 amino acid residues and the ligand. At the end, molecular dynamics calculation, followed by energy minimization was performed. All selected ligands, could bind into the proposed D2 DA receptor model and form interactions with the ecl2 loop amino acid residues. Ligand 7 was the bulkiest ligand, with high receptor affinity (Figure 1). Its large hydrophobic head had to be docked into the appropriate hydrophobic receptor pocket formed by the amino acid residues LEU125, LEU126, VAL146, PHE144, HIS189, ILE190. Head of the ligand can form a number of hydrophobic interactions in this case. Special attention should be given to PHE144 and HIS189, as they are in range that could lead to formation of edge-to-face (etf) interactions. Those interactions together with hydrogen bonding, with SER122, are responsible for the ligand's high affinity.

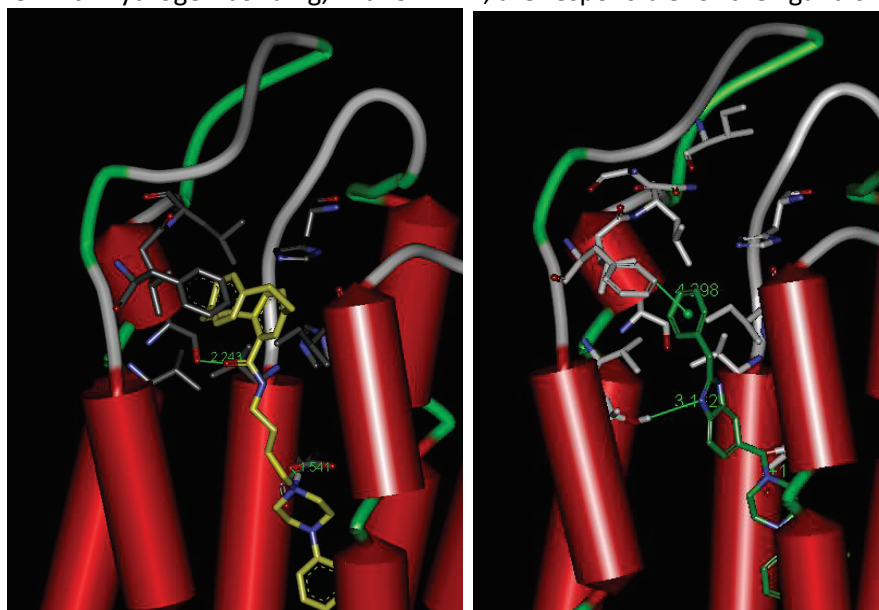
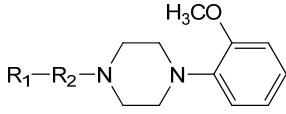
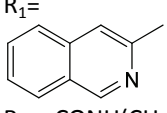
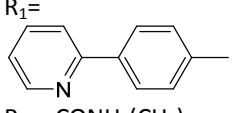
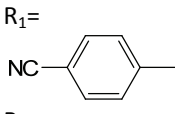
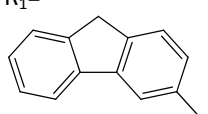
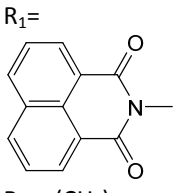
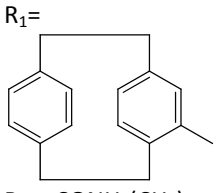
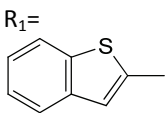
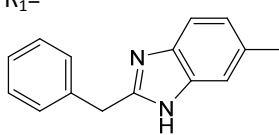


Figure 1: Docking results for ligands 7 (left) and 8 (right). Bulky ligand head segment is positioned inside the hydrophobic pocket, formed by LEU125, LEU126, VAL146, PHE144, HIS189, ILE190. Only key amino acid residues are shown.

Table 1. Arylpiperazine ligands, used in the docking analysis.  $R_1$  – Head part of the ligand,  $R_2$  – Linker part of the ligand. Tail part of the ligand was kept unchanged.

							
No	Ligand	Ki (nM)	Ref.	No	Ligand	Ki (nM)	Ref.
1	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CONH}(\text{CH}_2)_4-$	75+/-12	11	5	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CONH}(\text{CH}_2)_4-$	28+/-6	14
2	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CH}=\text{CH}-\text{CONH}(\text{CH}_2)_4-$	10+/-0.7	12	6	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CONH}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$	48+/-7	14
3	$R_1 =$  $R_2 = -(\text{CH}_2)_4-$	40+/-3	12	7	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CONH}(\text{CH}_2)_4-$	15+/-1	15
4	$R_1 =$  $R_2 = -\text{CONH}(\text{CH}_2)_4-$	21+/-2	13	8	$R_1 =$  $R_2 = -(\text{CH}_2)_2-$	2.9+/-1	16

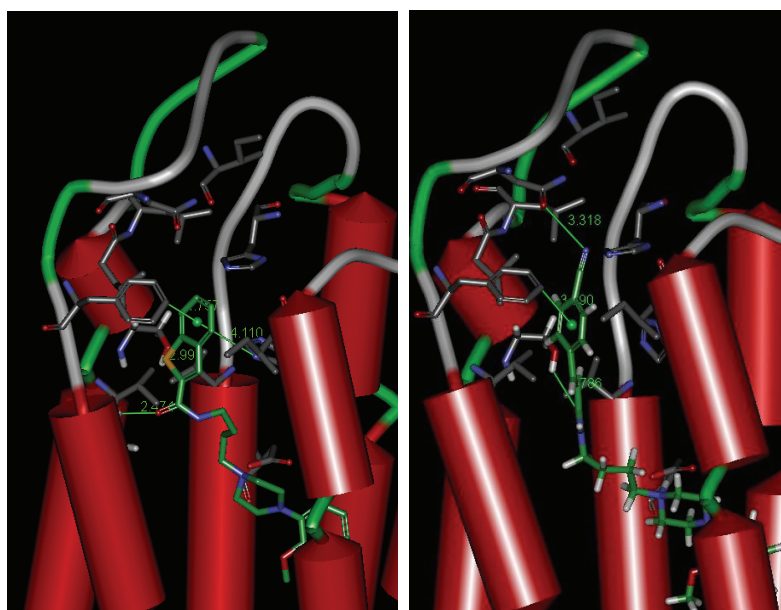


Figure 2: Ligands 4 (left) and 2 (right) docked into the D2 receptor. Only key amino acid residues are shown.

Ligands that have hydrophobic groups in the head part, (1, 3-8) bind to the hydrophobic pocket, that is formed in part by ecl2 (Figure 2). This is the same pocket occupied by ligand 7. Depending on ligand structure the docking analysis revealed possible interactions between PHE144 (edge-to-face), and HYS189 on TM6 (NH $\cdots$  $\pi$  or CH $\cdots$  $\pi$  interactions). Ligand 2 (Figure 2), was somewhat different, as its head part contained a group capable of hydrogen bonding. In the case of this ligand, in addition to the already listed interactions, hydrogen bonding with ASN135 in ecl2 can account for their activity. Ligands from Table 1. form one or more interactions with ecl2, based on their structure, and these interactions are responsible for their activity. For example ligands 1, 3-8 form aromatic interactions with hydrophobic amino acid residues. These interactions may include edge-to-face interactions with PHE144 and HIS189. Ligand 2 can form an additional hydrogen bond, with ASN135. Ligands 3 and 4 can benefit from the listed aromatic interactions and hydrogen bonding with SER122 (Figure 2).

## Discussion

The primary aim of the current study was to build a new D2 DA receptor model that includes ecl2 which is capable of explaining the existing experimentally obtained affinity data for bulky arylpiperazine type ligands. During the modeling process, we observed that a number of key amino acid residues, located in the ecl2, can form interactions with arylpiperazine ligands. These include aromatic interactions with PHE144, LEU125, LEU126, VAL146 and ILE190 and polar ones with ASN135. The aromatic interactions are most likely of the  $\pi$ - $\pi$  type with PHE144 or CH $\cdots$  $\pi$  (or NH $\cdots$  $\pi$ ) interactions with HIS189. The polar interaction with ASN135 could also be responsible for the high binding affinity of ligands with the corresponding functional groups. Size of the ligand was found to be important. Short ligands will not benefit from interactions with ecl2, while too long ligands will suffer from steric interactions with amino acid residues of the loop. Head part of the ligand should have at least one aromatic ring, but systems with two or more aromatic rings are well tolerated unless maximum allowed length of the ligand is reached. High affinity can be achieved by aromatic interactions alone or together with polar-type interactions. Linker part of the ligand should be as flexible as possible, since its primary function is to achieve optimum positioning of the head part, into the space formed by ecl2. For the sake of verification of the here proposed D2 DA receptor model further work on the target driven synthesis of the new ligand that can distinguish between proposed molecular interactions are necessary. The final goal is to obtain a workable D2 DA receptor model that would facilitate the design of new specific dopaminergic drugs.

I wish to thank to all the people that are still sticking with me in this turbulent times.

## Modelovanje druge ekstracelularne petlje dopaminskog D2 receptora

*Druga ekstracelularna petlja dopaminskog D2 receptora je esencijalni deo vezivnog mesta ovog receptora. Da bi sa gornje strane ograničila vezivno mesta receptora, ona mora da se savije nadole, i orijentiše ka transmembranskom domenu dopaminskog receptora. U ovom radu opisan je proces modelovanja druge ekstracelularne petlje dopaminskog D2 receptora i njene interakcije sa arilpiperazinskim ligandima. Model receptora je modelovan uz pomoć Accelrys Discovery Studio paketa programa. Predloženi model je testiran doking analizom literaturno dostupnih liganada i poređenjem dobijenih rezultata sa njihovim afinitetom vezivanja za D2 receptor. Određeni su amino-kiselinski ostaci, koji stupaju u interakcije sa ligandima. Ključne interakcije su definisane i upoređene sa afinitetima liganada ka receptoru, kako bi se predloženim modelom objasnile razlike u eksperimentalnim rezultatima. Naša istraživanja su pokazala da druga ekstracelularna petlja dopaminskog D2 receptora, može stupati u različite interakcije sa arilpiperazinskim ligandima koje između ostalih uključuju hidrofobne i aromatične interakcije, ali i vodnonične veze. Ova saznanja, u kombinaciji sa predloženim modelom D2 receptora, koji uključuje ekstracelularne petlje, može biti od velike koristi prilikom budućeg dizajna novih dopaminergičkih liganada.*

## Reference

1. G. Emilien, J. Maloteaux, M. Geurts, K. Hoogenberg, S. Cragg, *Pharmacol. Ther.*, **84** (1999) 133.
2. C. Missale, S. R. Nash, S. W. Robinson, M. Jaber, M. G. Caron, *Physiol. Rev.*, **78** (1998) 189.
3. J. A. Javitch, D. Fu, J. Chen, A. Karlin, *Neuron*, **14** (1995) 825.
4. Accelrys Software Inc., *Discovery Studio Modeling Environment, Release 2.5*, San Diego: Accelrys Software Inc., 2009.
5. V. Sukalovic, M. Zlatovic, D. Andric, G. Roglic, S. Kostic-Rajacic, V. Soskic, *Arzneimittel-Forschung*, **55** (2005) 145.
6. Intel Quad-Core CPU 2.4GHz, 4GB Ram, ATI Radeon HD Graphics.



7. S.N. Rao, M.S. Head, A. Kulkarni, J. M. Lalonde, *J. Chem. Inf. Model.*, **47** (2007) 2159.
8. Discovery Studio Visualiser 2.5.1, Accelrys Software Inc., *Discovery Studio Modeling Environment, Release 2.5*, San Diego: Accelrys Software Inc., 2009.
9. Pov-Ray The Persistence of Vision Ray-Tracer, 2003-2007, <http://www.povray.org/>
10. C. De Graaf, N. Foata, O. Engkvist, D. Rognan, *Proteins*, **71** (2008) 599.
11. G. Campiani, S. Butini, F. Trotta, C. Fattorusso, B. Catalanotti, F. Aiello, S. Gemma, V. Nacci, E. Novellino, J. A. Stark, A. Cagnotto, E. Fumagalli, F. Carnovali, L. Cervo, T. Mennini, *J. Med. Chem.*, **46** (2003) 3822.
12. A. Hackling, R. Ghosh, S. Perachon, A. Mann, H. Holtje, C. G. Wermuth, J. Schwartz, W. Sippl, P. Sokoloff, H. Stark., *J. Med. Chem.*, **46** (2003) 3883.
13. A. H. Newman, P. Grundt, G. Cyriac, J. R. Deschamps, M. Taylor, R. Kumar, D. Ho, R. R. Luedtke, *J. Med. Chem.*, **52** (2009) 2559.
14. P. Grundt, E. E. Carlson, J. Cao, C. J. Bennett, E. McElveen, M. Taylor, R. R. Luedtke, A. H. Newman, *J. Med. Chem.*, **48** (2005) 839.
15. K. Schlotter, F. Boeckler, H. Hubner, P. Gmeiner, *J. Med Chem.*, **49** (2006) 3628.
16. S. Kostic-Rajacic, V. Soskic, J. Joksimovic, *Arch. Pharm.*, **331** (1998) 22.

## Termodinamička analiza razvijanja izoforni eksterne invertaze

Uroš Ž. Andjelković, Jurij Lah\*

*Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Centar za hemiju, Univerzitet u Beogradu, Srbija  
(uros@chem.bg.ac.rs)*

*\*Fakultet za hemiju i hemijsku tehnologiju, Katedra za fizičku hemiju, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija  
(jurij.lah@fkkt.uni-lj.si)*

### Uvod

Određivanje termodinamičkih parametara ( $\Delta G^{\circ}$ ,  $\Delta H^{\circ}$ ,  $T\Delta S^{\circ}$ ,  $\Delta C_p^{\circ}$ ) koji karakterišu strukturne promene u biomolekulskim sistemima omogućava nam da predvidimo ponašanje ovih sistema u različitim uslovima. Ovo su univerzalne veličine koje omogućavaju poređenje različitih sistema i procenjivanje njihovih osobina. Tako je na primer standardna slobodna energija razvijanja (denaturacije) na datoj temperaturi opšta mera stabilnosti proteina. Termodinamički parametri mogu biti dovedeni u vezu sa strukturnim osobinama i potencijalno iskorišćeni za procenu doprinosa različitih unutarmolekulskih i međumolekulskih interakcija koje upravljaju konformacionim promenama i interakcijama između makromolekula. Termodinamički profili razvijanja predstavljaju pouzdanu meru stabilnosti i omogućavaju pronalaženje načina za poboljšanje stabilnosti<sup>1</sup>.

Nedavno su izolovane četiri izoforme enzima eksterne invertaze kvasca *S. cerevisiae* (EC 3.2.1.26)<sup>2</sup>. Kao i brojni drugi vanćelijski proteini kvasaca eksterna invertaza iz *S. cerevisiae* je glikozilovana. Aminokiselinska sekvencija invertaze sadrži 14 potencijalnih mesta glikozilovanja (Asn-X-Ser ili Asn-X-Thr, gde X može biti bilo koja aminokiselina osim Pro ili Asp) od kojih je 13 potpuno ili delimično glikozilovano. Eksterna invertaza je aktivna kao homodimer. Prosečno je 9 - 10 oligomanoznih lanaca po jednoj podjedinici<sup>3</sup>. Približno 50% molekulske mase eksterne invertaze čini manan i oko 3% glukozamin<sup>4</sup>. Na određenim mestima na oligomanoznom lancima mogu se naći vezane fosfatne grupe<sup>5</sup>.

Izoforme eksterne invertaze imaju identične proteinske delove molekula, a razlike između izoforni potiču od posttranslacionih modifikacija<sup>2</sup>. Najveći deo, 95% fosfata vezanog za oligomanozne lance je diestarski vezan za dve manoze, dok je preostalih 5% vezano u obliku monofosfata<sup>6</sup>. Izoforme su izolovane na osnovu različitog afiniteta vezivanja za pozitivno naelektrisanu jonoizmenjivačku kolonu (Q-Sepharose). Osobine molekula proteina koje utiču na afinitet vezivanja za jonoizmenjivačku kolonu su distribucija i gustina naelektrisanja na površini proteina.

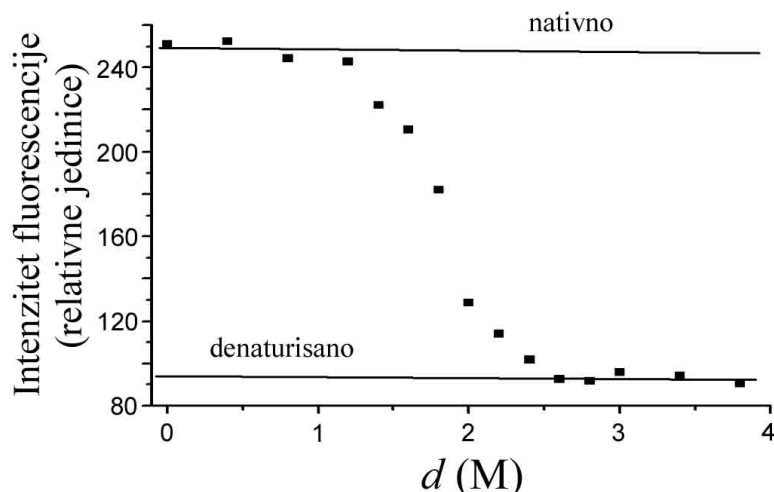
Izoforni se razlikuju u termalnoj stabilnosti, stabilnosti u nekim organskim rastvaračima i pokazuju različitu hemijsku reaktivnost<sup>2</sup>.

Da bismo bolje razumeli različitu stabilnost, mehanizam razvijanja i kvantifikovali stabilnost primenili smo globalnu termodinamičku analizu razvijanja izoforni koje je indukovano gvanidnijum-hloridom (GdmCl). Određen je entalpijski i entropijski doprinos slobodnoj energiji denaturacije. Diskutovan je uticaj različite gustine naelektrisanja na površini izoforni na termodinamičku stabilnost. Takođe, diskutovan je značaj termodinamičke analize za primenu ovog enzima.

### Rezultati i diskusija

Termodinamički parametri razvijanja izoforni dobijeni su globalnom termodinamičkom analizom kriva razvijanja. Krive razvijanja izoforni koje je indukovano gvanidnijum-hloridom dobijene su praćenjem promene unutrašnje fluorescencijne emisije na 340 nm pri temperaturi  $T$  i koncentraciji GdmCl  $d$  (Slika 1).

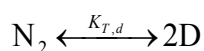
Termodinamička analiza strukturnih prelaza biomolekula koja se zasniva na modelu je priznata i često korišćena metoda. Najčešće se primenjuje analiza korak po korak („step-by-step“) pojedinačnih kriva dobijenih iz različitih eksperimenata. Obzirom da bi sve krive koje opisuju sistem trebale biti vođene istim termodinamičkim parametrima može se primeniti simultano (globalno) podešavanje korišćenjem jednog skupa parametara koji najbolje opisuju ceo set eksperimentalnih podataka. Globalna termodinamička analiza daje preciznije parametre i omogućava veću pouzdanost u model koji je u stanju da opiše sve eksperimentalne podatke simultano<sup>1</sup>.



Slika 1. Razvijanje izoforni eksterne invertaze indukovano GdmCl praćeno fluorescentnom spektroskopijom. Pre- i post- tranzicione bazne linije definišu intenzitet fluorescentne emisije nativnog i denaturisanog stanja za čitav opseg koncentracija GdmCl.

Eksterna invertaza kvasca *S. cerevisiae* u rastvoru pufera nalazi se u obliku homodimera što je njen nativni oblik. U koncentrovanim rastvorima GdmCl je denaturisana i nalazi se u obliku monomera <sup>7</sup>.

Ravijanje izoforni eksterne invertaze indukovano GdmCl može se opisati reverzibilnim modelom dva stanja <sup>7</sup>:



Data konstanta ravnoteže  $K_{T,d}$  je funkcija temperature ( $T$ ) i koncentracije GdmCl ( $d$ ) i može se definisati kao:

$$K_{T,d} = \frac{[D]^2}{[N_2]} = \frac{\alpha_{T,d}^2}{1 - \alpha_{T,d}} 2c \quad (1)$$

gde je  $\alpha_{T,d}$  udeo proteina u denaturisanom stanju na datoj  $T$  i  $d$  ( $\alpha_{T,d} = 2[N_2]/c$ , gde je  $c$  ukupna molarna koncentracija proteina (monomera)), a  $[N_2]$  i  $[D]$  su molarne koncentracije  $N_2$  i  $D$ . Prema modelu  $c = 2[N_2] + [D]$  i intenzitetu emisije fluorescencije ( $FL_{\lambda,T,d}$ ) merenom na datoj ekscitacionoj talasnoj dužini,  $\lambda$ ,  $T$  i  $d$  mogu biti izraženi u obliku odogvarajućih doprinosa  $FL_{N,\lambda,T,d}$  i  $FL_{D,\lambda,T,d}$  koji su karakteristika čistih stanja  $N_2$  i  $D$  pri datoj koncentraciji  $c$ , kao:

$$FL_{\lambda,T,d} = FL_{N,\lambda,T,d}(1 - \alpha_{T,d}) + FL_{D,\lambda,T,d}\alpha_{T,d} \quad (2)$$

pošto  $FL_{N,\lambda,T,d}$  i  $FL_{D,\lambda,T,d}$  mogu biti procenjeni na bilo kojoj merenoj  $T$  kao linearne funkcije  $d$  (pre- i post-tranzicione bazne linije; slika br. 1, mereni  $\alpha_{T,d}$  može biti izražen kao

$$\alpha_{T,d} = \frac{FL_{\lambda,T,d} - FL_{N,\lambda,T,d}}{FL_{D,\lambda,T,d} - FL_{N,\lambda,T,d}} \quad (3)$$

sa druge strane,  $\alpha_{T,d}$  može se povezati sa termodinamikom razvijanja preko tranzicionog modela dva stanja (jednačina 3) prema kome linearna zavisnost standardne Gibsove slobodne energije razvijanja ( $\Delta G_{T,d}^0$ ) pri  $d$  može biti na bilo kojoj  $T$  izražena kao:

$$\Delta G_{T,d}^0 = \Delta G_T^0 - m \cdot d \quad (4)$$

gde je  $m$  empirijski faktor koji je u korelaciji sa površinom proteina izloženom rastvaraču prilikom razvijanja i pretpostavlja se da je nezavisan od temperature.  $\Delta G_T^0$  je standardna Gibsova slobodna energija razvijanja u odsustvu denaturansa ( $d = 0$ ) koja može biti izražena u obliku odogvarajuće standardne Gibsove slobodne

nergije ( $\Delta G_{T_0}^{\circ}$ ) i standardne entalpije ( $\Delta H_{T_0}^{\circ}$ ) na referentnoj temperaturi  $T_0 = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  i standardnog toplotnog kapaciteta razvijanja ( $\Delta C_P^{\circ}$ ) (pretpostavlja se da je temperaturno nezavisan) preko Gibbs - Helmholtz-ove jednačine:

$$\Delta G_T^{\circ} = T \left\{ \frac{\Delta G_{T_0}^{\circ}}{T_0} + \Delta H_{T_0}^{\circ} \left[ \frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right] + \Delta C_P^{\circ} \left[ 1 - \frac{T_0}{T} - \ln \frac{T}{T_0} \right] \right\} \quad (5)$$

Iz jednačina 7 i 8 sledi da parametri modela  $\Delta G_{T_0}^{\circ}$ ,  $\Delta H_{T_0}^{\circ}$ ,  $\Delta C_P^{\circ}$  i  $m$  definišu  $\Delta G_{T,d}^{\circ}$ , takođe i odgovarajuću  $K_{T,d}$  ( $K_{T,d} = \exp(-\Delta G_{T,d}^{\circ} / RT)$ ). Posledično, modelna funkcija za  $\alpha_{T,d}$  izvedena iz jednačine 4 kao:

$$\alpha_{T,d} = \sqrt{\left( \frac{K_{T,d}}{4c} \right)^2 + \frac{K_{T,d}}{2c} - \frac{K_{T,d}}{4c}} \quad (6)$$

može biti upoređena sa  $\alpha_{T,d}$  vrednostima određenim eksperimentalno iz jednačine 6. Vrednosti parametara dobijeni su korišćenjem procedure nelinearne Levenberg–Marquardt regresije. Potom su vrednosti  $\Delta G_{T_0}^{\circ}$ ,  $\Delta H_{T_0}^{\circ}$  i  $\Delta C_P^{\circ}$  dobijene kao najbolje globalno podešene iskorišćene za procenu  $\Delta G_T^{\circ}$  (iz jednačine 8),  $\Delta H_T^{\circ}$  iz Kirkhof-ovog zakona

$$\Delta H_T^{\circ} = \Delta H_{T_0}^{\circ} + \Delta C_P^{\circ}(T - T_0) \quad (10)$$

i odgovarajućeg entropijskog doprinosa,  $T\Delta S_T^{\circ}$ , iz opšte relacije

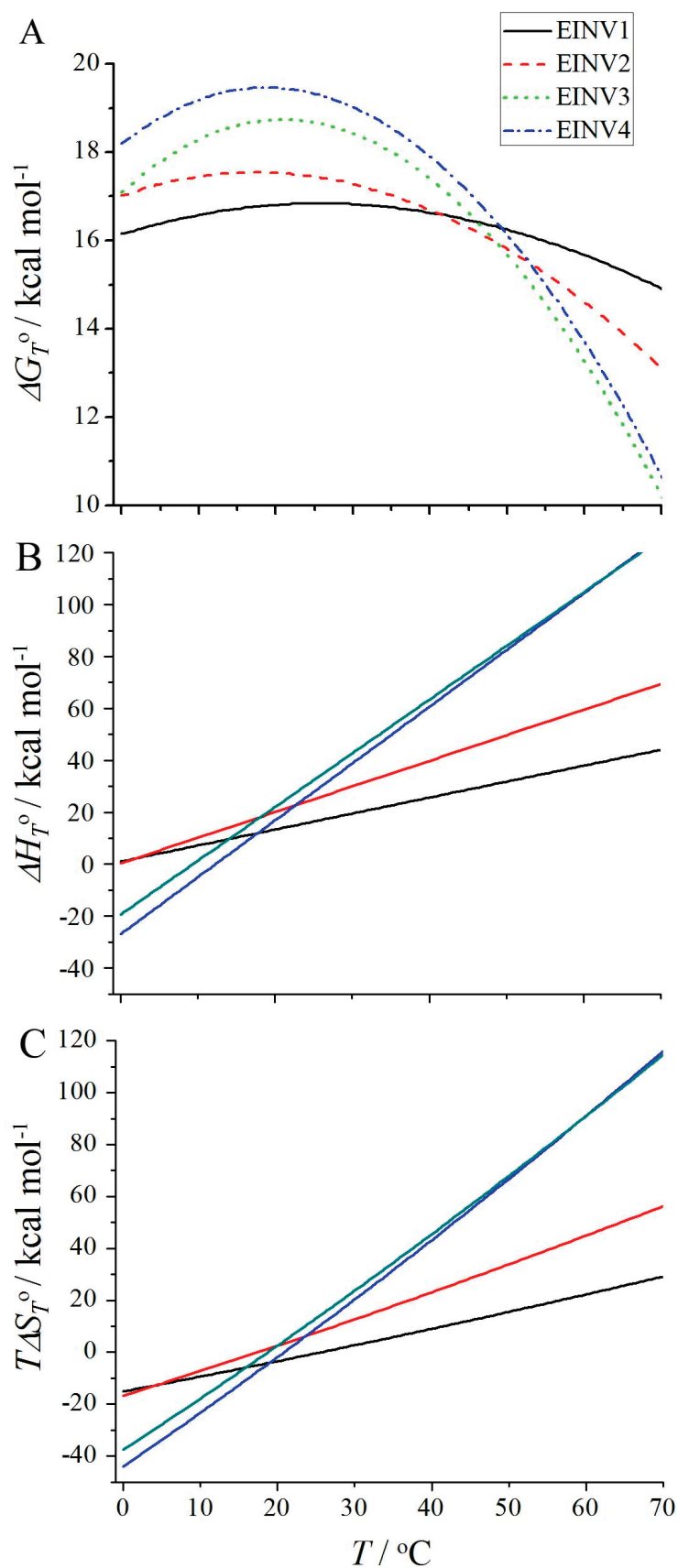
$$\Delta G_T^{\circ} = \Delta H_T^{\circ} - T\Delta S_T^{\circ} \quad (11)$$

Termodinamički profili razvijanja (temperaturne zavisnosti  $\Delta G_T^{\circ}$ ,  $\Delta H_T^{\circ}$  i  $T\Delta S_T^{\circ}$ ) izoformi procenjeni na osnovu parametara koji su globalno najbolje podešeni modelnoj funkciji prikazani su na slici br 2. Uočava se da je najveća stabilnost izoformi između 10 i 30  $^{\circ}\text{C}$ . U ovom opsegu temperatura najveću razliku između slobodne energije razvijenog i uvijenog stanja, tj. najveću stabilnost ima izoforma EINV4. Suprotno, na temperaturama iznad 50  $^{\circ}\text{C}$  redosled stabilnosti se menja i najveću stabilnost pokazuje izoforma EINV1. Ovaj rezultat se slaže sa prethodnim istraživanjem gde je pokazano da EINV1 pokazuje veću enzimsku aktivnost od ostalih izoformi na 60  $^{\circ}\text{C}$ . Najveća termodinamička stabilnost izoforme EINV1 na povišenim temperaturama kandiduje ovu izoformu za primenu u industrijskim uslovima.

Rezultati pokazuju da je uvijanje izoformi eksterne invertaze u standardnom stanju na fiziološkim temperaturama entalpijski vođen proces praćen negativnom promenom toplotnog kapaciteta<sup>8</sup>, što je opšta osobina globularnih proteina.

Interesantna osobina izoformi eksterne invertaze je da su termodinamički parametri razvijanja u korelaciji sa gustinom negativnog naelektrisanja na površini izoformi. Gustina negativnog naelektrisanja na površini raste onim redosledom kojim se izoforme eluiraju sa pozitivno naelektrisane jonoizmenjivačke kolone, EINV1 < EINV2 < EINV3 < EINV4. Termodinamička stabilnost, na fiziološkim temperaturama raste istim redosledom, dok na temperaturama iznad 50  $^{\circ}\text{C}$  opada istim redosledom. Zašto ova korelacija postoji teško je reći sa sigurnošću, ali sigurno da razlike u hidrataciji površine proteina imaju ulogu<sup>8</sup>. Ova korelacija potvrđuje da je naelektrisanje površine bitno za stabilnost proteina.

*Zahvalnica:* Zahvaljuje se Univerzitetu u Ljubljani, Ministarstvu nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije – projekat br.172048 i Agenciji za istraživanja Republike Slovenije - projekat br. P1-0201, na finansijskoj pomoći.



Slika 2. Termodinamički profili razvijanja izoformi EINV1 (crna), EINV2 (crvena), EINV3 (zelena) i EINV4 (plava). Standardna Gibsova slobodna energija,  $\Delta G_T^0$ , (A), standardna entalpija,  $\Delta H_T^0$  (B), i odgovarajući doprinos entropije,  $T\Delta S_T^0$ , (C) u odsustvu GdmCl kao funkcija temperature ( $T$ )<sup>8</sup>.

**Literatura:**

1. Drobnak, I., Vesnaver, G., Lah, J., *J.Phys.Chem. B*, **114** (2010) 8713.
2. Andjelković, U., Pićurić, S., Vujčić, Z., *Food Chem.*, **120** (2010) 799.
3. Zeng, C., Biemann, K., *J. Mass Spec.*, **34** (1999) 311.
4. Neumann, N.P. and Lampen, J.O., *Biochemistry*, **6** (1967) 468.
5. Frevert, J., Ballou, C.E., *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, **79** (1982) 6147.
6. Andjelković, U., Scheidt, H., Vujčić, Z., Zbornik radova 48. savetovanje SHD (2010).
7. Kern, G., Kern, D., Jaenicke, R., Seckler, R., *Protein Sci.*, **2** (1993) 1862.
8. Andjelković, U., Lah, J., *J. Agri. Food Chem.* **59** (2011) 727.

**Thermodynamic analysis of unfolding of external invertase isoforms**

*Thermodynamic parameters ( $\Delta G^\circ$ ,  $\Delta H^\circ$ ,  $T\Delta S^\circ$ ,  $\Delta C_p^\circ$ ) were calculated by simultaneous (global) thermodynamic analysis of guanidinium chloride induced unfolding of four, recently isolated, external invertase isoforms. The resulting unfolding curves measured for each isoform at different temperatures were described by a reversible two-state model. Obtained thermodynamic parameters are different for different isoforms. We demonstrate that they correlate with surface charge density of the native isoforms which follows the order  $EINV1 < EINV2 < EINV3 < EINV4$ . Thermodynamic stability of the isoforms at physiological temperatures follows the same order while above 50 °C the order is the opposite  $EINV1 > EINV2 > EINV3 \approx EINV4$ . Yeast *S. cerevisiae* synthesizes mixture of external invertase isoforms. Improving efficiency of industry processes would require isolation of most stable isoform  $EINV1$  for application at temperatures above 50 °C.*

## Karakterizacija lipaze iz *Candida utilis* dobijene tehnikom gajenja na čvrstoj podlozi korišćenjem uljane pogače maslina kao supstrata

Omar Ali Saied moftah, Sanja Grbavčić\*, Nevena D. Luković, Milena G. Žuža, Dejan I. Bezbradica, Zorica D. Knežević-Jugović

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija*

*\*Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerzitet u Beogradu, Srbija*

### Uvod

Lipaze su jedna od najvažnijih klasa hidrolitičkih enzima koje katalizuju hidrolizu, kao i sintezu velikog broja estara karboksilnih kiselina.<sup>1</sup> Kako katalizuju veliki broj reakcija, i to na regio- i enantio-specifičan način, lipaze su izuzetno važni biokatalizatori u farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji.<sup>2</sup>

Ipak, visoka cena proizvodnje lipaza često ograničava njihovu industrijsku primenu. Sa aspekta smanjenja proizvodnih troškova enzima, tehnika gajenja na čvrstim supstratima je od posebnog značaja jer omogućava korišćenje agro-industrijskih otpadaka ili nusproizvoda kao supstrata ili izvora nutrijenata za rast proizvodnih mikroorganizama. Osim toga, ovakav način proizvodnje danas opet privlači pažnju zbog prednosti kao što su mala investiciona ulaganja, velika ekonomičnost, mogućnost korišćenja sirovog fermentacionog proizvoda kao enzimskog preparata bez separacije biomase i smanjenog rizika od kontaminacije bakterijama.<sup>3</sup>

U ovom radu ispitana je kinetika rasta *Candida utilis* i proizvodnje lipaze na uljanoj pogači maslina obogaćenoj maltozom i ekstraktom kvasca. Uljana pogača dobijena nakon ceđenja ulja iz maslina sadrži značajnu količinu ugljenih hidrata, proteina, kao i različite količine ulja što je čini potencijalno dobrim supstratom za rast mikroorganizama. Ova pogača se tradicionalno koristila samo kao komponenta stočne hrane. Kako se kvasac *Candida utilis* zbog povoljnog proteinskog sastava takođe koristi u stočnoj ishrani, ovakvim postupkom fermentacije, pored proizvodnje enzima, dobija se nakon fermentacije pogača većeg sadržaja proteina i veće digestibilnosti usled dejstva produkovanj hidrolitičkih enzima.

Dobijena lipaza je delimično prečišćena i okarakterisana sa aspekta uticaja temperature, pH i različitih soli i površinski aktivnih materija. O svojstvima lipaze iz *Candida utilis* do sada nije bilo podataka u patentnoj i stručnoj literaturi.

### Eksperimentalni deo

#### *Mikroorganizam*

U radu je korišćen kvasac *Candida utilis* koji je deo kolekcije mikroorganizama katedre za Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, Tehnološko-metalurškog fakulteta. Kvasac je čuvan na kosom sladnom agaru na 4 °C.

#### *Priprema supstrata i fermentacija*

Uljana pogača zaostala nakon ceđenja maslina (nabavljena iz tradicionalnih uljara u Libiji) koja je korišćena kao supstrat u ovim ispitivanjima, osušena je na 105 °C i samlevena u kugličnom mlinu nakon čega je izvršeno njeno prosejavanje kako bi se izdvojila frakcija sa veličinom čestica od 0,2 do 0,5 mm. U erlenmajere od 100 ml odmeri se 5 g ovako pripremljene pogače i obogati sa 0,15 g ekstrakta kvasca i 0,025 g maltoze. Nakon toga je izvršena sterilizacija u autoklavu na 121 °C u toku 20 minuta. Kao inokulum (0,5 ml) korišćena je 24-časovna kultura kvasca u sladnom bujonu. Sadržaj vlage u sistemu je podešen dodatkom sterilisane destilovane vode. Fermentacija je vršena u trajanju od 6 dana u termostatanom vodenom kupatilu na 30 °C uz mešanje pri brzini od 120 rpm. Po završetku fermentacije, izvršena je ekstrakcija enzima vodom (u odnosu 1:5, na 30 °C u toku 30 minuta uz mešanje (120rpm)). Lipolitička aktivnost i broj ćelija određivani su u dobijenom ekstraktu. Nakon ekstrakcije, lipaza je delimično prečišćena tehnikom fracionog taloženja amonijum-sulfatom i tako dobijeni preparat je korišćen u daljim ispitivanjima.

#### *Ispitivanje lipolitičke aktivnosti i karakterizacija lipaze*

Lipolitička aktivnost određivanja je *p*-NPP metodom.<sup>4</sup> Za pripremu supstrata za određivanje pH aktivnosti i stabilnosti korišćeni su Na-citratni (pH=5,00), fosfatni (pH=6,00; 6,50 i 7,00) i Tris-HCl (pH=8,00 i 9,00) puferi koncentracije 50 mmol/dm<sup>3</sup>. Stabilnost enzima u prisustvu različitih soli i detergenata određivana je nakon sat vremena na sobnoj temperaturi dodatkom različitih soli i površinski aktivnih materija (1mM) rastvoru lipaze u 50 mM Na-citratnom puferu (pH=5,0). Molekulska masa je određena SDS-PAGE elektroforezom. Kao

molekulski markeri korišćeni su: fosforilaza B (114 kDa), bovin serum albumin (88 kDa), ovalbumin (50,7 kDa), karbonska anhidraza (35,5 kDa), soja tripsin inhibitor (28,8 kDa) i lizozim (22 kDa).

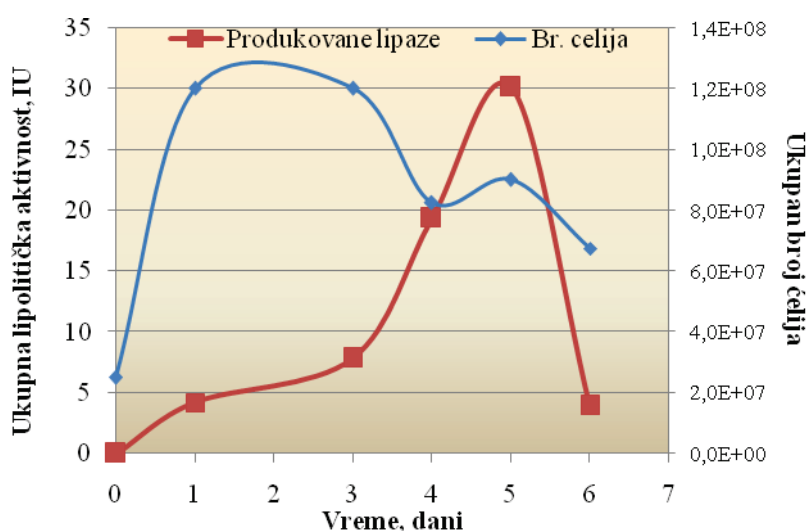
## Rezultati i diskusija

### Kinetika produkcije lipaza i rast biomase na uljanoj pogači

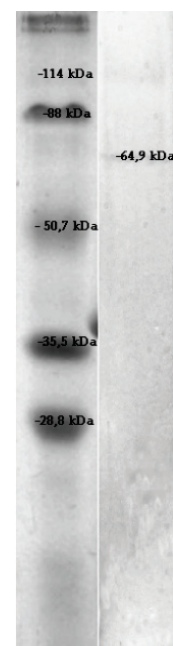
U preliminarnim istraživanjima mogućnosti korišćenja uljane pogače za rast *Candida utilis*, ispitan je uticaj veličine inokuluma, sadržaja vode, veličine čestica i suplementacije podloge različitim izvorima ugljenika i azota na rast ćelija i produkciju enzima.<sup>6</sup> Na osnovu dobijenih rezultata, došlo se do zaključka da je sama uljana pogača dobar supstrat za rast *C. utilis* i proizvodnju enzima, ali da se pažljivim odabirom procesnih parametara i suplementacijom maltozom i ekstraktom kvasca, proizvodnja enzima može značajno poboljšati.<sup>5</sup>

U ovom radu ispitana je kinetika proizvodnje enzima i rasta ćelija u ovako optimizovanoj podlozi i dobijeni rezultati su prikazani na slici 1.

Kao što se na slici 1 može videti, do maksimalne produkcije lipaza (6 IU/g supstrata) dolazi nakon 5 dana fermentacije, odnosno u završnoj fazi rasta kvasca.



Slika 1. Kinetika rasta ćelija i produkcije lipaza na optimizovanoj podlozi (uljana pogača, ekstrakt kvasca, maltoza; 30 °C, sadržaj vode 50 %, veličina inokuluma  $2,5 \cdot 10^7$  ćelija)



Slika 2. SDS-PAGE delimično prečišćene lipaze

Ovako dobijena lipaza je delimično prečišćena frakcionim taloženjem-amonijum sulfatom. Iz dobijenog taloga (50-80% zasićenja), so je uklonjena dijalizom naspram Tris-HCl pufera (50mM, pH=7,4) u toku 24 časa uz dve izmene pufera. Na ovaj način, dobijena lipaza je prečišćena 12 puta uz prinos od 85%.

Molekulska masa delimično prečišćene lipaze određena je SDS-PAGE elektroforezom. Utvrđeno je da je masa dobijenog enzima 64,9 kDa (Slika 2).

Dobijeni rezultati pokazuju da dobijena lipaza ima približno istu veličinu kao i druge *Candida spp.* lipaze. U literaturi je zabeleženo da *Candida rugosa* produkuje tri izoenzima, LipA, LipB i LipC čija je molekulska veličina 64,62 i 60 kDa, respektivno.<sup>6</sup>

Sa druge strane, veličine molekula značajno variraju među različitim vrstama kvasaca. Primera radi, literaturni podaci pokazuju da kvasac *Cryptococcus sp.* S-2 ima molekulsku masu od svega 22 kDa.<sup>7</sup>

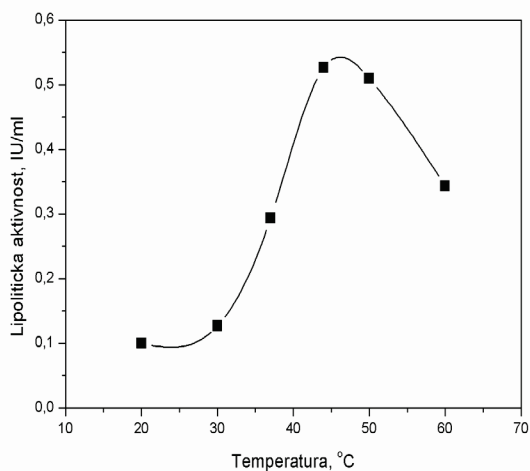
### Uticaj temperature i pH na aktivnost i stabilnost lipaze iz *Candida utilis*

Porast potražnje tržišta za proizvodima koji se mogu dobiti upotrebom lipaza je doveo do rastuće potrebe za identifikacijom novih lipaza specifičnih svojstava. Svaka industrijska primena zahteva lipaze određenih svojstava u pogledu specifičnosti prema supstratu, temperaturnih i pH profila.

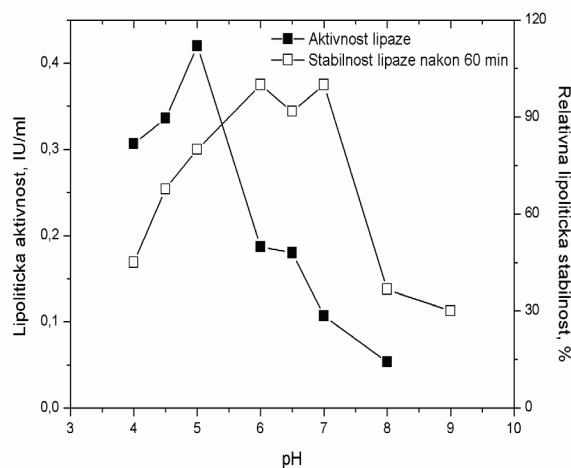
Aktivnost lipaza iz *Candida utilis* merena je u temperaturnom intervalu od 20 do 60 °C.

Kao što slika 3 prikazuje, optimum dejstva ovog enzima se ispoljava na temperaturi od 45 °C. Kako literaturni podaci pokazuju, optimum dejstva ovog enzima je nešto viši u odnosu na druge lipaze poreklom iz kvasaca. Naime, *Candida rugosa* produkuje tri izoenzima koji najveću aktivnost pokazuju od 35 do 40 °C, dok *Cryptococcus sp.* i *Yarrowia lipolytica* optimum delovanja pokazuju na 37 °C.<sup>6-8</sup>





Slika 3. Uticaj temperature na aktivnost lipaze iz *Candida utilis*



Slika 4. Uticaj pH na aktivnost i stabilnost lipaze iz *Candida utilis*

Slika 4 predstavlja pH profil dobijene ekstracelularne lipaze iz *Candida utilis*. Kao što se može videti, ovaj enzim je najaktivniji u kiseljoj sredini na pH 5,0. Međutim, profil pH stabilnosti je drugačiji, odnosno ukazuje na to da je lipaza aktivna, ali ne i stabilna u kiseljoj sredini. Iako u kiselim uslovima dolazi do formiranja odgovarajućih jonskih oblika enzima i supstrata što rezultira ovakvim pH profilom aktivnosti, istovremeno dolazi i do inaktivacije enzima. Tako je proizvedena lipaza znatno stabilnija u neutralnim uslovima (pH 6-7,5), dok pri optimalnom pH za 60 minuta izgubi oko 20 % svoje aktivnosti.

U literaturi je zabeleženo da druge *Candida spp.* lipaze imaju nešto viši optimum delovanja. Tako, izoenzimi *Candida rugosa* lipaze pokazuju optimalno dejstvo u neutralnim i blago alkalnim uslovima (pH od 7 do 8).<sup>6</sup>

Uticaj različitih soli i površinski aktivnih materija na stabilnost dobijene lipaze

Uticaj različitih jona i površinski aktivnih materija prikazan je u tabeli 1. Joni  $K^+$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Ca^{2+}$  značajno aktiviraju dobijenu lipazu, dok je joni  $Sn^{2+}$  i  $Zn^{2+}$  inhibiraju. EDTA ne inhibira dobijenu lipazu što ukazuje na to da dobijeni enzim nije metaloprotein.

Tabela 1. Relativna aktivnost lipaze u prisustvu različitih soli i površinski aktivnih materija (1mM u 50 mM citratnom puferu pH=5,0) nakon sat vremena na 20 °C

Joni	Aktivnost, %	Detergenti	Aktivnost, %
$K^+$	179	Na-deoksiholat	104,1
$Cu^{2+}$	116	SDS	87,2
$Ca^{2+}$	107	Tween 80	56,2
$Mg^{2+}$	101	Tween 20	44,6
$Mn^{2+}$	54,7	Triton X 100	42,1
$Sn^{2+}$	36,1		
$Zn^{2+}$	35,8	EDTA	97,4

Iako pripadaju istom rodu, lipaze iz *Candida utilis* i *Candida rugosa* pokazuju značajne varijacije u pogledu uticaja jona na njihovu aktivnost. Tako, joni  $K^+$  i  $Cu^{2+}$  imaju blago inhibitorno dejstvo na lipazu iz *Candida rugosa*, dok je aktivnost sva tri izoenzima koje produkuje ovaj mikroorganizam u prisustvu EDTA značajno smanjena.<sup>6</sup> Sa druge strane, u prisustvu jona  $Ca^{2+}$  aktivnost lipaza iz *Candida spp.* je značajno povećana, što je poznat fenomen i u literaturi i pripisuje se stabilizaciji native konformacije enzima do koje dolazi zbog smanjenja odbojnih elektrostatičkih sila među negativno naelektrisanim bočnim ostacima aminokiselina usled nastajanja kompleksa enzima sa jonima kalcijuma.<sup>9</sup>

Prisustvo površinski aktivnih materija, poput Triton-a X 100, Tween-a 80 i 20 u velikoj meri inhibira dobijenu lipazu. Sa druge strane, Na-deoksiholat deluje kao blagi aktivator *Candida utilis* lipaze. Značajno je i to da SDS koji ima snažno denaturišuće dejstvo na enzime, ne inhibira dobijenu lipazu u velikoj meri, tako da ona nakon sat vremena u prisustvu ovog detergenta (1 mM) zadržava oko 90 % svoje aktivnosti.

## Zaključak

U radu je ispitana kinetika rasta ćelija *Candida utilis* i produkcije lipaze na uljanoj pogači zaostaloj nakon ekstrakcije ulja iz maslina poreklom iz Libije. Utvrđeno je da je ova pogača obogaćena maltozom i ekstraktom kvasca dobar medijum za dobijanje lipaza, koja dostiže maksimum nakon 5 dana fermentacije. Optimum dejstva ove lipaze je na 45 °C u blago kiselim uslovima (pH=5,0). SDS-PAGE elektroforezom utvrđeno je da je molekulska masa ovog enzima 64,9 kDa. Joni K<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup> i Ca<sup>2+</sup> značajno aktiviraju dobijenu lipazu, dok je joni Sn<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup> inhibiraju. Nejonski detergentsi Tween 20, Tween 80 i Triton X-100 inhibiraju proizvedenu lipazu. Sa druge strane u prisustvu anjonskih surfaktanata kao što je SDS dobijena lipaza nije u velikoj meri denaturisana i zadržava skoro 90% aktivnosti u toku sat vremena, dok je Na-deoksiholat blago aktivira.

*Zahvalnica:* Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete i nauke Republike Srbije na finansijskoj podršci prilikom izvođenja ovih eksperimenata, u okviru projekta III 46010. Omar Ali Saied se takođe zahvaljuje Ministarstvu obrazovanja Libije za stipendiju na doktorskim studijama.

## Characterization of *Candida utilis* lipase produced by solid state fermentation using olive oil cake as a substrate

*In this work kinetics of Candida utilis growth and lipase production on olive oil cake from Libyan traditional mill was studied. Maximum of produced lipases occurred after 5 days, in late stationary phase of cell growth, on medium supplemented with maltose and yeast extract. Lipase was partially purified by fractional ammonium sulphate technique (12 fold with 85% yield). The effects of temperature and pH on lipase activity/stability were studied. The produced lipase showed highest activity at 45 °C in acidic conditions (pH=5.0). The molecular weight of produced enzyme determined by SDS-PAGE was 64.9 kDa. Tween 80, Tween 20, Triton X-100 and Sn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> have inhibitory effect on lipase activity, whereas K<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> salts and sodium deoxycholate increase it.*

## Literatura

1. R. Sharma, S.K. Soni, R.M. Vohra, L.K. Gupta, J.K. Gupta, *Process Biochem.*, **37** (2002) 1075.
2. M. Elibol, D. Ozer, *Process Biochem.*, **38** (2002) 367.
3. Z. Knežević, Enzimsko inženjerstvo, udžbenik, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Srbija, 2008.
4. I. Karadžić, A. Masui, L. Izrael Živković, N. Fujiwara, *J. Biosci. Bioeng.*, **102** (2006) 82.
5. S. Grbavčić, O.A. Saied, J. Jovanović, N. Luković, M. Žuža, D. Bezbradica, Z. Knežević-Jugović, Konferencija Biotehnologija za održivi razvoj, u *Biotehnologija za održivi razvoj-CD radova u celosti*, Beograd, Srbija, 2010, p. 49.
6. S. Benjamin, A. Pandey, *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **43** (2000) 453.
7. N.R. Kamini, T. Fujii, T. Kurosu, H. Lefuji, *Process Biochem.*, **36** (2000) 317.
8. G. Corzo, S. Revah, *Bioresour. Technol.*, **70** (1999) 173.
9. R. Sharma, S.K. Soni, R.M. Vohra, L.K. Gupta, J.K. Gupta, *Process Biochem.*, **37** (2002) 1075.

## Delimično prečišćavanje prirodnih koagulanata iz zrna pasulja primenom hromatografije sa izmenom jona na IRA 900

Marina B. Šćiban, Mirjana G. Antov, Jelena M. Prodanović, Mile T. Klašnja, Dragana V. Kukić

*Tehnološki fakultet, Bul. Cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija*

### Uvod

Koagulacija i flokulacija se često koriste pri obradi vode i otpadnih voda. Za te svrhe se najčešće primenjuju hemijski koagulanti (soli Al ili Fe), koji pored nesumnjivih dobrih osobina, imaju i nedostatke. Osnovni nedostaci hemijskih koagulanata su što nisu zdravstveno bezbedni<sup>1,2</sup> i svojim prisustvom otežavaju tretman mulja koji se dobija kao otpadni tok nakon koagulacije.<sup>3</sup> Ove nedostatke nemaju prirodni koagulanti koji se ispituju poslednjih godina, a koji se uglavnom dobijaju ekstrakcijom iz različitih biljnih materijala. Sa druge strane, nedostatak prirodnih koagulanata je to što su skuplji od hemijskih i nedovoljno ispitani. Do sada su najviše ispitivani prirodni koagulanti dobijeni iz semena tropske biljke *Moringa oleifera*,<sup>4</sup> za koje je ustanovljeno da su proteinske prirode.<sup>5</sup> Primena prirodnih koagulanata iz ove i drugih tropskih biljaka nije ekonomski opravdano u kontinentalnim oblastima. Da bi prirodni koagulanti bili što jeftiniji potrebno je da se dobijaju iz sirovina koje su jeftine i lokalno dostupne u velikim količinama. Ove uslove zadovoljava pasulj, koji pored toga što se može uspešno gajiti, sadrži i veliku količinu proteina u semenu - preko 20%.

Cilj ovog rada je da se ispita mogućnost delimičnog prečišćavanja koagulantnih supstanci – proteina, ekstrahovanih iz zrna belog pasulja, i njihova efikasnost pri bistrenju vode.

### Rezultati i diskusija

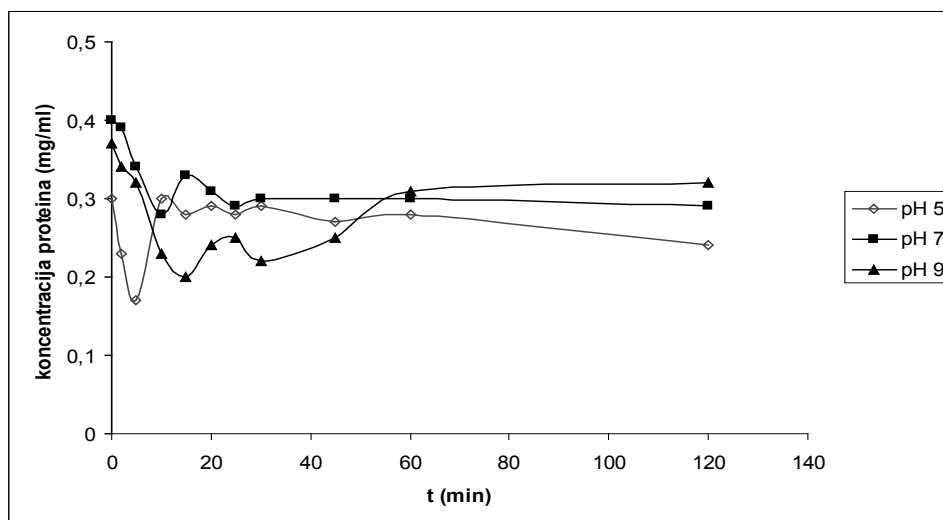
Prirodni koagulanti su ekstrahovani iz zrna belog pasulja. Samleveni pasulj (frakcija < 0,4mm) je suspendovan u 0,5 mol/l NaCl u količini 20 g/l. Nakon mešanja u trajanju od 10 minuta, suspenzija je profiltrirana kroz kvalitativni filter papir. Na taj način je dobijen sirovi ekstrakt pasulja koji je dalje prečišćavan. Postupak prečišćavanja je preuzet iz rada Okuda i sar.<sup>4</sup> Proteini su istaloženi iz filtrata sa  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  pri zasićenju do 80%. Talog je odvojen centrifugisanjem (10 minuta, 3000 o/minuti). Supernatant je resuspendovan sa 2 ml 10 mmol/l fosfatnog pufera pH 7, unet u celofansku kesicu i stavljen je na dijalizu naspram destilovane vode, preko noći, na 4 °C uz mešanje, u cilju uklanjanja zaostale soli. Ovako dobijeni dijalizat je dalje prečišćavan tako što su proteini vezivani za jako baznu anjonsku jonoizmenjivačku smolu Amberlit IRA 900Cl. Dobijeni dijalizat je razblaživan u odgovarajućem odnosu sa puferima pH 5, pH 7 i pH 9. Razblaženi dijalizat je dodavan na jonoizmenjivačku smolu u količini 5 ml, 10 ml ili 20 ml po ml jonoizmenjivača. Nakon 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60 i 120 minuta od dodavanja uzorka na smolu su uzimani uzorci od 0,1 ml, i u njima je određen sadržaj proteina koji se još nisu vezali za smolu, da bi se utvrdila kinetika vezivanja proteina za jonoizmenjivač. Koncentracija proteina je određivana metodom po Bradford-u,<sup>6</sup> na spektrofotometru JENWAY 6405 UV/Vis.

Na slici 1 su prikazani rezultati ogleđa vezivanja proteina za jonoizmenjivačku smolu IRA 900Cl, iz rastvora sa različitim pH i pri odnosu rastvor : smola = 10 : 1.

Osim ogleđa čiji su rezultati prikazani na slici 1, urađeni su ogleđi i sa odnosom rastvor : smola = 5 : 1 i 20 : 1 pri pH 7, i 5 : 1 pri pH 9. Na osnovu rezultata ovih ogleđa su izračunate količine proteina vezanih za smolu i procenat smanjenja sadržaja proteina u rastvoru nakon dva sata kontakta, što je prikazano u Tabeli 1.

Na osnovu rezultata prikazanih na slici 1 se može videti da je pri pH 5 vezivanje proteina za smolu vrlo slabo, jer je ovaj pH blizu izoelektrične tačke (IET) proteina ekstrahovanih iz pasulja.<sup>7</sup> Udaljavanjem od IET, pri pH 7 i pH 9, se vezivanje poboljšava, ali je dosta nestabilno. Pri odnosu rastvor : smola = 5 : 1 dešava se stabilnije vezivanje. Na osnovu rezultata iz tabele 1 se može zaključiti da se najbolje vezivanje za jonoizmenjivačku smolu IRA 900Cl ostvaruje iz rastvora čiji je pH 9, pri odnosu rastvor : smola = 5 : 1, u trajanju od 30 minuta.

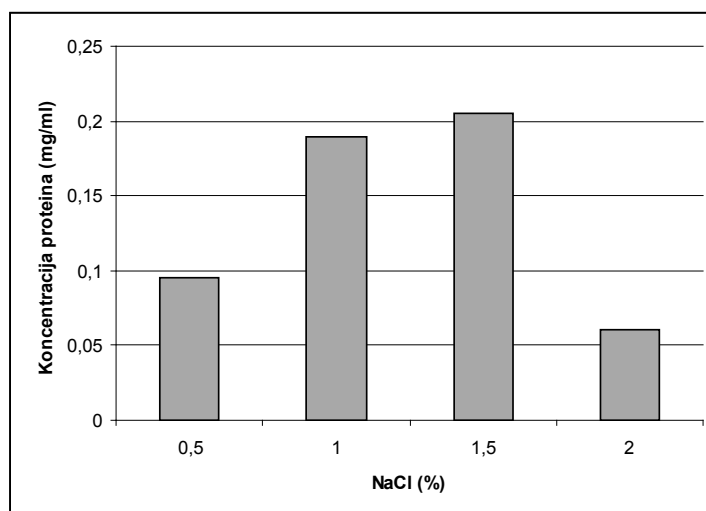
U narednom ogleđu su pod ovim uslovima vezani proteini za smolu. Nakon mešanja u trajanju od 30 min ostatak nakon jonske izmene odvojen je od smole i smola je isprana od zaostalih proteina puferom pH 9. Proteini su eluirani sa smole, pomoću rastvora NaCl uz povećanje koncentracije (0,5 mol/l; 1 mol/l; 1,5 mol/l i 2 mol/l), u količini od 1 ml rastvora po ml smole, uz mešanje u trajanju od 30 minuta. Po teoriji jonoizmenjivačke hromatografije povećanjem jonske jačine rastvora soli postiže se sukcesivno ispiranje različitih frakcija proteina vezanih za funkcionalne grupe smole. Na taj način su dobijene četiri frakcije delimično prečišćenih proteina iz zrna pasulja. U eluatima je određen sadržaj proteina (slika 2) i zatim su ispitani u ogleđima koagulacije. Na slici 2 prikazana je koncentracija proteina određena u pojedinim eluatima.



Slika 1. Promena koncentracije proteina u rastvoru prilikom vezivanja za IRA 900Cl, pri različitim pH (odnos rastvor : smola = 10 : 1)

Tabela 1. Količina proteina vezanih za smolu IRA 900Cl i procenat smanjenja sadržaja proteina u rastvoru pri različitim pH i odnosima rastvor : smola

pH rastvora proteina	Odnos rastvor : smola	Vezano proteina po 1 ml smole (mg)	Procenat smanjenja proteina u rastvoru
pH 5	10 : 1	0,015	12 %
pH 7	20 : 1	0,017	4,2 %
	10 : 1	0,050	28 %
pH 9	5 : 1	0,030	29 %
	10 : 1	0,060 $\approx$ 0,013	36 % $\approx$ 7 %
	5 : 1	0,025	31 %



Slika 2. Koncentracije proteina u eluatima u zavisnosti od koncentracije rastvora NaCl primenjenog za eluiranje

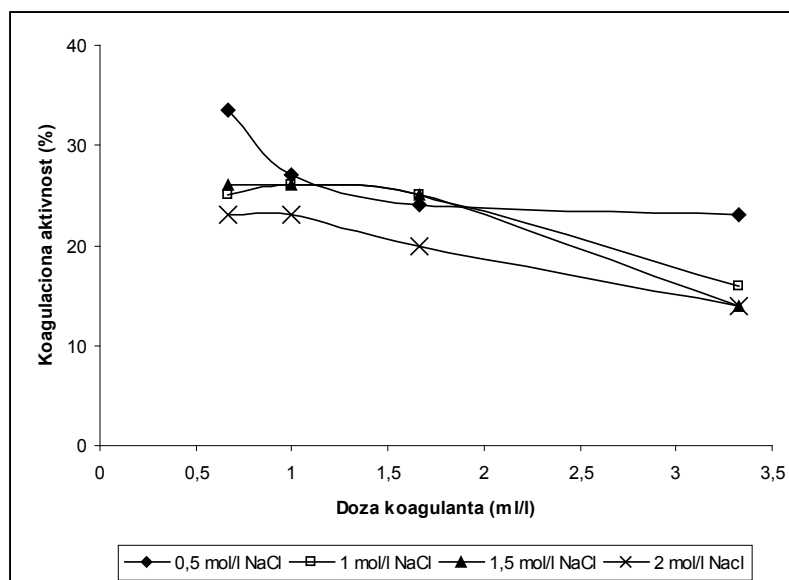
Sa Slike 2 se vidi da frakcije isprane sa 1mol/l i 1,5 mol/l rastvorom NaCl imaju približno iste vrednosti koncentracije proteina, dok frakcije proteina ispirane sa 0,5 mol/l NaCl, a posebno sa 2 mol/l NaCl imju nižu vrednost, što ukazuje na manju količinu proteina koja se ispira pri ovim jonskim jačinama.

Ispitana je koagulaciona aktivnost ovako dobijenih eluata u testovima koagulacije u kojima je korišćena model voda, pripremljena dodavanjem 5ml osnovne suspenzije kaolina (10 g/l) u 1 litar vode iz gradskog vodovoda. Tako pripremljena model voda ima početnu mutnoću oko 35 NTU. pH model vode je podešen na 9,00, dodatkom 1 mol/l NaOH, u skladu sa prethodnim ispitivanjima.<sup>8</sup> Za utvrđivanje koagulacione aktivnosti

dobijenih eluata je korišćen džar test. U džar testeru se pri brzom mešanju (200 o/min) u model vodu dodaje različita količina eluata. Nakon jednog minuta brzina mešanja se smanji na 80 o/min, meša se daljih 30 minuta, i zatim ostavi 1 sat da se taloži. U bistrom delu se izmeri preostala mutnoća nefelometrijski, na turbidimertu TURB 550 IR.<sup>9</sup> Koagulaciona aktivnost se izračunava preko formule:

$$\text{Koagulaciona aktivnost (\%)} = (\text{Msp} - \text{Mu}) 100 / \text{Msp}$$

gde je Msp - izmerena mutnoća slepe probe, a Mu - izmerena mutnoća uzorka. Na slici 3 je prikazana zavisnost koagulacione aktivnosti pojedinih eluata od dodate doze.



Slika 3. Zavisnost koagulacione aktivnosti od doze pojedinih eluata

Sa slike 3 se vidi da je pri najmanjoj dozi koagulant (0,67 ml/l) ostvarena najveća koagulaciona aktivnost i to frakcije proteina eluirane sa 0,5 mol/l NaCl. Pri ovoj dozi ostali eluati imaju nešto manje koagulacione aktivnosti. Koagulacione aktivnosti eluata dobijene sa 1 mol/l i 1,5 mol/l NaCl se slično ponašaju sa promenom doze, te se može pretpostaviti da se u ovim eluatima nalaze slični proteini. Eluat sa 2 mol/l rastvorom NaCl sadrži znatno manje proteina, ali ima samo nešto manju koagulacionu aktivnost od ostalih eluata. Za sve eluate važi da ih je bolje primenjivati u manjoj dozi, što je ekonomski vrlo povoljno. Na osnovu izgleda krivih može se pretpostaviti da eluati sa 1 mol/l i 1,5 mol/l rastvorima NaCl sadrže slične proteine, dok eluati sa 0,5 mol/l i 2 mol/l rastvorima NaCl sadrže neke druge frakcije proteina. Dakle, različite frakcije eluiranih proteina pokazuju različitu zavisnost koagulacione aktivnosti od primenjene doze te je za svaki rastvor aktivne koagulirajuće komponente potrebno laboratorijski odrediti optimalnu dozu pod odgovarajućim uslovima rada.

### Zaključak

Iz ekstrakta belog pasulja su izdvojeni proteini izolovanjem sa  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i zatim oslobođeni viška soli dijalizom. Ovako dobijeni proteini su prečišćavani hromatografijom sa izmenom jona na anjonskoj jonoizmenjivačkoj smoli IRA 900Cl.

Najefikasnije i najstabilnije vezivanje proteina, izdvojenih iz ekstrakta pasulja, za jonoizmenjivačku smolu se dešava pri pH 7 i pH 9, kada je odnos razblaženog dijalizata i smole 5 : 1.

Dovoljno vreme za vezivanje proteina za smolu IRA 900Cl je 30 minuta.

Ispitivanjem uticaja doze pojedinačnih frakcija proteina, dobijenih eluiranjem sa smole pomoću 0,5 mol/l, 1 mol/l, 1,5 mol/l, 2 mol/l NaCl, na smanjenje mutnoće vode usled koagulacije, utvrđeno je da svi eluati pokazuju dobru koagulacionu aktivnost pri dozi od 0,67 ml po litri model vode sa početnom mutnoćom od 35 NTU.

Frakcija proteina eluirana sa 0,5 mol/l rastvorom NaCl pokazuje najbolju koagulacionu aktivnost u odnosu na ostale frakcija proteina.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je deo Projekta 43005 finansiranog od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

### Partial purification of natural coagulants obtained from common bean seeds by ion exchange chromatography on IRA 900

The proteins were isolated from common bean extract by precipitation with  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  and obtained precipitate was dialysated. Resolved proteins were partially purified by ion exchange chromatography on anion ion exchange resin Amberlit IRA 900Cl.

The protein binding on ion exchange resin in time was measured, from solutions with pH 5, 7 and 9. Protein solution : resin ratios were 20 : 1, 10 : 1 i 5 : 1. It was established that the most effective and the most stable protein binding on ion exchange resin occurred at pH 9, with protein solution : resin ratio = 5 : 1. Enough contact time for this process was 30 minutes. Proteins that were bound on resin at those conditions were eluted from resin by 0.5 mol/L, 1 mol/L, 1.5 mol/L and 2 mol/L NaCl solutions. Eluates with 1 and 1.5 mol/L NaCl were contained about two times more protein than the others. Coagulation tests were performed with obtained eluates on model water with kaolin which turbidity was 35 NTU and at pH 9. Different doses of eluates (0.67, 1, 1.66 and 3.33 ml/L) were applied. It was established that eluates showed good coagulation activity with the lowest applied dose. Fraction of protein eluted with 0.5 mol/L NaCl had the highest coagulation activity followed by other fraction, and eluate with 2 mol/L NaCl had somewhat lower activity.

#### Literatura

1. D.R. Crapper, S.S. Krishnan, A.J. Dalton, *Science*, **180** (1973) 511.
2. D.D. Mccolister, E. Oyen, V.K. Rowe, *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, **6** (1964) 172.
3. M. Ozakar, A. Sengil, *Water Res.*, **34** (2000) 1407.
4. T. Okuda, A.U. Baes, W. Nishiima, M. Okada, *Water Res.*, **35** (2001) 405.
5. K.A. Ghebremichael, K.R. Gunaratna, G. Dalhammar, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **70** (2006) 526.
6. M.M. Bradford, *Analytical Biochem.*, **72** (1976) 248.
7. M. Antov, M. Šćiban, N. Petrović, *Biores. Technol.*, 101 (2010) 2167.
8. M. Šćiban, M. Klačnja, J. Stojimirović, *Acta Periodica Technologica*, **36** (2005) 81.
9. Voda za piće, Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, NIP Privredni pregled, Beograd, 1990.

## Uticaj sastava hidrogelova na bazi hitozana na kontrolisano otpuštanje diazepama, paracetamola i diklofenaka

M. Lučić, N. Milosavljević, S. Grujić, M. Laušević, M. Kalagasidis Krušić

*Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija*

Sistemi za kontrolisano otpuštanje lekova se uglavnom sastoje od aktivne supstance koja je dispergovana na polimernom nosaču. Prednost ovih sistema je što se željena koncentracija leka može održavati duže vreme, pri čemu se povećava efikasnost leka i smanjuju neželjeni efekti. Idealni nosači lekova obezbeđuju da se lek otpusti na pravom mestu, u odgovarajućoj količini i tokom željenog vremena. Takođe, neophodno je da budu biokompatibilni i biodegradabilni. Kao polimerne matrice vrlo često se koriste hidrogelovi, a među njima su posebno interesantni hidrogelovi na bazi prirodnih polimera.

Hitozan, koji se dobija deacetilovanjem hitina, jedan je od najčešće korišćenih prirodnih polimera za pripremu sistema za kontrolisano otpuštanje lekova, zahvaljujući katjonskoj prirodi, netoksičnosti, dobroj biokompatibilnosti, biodegradabilnosti i bioadhezivnosti. U poslednje vreme, hidrogelovi na bazi hitozana osetljivi na promene pH i temperature, sve više se primenjuju kao nosači lekova. Međutim, hidrogelovi hitozana imaju loša mehanička svojstva, pa se zbog toga često sintetišu u prisustvu nekog sintetskog polimera, kao što je metakrilna kiselina. Na taj način se poboljšavaju mehanička svojstva, a ujedno se povećava i pH osetljivost<sup>1</sup>.

Tema ovog rada je ispitivanje *in vitro* brzine otpuštanja, diazepama, paracetamola i diklofenaka iz kopolimernih hidrogelova hitozana, itakonske i metakrilne kiseline različitog sastava. Uklapanje lekova je izvedeno bubrenjem do ravnoteže prethodno sintetisanih hidrogelova u rastvoru leka, a procenat otpuštenog leka je određen metodom tačne hromatografije visoke performanse u sprezi sa ultraljubičastom spektroskopijom. Prilikom ispitivanja procesa otpuštanja lekova iz hidrogelova, praćen je uticaj sastava hidrogelova i vrste leka na količinu apsorbovanog i oslobođenog leka, kao i na profil i brzinu otpuštanja leka iz sintetisanih hidrogelova.

### Eksperimentalni deo

**Reaktanti:** hitozan (Ch) (Fluka), itakonska kiselina (IT) (Fluka), metakrilna kiselina (MAA) (Fluka), umreživač *N,N'*-metilenbisakrilamid (MBA) (SERVA), inicijator kalijum-persulfat (KPS) (Merck) i ubrzivač kalijum-pirosulfat (KPIs) (Merck). Metakrilna kiselina je pre upotrebe prečišćena vakuum destilacijom. Ostali reaktanti su korišćeni bez prečišćavanja. Kao model supstance korišćeni su analitički standardi lekova diazepama, paracetamola i diklofenaka (u obliku diklofenak natrijuma) dobijeni od domaćih farmaceutskih kompanija (Hemofarm i Zorka-Pharma).

**Sinteza hidrogelova:** Sinteza hidrogelova je izvedena radikalnom polimerizacijom na 50 °C tokom tri časa. Sintetisana su tri uzoraka M02, M04 i M1,5, u kojim je koncentracija hitozana (13,8 mg/mL) i itakonske kiseline (21,6 mg/mL) bila konstantna, a sadržaj metakrilne kiseline i umreživača je variran: uzorak M02 (138,4 i 1,38 mg/mL, redom), uzorak M04 (138,4 i 2,77 mg/mL, redom) i uzorak M1,5 (103,8 i 1,38 mg/mL, redom). Nakon sinteze hidrogelovi su isečeni na diskove prečnika 10 mm i debljine 2 mm i potopljani u destilovanu vodu da se odstrane sve neproreagovale materije. Voda je svakodnevno menjana tokom sedam dana. Nakon toga, diskovi su ostavljeni da se osuše do konstantne mase na sobnoj temperaturi.

**Uklapanje leka u hidrogel:** Diazepam (0,06 mg/mL), paracetamol (13,0 mg/mL) i diklofenak (2,0 mg/mL) su rastvoreni u fosfatnom puferu pH = 8,0 na 25 °C. Hidrogelovi su zatim potopljani u rastvor leka na sobnoj temperaturi i ostavljeni da bubre do ravnoteže. Nakon dostizanja ravnoteže uzorci su izvađeni iz rastvora i ostavljeni da se osuše do konstantne mase. Masa leka u hidrogelovima je određena iz razlike u masi gela pre bubrenja u rastvoru leka i nakon sušenja.

**Otpuštanje leka iz hidrogelova:** Otpuštanje leka iz hidrogelova je izvedeno u rastvoru pH-vrednosti 6,8 (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O) na 37 °C. Hidrogelovi sa lekom su potopljani u 600 mL puferskog rastvora. U određenim vremenskim intervalima uzimani su uzorci (1 mL) iz rastvora. Posle svakog uzimanja uzorka u puferi rastvor je dodata ista količina svežeg pufera da bi se održala konstantna zapremina. Sadržaj lekova u

uzorcima određen je metodom tačne hromatografije visoke performanse u sprezi sa ultraljubičastom spektroskopijom (HPLC-UV, engl. high performance liquid chromatography-ultraviolet spectroscopy). Za tačno-hromatografsku analizu korišćen je Surveyor HPLC sistem (Thermo Fisher Scientific, Waltham, SAD) sa Zorbax Eclipse® XDB-C18 kolonom (Agilent Technologies, Santa Clara, SAD). Mobilna faza se sastojala od metanola i dejonizovane vode. U HPLC sistem je unošeno 10 µL uzorka. UV spektri lekova su dobijeni pomoću Surveyor PDA detektora (Thermo Fisher Scientific).

### Rezultati i diskusija

Sintetisani hidrogelovi pokazuju pH osetljivost usled prisustva amino grupa iz hitozana i karboksilnih grupa iz kiselina koje mogu da jonizuju pri odgovarajućim pH-vrednostima. Hitozan je slaba baza sa  $pK_a$ -vrednošću 6,5, što znači da se amino grupe nalaze se u protonovanom obliku pri pH ispod  $pK_a$ -vrednosti, dok su iznad ove vrednosti u nejonizovanom obliku. Itakonska kiselina ima dve karboksilne grupe, koje jonizuju na pH-vrednostima iznad 3,85 i 5,44 ( $pK_{a1}$  i  $pK_{a2}$  za IT, redom), dok metakrilna kiselina ima jednu kiselu grupu koja jonizuje iznad 4,66 ( $pK_a$  za MAA)<sup>2</sup>.

Bubrenje hidrogelova je ispitano u rastvoru pH-vrednosti 6,8, a na osnovu dobijenih rezultata je, primenom teorije ravnotežnog bubrenja, izračunata veličina pora (tabela 1)<sup>2</sup>. U svim uzorcima je sadržaj hitozana i itakonske kiseline bio isti, odakle sledi da stepen bubrenja zavisi od sadržaja metakrilne kiseline i umreživača. Prema veličini pora sintetisani hidrogelovi su superporozni<sup>3</sup>.

Tabela 1. Ravnotežni stepen bubrenja i veličina pora za Ch/IT/MAA hidrogelove

Uzorak	pH = 6,8	
	$q_e$	$\xi$ , nm
<b>M02</b>	28,7	0,257
<b>M04</b>	21,7	0,219
<b>M1,5</b>	25,6	0,230

Kao što je ranije rečeno, karboksilne grupe iz kiselina su pri pH = 6,8 jonizovane, čime se pospešuje bubrenje usled elektrostatičkog odbijanja istoimenog naelektrisanja. Pošto se ta pH-vrednost rastvora nalazi iznad  $pK_a$ -vrednosti hitozana, amino grupe se nalaze u neprotonovanom obliku i ne utiču na bubrenje hidrogelova. Iz tabele 1 se vidi da što je veći sadržaj metakrilne kiseline, hidrogel više bubri, a veličina pora raste (uzorci M02 i M1,5). Što je veći stepen bubrenja, veći je intermolekulski prostor između polimernih lanaca, a samim tim je veća količina upijenog rastvora, odnosno leka u hidrogelu. U sva tri slučaja je najviše leka uklopljeno u uzorak M02 (tabela 2), koji i najviše bubri.

Ukoliko se uporede uzorci sa različitim sadržajem umreživača, a istom količinom metakrilne kiseline (uzorci M02 i M04), vidi se da sa porastom sadržaja umreživača opada stepen bubrenja i veličina pora. Veći sadržaj umreživača povećava gustinu mreže i pri tome smanjuje pokretljivost polimernih lanaca i elastičnost mreže. Rezultat je manja količina upijenog rastvora, a samim tim i uklopljenog leka (tabela 2).

Tabela 2. Masa uklopljenog leka u hidrogel

Uzorak	Masa uklopljenog leka, mg		
	Diazepam	Paracetamol	Diklofenak
<b>M02</b>	32,6	42,0	42,0
<b>M04</b>	29,5	34,1	39,5
<b>M1,5</b>	18,2	25,2	29,5

Očekivano je da najmanje leka bude uklopljeno u uzorak sa najvećim stepenom umreženja, M04. Međutim, iz prikazanih rezultata je utvrđeno da je najmanje leka uklopljeno u uzorak sa najmanjim sadržajem MAA, uzorak M1,5. To pokazuje da najveći uticaj na uklapanje leka ima sadržaj metakrilne kiseline u hidrogelu. Može se primetiti da je u sva tri slučaja najmanje uklopljeno diazepam, dok su mase uklopljenog paracetamola i diklofenaka približno iste.

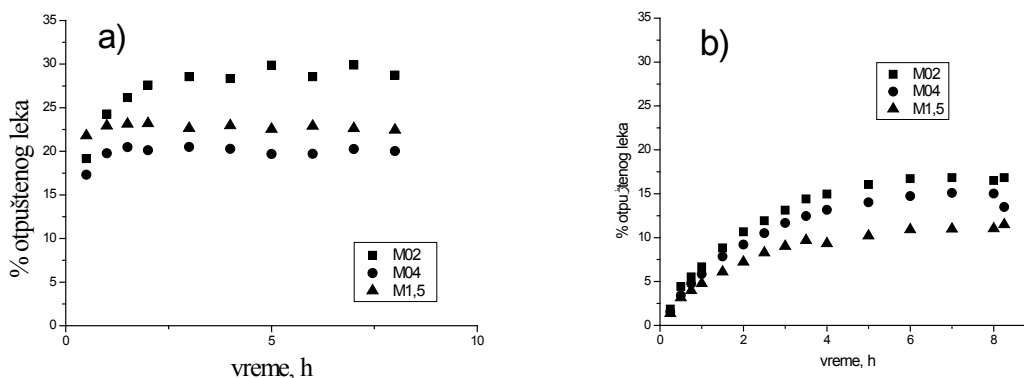
Otpuštanje diazepam, paracetamola i diklofenaka iz Ch/IT/MAA hidrogelova je praćeno u puferskom rastvoru pH = 6,8, što odgovara srednjoj vrednosti pH u donjem delu gastrointestinalnog trakta.



**OTPUŠTANJE DIAZEPAMA:** Količina otpuštenog leka je manja od 1 µg/mL, tako da se može konstatovati da praktično otpuštanja nema. Jedan od razloga bi mogao da bude mala rastvorljivost diazepama pri pH = 6,8, tako da vrlo brzo nakon početka otpuštanja dolazi do zasićenja rastvora, što za posledicu ima mali procenat otpuštenog leka.

**OTPUŠTANJE PARACETAMOLA:** pK<sub>a</sub>-vrednost paracetamola je 9,5, tako da se u opsegu fizioloških pH-vrednosti nalazi u nejonizovanom obliku. To znači da se sve promene hidrogelova izazvane promenom pH-vrednosti okolnog medijuma mogu opisati karakteristikama nosača leka, odnosno Ch/IT/MAA hidrogela.

Na slici 1a prikazan je profil otpuštanja paracetamola sa vremenom u puferskom rastvoru pH = 6,8. Sa dijagrama se može videti da je najveći procenat otpuštenog leka od ukupne mase uklopljenog leka bio iz uzorka M02 (29,9%), zatim iz uzorka M1,5 (23,2%), a najmanje iz M04 (20,5%). Uzorak M1,5 više bubri u poređenju sa uzorkom M04, pa lek brže difunduje iz hidrogela. Sa dijagrama se vidi da nema efekta „pucanja“, odnosno naglog porasta koncentracije otpuštenog leka, što ukazuje da je paracetamol uglavnom smešten u unutrašnjosti hidrogela.



Slika 1. Profil otpuštenog leka: a) paracetamola i b) diklofenaka

**OTPUŠTANJE DIKLOFENAKA:** Na osnovu profila otpuštanja utvrđeno je da je otpuštena mala količina uklopljenog leka, 16%. Moguće je da COO<sup>-</sup> grupa iz hidrogela vezuje natrijum iz rastvora, pri čemu dolazi do kontrakcije hidrogela i suzbijanja otpuštanja. Najviše leka se otpusti iz uzorka M02 (16,5%), zatim iz M04 (15,0%), a najmanje iz uzorka M1,5 (11,0%). Ovo je posledica sadržaja metakrilne kiseline. U hidrogelovima sa manjim sadržajem metakrilne prisutno je manje COO<sup>-</sup> grupa, pa je kontrahovanje hidrogelova zbog vezivanja natrijuma više izraženo, a otpuštanje leka manje.

**Koeficijent difuzije i brzina otpuštanja paracetamola:** Koeficijent difuzije je izračunat za ranu i kasnu fazu otpuštanja paracetamola, prema jednačinama iz literature<sup>3</sup>, pri čemu je D<sub>E</sub> koeficijent za ranu fazu, a D<sub>L</sub> koeficijent za kasnu fazu. Dobijeni rezultati su prikazani u tabeli 3.

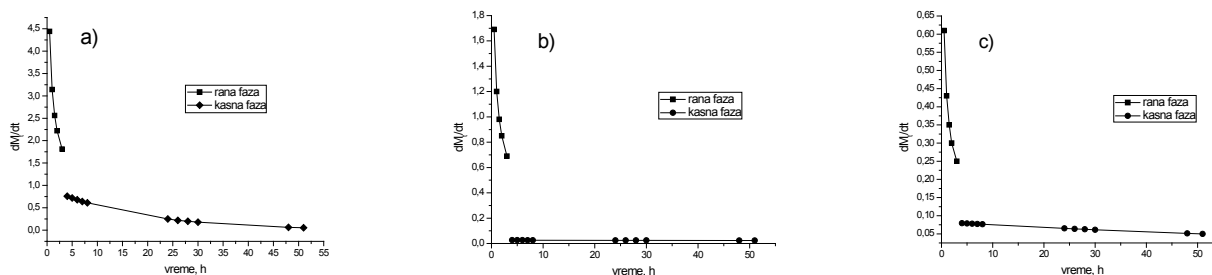
Tabela 3. Koeficijenti difuzije za ranu i kasnu fazu otpuštanja paracetamola

Uzorak	D <sub>E</sub> ·10 <sup>9</sup> , m <sup>2</sup> h <sup>-1</sup>	D <sub>L</sub> ·10 <sup>9</sup> , m <sup>2</sup> h <sup>-1</sup>
M02	17,7	5,67
M04	7,95	0,28
M1,5	1,38	1,01

Iz tabele se vidi da su koeficijenti difuzije mali (reda 10<sup>-9</sup>). Koeficijenti za ranu fazu su veći nego za kasnu, jer je tada i otpuštanje brže. Uzorak M02 ima najveće vrednosti koeficijenta, a M04 najmanje, što je i očekivano. Vrednosti koeficijenta difuzije uzorka M04 u ranoj fazi su veći od uzorka M1,5, a u kasnoj fazi je obrnuto. Uzorak M04 na početku brže bubri od M1,5, pa je otpuštanje brže. Kasnije se bubrenje usporava i koeficijent difuzije se smanjuje.

Brzina otpuštanja paracetamola je računata prema formulama iz literature<sup>3</sup>, a dijagrami brzine otpuštanja za ranu i kasnu fazu su dati na slici 2. Kao što je i očekivano, brzina otpuštanja paracetamola je najveća iz uzorka

M02, zbog najveće razlike koncentracije leka u samom gelu i okolnom medijumu. Kako otpuštanje napreduje, tako se smanjuje razlika, pa i brzina otpuštanja.



Slika 2. Brzina otpuštanja paracetamola u ranoj i kasnoj fazi iz uzorka: a) M02, b) M04 i c) M1,5

### Zaključak

Sintetisani su kopolimerni hidrogelovi hitozana, itakonske i metakrilne kiseline, sa različitim sadržajem metakrilne kiseline i umreživača, a zatim je ispitana mogućnost njihove primene za kontrolisano otpuštanje diazepama, paracetamola i diklofenaka. Zaključeno je da na otpuštanje leka utiče sastav hidrogelova, odnosno sadržaj metakrilne kiseline i umreživača, kao i vrsta leka. Utvrđeno je da u slučaju diazepama praktično nema otpuštanja, dok je količina otpuštenog paracetamola skoro dva puta veća u odnosu na diklofenak, iako je uklopljena gotovo jednaka masa lekova. To je posledica vezivanja natrijuma iz rastvora za COO<sup>-</sup> grupe u hidrogelu pri čemu dolazi do kontrakcije hidrogela i suzbijanja otpuštanja. Koeficijenti difuzije paracetamola iz hidrogelova su mali i za ranu i za kasnu fazu i zavise od sastava. Brzina otpuštanja je veća u ranoj nego u kasnoj fazi, jer je tada veća razlika u koncentracijama, pa je veća pogonska sila za difuziju lekova iz uzoraka.

*Zahvalnica:* Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku i prosvetu Republike Srbije za finansijsku podršku ovom radu u okviru projekta „Sinteza i karakterizacija novih funkcionalnih polimera i polimernih nanokompozita“, br. 172062 i projekta „Razvoj i primena metoda i materijala za monitoring novih zagađujućih i toksičnih organskih materija i teških metala“, br. 172007.

### Chitosan hydrogels for controlled drug release of diazepam, paracetamol and diclofenac

*Hydrogels are used in the recent years for controlled drug release, as they have the advantages of increasing residence time of a drug within a patient, reducing dosing frequency and toxic effects, improving patient compliance and consequently efficacy with most dosage requirements.*

*A series of pH-sensitive composite hydrogels, chitosan/itaconic acid/methacrylic acid (Ch/IT/MAA), was prepared by ionic crosslinking of Ch/IT network by adding methacrylic acid and the crosslinker. The swelling properties and the pH-sensitivity were investigated. In addition, the drug loading and controlled release behavior of hydrogels were also evaluated using diazepam, paracetamol and diclofenac as the model drugs in intestinal fluids (pH 6.8).*

*The results showed that release depends on the composition of hydrogels. If more methacrylic acid is added during the synthesis, release is better and faster. But, if crosslinker content is higher, less drug is absorbed, release is slower and more drug is trapped inside of the hydrogel.*

### Literatura

1. Q. Wang, J. Zhang, A. Wang, *Carbohydrate Polymers*, **78** (2009) 731–737
2. N. Milosavljević, *Doktorska disertacija*, TMF, Univerzitet u Beogradu, 2010
3. N.A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung, H. Ichikawa, *European Polymer Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50** (2000) 27–46

## Inhibitorski efekat kompleksa platine (II) na fosfolipazu A<sub>2</sub>

Maja Radisavljević, Tina Kamčeva, Iva Vukićević, Ilija Brčeski\*, Živadin D. Bugarčić\*\*, Marijana Petković

*Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Mike Petrovića Alasa 12-14, Beograd, Srbija*

*\*Hemijski fakultet, Studentski trg 12-16, Beograd, Srbija*

*\*\*Prirodno-matematički fakultet, Institut za heminu, Radoja Domanovića 12, Kragujevac, Srbija*

### Uvod

Fosfolipaza A<sub>2</sub> spada u grupu lipolitičkih enzima koji katalizuju hidrolizu masne kiseline sa *sn*-2 pozicije fosfolipida pri čemu se kao proizvodi katalitičke aktivnosti oslobađaju slobodna masna kiselina i lizofosfolipid. Proizvodi aktivnosti PLA<sub>2</sub> i metaboliti koji od njih nastaju imaju veoma bitnu ulogu u ćelijskim regulatornim mehanizmima kao što su rast i diferencijacija, sinteza eikozanoida, remodelovanje membrane i regulacija signalnih puteva. Usled toga, ovaj enzim je od esencijalnog značaja za mnogobrojne fiziološke procese u ljudskom organizmu a takođe ima i terapijski potencijal. Istraživanja upućuju na to da se inhibicijom ovog enzima može sprečiti rast i razvoj tumorskih ćelija tako da PLA<sub>2</sub> predstavlja potencijalnu metu za citostatike.<sup>1,2</sup>

Uprkos značajnom napretku u razvitku lekova, tradicionalna hemoterapija i danas predstavlja glavnu opciju u lečenju kancera. Usled toga, do danas je sintetisano približno 30.000 kompleksa platine tzv. kompleksa nove generacije, od kojih su neki već u kliničkoj upotrebi (cisplatina, oksaliplatina i karboplatina), dok drugi predstavljaju potencijalne citostatike i još uvek su u fazi ispitivanja za kliničku upotrebu. Cisplatina je još uvek najprimenjeniji citostatik zbog širokog spektra dejstva na različite tipove tumora i efikasnosti. Međutim, upotreba ovog citostatika za posledicu ima mnogo negativnih sporednih efekata kao što su nefrotoksičnost, neurotoksičnost, ototoksičnost, mučnina, povraćanje i sve veća rezistencija tumorskih ćelija.<sup>3</sup> Stoga, veliki izazov predstavlja razvoj novih kompleksa metala koji bi bili efikasniji i koji bi imali minimalne neželjene efekte u lečenju kancera. Ispitivanje uticaja dejstva mnogobrojnih potencijalnih citostatika na aktivnost PLA<sub>2</sub> je od velikog biološkog značaja za njihov dalji razvoj. Sa druge strane, uticaj citostatika na aktivnost ovog enzima nije dovoljno ispitan. Uzimajući sve navedeno u obzir, mi smo za ispitivanje izabrali citostatik koji se tradicionalno koristi u hemoterapiji *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (cisplatina ili *cis*-diaminodihloroplatina(II)) i potencijalni citostatik [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (*cis*-dihloro(1,2-diaminocikloheksan)Pt(II), dach-diaminocyclohexane) u cilju ispitivanja njihovih mogućih interakcija sa pankreasnom PLA<sub>2</sub>, kao i njihovog uticaja na aktivnost pomenutog enzima.

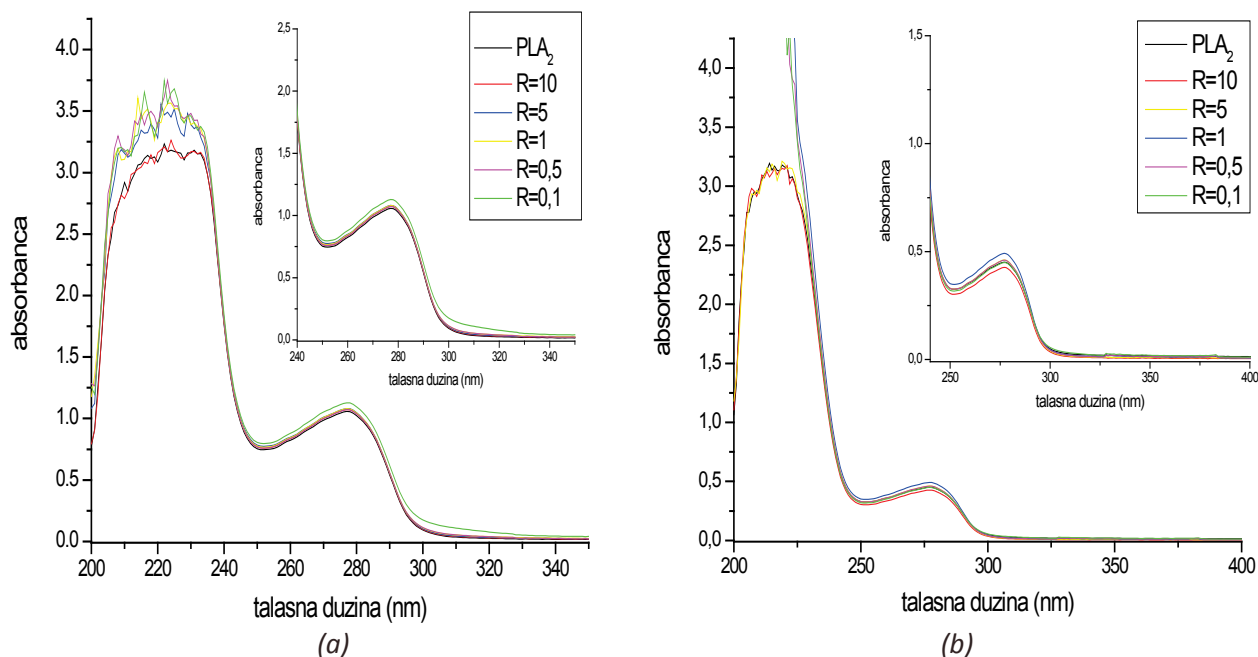
Oba kompleksa platine korišćena u ovom radu su neutralni, kvadratno planarni kompleksi dvovalentne platine koji sadrže po dva labilna hlorido-liganda u *cis*-konfiguraciji. S obzirom na prisustvo lako izmenljivih liganada, oba kompleksa su podložna reakcijama nukleofilne supstitucije sa proteinskim molekulima koji su bogati azotnim i sumpornim elektron donorima.<sup>4,5</sup> Koordinacija kompleksa za proteinske elektron donore može dovesti do promene u konformaciji samog proteina što za posledicu najčešće ima promenu u njegovoj biološkoj aktivnosti.<sup>6</sup>

### Rezultati i diskusija

Za praćenje konformacionih promena u molekulu proteina najčešće se koriste UV i fluorescentna spektroskopija i cirkularni dihiroizam. U ovom radu je korišćena jednostavna metoda UV/VIS spektroskopske titracije u cilju detekcije mogućih konformacionih promena u molekulu PLA<sub>2</sub> izazvanih dejstvom kompleksa. Apsorbancija enzima u UV oblasti potiče od peptidnih veza i aromatičnih aminokiselinskih ostataka. Uticaj okruženja na apsorpcioni maksimum aromatične hromofore može se reflektovati na razne načine: širenjem traka, promenom intenziteta ili promenom položaja apsorpcionog maksimuma. Na osnovu ovoga se može zaključiti da bi eventualna koordinacija kompleksa platine (II) za serinske i metioninske aminokiselinske ostatke molekula PLA<sub>2</sub> izazvala neku od gore navedenih promena u apsorpcionom maksimumu aromatične hromofore enzima (280 nm).

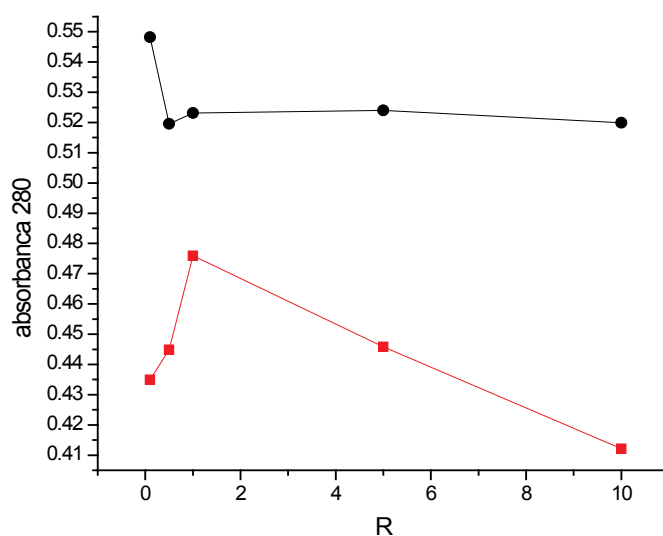
Na slici 1. su prikazani rezultati spektrofotometrijskih titracija PLA<sub>2</sub> iz pankreasa svinje sa platinskim kompleksima (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (a) i [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (b)). Radi izučavanja vezivanja, poređeni su spektri dobijeni mešanjem PLA<sub>2</sub> i kompleksa platine (II) u pet različitih odnosa molarnih koncentracija (R) sa spektrom same PLA<sub>2</sub> (spektar je dat crnom bojom). Promene u intenzitetu apsorpcionog maksimuma PLA<sub>2</sub> sa R vrednošću uočljive su u slučaju dodatka oba kompleksa platine (II) na talasnim dužinama oko 220 nm i 280 nm. Promene u apsorpcionom maksimumu na talasnoj dužini od 220 nm nisu uzete u obzir pri izučavanju vezivanja pošto se

u tom opsegu nalaze intenzivni maksimumi koji potiču od od samih kompleksa. U interesu izučavanja vezivanja uzete su promene u apsorpcionom maksimumu aromatične hromofore (280 nm) PLA<sub>2</sub> izazvane dodatkom različitih koncentracija kompleksa. Ove promene uočljive dodatkom oba kompleksa predstavljaju jaku indicaciju za postojanje vezivanja između PLA<sub>2</sub> i kompleksa.



Slika 1. Spektrofotometrijska titracija PLA<sub>2</sub> pomoću kompleksa *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (a) i [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (b).  
R-predstavlja odnos molarnih koncentracija između PLA<sub>2</sub> i kompleksa.

U cilju boljeg uočavanja promene intenziteta apsorpcionog maksimuma na 280 nm dat je grafik zavisnosti R vrednosti, za oba kompleksa, od A<sub>280</sub> (slika 2.). U slučaju *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (kriva data crnom bojom), povećanjem koncentracije kompleksa, odnosno smanjenjem R vrednosti, dolazi do hiperhromnog efekta koji je veoma izražen pri višim koncentracijama kompleksa. Hiperhromni efekat je pokazatelj jakog vezivanja između PLA<sub>2</sub> i *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. U slučaju [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (kriva data crvenom bojom), povećanje koncentracije kompleksa prati trend porasta A<sub>280</sub> do R vrednosti 1, odnosno do trenutka kada su molarne koncentracije kompleksa i enzima jednake, nakon čega sledi hipohromni efekat. Na osnovu poređenja krivih vidi se da dolazi do vezivanja oba kompleksa za PLA<sub>2</sub> ali da postoje razlike u njihovoj reaktivnosti.

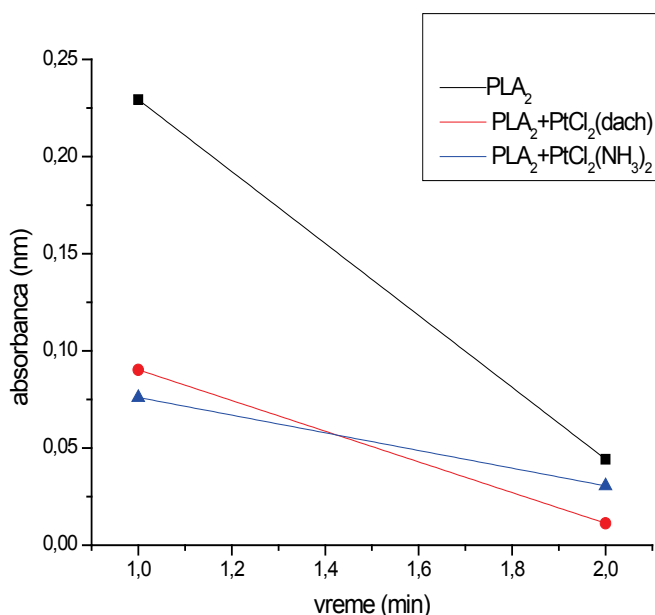


Slika 2. Zavisnost R vrednosti od A<sub>280</sub>. Kriva data crnom bojom odnosi se na *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] i PLA<sub>2</sub>, dok se kriva data crvenom bojom odnosi na [PtCl<sub>2</sub>(dach)] i PLA<sub>2</sub>.

Može se pretpostaviti manja reaktivnost  $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$  u odnosu na  $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ . Različita reaktivnost između ova dva kompleksa sa  $\text{PLA}_2$  se može objasniti razlikama u njihovoj strukturi. S obzirom da se supstitucija hlorido-liganada sa nukleofilnim donorima aminokiselinskih ostataka  $\text{PLA}_2$  vrši asocijativnim mehanizmom, što podrazumeva povećanje koordinacionog broja kompleksa u prelaznom stanju, vrlo je verovatno da je ulazak donora u koordinacionu sferu kompleksa otežan voluminoznošću bidentatnog 1,2-diaminocikloheksanskog liganda.

U narednom delu eksperimentalnog rada ispitivan je uticaj kompleksa na aktivnost  $\text{PLA}_2$ . Konformacione promene u enzimu, izazvane koordinacijom kompleksa, mogu dovesti do konformacionih promena u vezivnom mestu za supstrat što za posledicu može imati smanjenje afiniteta enzima prema odgovarajućem supstratu. Rezultat ove promene detektuje se kao inhibicija. Za određivanje aktivnosti fosfolipaze  $A_2$  u ovom radu korišćen je spektrofotometrijski esej koji ne zahteva upotrebu skupih radioaktivnih ili hromogenih supstrata. Kinetička analiza fosfolipaze  $A_2$ , kao i ostalih lipolitičkih enzima, je veoma kompleksna zato što ovaj enzim deluje na supstrat koji nije rastvoran u vodi. Pošto fosfolipidni supstrat u vodenoj sredini ima tendenciju da formira agregate,  $\text{PLA}_2$  mora biti u mogućnosti da se veže za agregate kako bi imala pristup supstratu, tako da se enzimski reakcija odvija na lipidno/vodenoj graničnoj površini. Usled toga, fosfolipidnom supstratu se najčešće dodaje deterdžent (deoksiholat ili triton X-100) u cilju disperzije supstrata u mešovite micle. Na taj način enzimu je olakšan pristup masnoj kiselini supstrata. Kao supstrat za  $\text{PLA}_2$  koristi se fosfatidil-holin (lecitin), koji je ujedno i najzastupljeniji fosfolipid u ćelijskim membranama. U ovom radu, korišćen je lecitin izolovan iz žumanceta kokošijeg jajeta. U cilju ispitivanja uticaja kompleksa platine (II) na aktivnost, enzim je inkubiran sa kompleksom 4 h pre nego što mu je dodat supstrat.

Na slici 3. je dat rezultat praćenja enzimski kinetike  $\text{PLA}_2$  bez prisustva kompleksa (kriva data crnom bojom) i u prisustvu kompleksa platine (II) ( $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ ) (prava je data plavom bojom) i  $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$  (prava je data crvenom bojom). Praćenjem enzimski kinetike uočeno je smanjenje koncentracije fosfolipida sa vremenom do drugog minuta, nakon čega dolazi do odstupanja od linearnosti. Na osnovu nagiba dobijenih pravih (u linearnom delu grafika prikazanih na slici 3.) može se uočiti da je potrošnja supstrata (što odgovara brzini reakcije) najveća u slučaju  $\text{PLA}_2$  bez prisustva kompleksa, dok je smanjenje brzine tj. smanjenje nagiba detektovano dodatkom oba platinska kompleksa što je pokazatelj njihovog inhibitorskog dejstva na  $\text{PLA}_2$ . Kao jači inhibitor se pokazao  $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$  kompleks (najmanji nagib prave) što je u skladu sa njenom većom reaktivnošću tj. jačim vezivanjem za  $\text{PLA}_2$  u odnosu na  $[\text{PtCl}_2(\text{dach})]$ . Zbog nedovoljne osetljivosti primenjenog enzimskog esaja (variranja u merenoj apsorbanciji) nije postojala mogućnost da se tačno izrazi brojčana vrednost aktivnosti ali su promene u aktivnosti enzima dejstvom kompleksa platine (II) uspešno detektovane.



Slika 3. Spektrofotometrijsko praćenje enzimski kinetike  $\text{PLA}_2$  (opseg linearnosti).

## Zaključak

U ovom radu uspešno je detektovano vezivanje najprimenjenijeg citostatika (*cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]) i potencijalnog citostatika ([PtCl<sub>2</sub>(dach)]) za PLA<sub>2</sub>, kao i inhibitorski efekat navedenih kompleksa na enzim. No, sam mehanizam inhibicije, kao i mesta vezivanja kompleksa za pankreasnu PLA<sub>2</sub> nisu detektovana i ostaju tema daljeg istraživanja. Ovaj rad predstavlja doprinos razvoju novih citostatika kojima bi mete bile ćelijski signalni putevi specifični za ćelije kancera. Razvoj citostatika ovog tipa bi imao značajne prednosti u odnosu na citostatike kojima su mete DNK molekuli. Naime, ovakvim alternativnim pristupom u dizajnu lekova postojala bi mogućnost prevazilaženja toksičnosti i rezistencije tumorskih ćelija.

## Inhibitory effect of platinum (II) complexes on phospholipase A<sub>2</sub>

*Action of phospholipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) affects a wide range of human physiological functions. Inhibitors of these lipolytic enzymes are useful in determining the biological roles of PLA<sub>2</sub> in complex cellular processes. In addition, they may have therapeutic potential. The study of the interaction of metal complexes with PLA<sub>2</sub> and their effect on PLA<sub>2</sub> activity is especially important in antitumor drugs research. It has been demonstrated that inhibition of this enzyme might alter cancer cell growth and death, therefore PLA<sub>2</sub> represents potential target for anticancer drug development.*

*Due to lack of information about the effect of metal complexes on pancreatic PLA<sub>2</sub> the aim of this study was to investigate interaction of *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (traditional cytostatic) and [PtCl<sub>2</sub>(dach)] (potential cytostatic) with pancreatic PLA<sub>2</sub> using UV/VIS spectral titration, to detect influence of these platinum complexes on PLA<sub>2</sub> activity and to compare the action of traditionally used cytostatic with potential cytostatic. Our results show that both platinum complexes interact with enzyme, resulting in decrease of the activity of pancreatic PLA<sub>2</sub>. Physiological consequences of this action are discussed in this work.*

## Literatura

1. A. B. Mukherjee, L. Miele, N. Pattabiraman, *Biochem. Pharmacol.* **48** (1994) 1;
2. E.A. Dennis, *J. Biol. Chem.* **269** (1994) 13057;
3. D. Wang, S.J. Lippard, *Nat. Rev. Drug Discov.* **4** (2005) 307;
4. T. Frenkiel, D. Hoeschele, A. Mason, R. Woodworth, P. Sadler, *J. Biol. Inorg. Chem.* **4** (1999) 621;
5. J. Reedijk, J. Teuben, *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, B. Lippert, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1999, 339-362;
6. J. Reedijk, M. Kruidering, B. Van de Water, G. Mulder, J. Nagelkerke, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **280** (1997) 638.

## Kinetic and mechanism of the addition of piperidine and benzylamine to the aroylacrylic acid phenylamides

Ilija N. Cvijetić, Maja D. Vitorović-Todorović\*\*\*, Ivan O. Juranić\*, Đura Nakarada\*,  
Milica Radulović\*, Branko J. Drakulić\*\*\*

*Inovation center of the Faculty of Chemistry, University of Belgrade,  
Studentski Trg 12-16, Belgrade, Serbia - [ilija@chem.bg.ac.rs](mailto:ilija@chem.bg.ac.rs)*

*\*Faculty of Chemistry, University of Belgrade, Studentski Trg 12-16, Belgrade, Serbia*

*\*\*Military - Technical Institute, Ratka Resanovića 1, Belgrade, Serbia*

*\*\*\*Department of Chemistry-ICH<sub>TM</sub>, University of Belgrade, Njegoševa 12, Belgrade, Serbia*

### Introduction

The nucleophilic 1,4- Michael addition of amines or thiols to the activated double bonds of the xenobiotics has been suggested as a primary outcome responsible for their biological activity.<sup>1</sup> Knowledge on the mechanism of aza Michael addition to such compounds is important contribution for understanding their biological effects.

### Results and discussion

Spectrophotometrically, under the pseudo-first order conditions, second order rate constants ( $k_2$ ) for the Michael addition of piperidine and benzylamine to compounds **1-13**, in methanol, were obtained (**Table 1**).

*Table 1. Addition of deprotonated amines (piperidine and benzylamine, B<sup>-</sup>) to compounds 1-13. Structures, reaction scheme, calculated charges and the Hammett substituent constants.*

Comp N°	R-	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) (piperidine)	$k_2$ (M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) (benzylamine)	SP charge* (vacuum)	SP charge* (MeOH)	$\sigma^2$
<b>1</b>	tetralinil	0.64 (±0.05)	0.45 (±0.06)	-0.15233	-0.15499	-0.48
<b>2</b>	3,4-di-Cl	3.87 (±0.27)	1.84 (±0.22)	-0.14684	-0.14939	0.52
<b>3</b>	3,4-di-Me	0.74 (±0.13)	0.25 (±0.01)	-0.15228	-0.15515	-0.14
<b>4</b>	2,4-di- <i>i</i> -Pr	0.57 (±0.01)	0.53 (±0.03)	-0.14291	-0.14037	/
<b>5</b>	4-H	0.79 (±0.09)	0.50 (±0.01)	-0.15054	-0.15347	0
<b>6</b>	4-OMe	0.35 (±0.03)	0.23 (±0.03)	-0.15281	-0.15567	-0.27
<b>7</b>	2,5-di-Me	1.58 (±0.12)	0.84 (±0.04)	-0.14233	-0.13922	/
<b>8</b>	4-F	1.52 (±0.12)	0.76 (±0.08)	-0.14952	-0.15274	0.06
<b>9</b>	4-Br	1.84 (±0.15)	1.31 (±0.05)	-0.14884	-0.15026	0.23
<b>10</b>	4- <i>n</i> -Bu	0.43 (±0.05)	0.33 (±0.03)	-0.15189	-0.15452	-0.16
<b>11</b>	4- <i>t</i> -Bu	0.62 (±0.06)	0.45 (±0.02)	-0.15168	-0.15286	-0.20
<b>12</b>	4- <i>i</i> -Pr	0.47 (±0.05)	0.39 (±0.01)	-0.15165	-0.15279	-0.15
<b>13</b>	4-Cl	2.05 (±0.19)	1.25 (±0.13)	-0.14890	-0.15056	0.23

\* SP- Mulliken charges, as obtained by single-point calculations in vacuum, or implicit solvent model for methanol.

Addition of amines proceeds exclusively to the activated C<sub>3</sub> atom, not to the C<sub>2</sub> (Table 1), as confirmed by the HMBC spectrum of the addition product of piperidine to compound **13**. The 3D depiction of the addition products of piperidine and benzylamine to compound **5**, are given in Figure 1.

Rate constants were determined by pseudo-first order kinetics,<sup>3</sup> following the decrease of absorbance on ~ 310 nm, using the 20-fold excess of amine (Figure 1).

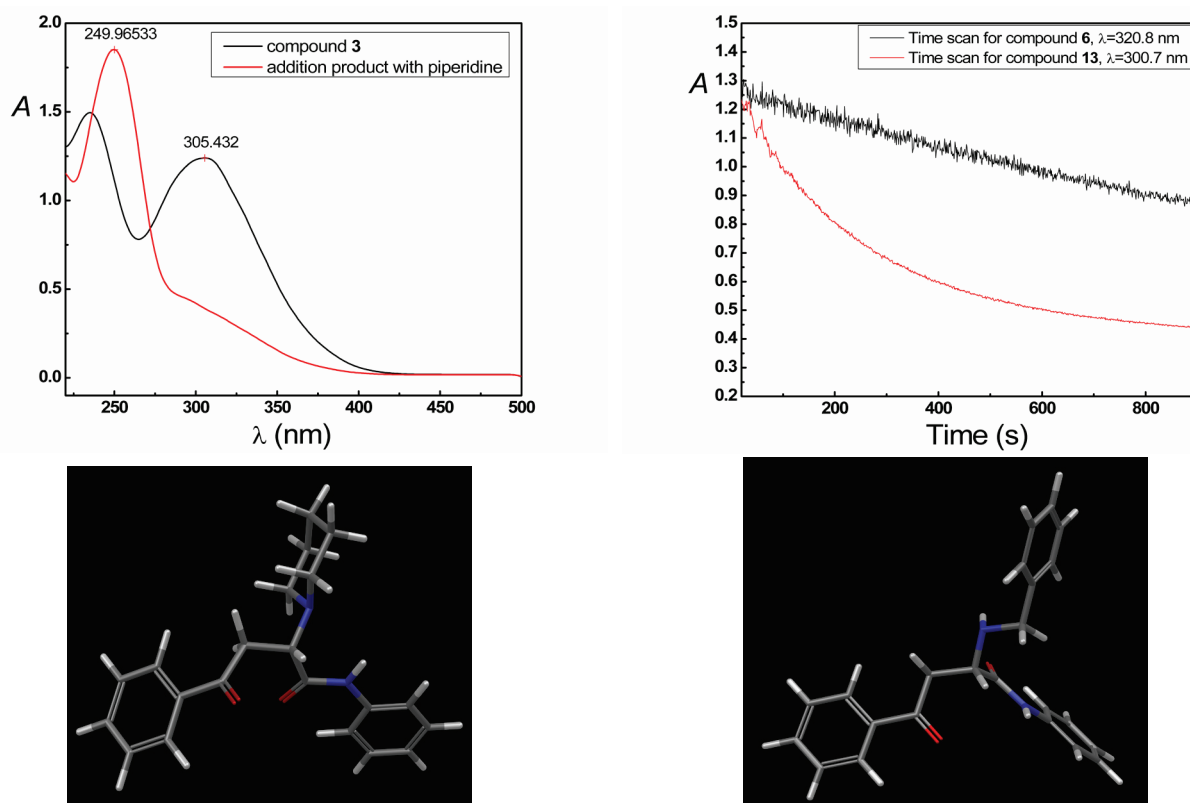


Figure 1. The UV-VIS spectra of **3**, and its addition product with piperidine (upper left); The difference in time scan curves obtained after the addition of piperidine to compounds **6** and **13** (upper right). The 3D depiction of the addition products of piperidine (lower left) and benzylamine (lower right) to **5**.

Amines were deprotonated with the stoichiometric amount of stronger base (KOH) prior to addition, in order to generate the more nucleophilic amine anion. All measurements were done using Cintra 40 UV/VIS spectrophotometer, on the temperature of  $25 \pm 2$  °C.

Rate constants for the addition of piperidine are higher than those for addition of benzylamine, as is expected, concerning basicity of amines used. Rate constants depend on substituent changes on the aroyl ring of the **1-13**. The substituent effects were quantified by using the Hammett substituent parameters ( $\sigma_x$ ), as given by Equation 1:

$$\log \frac{k_x}{k_0} = \rho \cdot \sigma_x \quad (1)$$

Where  $k_x$  is the rate constant of the *meta* or *para* X-substituted phenyl derivative, and  $k_0$  is the rate constant for the unsubstituted derivative.

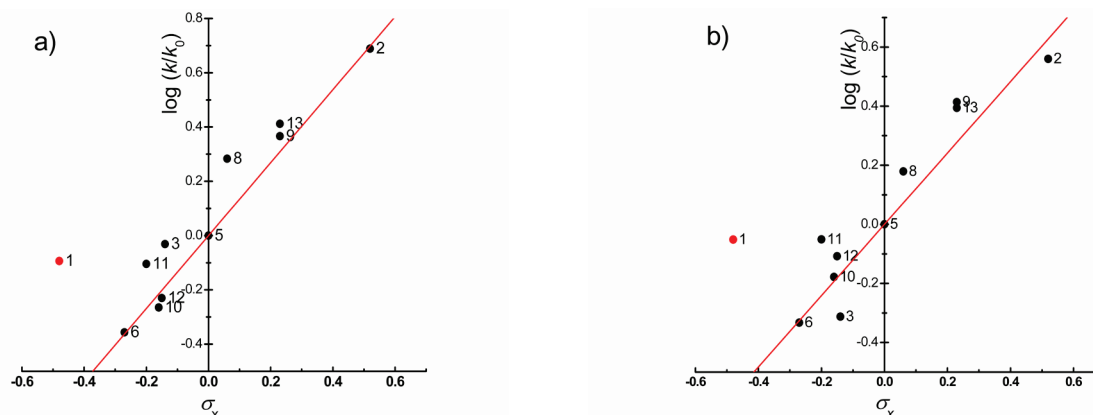


Figure 2. Hammett plot for the second order rate constants of the addition of piperidine (a) and benzylamine (b) to compounds **1-13**.

The least squares line fitting through zero gave the following equations:



Piperidine:

$$\log\left(\frac{k_x}{k_0}\right) = 1.35(\pm 0.15) \cdot \sigma_x$$

$$r = 0.96, s = 0.11, N = 10, P < 0.0001$$

Benzylamine:

$$\log\left(\frac{k_x}{k_0}\right) = 1.21(\pm 0.15) \cdot \sigma_x$$

$$r = 0.95, s = 0.11, N = 10, P < 0.0001$$

Reaction constant can be calculated as the slope of Hammett plots (Figure 2a and 2b). Reaction constant,  $\rho$ , represents the relative sensitivity of reaction under consideration upon the change of substituents on the aromatic ring. The sign and the magnitude of the reaction constants depend upon the nature of the reactants and the mechanism of reaction. Positive signs of the reaction constants for the addition of piperidine and benzylamine ( $\rho = 1.35$ , and  $\rho = 1.21$ , respectively) to **1-13** indicate that electron-withdrawing substituents increase the rate of addition. Numerical values of rate constants indicate the formation of the charged species in the rate-limiting step, which is in accordance with proposed mechanism of the formation of carbanionic intermediate, and subsequent rapid protonation of it.<sup>4</sup> Polar solvents are capable to stabilize charged species in the transition state, and lead to the formation of amino adduct. Reaction product was not observed in  $\text{CCl}_4$  after 24<sup>h</sup>, confirming the importance of polar/charged intermediates in reaction mechanism.

The geometries of the **1-13**, and the addition products of **5** with piperidine and benzylamine were optimized on a semiempirical MO level, using PM6 method,<sup>5</sup> as implemented in MOPAC 2009.<sup>6</sup> In this way obtained geometries were used for the single-point calculations at the DFT level<sup>7</sup> (B3LYP/6-311G\*\*), with and without implicit solvent model ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). DFT Calculations were performed by Gaussian03. Mulliken atomic charges, obtained from DFT calculations, were used to examine correlation between  $k_2$  and atomic charges on an electrophilic center. Results are shown on Figure 3.

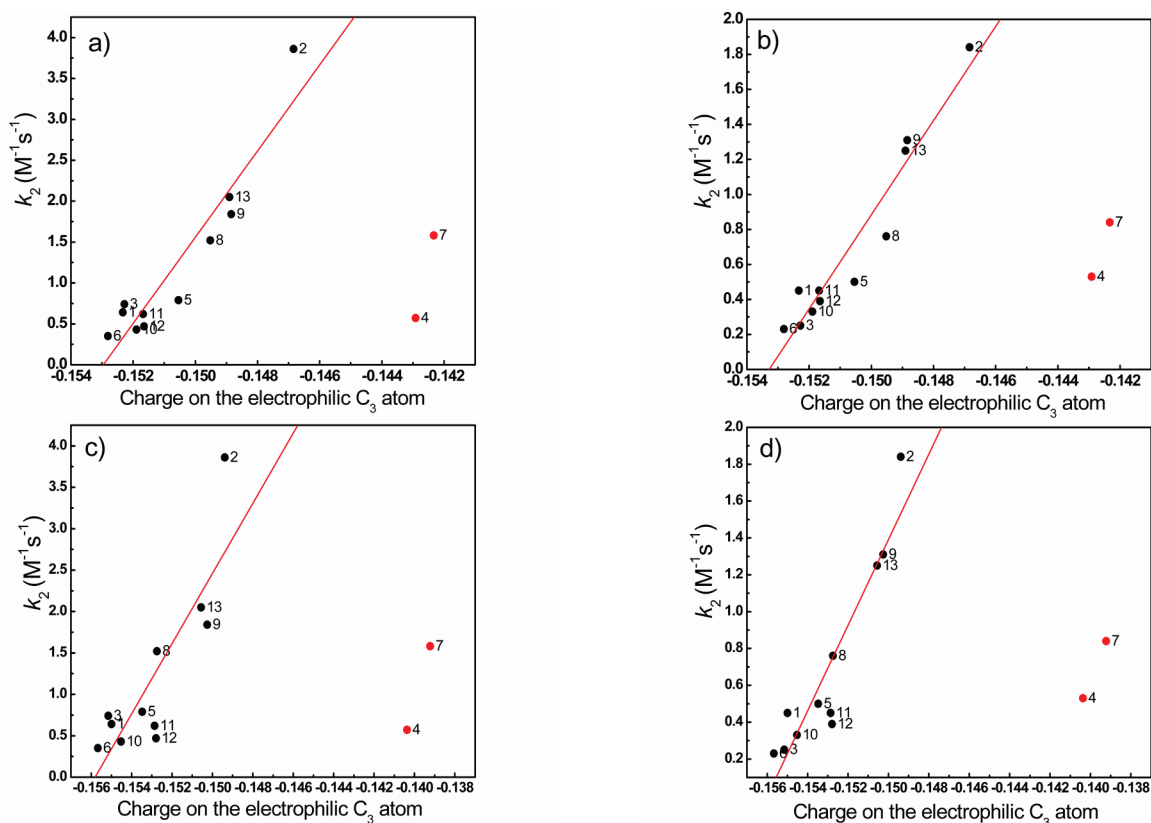


Figure 3. Correlation of the rate constants for the addition of piperidine and benzylamine to compounds **1-13** with the calculated Mulliken atomic charges; a) Charges obtained without implicit solvent model and the rate constant for piperidine ( $r = 0.94$ ) and b) benzylamine ( $r = 0.96$ ); c) Charges obtained with the implicit solvent model ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) in correlation with the rate constant for piperidine ( $r = 0.85$ ) and d) benzylamine ( $r = 0.93$ ).

Statistically superior correlations were found for the Mulliken charges obtained in vacuum, compared to implicit solvent model. Compounds **4** and **7** having *ortho*-substituents were omitted from Hammett correlations, because corresponding  $\sigma_o$  values could not be defined. Similarly, the same compounds were outliers in correlations with atomic charges.

Molecular electrostatic potential (MEP) maps, with charges obtained on DFT level, show difference in the charge distribution around electrophilic center among **2**, **4** and **6** (Figure 4). Pictures are created by MOLEKEL software,<sup>8</sup> and Maestro.<sup>9</sup>

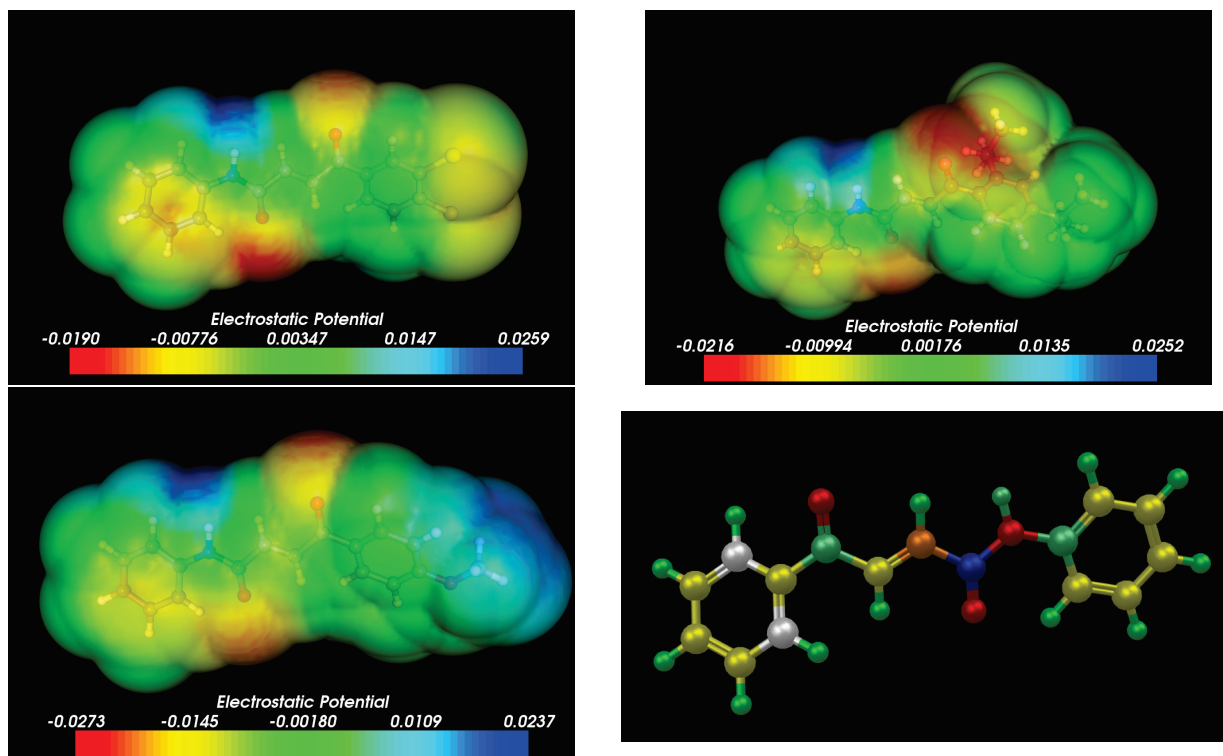


Figure 4. Molecular electrostatic potential (MEP) mapped on solvent accessible area (1.4 Å probe - water) of **2** (upper left), **4** (upper right) and **6** (lower left). Lower right picture represents molecule **5** colored by Mulliken atomic charge; blue color- charge  $\geq 0.25$ , red color- charge  $\leq -0.25$ .

## Conclusion

Rate constants of the addition of piperidine and benzylamine to compounds **1-13** were determined spectrophotometrically. The addition product of **13** with piperidine was isolated and characterized. Rate constants were well correlated with the Hammett substituent constants and calculated charges on C<sub>3</sub> atom. MEP Maps provided insight on the differences in electron density around reaction center. Hammett reaction constants,  $\rho$ , gave an indication of the possible mechanism of conjugated 1,4- addition of amines to the acrylic acid phenylamides. The further experimental and theoretical investigation of this biologically and synthetically important reaction will be conducted.

*Acknowledgement:* The Ministry of Science and Technological Development of Serbia supports this work. Grant 172035.

## Кинетика и механизам адисије пиперидина и бензиламина на фениламиде ароилакрилних киселина

Константе брзине реакције адисије депротонованог пиперидина и бензиламина на конгенерну серију фениламида ароилакрилних киселина у метанолу одређене су помоћу UV-VIS спектрофотометрије, под условима псеудо-првог реда. Утицај супституената на константе брзина реакције квантификован је помоћу Хаметових константи супституената и наелектрисања израчунатих за електрофилни угљеников атом (са и без модела имплицитног растварача), употребом DFT метода. Вредности Хаметових реакционих константи и испитивање реакције у различитим растварачима дају индикације о вероватном механизму ове реакције.

## References

1. M. Wong, A. Nishikawa, F.L. Chung, *Chem. Res. Toxicol.*, **5** (1992) 528.
2. C. Hansch, A. Leo, *Exploring QSAR, Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. ACS Professional Reference Book. American Chemical Society, Washington, DC, 1995.

3. R.A. Bartsch, B.R. Cho, *J. Am. Chem. Soc.*, **101** (1979) 3587.
4. L. Pardo, R. Osman, H. Weinstein, J. R. Rabinowitz, *J. Am. Chem. Soc.*, **115** (1993) 8263.
5. J.J.P. Stewart, *J. Mol. Mod.*, **13** (2007) 1173.
6. J.J.P. Stewart, *J. Comput.-Aided. Mol. Des.*, **4** (1990) 1.
7. P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev.*, **165** (1964) B864.
8. U.Varetto, MOLEKEL 5.4.0.8; Swiss National Supercomputing Centre: Manno (Switzerland), 2009
9. Maestro Version 9.0.111, Schrödinger, LLC.

## Uticaj selektivne TEMPO-oksidacije na mehanička svojstva vlakana pamuka

Jovana Ž. Milanović\*, Mirjana Kostić\*, Biljana Pejić\*\*\*, Petar Škundrić\*

\**Tehnološko-metalurški fakultet, Katedra za tekstilno inženjerstvo, Beograd, Univerzitet u Beogradu, Srbija*

\*\**Visoka tekstilna strukovna škola za dizajn, tehnologiju i menadžment, Beograd, Srbija*

Hemijskim modifikovanjem polisaharida, otvaraju se zanimljivi putevi za dobijanje novih biopolimera sa poboljšanim karakteristikama i specifičnom primenom, tzv. "biopolimera za budućnost". Sve aktuelnija istraživanja u oblasti modifikovanja celuloznih vlakana bazirana su na oksidaciji celuloze. U ovom radu je proučavan uticaj selektivne oksidacije katalizovane 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil radikalom (TEMPO) na mehanička svojstva vlakana pamuka. Takođe, nemodifikovana i modifikovana vlakna pamuka okarakterisana su sa aspekta gubitka mase, promene finoće i stepena kristalnosti. TEMPO-oksidacija vlakana pamuka uticala je na smanjenje mase i promenu finoće modifikovanih vlakana. Za oksidisana vlakna pamuka uočava se minimalno povećanje finoće i dolazi do povećanja indeksa kristalnosti, dok se prekidna jačina vlakana smanjuje. Primena rigoroznih uslova oksidacije dovodi do gubljenja vlaknaste forme, tako da kod takvih uzoraka određivanje prekidne sile i izduženja nije bilo moguće. Stoga, kada je za primenu u tekstilu potrebno da oksidisani uzorci imaju vlaknastu strukturu, oksidaciju je potrebno izvoditi pri blažim uslovima.

### Uvod

Usled orijentacije sveta ka ekološkim i održivim hemijskim tehnologijama, interesovanje za celulozu doživljava renesansu i dovodi ovaj bioobnovljivi polimer u centar pažnje kako sa naučnog, tako i sa industrijskog aspekta. Savremena istraživanja u oblasti celuloze obuhvataju nekoliko oblasti, među kojima se, kao sve aktuelnija izdvaja oblast fokusirana na dobijanje i definisanje potpuno novih proizvoda na bazi celuloze, tzv. „biopolimera za budućnost“.

U oblasti funkcionalizacije i dobijanja novih polimera poboljšanih svojstava, hemijsko modifikovanje celuloze nastavlja da ima dominantnu ulogu. Među brojnim postupcima hemijskog modifikovanja posebno se izdvaja oksidacija celuloze kao jedini proces koji omogućava bioresorptivnost celuloze. Proizvod oksidacije – *oksiceluloza*, čija su hemijska i fizička svojstva određena prirodom oksidacionog sredstva, predstavlja polaznu osnovu za dobijanje širokog spektra vlakana specijalne namene<sup>1</sup>. U poslednje vreme, kao veoma efikasna metoda za uvođenje funkcionalnih grupa u polisaharide, veoma je aktuelna katalitička oksidacija sa vodorastvornim i stabilnim nitroksilnim radikalima, kao što je 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksi radikal, poznat kao TEMPO radikal. Prednosti vezane za proces TEMPO-oksidacije su velika brzina reakcije i visok prinos, velika selektivnost, zatim kataliza procesa, kao i umerena degradacija polisaharida u toku oksidacije<sup>2,3</sup>.

U ovom radu proučavan je uticaj selektivne TEMPO-oksidacije na mehanička svojstva vlakana pamuka. Vlakna pamuka oksidisana su natrijum-hipohloritom i katalitičkom količinom natrijum-bromida i TEMPO radikala, pod različitim uslovima oksidacije. Nakon TEMPO-oksidacije, sakupljene nerastvorne frakcije oksidisane celuloze karakterisane su sa aspekta gubitka mase, promene stepena kristalnosti, finoće, prekidne jačine i izduženja.

### Ekperimentalni deo

#### Materijal

Ruski pamuk, I klasa, 32/33 mm; TEMPO: 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksi, slobodni radikal, C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO, 98 %, "Aldrich", Nemačka; sve upotrebljene hemikalije bile su p. a. čistoće.

#### Metode:

TEMPO-oksidacija vlakana pamuka: Primenjeni postupak TEMPO-oksidacije baziran je na metodi koju su predložili Saito i Isogai<sup>4,5</sup>. Uslovi oksidacije i oznake uzoraka dati su u tabeli 1.

Određivanje gubitka mase: Gubitak mase ( $\Delta m$ ), nastao kao posledica destrukcije vlakana tokom modifikovanja, izračunava se po formuli:

$$\Delta m = \frac{m_p - m_k}{m_p} \cdot 100, \%$$

$m_p$  – masa nemodifikovanih vlakana, g  
 $m_k$  – masa vlakana nakon oksidacije, g

Određivanje stepena kristalnosti preko sorpcije joda: Metoda se zasniva na utvrđivanju količine sorbovanog joda od strane amorfni područja u vlaknima. Količina sorbovanog joda vlaknima određuje se indirektno, tj. titracijom joda zaostalog u rastvoru sa 0,01 M rastvorom natrijum-tiosulfata. Paralelno se vrši "slepa" proba i količina apsorbiranog joda (mg) po gramu materijala izračunava na osnovu razlike titracije glavne i "slepe" probe<sup>6</sup>. Inverzna vrednost jednog broja proporcionalna je kristalnim oblastima celuloze i izražava se kao indeks kristalnosti. Indeks kristalnosti se izračunava prema jednačini koju je, još 1970. g., predložio Nelson<sup>7</sup>:

$$Crl = 100 - (I_{\text{broj}}/412 \times 100), \%$$

Određivanje finoće vlakana: Određivanje finoće tekstilnih vlakana vršeno je po metodi definisanoj standardom SRPS F.S2.212. Ovaj standard propisuje način određivanja titra (mase po jedinici dužine) svih vrsta tekstilnih vlakana, svih dužina. Meranjem mase i dužine jednog vlakna (ili grupe vlakana) dobijaju se podaci iz kojih se izračunava masa po jedinici dužine tj. titar (titar jednog vlakna ili srednji titar grupe vlakana). Titar (finoća) se izražava u tex-ima.

Određivanje prekidne sile i prekidnog izduženja pojedinačnih vlakana: Određivanje se vrši metodom propisanom standardom SRPS F.S2.213. Za ovo ispitivanje korišćen je dinamometar marke Werkstoffprüfmaschinen, koji omogućava određivanje prekidnog opterećenja do 98 cN. Rastojanje između klemna je podešeno na 20 mm, a za svaki uzorak je izvršeno 10 merenja. Pogon na dinamometru je hidraulički.

Tabela 1. Oznake uzoraka, gubitak mase, finoća i mehanička svojstva oksidisanih vlakana pamuka i uslovi izvođenja TEMPO-oksidacije

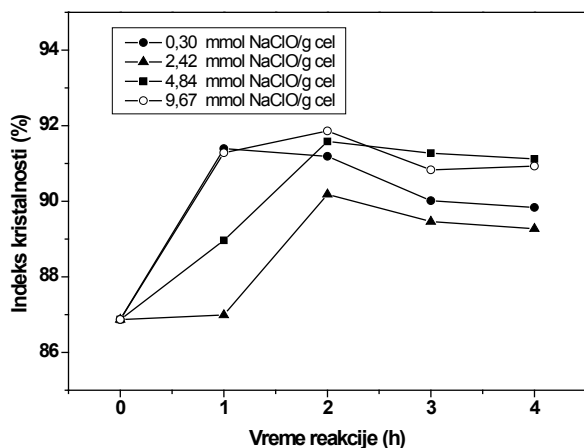
Uzorci	Gubitak mase, %	Finoća, dtex	Prekidna jačina, cN/tex	Izduženje, %	Uslovi oksidacije	
					13% NaClO	τ, h
CI <sub>1</sub>	2,11	1,32	20,29	4,8	0,30 mmol/g cel	1,00
CI <sub>2</sub>	2,15	1,32	19,60	5,0		2,00
CI <sub>3</sub>	2,52	1,32	18,34	5,3		3,00
CI <sub>4</sub>	2,78	1,31	17,97	6,3		4,00
CII <sub>1</sub>	2,18	1,30	18,55	4,3	2,42 mmol/g cel	1,00
CII <sub>2</sub>	2,36	1,29	13,87	3,8		2,00
CII <sub>3</sub>	3,10	1,28	-*	-*		3,00
CII <sub>4</sub>	4,63	-*	-*	-*		4,00
CIII <sub>1</sub>	1,85	1,28	12,75	3,1	4,84 mmol/g cel	1,00
CIII <sub>2</sub>	3,22	-*	-*	-*		2,00
CIII <sub>3</sub>	5,48	-*	-*	-*		3,00
CIII <sub>4</sub>	7,38	-*	-*	-*		4,00
CIV <sub>1</sub>	2,71	1,28	10,82	2,9	9,67 mmol/g cel	1,00
CIV <sub>2</sub>	3,45	-*	-*	-*		2,00
CIV <sub>3</sub>	7,13	-*	-*	-*		3,00
CIV <sub>4</sub>	11,34	-*	-*	-*		4,00
CO	-	1,32	25,79	5,4	0 ml	0,00

\* - kratka vlakna; nije bilo moguće određivanje finoće, prekidne jačine i izduženja modifikovanih uzorka

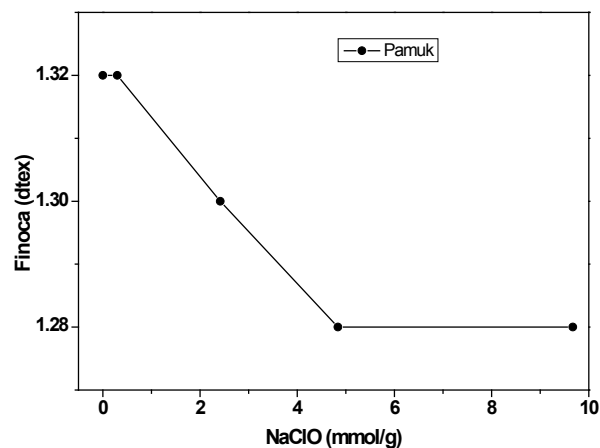
## Rezultati i diskusija

TEMPO-oksidacija i gubitak mase vlakana pamuka: U toku TEMPO-oksidacije, C6 primarne grupe celuloze prelaze u karboksilne grupe, preko intermedijera aldehidnih grupa. Jačina tretmana generalno se karakteriše gubitkom mase, koji je rezultat rastvaranja produkata oksidacije, tj. makromolekula celuloze sa visokim stepenom oksidacije i/ili nekih produkata oksidacije male molekulske mase, koji se dobijaju usled procesa beta-eliminacije na C6 aldehidnom intermedijeru **Error! Bookmark not defined.** Takođe, gubitku mase može da doprinese i depolimerizacija koju uzrokuju aktivne grupe kao što su hidrosil radikali formirani *in situ* u sporednoj reakciji<sup>8</sup>. U našem eksperimentu, u svim slučajevima oksidacije, zabeležen je gubitak mase (tabela 1): od 2,11 %, pri najblažim uslovima oksidacije, do 11,34 %, pri najagresivnijim uslovima oksidisanja. Gubitku mase doprinose i dodatni procesi kao što su dekompozicija nečistoća i prirodnih pigmenta u vlaknima pamuka<sup>9</sup>.

Jodni broj i indeks kristalnosti TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka: Smanjenje jodnog broja kod TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka posledica je rastvaranja pristupačnih celuloznih frakcija, kao i uvođenja karbonilnih i karboksilnih grupa u toku oksidativnog tretmana celuloze. S obzirom da se sorpcija joda odigrava u amorfnim oblastima<sup>10</sup>, ona može poslužiti za određivanje indeksa kristalnosti. Indeks kristalnosti-proporcionalan kristalnim oblastima celuloze, predstavlja inverznu vrednost jodnog broja i izračunava se po jednačini koju su predložili Schwertassek i Nelson **Error! Bookmark not defined.** U toku TEMPO-oksidacije kristalnost se povećava i menja u opsegu od 86,9 %, za nemodifikovana pamučna vlakna do 87,0 % – 91,9 % za TEMPO-oksidisana pamučna vlakna. Dobijeno povećanje indeksa kristalnosti za TEMPO-oksidisane celulozne uzorke nastaje usled delimičnog gubitka neuređenih oblasti u toku procesa oksidacije i ispiranja, jer se usled oksidacije povećava njihova rastvorljivost u vodi **Error! Bookmark not defined.** (slika 1.).



Slika 1. Veza između vremena oksidacije, koncentracije NaClO i indeksa kristalnosti vlakana pamuka oksidisanih pomoću 0,0025 g TEMPO/g celuloze na sobnoj temperaturi i pri pH 10,5



Slika 2. Veza između količine modifikujućeg agensa NaClO i finoće vlakana pamuka, modifikovanih 1 sat, pomoću 0,0025 g TEMPO/g celuloze na sobnoj temperaturi i pri pH 10,5

Promena finoće, prekidne jačine i izduženja TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka: Uvođenje aldehidnih i karboksilnih grupa, promene strukture i sorpcionih karakteristika vlakana pamuka usled TEMPO-oksidacije, značajno utiču na promene mehaničkih karakteristika oksidisanih vlakana. Prilikom određivanja prekidnih karakteristika vlakana, uobičajeno je prikazivanje prekidne jačine umesto prekidne sile vlakana, stoga najpre sledi kratak pregled uticaja TEMPO-oksidacije na promenu finoće vlakana pamuka. Finoća nemodifikovanih vlakana pamuka iznosi 1,32 dtex, dok su kod modifikovanih vlakana zabeležene uglavnom minimalne promene finoće (tabela 1.). Povećanje finoće tj. dobijanje finijih vlakana, uočeno je u slučaju modifikovanja sa 2,42 NaClO mmol/g celuloze i pri rigoroznijim uslovima modifikovanja, s tim što je određivanje finoće bilo moguće samo kod uzoraka koji su nakon oksidacije zadržali vlaknastu formu. Pri rigoroznijim uslovima modifikovanja (oznake -\* u tabeli 1.) uzorci pamuka izgubili su vlaknastu strukturu i dobijena su sitna vlakna. Finoća modifikovanih vlakana pamuka menja se u opsegu: 1,32 - 1,28 dtex, kako zbog rastvaranja produkata oksidacije i depolimerizacije koju uzrokuju aktivne grupe, tako i usled uklanjanja primesa i nečistoća **Error! Bookmark not defined.** Uticaj povećanja koncentracije modifikujućeg agensa na povećanje finoće oksidisanih vlakana pamuka, koja su modifikovana 1 sat, prikazan je na slici 2. Može se videti da modifikovani uzorci vlakana pamuka imaju manje vrednosti za finoću (dobijaju se finija vlakna) u odnosu na nemodifikovani uzorak. Povećanjem količine modifikujućeg agensa (NaClO) smanjuje se prekidna jačina TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka u odnosu na nemodifikovana vlakna (25,78 cN/tex) i do 58 %. Smanjenje prekidne jačine modifikovanih vlakana može se objasniti oksido-destruktivnim procesima koji dovode do smanjenja stepena polimerizovanja i molekulske mase<sup>11</sup>, a samim tim i do pogoršanja mehaničkih karakteristika vlakana. Do smanjenja prekidne jačine oksidisanih vlakana dolazi i sa produžavanjem vremena oksidacije, što je potvrđeno za uzorke modifikovane pomoću najmanje koncentracije modifikujućeg agensa NaClO (0,30 mmol/g cel). Pri najblažim uslovima modifikovanja, kod vlakana pamuka smanjenje prekidne jačine iznosi 21,3 % u odnosu na nemodifikovana vlakna. Prekidno izduženje modifikovanih vlakana povećano je jedino kod uzorka Cl<sub>4</sub> i iznosi 6,3%, dok se u ostalim slučajevima smanjuje, u zavisnosti od uslova modifikovanja, od 2,9 % do 5,3 %, u odnosu na nemodifikovani uzorak (5,4 %). Primena rigoroznih uslova oksidacije dovodi do gubljenja vlaknaste

forme, tako da kod takvih uzoraka određivanje prekidne sile i izduženja nije bio moguće. Stoga, kada je potrebno da oksidisani uzorci imaju vlaknastu strukturu, oksidaciju je potrebno izvoditi pri blažim uslovima.

### Zaključak

Određivanje gubitka mase, kao mere destrukcije celuloze usled oksidacije, generalno pokazuje povećanje vrednosti za gubitak mase oksidisanih vlakana pamuka. Uz rastvaranje produkata oksidacije i depolimerizacije koju uzrokuju aktivne grupe, gubitku mase doprinose i dodatni procesi kao što su dekompozicija nečistoća i prirodnih pigmenta u vlaknima pamuka.

Rastvaranje pristupačnih celuloznih frakcija i uvođenje funkcionalnih grupa u toku oksidativnog tretmana celuloze za posledicu ima i smanjenje jednog broja, odnosno povećanje indeksa kristalnosti, kod TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka. U toku TEMPO-oksidacije kristalnost se povećava i menja u opsegu od 86,9 %, za nemodifikovana pamučna vlakna do 87,0 % - 91,9 % za TEMPO-oksidisana pamučna vlakna.

Povećanjem količine modifikujućeg agensa (NaClO) i produžavanjem vremena oksidacije smanjuje se prekidna jačina TEMPO-oksidisanih vlakana pamuka u odnosu na nemodifikovana vlakna (25,78 cN/tex) i do 58 %. Prekidno izduženje modifikovanih vlakana povećano je jedino kod uzorka Cl<sub>4</sub> i iznosi 6,3%, dok se u ostalim slučajevima smanjuje, u zavisnosti od uslova modifikovanja, od 2,9 % do 5,3 %, u odnosu na nemodifikovani uzorak (5,4 %). Primena rigoroznih uslova oksidacije dovodi do gubljenja vlaknaste forme, tako da kod takvih uzoraka određivanje prekidne sile i izduženja nije bilo moguće. Stoga, kada je potrebno da oksidisani uzorci imaju vlaknastu strukturu, oksidaciju je potrebno izvoditi pri blažim uslovima.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je proistekao iz rada na Projektu koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (OI 172029).

### Influence of selective TEMPO-oxidation on mechanical properties of cotton fibers

*Chemical modifications of polysaccharides are interesting routes for preparing new type of polymers on the basis of cellulose, with advances in performance and application, so-called "biopolymers for the future". The research in the field of cellulose fibers modification, that has been based on cellulose oxidation has become very actual. In this paper, the influence of the selective oxidation catalized with 2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxy radical (TEMPO) on mechanical properties of cotton fibers was studied. Also, unmodified and modified fibers were characterized in terms of weight loss values, fineness and crystallinity index. The TEMPO-mediated oxidation has influence on weight reduction and changes in fineness of the modified fibers. Oxidized cotton fibers show minimal increase of fineness and higher crystallinity index, while the tensile strength of fiber decreases. Applying severe conditions of TEMPO-mediated oxidation on cotton fibers, results in loosing fibrous structure, and in that case, the determination of tensile strength and elongation was not possible. Therefore, for textile applications only oxidation under mild conditions should be carried out.*

### Literatura

1. J. Schurz, *Progress in Polymer Science*, **24**. (1999) 481–483.
2. A. E. de Nooy, A. C. Besemer, H. van Bekkum. *Carbohydrate Research*, **269**. (1995) 89–98.
3. T. Saito, A. Isogai, *Colloids and Surfaces*, **289**. (2006) 219–225.
4. T. Saito, A. Isogai, *Biomacromolecules*, **5**. (2004) 1983.
5. T. Saito, A. Isogai, *Carbohydrate Polymers*, **61**. (2005) 183-190.
6. U. Stankovič, A. Elesini, P. Čuden, *Acta Chimica Slovenica*, **49**. (2002) 815-833
7. M. L. Nelson, M.-A. Rousselle, S. J. Cangemi, P. Trouard, *Textile Research Journal*, **40**. (1970) 870-880
8. J. Praskalo, M. Kostic, A. Potthast, G. Popov, B. Pejic, P. Skundric, *Carbohydrate Polymers*, **77**. (2009) 791
9. D. Fakin, V. Golob, K. S. Kleinschek, A. M. L. Marechal, *Textile Research Journal*, **76**. (2006) 448-454
10. T. Kreze, S. Jeler, S. Strnad, *Materials Research Innovations*, **277**. (2005) 283
11. J. Praskalo, *Doktorska disertacija*, TMF, Beograd, (2010)

## Biosorpcija jona $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ i $\text{Pb}^{2+}$ kratkim vlaknima konoplje: Matematički model

Biljana M. Pejić\*\*\*, Marija Vukčević\*, Ivana Pajić-Lijaković\*, Mirjana Kostić\*, Jovana Milanović\*,  
Petar Škundrić\*

*\*Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Srbija*

*\*\*Visoka tekstilna strukovna škola za dizajn, tehnologiju i menadžment, Beograd, Srbija*

### Uvod

Nagli industrijski razvoj sa sobom je doneo probleme vezane za zagađenje životne sredine otpadnim materijama, kao što su: teški metali, boje i razne organske materije. Prema opsežnim svetskim istraživanjima, zagađenje vode teškim metalima postao je gorući problem, jer je veliki deo ljudske populacije izložen ovim opasnim materijama koje narušavaju njihovo zdravstveno stanje<sup>1-3</sup>. Prisustvo jona teških metala ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ ) u vodi za piće, čak i u malim količinama, mogu izazvati teže zdravstvene probleme, a samo neki od njih su: hipertenzija, nefritis, renalna disfunkcija i hronični poremećaji nervnog sistema. U cilju prečišćavanja vode zagađene teškim metalima, pored standardnih metoda sve češće se koriste biosorbenti na bazi lignoceluloznih vlaknastih materijala, koji su posebno interesantni zbog svoje biodegradabilnosti, biokompatibilnosti i niske cene. Najčešće korišćeni biosorbenti ovog tipa su nemodifikovana i modifikovana vlakna jute, kenafa, ramije, a u poslednje vreme sve više i konoplje. Vlakna konoplje su heterogena po svom hemijskom sastavu (sadrže celulozu, hemiceluloze, lignin, pektine, masti i voskove) i samim tim sadrže različite aktivne grupe (hidroksilne, karbonilne, karboksilne i fenolne) za koje se prilikom biosorpcije vezuju joni teških metala<sup>1-5</sup>. U našem prethodnom radu<sup>2</sup>, pokazano je da nemodifikovana i hemijski modifikovana kratka vlakna konoplje, koja predstavljaju otpad u tekstilnoj industriji, imaju veoma visok potencijal za uklanjanje jona  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  iz vodenih rastvora. Proces biosorpcije jona teških metala, ovim materijalima, direktno je vezan za fenomene difuzije jona kroz poroznu vlaknastu matricu i otpore koji se javljaju pri difuziji kao posledica međusobnih elektrostatičkih odbijanja između jona tokom njihovog transporta kroz vlakno. Na osnovu toga, u ovom radu je sa fenomenološkog aspekta, matematičkim modelom definisan proces biosorpcije  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  kratkim vlaknima konoplje. Transport ispitivanih jona kroz vlaknastu matricu definisan je određivanjem efektivnog koeficijenta difuzije i efektivnosti sorpcije metalnih jona u vlaknima.

### Materijal i metode

#### *Materijal*

Kao materijal u ovom radu su korišćena kratka i zamršena vlakna konoplje (ITES Odžaci, Serbia) i uzorak oksidisanih vlakna konoplje L0.7B5 (vlakna konoplje modifikovana sa 0,7 %  $\text{NaClO}_2$ , 5 minuta, na temperaturi ključanja), koji se u našem prethodnom radu<sup>2</sup> pokazao kao uzorak sa najboljom efikasnošću sorpcije u odnosu na jone  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  pri koncentraciji rastvora od 0,1 mmol/dm<sup>3</sup>. Fizičko-hemijske i mehaničke karakteristike ovih uzoraka prikazane su u literaturnim izvorima<sup>6,7</sup>.

#### *Biosorpcija jona ( $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ i $\text{Zn}^{2+}$ )*

Biosorpcija jona ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ ) iz rastvora koncentracije 0,1 mmol/dm<sup>3</sup>, izvršena je prema proceduri prikazanoj u literaturnom izvoru<sup>2</sup>. Pad koncentracije jona tokom sorpcije određivan je atomskim apsorpcionim spektrometrom (PYE UNICAM SP9, Pye Unicam, Ltd., UK).

### Rezultati i diskusija

Prethodna ispitivanja<sup>2</sup> pokazuju da modifikovanje vlakana konoplje sa natrijum-hloritom (selektivno uklanjanje lignina) poboljšava njihov biosorpcioni kapacitet. S obzirom na dominantnu ulogu spoljašnjih slojeva vlakna u procesu sorpcije, ovo se može objasniti povećanjem hrapavosti vlakana i stvaranjem novih kapilarnih prostora na međupovršinskim slojevima između delimično ili potpuno razdvojenih vlakana, tokom procesa fibrilacije, nastalog uklanjanjem lignina iz srednje lamele. Takođe, tokom oksidacije dolazi do stvaranja dikarboksilnih grupa u strukturi lignina zaostalog u vlaknima konoplje, što je u direktnoj vezi sa povećanjem sorpcionog kapaciteta oksidisanih vlakana<sup>8</sup>.



Biosorpcija jona teških metala iz vodenog rastvora vlaknima konoplje fenomenološki je formulisana matematičkim modelom, baziranim na drugom Fikovom zakonu. Matematički model polazi od jednačine (1), koja predstavlja bilansnu jednačinu promene koncentracije metalnih jona u vlaknima:

$$\frac{\partial \Delta C_F(r,t)}{\partial t} = D_{eff} \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial \Delta C_F(r,t)}{\partial r} \right) \quad (1)$$

gde je:  $\Delta C_F(r,t) = C_{F_{eq}} - C_F(r,t)$ ;  $C_F(r,t)$  lokalna koncentracija jona;  $C_{F_{eq}}$  ravnotežna koncentracija jona;  $D_{eff}$  efektivni koeficijent difuzije metalnih jona kroz vlakno.

Jednačina (2) predstavlja bilansnu jednačinu promene koncentracije metalnih jona u rastvoru:

$$V_R \frac{\partial \Delta C_S(t)}{\partial t} = \left( -D_{eff} \frac{\partial \Delta C_F(r,t)}{\partial r} \right)_{r=R} P_{eff} \quad (2)$$

gde je:  $\Delta C_S = C_S(t) - C_{S_{eq}}$ ;  $C_S(t)$  koncentracija jona u rastvoru;  $C_{S_{eq}}$  ravnotežna koncentracija jona u rastvoru;  $V_S$  zapremina rastvora;  $P_{eff}$  efektivna površina između nabubrelih vlakana i rastvora.

Prikazani proces je definisan i ograničen sledećim uslovima:

- 1) Za  $t=0$ , polazna koncentracija metalnih jona u rastvoru je  $C_S(0)=C_{S0}$ .
- 2) Za  $t=0$ , polazna koncentracija metalnih jona u vlaknu za  $r=R$  je  $C_F(R,0)=C_{S0}$ .
- 3) Za svako  $t$  koncentracija metalnih jona u vlaknu za  $r=R$  je  $C_F(R,t)=\alpha(t) C_S(t)$ , gde  $\alpha(t)$  predstavlja efektivnost sorpcije.
- 4) Na osnovu uslova (1) polazna vrednost parametra  $\alpha$  je  $\alpha(0)=1$ .
- 5) Za  $t=t_{eq}$  (ravnotežno vreme za sorpciju metalnih jona  $t_{eq}=60$  min) ravnotežna koncentracija metalnih jona u rastvoru je  $C_S(t_{eq})=C_{Seq}$ .
- 6) Za  $t=t_{eq}$  ravnotežna koncentracija metalnih jona u rastvoru je  $C_F(t_{eq})=C_{F_{eq}}$  (gde je ravnotežna koncentracija jona u vlaknu  $C_{F_{eq}}=((C_{S0}-C_{Seq})V_S)/V_F$ ).

Uz prethodne uslove, na osnovu Fourier-ovog zakona i Baseles-ovih funkcija, jednačina (1), dobija oblik jednačine (3) pomoću koje se dobijaju profili koncentracija metalnih jona u vlaknu.

$$C_F(r,t) = C_{F_{eq}} - e^{-\lambda^2 t} \{C_1 J_0(ra) + C_2 N_0(ra)\} \quad (3)$$

gde su:  $J_0(ra)$  i  $N_0(ra)$  Baseles-ove funkcije, dok parametar  $a$  predstavlja vrednost kvadratnog korena količnika  $\lambda^2/D_{eff}$ , a  $\lambda^2$  specifičnu brzinu promene koncentracije metalnih jona.

Daljom transformacijom jednačina (1) dobija oblik jednačine (4):

$$C_F(r,t) = C_{F_{eq}} - e^{-\lambda^2 t} C_1 \left[ 1 - \frac{(ra)^2}{4} + \frac{(ra)^4}{64} - \frac{(ra)^6}{2304} \right] \quad (4)$$

gde  $C_1$  predstavlja konstantu dobijenu na osnovu uslova (2). Razvojem konstante  $C_1$  u jednačini (4) uz uslov  $r=R$ , dobija se jednačina (5):

$$C_F(R,t) = C_{F_{eq}} - (C_{F_{eq}} - C_{S0}) e^{-\lambda^2 t} \quad (5)$$

Na osnovu uslova (3) i (4) dobija se jednačina (6) za određivanje koncentracije metalnih jona u rastvoru:

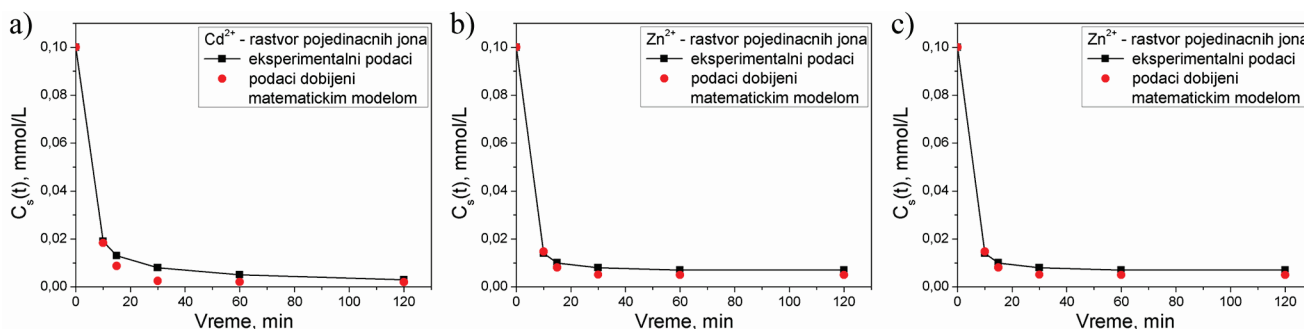
$$C_S(t) = C_{S0} - (C_{S0} - C_{Seq}) (1 - e^{-\lambda^2 t}) \quad (6)$$

Efektivni koeficijent difuzije se dobija upotrebom iterativne procedure na osnovu jednačina (7) i (8) i uslova (1) i (6):

$$\frac{V_S (C_{S0} - C_{F_{eq}})}{P_{eff} (C_{F_{eq}} - C_{S0})} = \frac{\frac{R}{2} - \frac{R^3 a^2}{16} + \frac{R^5 a^4}{384}}{1 - \frac{(Ra)^2}{4} + \frac{(Ra)^4}{64} - \frac{(Ra)^6}{384}} \quad (7)$$

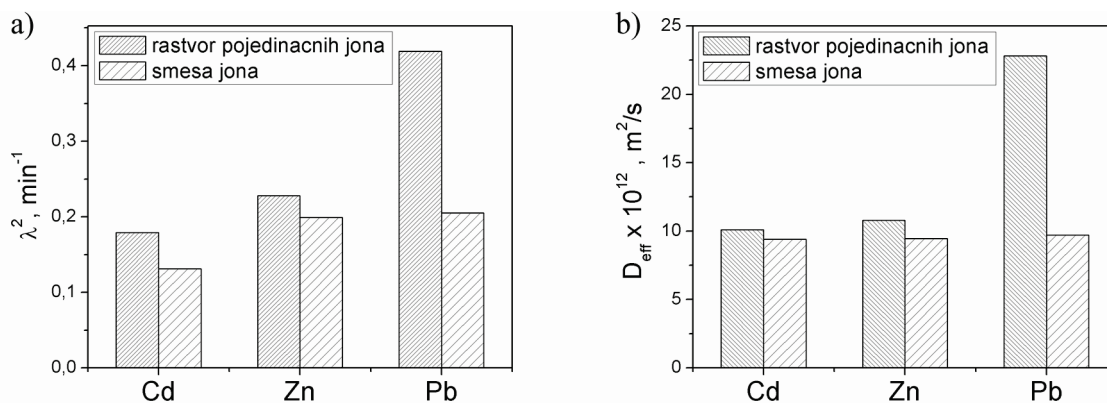
$$D_{eff} = \frac{\lambda^2}{a_{eff}^2} \quad (8)$$

Slaganje eksperimentalnih podataka i vrednosti dobijenih matematičkim modelom (jednačina (6)) za sve ispitivane jone u rastvoru, prikazano je kroz zavisnost pada koncentracije jona u rastvoru od vremena (slika 1.).



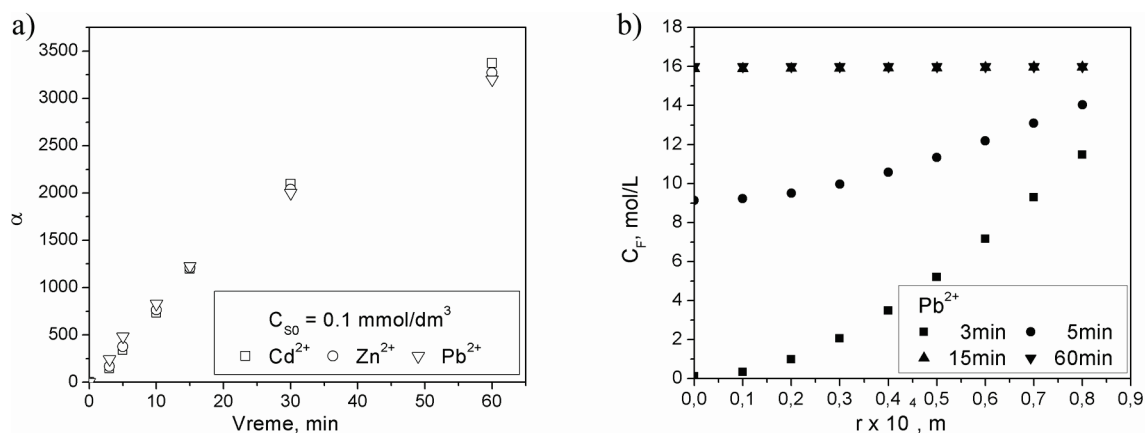
Slika 1. Promena koncentracije jona tokom procesa biosorpcije, dobijena na bazi eksperimentalnih vrednosti i vrednosti dobijenih matematičkim modelom, za rastvor pojedinačnih jona a)  $Cd^{2+}$ , b)  $Zn^{2+}$  i c)  $Pb^{2+}$

Vrednosti parametra  $\lambda^2$  dobijene su procedurom fitovanja i predstavljaju najbolje slaganje rezultata dobijenih modelom i eksperimentom (slika 2a.). Na osnovu tako dobijenih vrednosti za parametar  $\lambda^2$ , korišćenjem jednačina (7) i (8), dobijene su i vrednosti za efektivni koeficijent difuzije (slika 2b.).



Slika 2. Specifična brzina promene koncentracije (a) i efektivni koeficijent difuzije jona teških metala (b) u rastvoru pojedinačnih jona i smeši sva tri jona

Efektivni koeficijent difuzije je veličina koja direktno zavisi od difuzije jona do površine vlakna, međusobnih interakcija tipa jon-jon i jon-vlakno, mikroporoznosti površine i strukture oksidisanog vlakna konoplje. Koeficijent  $\lambda^2$  i  $D_{eff}$  u rastvoru pojedinačnih jona i smeši sva tri jona, imaju najveće vrednosti za jon olova, što je u saglasnosti sa našim prethodnim radom<sup>2</sup> Obzirom na to da joni olova imaju veće vrednosti za koeficijent difuzije u razblaženim vodenim rastvorima<sup>9,10</sup> u odnosu na jone cinka i kadmijuma, oni brže stižu do površine vlakna, prvi se deponuju u mikropore i mikropukotine i penetriraju u interfibrilarne oblasti (posebno izraženo u slučaju smeše sva tri jona). Tako sorbovani joni olova predstavljaju sterne smetnje i usporavaju sorpciju cinka i kadmijuma. Takođe, joni olova, usled svoje veličine najverovatnije ostaju uklješteni u interfibrilarnim oblastima vlakana. Na osnovu svih pomenutih fenomena proces biosorpcije se može podeliti na dva režima i to: režim I koji je vezan za fenomene transporta jona kroz vlakno (prvih 15 minuta procesa biosorpcije) i režim II koji se odnosi na otpore difuziji jona kroz vlakno nastale kao rezultat elektrostatičkih odbijanja između jona u vlaknu (narednih 45 minuta procesa biosorpcije). Efektivnost sorpcije ( $\alpha(t)$ ) je veličina kojom se mogu jasno definisati oba režima i predstavlja meru efikasnosti procesa biosorpcije jona iz rastvora. U cilju praćenja realnih uslova, na osnovu matematičkog modela, određena je zavisnost između efektivnosti sorpcije (parametar  $\alpha$ ) i vremena sorpcije za smešu jona (slika 3a.), kao i profil koncentracije jona metala kroz vlakno (slika 3b.).



Slika 3. a) zavisnost između efektivnosti i vremena sorpcije za sve jone i b) profil koncentracije jona olova kroz vlakno

### Zaključak

Matematički model razvijen na osnovu eksperimentalnih podataka kroz efektivni koeficijent difuzije i efikasnost sorpcije, pojašnjava proces biosorpcije jona teških metala kratkim vlaknima konoplje. U slučaju rastvora pojedinačnih jona, transport jona kroz vlakno i efektivni koeficijent difuzije uglavnom su uslovljeni debljinom solvacionog sloja jona. U slučaju smeše jona, gde je broj čestica tri puta veći, mehanizam transporta se menja i zavisi od efikasnosti učestalih sudara između jona. Takođe, u slučaju smeše jona, na vrednost efektivnog koeficijenta difuzije utiču i sterne smetnje i elektrostatičko odbijanje između jona iste i različite vrste. Obzirom da predloženi matematički model daje bolji uvid u fenomene transporta jona kroz poroznu vlaknastu matricu, moguće ga je iskoristiti za optimizaciju kompleksnih procesa biosorpcije.

Zahvalnica: Ova ispitivanja finansirana su od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (Projekat OI 172029).

### Biosorption of $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ i $\text{Pb}^{2+}$ ions by short hemp fibers: Mathematical model

*The discharge of toxic heavy metals into the environment is a serious pollution problem affecting water and soil quality, hence presenting a direct danger to human health. Recently, lignocellulosic materials are often used as biosorbents for wastewater treatment. In this paper, process of biosorption was explained in the terms of transport phenomena of different ions ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ ) through the porous lignocellulosic fiber matrices (chemically modified hemp fibers). At the beginning, biosorption process is very fast and depends on diffusion of heavy metal ions through the porous structure of fibers. After that, biosorption process becomes slower, and mutual electrostatic repulsive interactions between the ions in the fibers become more intensive. Value of effective diffusion coefficient of heavy metal ions through the fibers, effectiveness of sorption and ions concentration profile through the fibers were determined by mathematical model based on the second Fick's law.*

### Literatura:

1. N.A. Adesola Babarinde, O.O. Oyesiku, J. Oyebamiji Babalola, J.O. Olatunji, *J. Appl. Sci. Res.* **4** (2008) 716-721.
2. B. Pejic, M. Vukcevic, M. Kostic, P. Skundric, *J. Hazard. Mater.* **164** (2009) 146-153.
3. L. Tofan, C. Paduraru, *Croat. Chem. Acta* **77** (2004) 581-586.
4. K. Conard, H.C. Bruun Hansen, *Bioresource Technol.* **98** (1) (2007) 89-97.
5. S.R. Shukla, R.S. Pai, *Bioresource Technol.* **96** (13) (2005) 1430-1438.
6. B.M. Pejic, M.M. Kostic, P.D. Skundric, J.Z. Praskalo, *The Bioresource Technol.* **99** (2008) 7152-7159.
7. M.M. Kostic, B.M. Pejic, K.A. Asanovic, V.M. Aleksic, P.D. Skundric, *Ind. Crop. Prod.* **32** (2010) 169-174.
8. A.-A.M.A. Nada, M.L. Hassan, *J. Appl. Polym. Sci.* **102** (2006) 1399-1404.
9. R. Leyva-Ramos, J.R. Rangel-Mendez, L.A. Bernal-Jacome, M.S. Berber Mendoza, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **80** (2005) 924-933.
10. P.T. Cardew, *Water Res.* **40** (2006) 2190-2200.

## Uticaj hemijskog modifikovanja na električnu otpornost pamučnih pređa

Ana D. Kramar, Koviljka Asanović, Jovana Milanović, Mirjana Kostić

Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, Beograd, Srbija

### Uvod

Tekstilni materijali spadaju u tipične dielektrike i kao takvi poseduju veoma visoke električne otpornosti, zbog čega su skloni generisanju statičkog naelektrisanja na svojoj površini. Generisano statičko naelektrisanje može da izazove probleme kako tokom izrade, tako i tokom eksploatacije tekstilnih materijala. Zato je od izuzetnog značaja usavršavanje metoda za praćenje, kontrolu i smanjenje električne otpornosti, a posredno i statičkog naelektrisanja tekstilnih materijala<sup>1,2</sup>. Novi istraživački pravci na polju tekstilne tehnologije obuhvataju modifikovanje prirodnih vlakana u cilju dobijanja vlakana poboljšanih svojstava. Prirodna vlakna su posebno interesantna za područje odevne industrije zbog svojih povoljnih fizioloških svojstava s jedne, i mogućnosti dobijanja specijalnih svojstava hemijskim modifikovanjem s druge strane.

U ovom radu je vršeno modifikovanje pamučne pređe neselektivnim oksidacionim sredstvom, vodonik-peroksidom, uz variranje uslova obrade (koncentracija, pH vrednost reakcione sredine, vreme obrade). Oksidacija je vršena radi povećanja hemisorpcione sposobnosti celuloze jer oksidacijom dolazi do prevođenja hidroksilnih grupa u karbonilne i karboksilne. Novoformirane karboksilne grupe imaju izraženu jonogenu aktivnost, što je potvrđeno poboljšanom sorpcijom  $\text{Ag}^+$  jona modifikovanim uzorcima. Pamučna pređa sa vezanim jonima srebra, pored odlične antimikrobne aktivnosti<sup>3</sup>, poseduje i poboljšana elektrofizička svojstva, što je bilo predmet ispitivanja u ovom radu, gde je praćena promena električne otpornosti u zavisnosti od uslova hemijskog modifikovanja.

### Materijal

Kao polazni uzorak (oznake *NO*) korišćena je pamučna, konvencionalna, češljana pređa finoće 20,0 tex. Hemikalije upotrebljene za modifikaciju i ispitivanje su bile p.a. čistoće.

### Metoda oksidacije i jonske izmene

Oksidacija pređe vršena je pri odnosu kupatila 1:50 i korišćen je vodonik-peroksid koncentracije 3 % i 6 %, u vremenu 10, 20 i 30 minuta na sobnoj temperaturi (25 °C). Različite pH vrednosti sredine (pH 7, pH 9 i pH 11) podešavane su koncentrovanim rastvorom natrijum-hidroksida. Nakon obrade vodonik-peroksidom uzorci su ispirani destilovanom vodom.

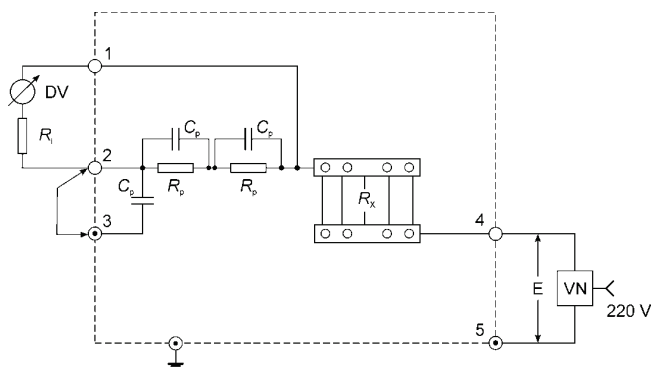
Uzorci pređe su, nakon oksidacije sa  $\text{H}_2\text{O}_2$ , zajedno sa *NO* (polaznim) uzorkom potopljeni u 100 ml 0,01 M rastvora  $\text{AgNO}_3$ , i stajali su u mešalici, u mraku, tokom četiri sata<sup>4</sup>. Određivanje količine vezanih jona srebra vršeno je Folhardovom metodom tj. titracijom pomoću 0,01 M  $\text{NH}_4\text{SCN}$  uz  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$  kao indikator. Završna tačka titracije određuje se uz indikator  $\text{Fe}^{3+}$  sa kojim prvi višak dodatog  $\text{SCN}$  reaguje gradeći crveni kompleks  $\text{FeSCN}^{2+5}$ . U tabeli 1 data je šema hemijskog modifikovanja pamučne pređe i odgovarajuće oznake uzoraka.

### Metoda određivanja električne otpornosti pređa

Za određivanje električne otpornosti polazne i modifikovanih pređa korišćen je uređaj razvijen na Katedri za tekstilno inženjerstvo Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu, a primenjena je stacionarna naponska metoda. Postupak je sledeći<sup>2,6</sup>: uzorak pređe nepoznate električne otpornosti  $R_x$  fiksira se između pločica elektroda. Posrebrene pločice elektroda priključene su na izvor visokog napona  $V_N$  (400 - 2000 V), čija je unutrašnja otpornost daleko manja od merene otpornosti  $R_x$  tako da se može u odnosu na nju zanemariti. Ceo sistem za fiksiranje uzoraka smešten je u transparentnoj komori uređaja koja je obložena sa spoljne strane metalnom mrežom koja predstavlja *Faraday* – ev kavez. U atmosferi uređaja je moguće menjati sadržaj vlage pomoću sistema ovlaživača i ventilatora. Napon u kolu meri se digitalnim milivoltmetrom koji se vezuje u kolo struje preko klem 1 i 2 kao što je prikazano na slici 1 pri čemu je klem 2, radi uzemljenja, kratko vezana jahačem za klemu 3.

Prema šemi predstavljenoj na slici 1 može se odrediti vrednost nepoznate otpornosti  $R_x$ :

$$R_x = \frac{2R_p R_i}{2R_p + R_i} \left( \frac{E}{U_m} - 1 \right) \approx \frac{2R_p R_i}{2R_p + R_i} \cdot \frac{E}{U_m} \text{ gde je: } E = 1200 \text{ V; } 2R_p = 1,64 \text{ M}\Omega; R_i = 10 \text{ M}\Omega; E \gg U_m.$$

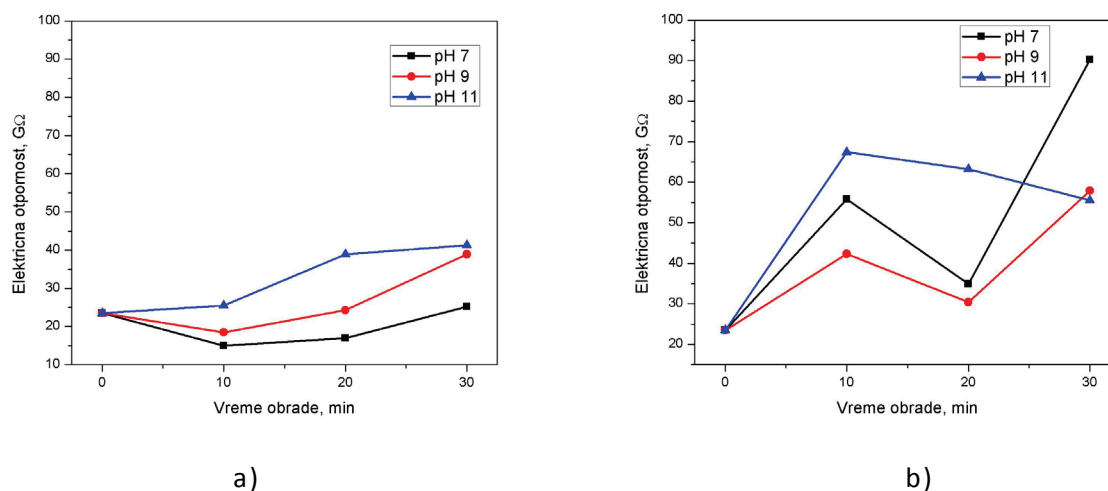


Slika 1. Električna šema uređaja za određivanje nepoznate električne

U cilju određivanja električne otpornosti izvršeno je tri merenja po uzorku, a rezultati su iskazani kao srednja vrednost tih merenja. Prilikom svakog merenja, u kleme uređaja paralelno je postavljeno pet odsečaka pređe. Kako električna otpornost tekstilnog materijala zavisi od zatezanja uzorka, zatezanje pređe je bilo konstantno u svim merenjima što je postignuto primenom tegova težine 20 g prilikom postavljanja uzorka u uređaj. Sva merenja su vršena na sobnoj temperaturi (25 °C).

### Rezultati i diskusija

Električne otpornosti pređa modifikovanih vodonik-peroksidom se razlikuju u odnosu na električnu otpornost polaznog uzorka što predstavlja jasan pokazatelj da je tokom obrade došlo do strukturnih promena u pređi. Na slici 2 prikazana je promena električne otpornosti uzoraka tretiranih sa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentracije 3 % i 6 %. Električna otpornost je veća kod uzoraka tretiranih 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u odnosu na električnu otpornost polaznog i uzoraka modifikovanih 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Kod uzoraka tretiranih 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ne postoji jasan trend promene električne otpornosti u odnosu na polazni, jer pri kratkim vremenima obrade (10 i 20 min) i pH vrednosti reakcione sredine 7 i 9 dolazi do izvesnog smanjenja početne otpornosti, dok pod ostalim uslovima obrade električna otpornost raste. Uočeno smanjenje električne otpornosti pri kratkim vremenima obrade se može objasniti relaksacijom i reorganizacijom kristalnih i amorfni područja u nadmolekulske strukturi vlakana u pamučnoj pređi.


 Slika 2. Uticaj uslova oksidacije (koncentracije, pH reakcione sredine i vremena obrade) na električnu otpornost pamučnih pređa: a) oksidacija 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> b) oksidacija 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Povećanje električne otpornosti koje se javlja pri ostalim uslovima oksidacije posledica je promene količine hidrofilnih grupa u celulozi sposobnih da absorbuju vlagu iz okoline i time snize ukupnu električnu otpornost uzorka. Dejstvom oksidacionog sredstva na celulozu došlo je i do uklanjanja i oksidacije pratećih supstanci u samom pamučnom vlaknu koje mogu da snize ukupnu električnu otpornost, kao i do oksidacije nekih delova

celuloze u amorfnim područjima vlakana, a poznato je da je električna otpornost vlakana određena provodnošću njihovih amorfnih područja **Error! Bookmark not defined.**

Povećanje pH vrednosti sredine utiče i na porast električne otpornosti uzoraka. Razlog tome je što povećanjem pH vrednosti reakcione sredine osim oksidacije, dolazi i do destrukcije celuloznih lanaca što utiče na porast električne otpornosti, jer se time prekida kontinualna putanja kojom se prenosi usmereno kretanje naelektrisanja kroz ispitivani uzorak.

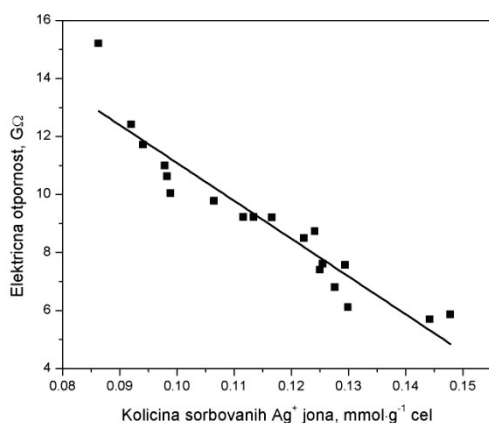
Vreme obrade vodonik-peroksidom takođe utiče na električnu otpornost, tačnije električna otpornost uzoraka raste sa porastom vremena modifikovanja pri obradi 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i svim vrednostima pH sredine. Kod uzoraka tretiranih 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tokom 20 min pri svim pH vrednostima javlja se smanjenje otpornosti u odnosu na uzorke tretirane u vremenu od 10 min. Ovo se može objasniti time da nakon početnog agresivnijeg dejstva oksidacionog sredstva dolazi do stvaranja produkata oksidacije koji doprinose sniženju električne otpornosti.

Takođe, uočava se da uzorci tretirani 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri pH 9 imaju niže otpornosti od uzoraka tretiranih pri pH 7. U tabeli 1 date su oznake uzoraka, uslovi pod kojima je vršena oksidacija i vrednosti električnih otpornosti uzoraka nakon sorpcije jona srebra.

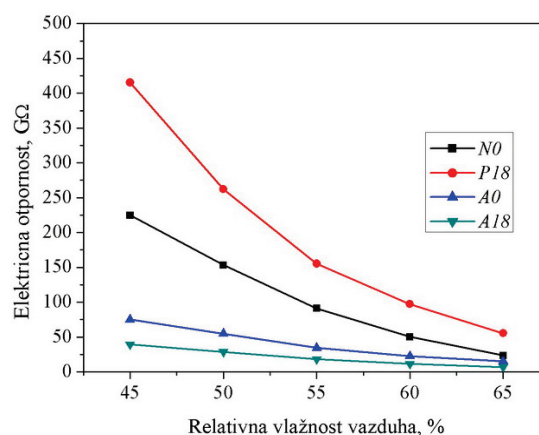
Tabela 1. Šema hemijskog modifikovanja, oznake uzoraka i električne otpornosti uzoraka sa sorbovanim srebrom

USLOVI OKSIDACIJE					SORPCIJA SREBRA		USLOVI OKSIDACIJE					SORPCIJA SREBRA	
Koncentracija H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	pH	Vreme obrade, min	Oznaka uzoraka		Električna otpornost, GΩ	Koncentracija H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	pH	Vreme obrade, min	Oznaka uzoraka		Električna otpornost, GΩ		
Neoksidisani uzorak			<i>NO</i>	<i>A0</i>	15,2								
3 %	7	10	<i>P1</i>	<i>A1</i>	9,77	6 %	7	10	<i>P10</i>	<i>A10</i>	8,49		
		20	<i>P2</i>	<i>A2</i>	10,6			20	<i>P11</i>	<i>A11</i>	5,69		
		30	<i>P3</i>	<i>A3</i>	11,0			30	<i>P12</i>	<i>A12</i>	5,86		
	9	10	<i>P4</i>	<i>A4</i>	12,4		9	10	<i>P13</i>	<i>A13</i>	7,60		
		20	<i>P5</i>	<i>A5</i>	11,7			20	<i>P14</i>	<i>A14</i>	6,11		
		30	<i>P6</i>	<i>A6</i>	10,0			30	<i>P15</i>	<i>A15</i>	7,56		
	11	10	<i>P7</i>	<i>A7</i>	9,22		11	10	<i>P16</i>	<i>A16</i>	8,73		
		20	<i>P8</i>	<i>A8</i>	9,20			20	<i>P17</i>	<i>A17</i>	7,40		
		30	<i>P9</i>	<i>A9</i>	9,22			30	<i>P18</i>	<i>A18</i>	6,80		

Iz tabele se zapaža da uzorci *A11* i *A12* pokazuju najmanju otpornost, kako u odnosu na polazni uzorak *A0*, tako i u odnosu na sve ostale uzorke pređa ispitivanih u okviru ovog rada. Ovi uzorci su sorbovali najveću količinu srebra što znači da je došlo do maksimalnog povećanja sadržaja karboksilnih grupa pri ovim uslovima obrade. Zavisnost električne otpornosti od količine sorbovanih jona srebra, prikazana na slici 3, ima skoro linearni karakter, što navodi na zaključak da bi se povećanjem količine jona srebra (preko 0,1478 mmol·g<sup>-1</sup> celuloze kolika je maksimalna vrednost sorpcije postignuta u okviru ovog rada), vrednost električne otpornosti dalje smanjivala.



Slika 3. Zavisnost električne otpornosti pamučne pređe od količine sorbovanih jona srebra



Slika 4. Zavisnost električne otpornosti pamučne pređe od vlažnosti vazduha (oznake uzoraka date su u tabeli 1)

Vezivanjem jona srebra za materijal, ne samo da se snižava električna otpornost, već ona postaje manje osetljiva na promenu vlažnosti vazduha u okolini, što se vidi na slici 4 gde trend promene električne otpornosti sa vlažnošću vazduha uzoraka A0 i A18 ima mnogo manji nagib prema apscisa, upoređujući sa trendom koji se javlja za uzorke N0 i P18. Električna otpornost polaznog uzorka N0 se povećava skoro deset puta pri sniženju vlažnosti vazduha za 20 % ( $R_{N0, 65\%} = 23,5 \text{ G}\Omega$ ,  $R_{N0, 45\%} = 224,7 \text{ G}\Omega$ ), a kod istog uzorka obrađenog srebro-nitratom otpornost se povećava pet puta pri sniženju vlažnosti za 20 % ( $R_{A0, 65\%} = 15,2 \text{ G}\Omega$ ,  $R_{A0, 45\%} = 75,1 \text{ G}\Omega$ ). Sličan trend se zapaža i kod ostalih uzoraka modifikovanih srebro-nitratom.

### Zaključak

Modifikovanje pamučne pređe vodonik-peroksidom, koje je sprovedeno sa ciljem poboljšanja hemisorpcionih svojstava polaznog uzorka, dovodi do promene električne otpornosti pređa. Vrednosti električnih otpornosti oksidovanih uzoraka, pri relativnoj vlažnosti vazduha od 65 %, kreću se u rasponu od 15,0 GΩ za uzorak tretiran 10 min 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri pH 7 do 90,2 GΩ za uzorak tretiran 30 min 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri pH 7. Obrada pamučne pređe rastvorom srebra-nitrata dovodi do smanjenja njene električne otpornosti koja se kreće u rasponu od 15,2 GΩ za polazni (neoksidovani) uzorak naknadno tretiran sa AgNO<sub>3</sub> (uzorak A0), do 5,69 GΩ za uzorak tretiran 20 minuta 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri pH 7 i koji je naknadno modifikovan sa AgNO<sub>3</sub> (uzorak A11). Optimalni uslovi modifikovanja postignuti su tretmanom 6 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pri pH 7 tokom vremena obrade od 20 minuta i naknadnim tretiranjem 0,01 M rastvorom srebra-nitrata u trajanju od 4 sata. Pri ovim uslovima obrade, nakon oksidacije pomoću H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, došlo je do neznatnog povećanja električne otpornosti pređe u odnosu na polazni uzorak ( $R_{N0} = 23,5 \text{ G}\Omega$ ;  $R_{P11} = 34,9 \text{ G}\Omega$ ), a nakon obrade srebro-nitratom zabeležena je najniža vrednost električne otpornosti od svih modifikovanih uzoraka ( $R_{A11} = 5,69 \text{ G}\Omega$ ). Upoređujući ovu vrednost električne otpornosti sa vrednošću polaznog uzorka  $R_{N0}$ , zapaža se da je električna otpornost pređe modifikovane pri gore pomenutim uslovima četiri puta manja od početne. Uočeno je značajno smanjenje električne otpornosti pređa sa porastom relativne vlažnosti vazduha. Konstatovano je da vlažnost vazduha ima manji uticaj na promenu električne otpornosti pređa za koje je vezano srebro u odnosu na neobrađeni uzorak i pređu koja je obrađena samo vodonik-peroksidom. Pamučna pređa sa vezanim Ag<sup>+</sup> jonima, može imati brojne primene u oblasti tehničkog tekstila, u izradi zaštitne odeće za primenu u nekim industrijskim granama, kao i u medicini. Vezivanjem Ag<sup>+</sup> jona za tekstilni materijal postiže se, pored antimikrobne aktivnosti, i sniženje električne otpornosti, čime se mogu izbeći potencijalni problemi tokom prerade i eksploatacije koji su posledica generisanja statičkog naelektrisanja na tekstilnom materijalu.

*Zahvalnica:* Ovaj rad je proistekao iz rada na Projektu koji finansira Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (OI 172029).

### Influence of chemical modification on electrical resistance of cotton yarns

*In this paper electrical resistance of cotton yarn after non-selective oxidation and sorption of Ag<sup>+</sup> ions with newly formed carboxylic groups was studied. Hydrogen peroxide concentration of 3 % and 6 % was used for oxidation, at different pH values of reactive medium and treatment times. Ag<sup>+</sup> ions were sorbed from aqueous silver nitrate solution by non-oxidized and modified samples during the four hour treatment. Afterwards, samples were dried and their electrical resistance was measured. All measurements were carried out at room temperature (25 °C) at different relative humidities. Obtained results show that oxidation, although improves chemisorption properties of cotton cellulose, leads to an increase of electrical resistance. Further, sorption of silver ions, as expected, decreases electrical resistance, and reduces the influence of relative humidity on electrical resistance of cotton yarns.*

### Literatura:

1. W. E. Morton, J.W.S. Hearle, *Physical Properties of Textile Fibres*, The Textile Institute, William Heinemann Ltd, London, 1975.
2. K. Asanović, *Doprinos metrologiji nekih elektrofizičkih svojstava tekstilnih materijala*, Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, 2003.
3. P. Škundrić, Lj. Simović, A. Medović, M. Kostić, T. Mihailović, *Tekstilna industrija*, **54/7-9** (2006) 5-21
4. M. Kostic, J. Praskalo, S. Dimitrijevic, M. Baljak, B. Pejic, P. Skundric, In Proceedings of 7<sup>th</sup> Annual Textile Conference by AUTEK, 26-28 June, 2007, Tampere, Finland, Salonon, R.; Heikkila, P. eds., 2007, p 1267.
5. Lj. Rajakovic, T. Djurkic, A. Peric-Grujic, *Analitička hemija: Kvantitativna hemijska analiza*, TMF, Beograd, 1999.
6. T. Mihajlidi, K. Asanović, M. Simić, D. Simić, D. Nikolić, *Tekstilna industrija*, **50/8-10** (2002) 27-32.

## Adsorpciono ponašanje direktne boje na pamuku u vodi bez drugih dodataka

Danica Šaptović, Medina Honić-Avdović, Predrag Ranđelović, Slađana Jovanović, Dragan Đorđević

*Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet, Leskovac, Srbija*

### Uvod

Adsorpcija u najširem smislu označava promenu koncentracije neke od komponenata na graničnoj površini faza heterogenog sistema. Faza na čijoj površini dolazi do povećanja koncentracije neke od komponenata, naziva se adsorbent, a komponenta koja se adsorbuje, adsorbat. Dobri adsorbenti su čvrste supstance sa jako razvijenom površinom (u nekim slučajevima i preko 106 m<sup>2</sup>/kg) [1]. Adsorpcija na granici faza čvrsto/tečno i čvrsto/gas, zavisno od karaktera veza koje se uspostavljaju između adsorbenta i adsorbata i može biti fizička ili hemijska.

Prvi veći izazov u oblasti modelovanja adsorpcije je odabir vrste adsorbata (boja) i adsorbenta (vlakno) koji najviše obećavaju, uglavnom u smislu visokog kapaciteta i stope adsorpcije, visoke selektivnosti i niske cene. Sledeći pravi izazov je da se jasno identifikuje mehanizam adsorpcije, posebno interakcije koje su uključene u međuvezi adsorbent/adsorbat. Svojstva adsorpcije i podaci o ravnoteži, poznate kao adsorpcione izoterme, opisuju kako zagadivači reaguju sa adsorbentima i samim tim su presudni za izbor i širu primenu [2, 3]. Da bi se popravila koncepcija adsorpcionog sistema za bojenje - iscrpljenje boje iz rastvora, važno je da se uspostavi korelacija koja najviše odgovara ravnotežnoj krivoj adsorpcije. Precizan matematički opis ravnotežne adsorpcije je nezamenljiv za tačno predviđanje adsorpcionih parametara i kvantitativnog poređenja adsorpcionog ponašanja za različite učesnike (ili za različite eksperimentalne uslove) u okviru bilo kog od ponuđenih sistema [4].

Mehanizam bojenja ili adsorpcije boje na adsorbentu u procesu iscrpljenja boje obuhvata tri faze: difuziju molekula boje kroz rastvor na površinu adsorbenta; adsorpciju molekula boje na površinu molekulskim interakcijama; i difuziju molekula boje u unutrašnjost tekstilnog materijala. Koncentracija boje i mešanje mogu da utiču na prvu fazu adsorpcije. Druga faza je zavisna od prirode molekula boje, kao što su anjonska i/ili katjonska struktura. Treća faza se obično smatra kao faza koja određuje brzinu bojenja [6].

Direktne boje su po svom hemijskom sastavu aromatska azo-jedinjenja koja se lako rastvaraju u vodi zahvaljujući prisutnim sulfonskim grupama ili drugim hidrofilnim grupama - karboksilnim i hidroksilnim. Obično se koriste za bojenje celuloznih materijala (pamuk, viskoza) u prisustvu elektrolita i sredstva za kvašenje. Zna se da polazeći od hemijske građe direktnih boja postoje grupe nosioci slobodnog elektronskog para koje se ponašaju kao donori elektrona i grupe nosioci atoma vodonika akceptora elektrona. S druge strane, predstava o strukturi vlakna govori da su bitni struktumi elementi, fibrili, združeni lateralno gradeći veće fibrile - mikrofibrile- i lamele sekundarnog zida. Površine ovih strukturnih elemenata mogu da budu mesta za adsorpciju boje [5, 6].

Rad teži da pokaže sposobnost adsorpcije boje za vlakno u kupatilu sa samo tri komponente (voda, tekstil, boja) kao preduslov za primenu različitih dodataka koji mogu pospešiti adsorpciju ili bojenje vlakana u smislu što većeg iscrpljenja boje iz rastvora. Sledstveno tome, ako je iscrpljenje veće dobija se manja količine obojene otpadne vode i manje štete po okolinu. U vezi s tim cilj je i smanjiti količine uobičajenih dodataka (ili predložiti alternativne, ekološki prihvatljive) s obzirom da je poznato da i velike količine soli ili površinski aktivnih materija, pored same boje, remete ekosistem životne sredine, posebno vodenog sveta.

### Eksperiment

Kao adsorbent korišćena je pamučna pređa 100%, finoće 25 tex, dok je kao adsorbat upotrebljena direktna boja C.I. Direct Blue 78, proizvođača Huntsman, Švajcarska. Praktično se radi o klasičnom procesu bojenja gde postoji težnja boje da se adsorbuje za tekstilna vlakna u različitom obliku (u našem slušaju radi se o pređi).

Sam test adsorpcije - bojenja izveden je u staklenim erlenmajerima, zatvorenim plutanim zatvaračima, postavljanim na šejker sa 160 o/min na temperaturi 95<sup>o</sup>C. Varirana je količina pređe u iznosu od 0,5 do 2 g, dok je rastvor u konstantnoj zapremini od 50 cm<sup>3</sup>, sadržavao boje koncentracija, 50, 100, 150, 200 i 250 mg/dm<sup>3</sup>. Vreme obrade, uz neprekidno mešanje, iznosilo je 10, 20, 30, 50 i 60 min. Vreme od 60 min je uzeto za ravnotežno jer se pokazalo da sa dužim tretiranjem nema značajnijih promena u adsorpciji.



Za određivanje koncentracije boje u rastvoru korišćena je UV-VIS spektrofotometrija i aparat Cary 100 Conc UV-VIS, Varian.

Stepen iscrpljenja boje [4] je izračunat preko jednačine:

$$\frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad (\%)$$

gde su:  $C_0$  i  $C$ ,  $\text{mg/dm}^3$  - početna i završna koncentracija rastvora boje.

Lengmirova izoterma [3] je dobijena uz pomoć izraza:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_{\max} b} + \frac{1}{Q_{\max}} \cdot C_e$$

gde su:  $q_e$ ,  $\text{g/kg}$  - adsorbovana količina adsorbata po jedinici mase adsorbenta;  $Q_{\max}$ ,  $\text{g/kg}$  - maksimalna količina adsorbata koja može da se veže na adsorbent;  $b$ ,  $\text{dm}^3/\text{g}$  - odnos konstante brzine adsorpcije i konstante brzine desorpcije adsorbata.

Količina adsorbovane boje po jedinici mase pređe [4] je izračunata pomoću obrasca:

$$q_e = \frac{(C_e^0 - C_e) \cdot V}{w}$$

gde su:  $C_e^0$ ,  $\text{g/dm}^3$  - početni molaritet adsorbata;  $C_e$ ,  $\text{g/dm}^3$  - ravnotežni molaritet adsorbata posle izvršene adsorpcije;  $w$ ,  $\text{kg}$  - masa adsorbenta i  $V$ ,  $\text{dm}^3$  - zapremina rastvora iz kojeg je vršena adsorpcija.

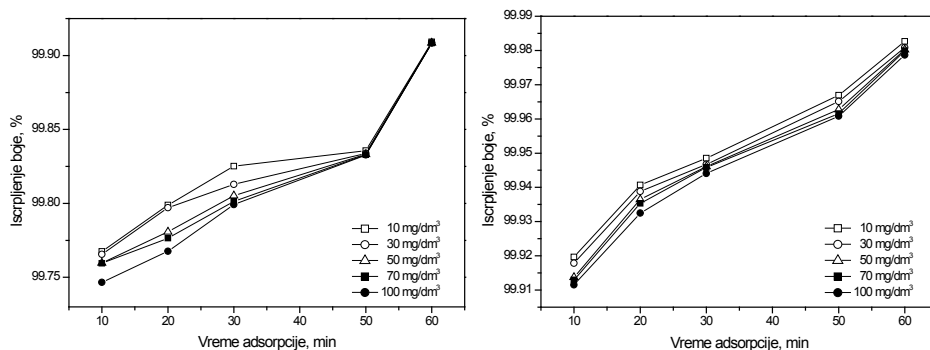
Freundlich-ova izoterma [3] se nalazi preko jednačine:

$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n}$$

gde su: konstanta  $K_F$  - relativna mera kapaciteta adsorpcije; konstanta  $n$  - ukazuje na stepen nelinearnosti između kapaciteta primanja boje i koncentracije neadsorbovane boje i odnosi se na raspodelu vezanih jona na površini adsorbenta.

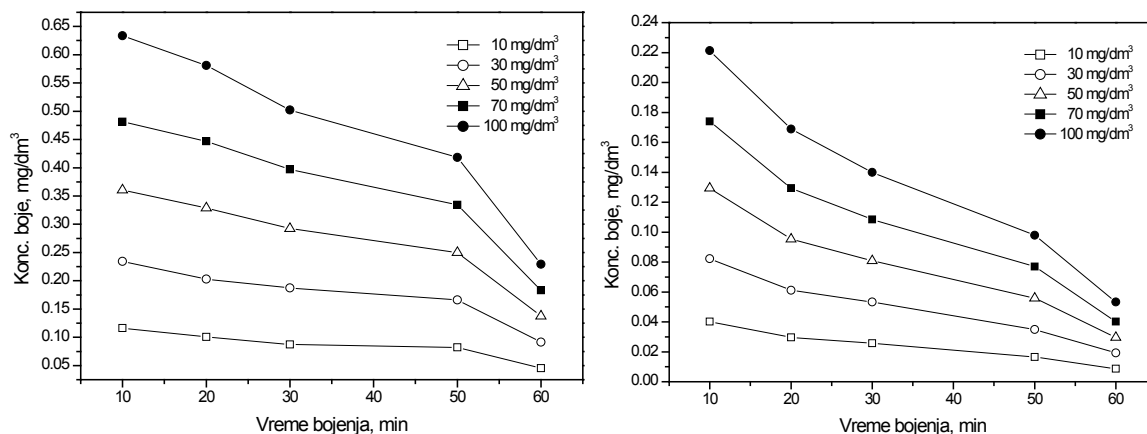
## Rezultati i diskusija

Uticao vremena ili dužine kontakta između adsorbata i adsorbenta na adsorpciju, za različite početne koncentracije direktne boje, prikazani su uporednim dijagramima na slici 1. Prisutan je kontinuitet u promenama u toku vremena tj. duže vreme nosi veću količinu adsorbovanih boja po jedinici mase adsorbenta. Kod nižih koncentracija, u početku, javlja se veći procenat iscrpljene boje da bi se pri kraju procesa skoro sustigli. Linearni delovi krive odražavaju difuziju u površinskom sloju dok delovi platoa na krivoj odgovaraju difuziji u porama. Dijagrami za adsorpciju na ostalim masama pređe (1 i 1,5 g) nisu prikazani jer nema većih variranja.



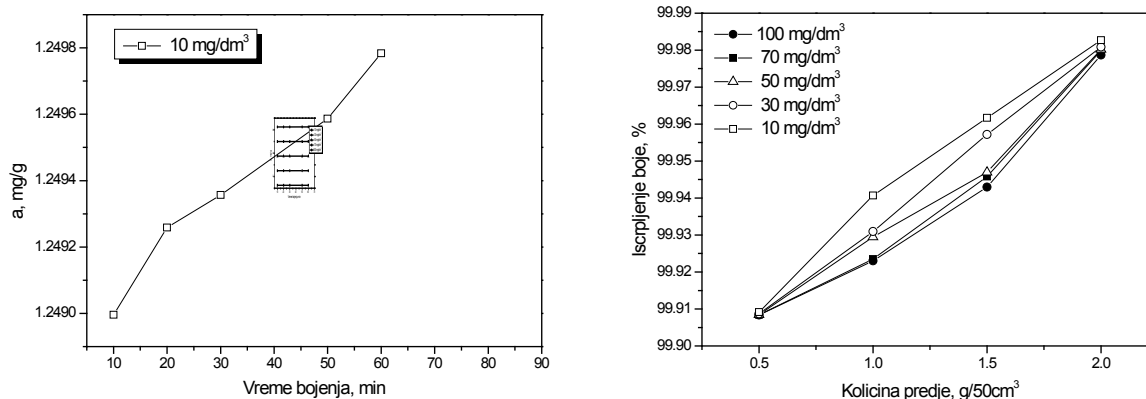
Sli. 1. Uticaj vremena adsorpcije na količinu iscrpljene direktne boje (pređa – 0,5 g levo, 2 g desno)

Na slici 2 su prikazane zavisnosti koncentracije boje u rastvoru u odnosu na vreme trajanja procesa adsorpcije na pređi različitih masa. Primetno je da se u svim slučajevima sa trajanjem procesa smanjuje koncentracija boje u rastvoru, što je očekivano, i to nešto intenzivnije kod viših početnih koncentracija boja.



Sl. 2. Promena količine direktne boje u rastvoru u toku adsorpcije (pređa – 0,5 g levo, 2 g desno)

Rezultati promene adsorbovane količine adsorbata na adsorbentu u toku vremena, za različite početne koncentracije boje kao i iscrpljenje boje u odnosu na količinu pređe, prikazani su dijagramima na slici 3. Prisutan je kontinuitet u promenama u toku vremena tj. duže vreme nosi nešto veću količinu adsorbovane boje po jedinici mase adsorbenta, odnosno pri najvećim primenjenim koncentracijama boje dešava se i najveća adsorpcija. Takođe, primetan je kontinuitet rasta količine iscrpljene boje u odnosu na masu adsorbenta.



Sl. 3. Adsorbovana količina adsorbata za adsorbent u toku vremena i iscrpljenje boje u odnosu na masu pređe

U tabeli 1 prikazani su rezultati vezani za parametre (koeficijente) *Langmuir-ove* izoterme za različite varijante obrade. U tabelama su prikazani analitički izrazi ovih izoterma, *Langmuir-ovi* parametri  $Q_{max}$  i  $b$ , kao i vrednosti koeficijenta determinacije  $R^2$  za *Langmuir-ov* dijagram  $C_e/q_e - C_e$ . Pomenuti koeficijent determinacije je relativna mera reprezentativnosti regresione linije ili mera korisnosti *Langmuir-ovog* modela. U slučajevima kada je  $R^2 = 1$  veza je funkcionalna ili linearna, tj. sve tačke u dijagramu raspršenosti leže na liniji regresije.

Ako se uzme činjenica da je uobičajena teorijska granica reprezentativnosti *Langmuir-ovog* modela 0,9, prema koeficijentu determinacije, iz table 4 se primećuje da obrade direktnom bojom imaju niže ove vrednosti (ispod 0,9, izuzev bojenja 2 g pređe), što znači da je manji procenat sume kvadrata odstupanja vrednosti varijable od aritmetičke sredine protumačeno regresijskim modelom. Dakle, za C.I. Direct Blue 78 boju, u postupku određivanje kapaciteta zadržavanja boje i afiniteta adsorbenta za boju,  $Q_{max}$  i  $b$ , respektivno, *Langmuir-ov* monoslojni model ne pokriva na prihvatljiv način eksperimentalne podatke. Ovo znači da model monoslojne adsorpcije ne može biti u potpunosti prihvatljiv za adsorpciju boje na pređi kod manjim masa adsorbenta (1, 2 i 3 g) ali je apsolutno prihvatljiv za pređu najveće mase.

Parametri *Langmuir-ovog* modela su bili jako zavisni od količine adsorbenta,  $Q_{max}$  je opadala sa povećanjem količine pređe (0,5, 1, 1,5 g, izuzev kod mase od 2 g), dok su vrednosti druge konstante,  $b$ , rasle kontinualno sa povećanjem količine pređe. Više vrednosti  $b$  dobijene za sistem pređa - boja znače jače vezivanje boje.

Tab. 1. Analitički izrazi Langmuir-ove izoterme sa koeficijentima za sistem pređa - boja

Obrada	Analitički izraz krive (Langmuir-ov izraz)	Langmuir-ovi parametri		R <sup>2</sup>
		Q <sub>max</sub> / mg g <sup>-1</sup>	b / dm <sup>3</sup> mg <sup>-1</sup>	
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 0.5 g	$C_e/q_e = 0,00909 + 1,24 \cdot 10^{-4} \cdot C_e$	2360,5505	0,0466	0,81316
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 1 g	$C_e/q_e = 0,01181 + 0,02086 \cdot C_e$	47,9386	1,7663	0,88881
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 1.5 g	$C_e/q_e = 0,01105 + 0,04687 \cdot C_e$	21,3356	4,2416	0,88974
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 2 g	$C_e/q_e = 0,00684 + 0,03223 \cdot C_e$	31,0269	4,7119	0,92456

Tabela 2 prikazuje rezultate vezane za *Freundlich-ov* model adsorpcione izoterme. Konstanta *n* ima veće vrednosti od jedinice u svim slučajevima, tj.  $1/n < 1$ , što pokazuje da se C.I. Direct Blue 78 boja dobro adsorbuje na adsorbentu pri svim ispitivanim uslovima. Ovaj parametar raste sa porastom količine adsorbenta izuzev u slučaju kod 2 g pređe kada se javlja manja vrednost u odnosu na prethodni slučaj. Utvrđeno je i da veće vrednosti parametra *K<sub>F</sub>* povlače manje vrednosti parametra *n*. Drugim rečima, viši kapacitet adsorpcije povlači manji intenzitet adsorpcije za iste eksperimentalne uslove.

Koeficijenti determinacije *Freundlich-ove* izoterme, pri svim ispitivanim uslovima, daleko su veći od onih koji su dobijeni za *Langmuir-ov* izraz, dostižući vrednost veoma blizu jedinice (0,999) što predstavlja skoro apsolutnu funkcionalnost. Ovo znači da se *Freundlich-ovom* modelu, koji ne prati idealnu monoslojnu adsorpciju, daje primat u ovim ravnotežnim studijama.

Može se konstatovati da se proces adsorpcije C.I. Direct Blue 78 na pamuku opisuje kao višeslojna adsorpcija sa interakcijom između adsorbovanih molekula. Koncentracija boje na materijalu se povećava sve dok postoji povećanje koncentracije boje u rastvoru, dakle, nema ograničenja na monosloj u adsorbentu. Proces se odigrava na heterogenim površinama sa jednoličnom distribucijom energije i povratnom adsorpcijom.

Tab. 2. Analitički izrazi Freundlich-ove izoterme sa koeficijentima za sistem pređa - boja

Obrada	Analitički izraz krive (Freundlich-ov izraz)	Freundlich-ovi parametri		R <sup>2</sup>
		<i>n</i>	<i>K</i>	
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 0.5 g	$q_e = 107,99 + C_e^{1/1,006}$	1,0057	107,9977	0,99998
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 4 g	$q_e = 50,84 + C_e^{1/1,16}$	1,1639	50,8393	0,99998
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 1.5 g	$q_e = 38,45 + C_e^{1/1,26}$	1,2658	38,4531	0,99998
Boja C.I. Direct Blue 78, pređa 2 g	$q_e = 86,95 + C_e^{1/1,12}$	1,1184	86,9488	0,99998

## Zaključak

Ispitivanje adsorpcije direktne boje tj. bojenje pređe ispitivano je pod različitim uslovima. Utvrđeno je da adsorpcija zavisi od vremena kontakta, početne koncentracije boje, količine adsorbenta i da se radi o višeslojnoj adsorpciji sa interakcijama između adsorbovanih molekula.

Na osnovu dobijenih eksperimentalnih rezultata mogu se doneti sledeći zaključci: duže vreme kontakta znači i veću količinu boje na pređi; sa trajanjem procesa adsorpcije opada koncentracija boje u rastvoru; primetan je kontinuitet rasta količine iscrpljene boje sa masom adsorbenta; podaci dobijeni iz *Langmuir-ove* jednačine pokazuju da ovaj model ne obezbeđuje dovoljno precizan opis eksperimentalnih rezultata; podaci dobijeni iz *Freundlich-ove* jednačine potvrđuju da ovaj model obezbeđuje dovoljno precizan opis eksperimentalnih rezultata.

Rezultati ovog rada postignutim efektima nagoveštavaju mogućnost drugačijeg pristupa procesu bojenja pamuka direktnim bojama, a sve u prilog većeg iscrpljenja i zaštiti životne okoline.

## Literatura

1. M. Saleem, T. Pirzada, R. Qadeer, Sorption of some azo-dyes on wool fiber from aqueous solutions, *Colloids and Surfaces A, Physicochem. Eng. Aspects*, **260** (2005) 183–188.
2. K. Sawada, M. Ueda, Adsorption behavior of direct dye on cotton in non-aqueous media, *Dyes and Pigments*, **58** (2003) 37–40.
3. M. Chairat, S. Rattanaphani, J. B. Bremner, V. Rattanaphani, An adsorption and kinetic study of lac dyeing on silk, *Dyes and Pigments* **64** (2005) 231-241.

4. S. Rattanaphani, M. Chairat, J. B. Bremner, V. Rattanaphani, An adsorption and thermodynamic study of lac dyeing on cotton pretreated with chitosan, *Dyes and Pigments*, **72** (2007) 88-96.
5. S. M. Burkinshaw, A. Gotsopoulos, Pretreatment of cotton to enhance its dyeability; Part 2. Direct dyes, *Dyes and Pigments*, **42** (1999) 179-195.
6. F. Carrillo, M. J. Lis, J. Valldeperas, Sorption isotherms and behaviour of direct dyes on lyocell fibres, *Dyes and Pigments*, **53** (2002) 129-136.

### **Adsorption behavior of direct dye on cotton in water without other auxiliaries**

*This paper considers the adsorption behavior of direct dye on cotton (dyeing) in order to obtain data on mechanism of dye binding and to define the terms of natural fiber dyeing process without adding electrolytes and other auxiliaries, as basic prerequisites for their use. Adsorption was performed under different conditions. It was found that adsorption depends on the contact time, the dye concentration and amount of adsorbent. The longer the contact time the greater the amount of dye in yarn. The prolongation of the adsorption led to a decrease of dye concentration in solution. There is a continuity of growth amounts exhausted dye with the growth of mass adsorbent. The results indicate that Freundlich's isotherms model provides a sufficiently accurate description of experimental data for direct dye compared to the Langmuir isotherm.*

## Uticaj prisustva nanočestica srebra na antibakterijsku aktivnost i obojenje pamučne tkanine

Vesna M. Lazić, Zoran V. Šaponjić\*, Vesna V. Vodnik\*, Suzana I. Dimitrijević\*\*, Petar M. Jovančić,  
Jovan M. Nedeljković\*, Maja M. Radetić

*Katedra za tekstilno inženjerstvo, Tehnološko-metalurški fakultet,  
Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija*

*\*Institut za nuklearne nauke "Vinča", P.O. Box 522, 11001 Beograd, Srbija*

*\*\*Katedra za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, Tehnološko-metalurški fakultet,  
Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, Srbija*

### Uvod

Danas je oko 50 % tekstilnih proizvoda bazirano na pamučnim vlaknima (Co) koja su izuzetno pogodna za proizvodnju tekstila za sportsku, medicinsku (zavoji, flasteri, gaze, tuferi) i higijensko-zaštitnu (hirurški mantili, kape i maske, uniforme, posteljina) namenu<sup>1</sup>. Međutim, Co vlakna mogu biti dobra podloga za rast mikroorganizama i često je pamučnim proizvodima potrebno obezbediti antimikrobna svojstva<sup>2</sup>. Za postizanje antimikrobne zaštite do skora su korišćeni različiti agensi koji su bili toksični ili nedovoljno efikasni<sup>3</sup>. Od davnina je poznato da srebro poseduje izuzetna antimikrobna svojstva. Nije toksično za ljudske ćelije i poseduje antimikrobna svojstva za više od 650 vrsta mikroorganizama, pri čemu oni vremenom ne postaju rezistentni na ovaj metal, što nije slučaj sa antibioticima<sup>4</sup>. Razvoj jednostavnih postupaka za sintezu nanočestica srebra omogućio je njihovu primenu i na tekstilne materijale. Koncept primene nanočestica srebra na tekstilne materijale bazira se na činjenici da se upotrebom malih količina nanočestica mogu postići izuzetni antimikrobni efekti koji imaju dugotrajnu postojanost, a da se pri tome za njihovu sintezu ne koriste toksična organska jedinjenja. Zahvaljujući velikom odnosu površine i zapremine, nanočestice pokazuju izuzetnu reaktivnost. Poslednjih godina više istraživačkih grupa se bavilo antimikrobnom aktivnošću tekstilnih materijala modifikovanih nanočesticama srebra<sup>5-14</sup>. Međutim, malo se pažnje poklanja sinergizmu između bojenja i nanošenja nanočestica srebra na tekstilne materijale, što je veoma važno s tehnološkog aspekta. Stoga je cilj ovog rada da se ispita antibakterijska efikasnost Co tkanina koje su obojene direktnim bojama i naknadno modifikovane koloidnim nanočesticama srebra. Takođe je praćen uticaj prisustva nanočestica srebra na obojenje Co tkanina.

### Materijal i metode

#### *Materijal*

Kao supstrat je korišćena odskrobljena i beljena pamučna tkanina (Co, 168 g/m<sup>2</sup>). Nečistoće sa tkanine su uklonjene pranjem u 0,5 % rastvoru nejonskog sredstva za pranje (odnos kupatila 1:50) na 50°C u vremenu od 15 min. Nakon jednostrukog ispiranja u toploj vodi (50°C, 3 min) i trostrukog ispiranja u hladnoj vodi (3 min), tkanina je osušena na sobnoj temperaturi.

Za bojenje Co tkanine korišćene su direktne boje Tubantin Yellow GR (C.I. Direct Yellow 86, DY86), Tubantin Red GBLL (C.I. Direct Red 79, DR79) i Tubantin Blue GLL 300 (C.I. Direct Blue 78, DB78). Bojenje je vršeno na 100°C u vremenu od 45 min u kupatilu sledećeg sastava: 2,0 % boje, Sarabid (0,5 g/l), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10 g/l) i Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 g/l). Nakon dvostrukog ispiranja u vodi, Co tkanina je tretirana rastvorom koji je sadržao CH<sub>3</sub>COOH (0,3 ml/l) i Rewin MRT (3,0 %) u vremenu od 20 min na 40°C.

Sinteza nanočestica srebra je bazirana na redukciji vodenog rastvora AgNO<sub>3</sub> pomoću jakog redukcionog sredstva NaBH<sub>4</sub> u inertnoj atmosferi<sup>15-16</sup>. Postupak sinteze koloidnog rastvora nanočestica srebra koncentracije 50 mg/l detaljno je opisan u prethodnim radovima<sup>13-14</sup>. Jedan gram Co tkanine je potapan u 45 ml koloidnog rastvora nanočestica srebra u vremenu od 5 minuta, a zatim sušen na sobnoj temperaturi. Posle 5 min pečenja na 100 °C, uzorci su ispirani dva puta u dejonizovanoj vodi (5 min), a zatim sušeni na sobnoj temperaturi.

#### *Metode*

Morfologija vlakana je praćena skenirajućom elektronskom mikroskopijom (SEM, JEOL JSM-6610LV). Pre analize uzorci su prevučeni slojem zlata.

Antibakterijska aktivnost Co tkanina obrađenih nanočesticama srebra ispitivana je primenom indikatorskih bakterija *Escherichia coli* (Gram-negativna) ATCC 25922 i *Staphylococcus aureus* (Gram-pozitivna) ATCC 25923.

Test metoda kojom je određivana antibakterijska aktivnost materijala detaljno je opisana u literaturi<sup>13-14</sup>. Procenat bakterijske redukcije ( $R$ , %) je izračunat prema jednačini:

$$R = \frac{C_0 - C}{C_0} 100\% \quad (1)$$

gde je:  $C_0$  – broj kolonija bakterija izraslih posle kontakta sa kontrolnim uzorkom (obojena  $C_0$  tkanina koja nije obrađena nanočesticama srebra), a  $C$  - broj kolonija bakterija izraslih posle kontakta sa obojenim  $C_0$  tkaninama obrađenim nanočesticama srebra<sup>5-6</sup>.

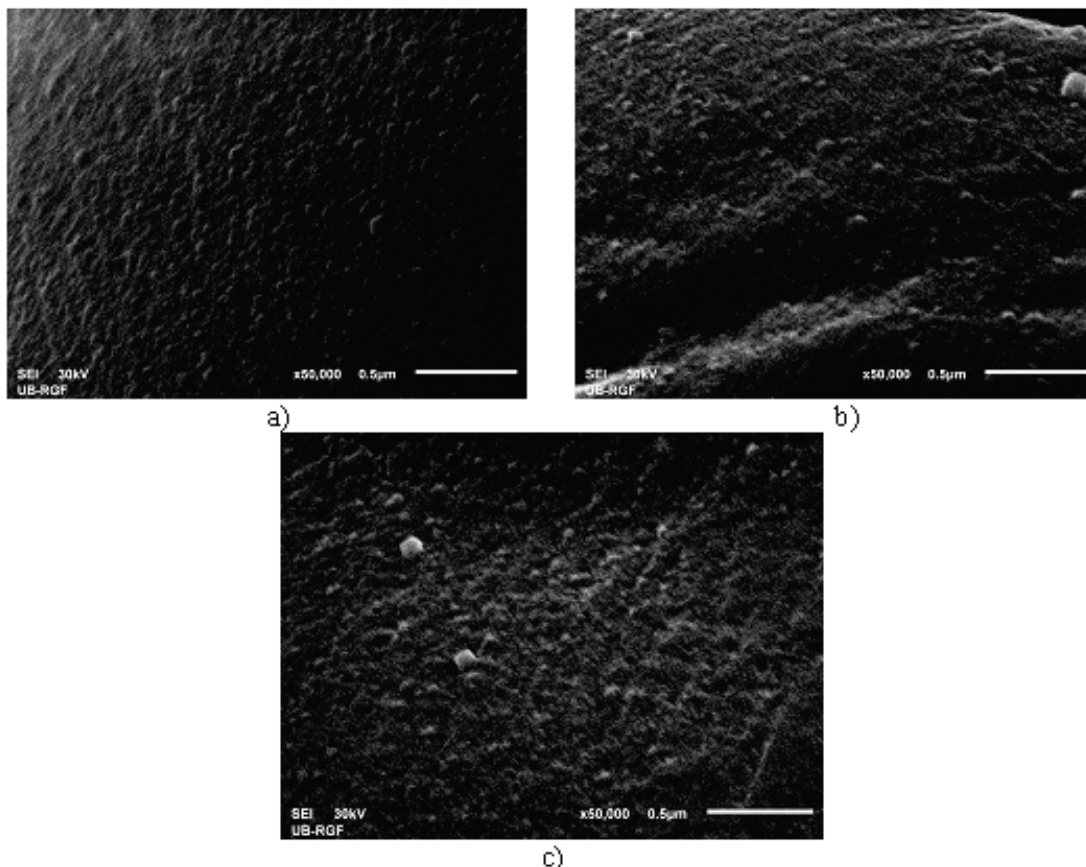
Koordinate boje  $C_0$  tkanina (CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) su određene pomoću refleksionog spektrofotometra Datacolor SF300 UV, korišćenjem standardnog izvora svetlosti  $D_{65}$  pri standardnom uglu posmatrača od  $10^\circ$ . Pomoću CIE koordinata je utvrđena razlika u obojenju ( $\Delta E^*$ )  $C_0$  tkanina usled prisustva nanočestica srebra prema sledećoj jednačini:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (2)$$

gde su:  $\Delta L^*$  - razlika u svetlini boje između  $C_0$  tkanine modifikovane nanočesticama srebra i kontrolne tkanine;  $\Delta a^*$  - razlika u vrednosti crveno/zeleno koordinate boje između  $C_0$  tkanine modifikovane nanočesticama srebra i kontrolne tkanine;  $\Delta b^*$  - razlika u vrednosti žuto/plavo koordinate boje između  $C_0$  tkanine modifikovane nanočesticama srebra i kontrolne tkanine.

### Rezultati i diskusija

Obojene  $C_0$  tkanine modifikovane su koloidnim nanočesticama srebra ( $Co+DY86+Ag$ ,  $Co+DR79+Ag$ ,  $Co+DB78+Ag$ ) približno sfernog oblika i srednjeg prečnika oko  $10\text{ nm}$ <sup>13</sup>. Prisustvo nanočestica srebra na površini obojenih  $C_0$  vlakana potvrđeno je skenirajućom elektronskom mikroskopijom (Slika 1). Na Slici 1 se jasno uočavaju sferni aglomerati nanočestica srebra veličine  $40\text{-}80\text{ nm}$  koji su ravnomerno raspoređeni po površini vlakana. Uniformnost deponovanih nanočestica srebra je posebno izražena na  $C_0$  tkanini koja je prethodno obojena bojom  $DY86$  (Slika 1a).



Slika 1. SEM mikrotografije  $Co+DY86+Ag$  (a)  $Co+DR79+Ag$  (b) i  $Co+DB78+Ag$  (c) vlakana

Antibakterijska aktivnost Co tkanina modifikovanih nanočesticama srebra testirana je na bakterije *E. coli* i *S. aureus*. Procentualne vrednosti redukcije bakterija Co+DY86+Ag, Co+DR79+Ag i Co+DB78+Ag tkaninama su prikazane u Tabeli 1. Rezultati ukazuju da se maksimum redukcije bakterija *E. coli* i *S. aureus* (R=99,9 %) postiže nezavisno od boje kojom je prethodno obojena Co tkanina. Prisustvo boja na Co tkaninama nema negativan uticaj na antibakterijsku efikasnost nanočestica srebra, kako su analogni rezultati dobijeni na istom supstratu koji nije prethodno bojen<sup>14</sup>.

Tabela 1. Antibakterijska aktivnost obojenih Co tkanina naknadno modifikovanih koloidnim rastvorom nanočestica srebra

Uzorak	Bakterija	Početni broj kolonija bakterija (CFU)	Broj kolonija bakterija na uzorku (CFU)	R / %
Co+DY86		1,2×10 <sup>5</sup>	1,2×10 <sup>5</sup>	
Co+DY86+Ag			15	99,9
Co+DR79	<i>E. coli</i>	4,4×10 <sup>5</sup>	5,7×10 <sup>4</sup>	
Co+DR79+Ag			<10	99,9
Co+DB78		2,5×10 <sup>5</sup>	7,5×10 <sup>4</sup>	
Co+DB78+Ag			<10	99,9
Co+DY86		1,1×10 <sup>4</sup>	2,3×10 <sup>3</sup>	
Co+DY86+Ag			<10	99,9
Co+DR79	<i>S. aureus</i>	1,1×10 <sup>4</sup>	1,2×10 <sup>3</sup>	
Co+DR79+Ag			<10	99,9
Co+DB78		1,1×10 <sup>4</sup>	4,0×10 <sup>3</sup>	
Co+DB78+Ag			<10	99,9

Uticaj prisustva nanočestica srebra na obojenje Co tkanina je praćeno merenjem refleksije i posrednim utvrđivanjem CIE L\*, a\* i b\* koordinata boje. Vrednosti L\*, a\* i b\* koordinata boje Co tkanina, kao i razlika u obojenju nastalih usled prisustva nanočestica srebra date su u Tabeli 2. Jasno je da deponovane nanočestice srebra značajno utiču na promenu obojenja Co tkanina, kada se uzme u obzir da su razlike u obojenju  $\Delta E^* > 1$  vizuelno uočljive. Najveća razlika u obojenju je uočena na Co+DY86+Ag tkanini koja je postala tamnija i manje žuta. Podaci iz Tabele 2 takođe ukazuju da Co+DR79 tkanina nakon modifikovanja nanočesticama srebra postaje tamnija, manje crvena i žuta, a Co+DB78 tkanina tamnija, manje crvena i manje plava. Do sličnih rezultata se došlo u ranijim istraživanjima kada je pokazano da na promenu obojenja u velikoj meri utiče redosled operacija bojenja i nanošenja koloidnih nanočestica srebra<sup>14</sup>.

Tabela 2. Promena obojenja Co tkanina modifikovanih koloidnim nanočesticama srebra

Uzorak	L*	a*	b*	$\Delta E^*$
Co+DY86	74,10	21,76	79,82	
Co+DY86+Ag	65,63	21,86	71,82	11,65
Co+DR79	36,16	44,15	10,73	
Co+DR79+Ag	35,38	41,60	11,92	2,92
Co+DB78	26,82	0,79	-23,43	
Co+DB78+Ag	26,66	-2,31	-15,99	8,06

## Zaključak

Pamučne tkanine obojene direktnim bojama i modifikovane koloidnim nanočesticama srebra pokazuju odličnu antibakterijsku efikasnost prema bakterijama *E. coli* i *S. aureus*. Prisustvo ravnomerno deponovanih aglomerata nanočestica srebra na površini pamučnih vlakana potvrđeno je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. Usled prisustva nanočestica srebra dolazi do značajnih promena u obojenju pamučnih tkanina, što je najočiglednije u slučaju uzorka koji je bio obojen žutom bojom C.I. Direct Yellow 86.

*Zahvalnica:* Zahvaljujemo se Ministarstvu za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije za finansiranje projekata 45020 i 172056. Takođe se zahvaljujemo dr Aleksandru Pačevskom (Univerzitet u Beogradu) na izvođenju SEM analize uzoraka.

## The influence of silver nanoparticles on antibacterial activity and color of cotton fabric

*This study discusses the effect of silver nanoparticles on antibacterial activity of dyed cotton fabrics. Additionally, the influence of silver nanoparticles presence on the color change of cotton fabrics was studied. Cotton fabrics were dyed with direct dyes: C.I. Direct Yellow 86, C.I. Direct Red 79 and C. I. Direct Blue 78. Dyed fabrics were modified with colloidal silver nanoparticles that were synthesized without using any stabilizer. The antibacterial activity of fabrics was tested against Gram-negative bacteria *Escherichia coli* and Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*. Color change of cotton fabrics was evaluated via determination of CIE L\*, a\* and b\* coordinates by reflection spectrophotometer. SEM analysis revealed that nearly spherical agglomerates of silver nanoparticles with dimensions between 40-80 nm were evenly deposited onto the surface of cotton fibers independently of applied dye. All cotton fabrics exhibited excellent antibacterial activity against both investigated bacteria. However, the presence of silver nanoparticles negatively affects the color of dyed cotton fabrics. This was particularly pronounced in the case of fabric that was dyed with yellow dye C.I. Direct Yellow 86. These results indicate that more attention should be paid on the order of dyeing and loading of colloidal silver nanoparticles.*

### Literatura

1. R. Czajka, *Fibers and Textiles in eastern Europe* **13** (2005) 13
2. Y. Gao, R. Cranston, *Textile Research Journal* **78** (2008) 60
3. V. Ilić, Z. Šaponjić, V. Vodnik, R. Molina, S. Dimitrijević, P. Jovančić, J. Nedeljković, M. Radetić, *Journal of Materials Science* **44** (2009) 3983
4. J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J. H. Kim, S. J. Park, Y. S. Lee, D. H. Jeong, M.H. Cho, *Nanomedicine* **3** (2007) 95
5. H. J. Lee, S. Y. Yeo, S. H. Jeong, *Journal of Materials Science* **38** (2003) 2199
6. S. H. Jeong, Y. H. Hwang, S. C. Yi, *Journal of Materials Science* **40** (2005) 5413
7. N. Vigneshwaran, A. A. Kathe, P. V. Varadarajan, R. P. Nachane, R. H. Balasubramanya, *Nanoscience and Nanotechnology* **7** (2007) 1893
8. D. Pohle, C. Damm, J. Neuhof, A. Rösch, H. Münstedt, *Polymers & Polymer composites* **15** (2007) 357
9. N. Durán, P. Marcato, G. I. H. De Souza, O. L. Alves, E. Esposito, *Journal of Biomedical Nanotechnology* **3** (2007) 203
10. M. Gorenšek, P. Recelj, *Textile Research Journal* **77** (2007) 138
11. I. Perelshtein, G. Applerot, N. Perkas, G. Guibert, S. Mikhailov, A. Gedanken, *Nanotechnology* **19** (2008) 1
12. M. Gorenšek, M. Gorjanc, V. Bukošek, J. Kovač, Z. Petrović, N. Puač, *Textile Research Journal* **80** (2010) 1633
13. M. Radetić, V. Ilić, V. Vodnik, S. Dimitrijević, P. Jovančić, Z. Šaponjić, P. Jovančić, *Polymers for Advanced Technologies* **19** (2008) 1816
14. V. Ilić, Z. Šaponjić, V. Vodnik, B. Potkonjak, P. Jovančić, J. Nedeljković, M. Radetić, *Carbohydrate Polymer* **78** (2009) 564
15. V. V. Vuković, J. M. Nedeljković, *Langmuir* **9** (1993) 980
16. Z. V. Šaponjić, R. Csencsits, T. Rajh, N. Dimitrijević, *Chemistry of Materials*. **15** (2003) 4521



## Sinterabilnost kordijeritnih prahova sintetizovanih koloidnim sol-gel postupkom

Noshat M. El Buaishi, Violeta M. Arsovski\*, Đorđe N. Veljović, Jasmina S. Kovrlija,  
Đorđe T. Janačković, Rada D. Petrović

*Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Srbija*

*\*Visoka medicinska škola strukovnih studija, Čuprija, Srbija*

### Uvod

Kordijerit ( $2\text{MgO}\cdot 2\text{Al}_2\text{O}_3\cdot 5\text{SiO}_2$ ) ima veliki značaj u nauci o materijalima i široku primenu u industriji zahvaljujući malom koeficijentu toplotnog širenja, maloj dielektričnoj konstanti, velikoj specifičnoj otpornosti i relativno velikoj vatrostalnosti. Međutim, gustu kordijeritnu keramiku je veoma teško dobiti konvencionalnim postupcima sinteze, zbog veoma uskog intervala sinterovanja u blizini inkongruentne tačke topljenja kordijerita ( $1460\text{ }^\circ\text{C}$ ). Pokušaji da se problem uskog intervala sinterovanja reši aditivima omogućili su snižavanje temperature kristalizacije kordijerita i povećanja gustine gotovog proizvoda, ali su doveli do pogoršanja željenih osobina, odnosno do povećanja koeficijenta toplotnog širenja i dielektrične konstante<sup>1</sup>. Zbog toga su poslednjih godina istraživanja usmerena na odgovarajuću pripremu polaznih prahova, jer odlučujući uticaj na svojstva sinterovanog keramičkog proizvoda imaju karakteristike polaznog praha. Različitim hemijskim postupcima pripreme mogu se dobiti fini prahovi velike specifične površine, velike unutrašnje energije, a time i velike sinterabilnosti. Za sintezu kordijerita su u velikoj meri primenjivani sol-gel postupci, polazeći od različitih prekursora, čime su dobijani monofazni polimerni ili trofazni koloidni gelovi, čijom kalcinacijom se kordijerit dobija na temperaturama koje su niže od onih koje se primenjuju u konvencionalnim postupcima. Pokazano je da kalcinacijom iz polimernih gelova kristališe  $\mu$ -kordijerit na oko  $900\text{ }^\circ\text{C}$ , koji se na višim temperaturama transformiše u  $\alpha$ -kordijerit, dok kalcinacijom koloidnih gelova prvo nastaju kristobalit i spinel u temperaturnom intervalu  $900\text{-}1000\text{ }^\circ\text{C}$ , čijom reakcijom na višim temperaturama nastaje  $\alpha$ -kordijerit<sup>2-4</sup>.

U ovom radu je ispitana sinterabilnost kordijeritnih prahova koji su sintetizovani koloidnim sol-gel postupkom, polazeći od sola  $\text{SiO}_2$ , bemit sola i vodenog rastvora magnezijum-nitrata. Suvi gel je kalcinisan u jednom slučaju na temperaturi na kojoj dolazi do viskoznog sinterovanja bez kristalizacije kristobalita, a u drugom slučaju na temperaturi na kojoj nastaje  $\alpha$ -kordijerit, da bi se ispitao uticaj temperature kalcinacije mikrostrukturu sinterovanog materijala. Dobijeni prahovi su mleveni tokom različitih vremenskih intervala, nakon čega su presovani uniaksijalno i sinterovani na različitim temperaturama. Za karakterizaciju prahova dobijenih kalcinacijom i sinterovanih materijala korišćena je skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM). Na osnovu dobijenih rezultata analizirana je zavisnost mikrostrukturnih parametara sinterovanih materijala od temperature kalcinacije suvih gelova, vremena mlevenja kalciniranih prahova i temperature sinterovanja.

### Ekperimentalna procedura

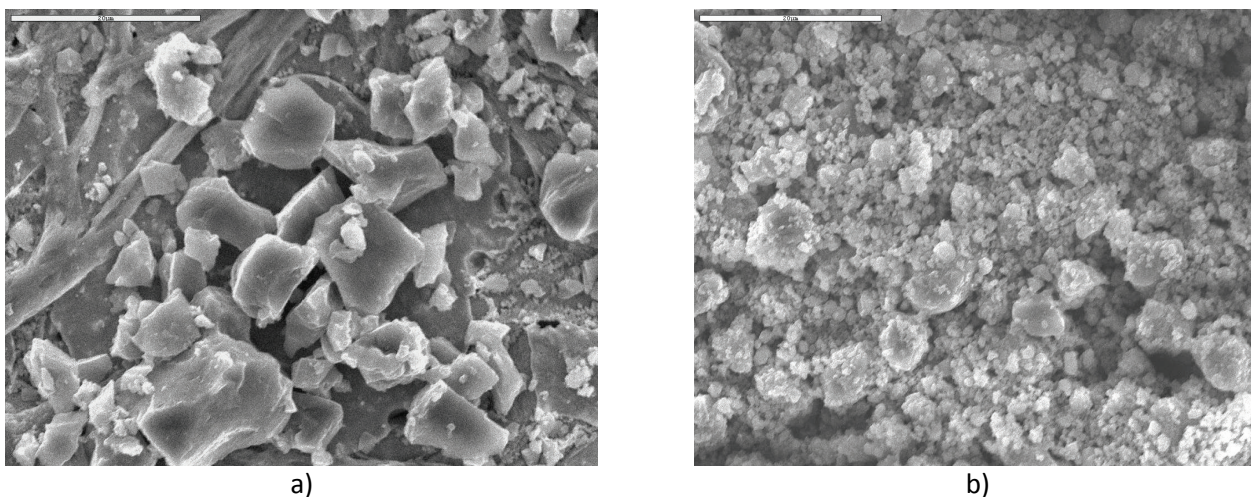
Gel kordijeritnog sastava je sintetisan<sup>2,4</sup> polazeći od sola  $\text{SiO}_2$ , bemit sola i vodenog rastvora  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Sol  $\text{SiO}_2$  je sintetizovan postupkom jonske izmene. Sadržaj čvrste faze u solu bio je 4,1 %, a pH vrednost sola 9,43. Srednji prečnik čestica sola  $\text{SiO}_2$  je 6 nm. Bemit sol je dobijen peptizacijom sveže pripremljenog  $\text{Al}(\text{OH})_3$  azotnom kiselinom, pri molarnom odnosu  $\text{HNO}_3/\text{Al}(\text{OH})_3 = 0,1$ . Sadržaj čvrste faze u bemit solu je iznosio 1,3 %, a pH vrednost 3,83. Bemit sol i sol  $\text{SiO}_2$  su pomešani i mešani 2 časa, nakon čega je dodat vodeni rastvor  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Mešanje je nastavljeno još 2 časa. Ovako dobijena višekomponentna koloidna disperzija je gelirana povišenjem pH vrednosti, dodatkom amonijačnog rastvora amonijum-karbonata. Dobijeni gel je osušen na  $110\text{ }^\circ\text{C}$  i mleven u planetarnom kugličnom mlinu u toku 30 minuta, pri 300 obrtaja/min.

Sprašeni gel je kalcinisan u toku 2 h na  $950\text{ }^\circ\text{C}$ , odnosno  $1300\text{ }^\circ\text{C}$ , nakon čega su dobijeni prahovi mleveni, u jednom slučaju 30 minuta, a u drugom 3 h, pri 300 obrtaja/min. Dobijeni prahovi su presovani uniaksijalno 1 minut u čeličnom poliranom kalupu, pri pritisku od 400 MPa, u cilindrične kompakte prečnika 8 mm i visine 2,5 mm. Kompakti prahova su sinterovani 2 h na  $1400$  i  $1430\text{ }^\circ\text{C}$ , pri brzini zagrevanja od  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ . Morfologija prahova i mikrostruktura sinterovanih uzoraka na prelomu su ispitane skenirajućom elektronskom mikroskopijom na uređaju JEOL JSM 5800. Uzorci su pre ispitivanja napareni legurom Au-Pd.

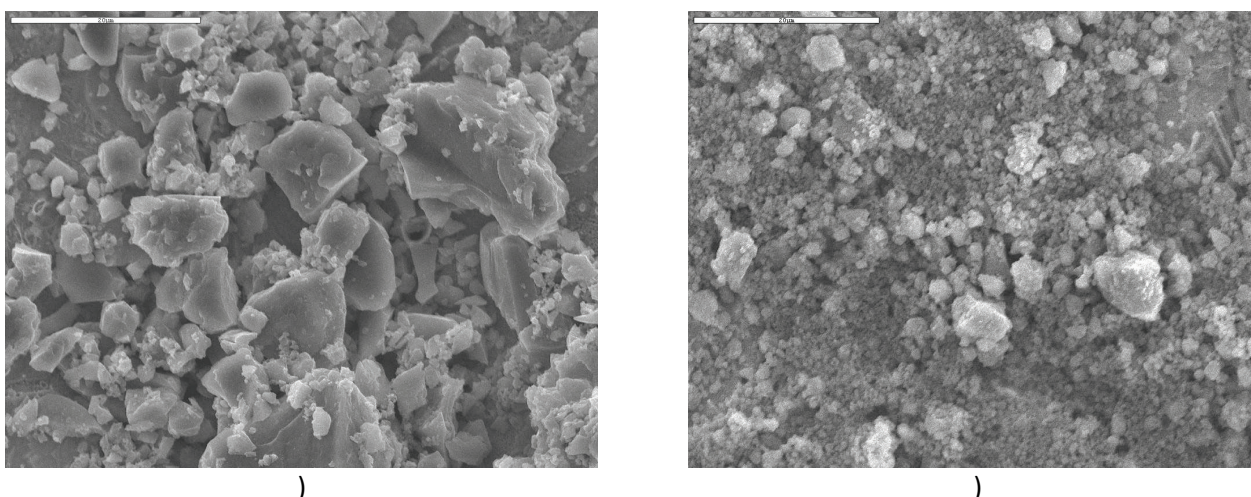
## Rezultati i diskusija

Rezultati prethodnih ispitivanja<sup>2,4</sup> su pokazali da iz sintetisanog gela, tokom toplotne obrade, kristališe prvo spinel na oko 900 °C, a potom kristobalit na oko 1100 °C, koji počinju da reaguju na oko 1200 °C, dajući  $\alpha$ -kordijerit. Intenzivno skupljanje usled viskoznog sinterovanja<sup>4</sup> odigrava se u temperaturnom intervalu 850-1000 °C. Kristalizacija spinela ne utiče na denzifikaciju mehanizmom viskoznog toka, jer kompakt kalcinisanog gela nastavlja da se intenzivno skuplja bez obzira na kristalizaciju spinela. U temperaturnom intervalu 1000-1100 °C završava se skupljanje, odnosno denzifikacija i počinje kristalizacija kristobalita. Na osnovu ovih rezultata, gel je kalcinisan na 950 °C, da bi se obezbedila potpuna denzifikacija pre početka kristalizacije, što bi omogućilo, prema nekim autorima<sup>5</sup>, dobijanje guste kordijeritne keramike na nižim temperaturama. U drugom slučaju, gel je kalcinisan na 1300 °C, kada nastaje dobro kristalisan  $\alpha$ -kordijerit.

Morfologija prahova koji su dobijeni kalcinacijom gela na 950 °C (G 950) i 1300 °C (G 1300) tokom 0,5 h i 3 h prikazana je na slikama 1 i 2. Kod oba uzorka se uočava značajno smanjenje veličina čestica praha i razbijanje aglomerata sa povećanjem dužine trajanja mlevenja. Prahovi dobijeni mlevenjem u toku 0,5 h sadrže pretežno veoma krupne čestice veličine od 10 do 20  $\mu\text{m}$ , a u prahovima koji su dobijeni tokom 3 h mlevenja zastupljene su pretežno sitnije čestice veličine oko 1  $\mu\text{m}$ , ali su u manjoj meri zastupljene i krupnije čestice, veličine 5-10  $\mu\text{m}$ .



Slika 1. Morfologija praha G 1300: a) nakon 0,5 h mlevenja, b) nakon 3 h mlevenja (bar = 20  $\mu\text{m}$ )



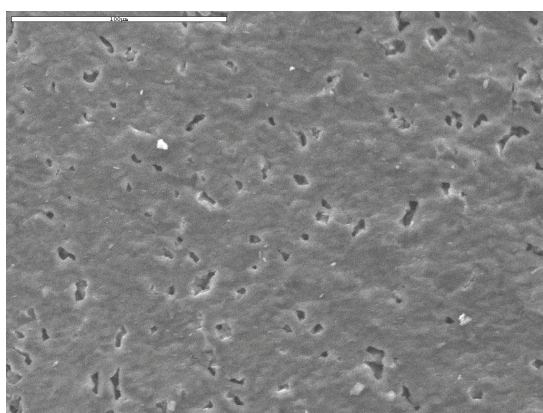
Slika 2. Morfologija praha G 950: a) nakon 0,5 h mlevenja, b) nakon 3 h mlevenja (bar = 20  $\mu\text{m}$ )

Na slikama 3 i 4 prikazane su mikrostrukture materijala koji su dobijeni sinterovanjem na 1400 i 1430 °C prahova koji su dobijeni mlevenjem kalcinisanog gela G 950 i G1300 u toku 0,5 h i 3 h.

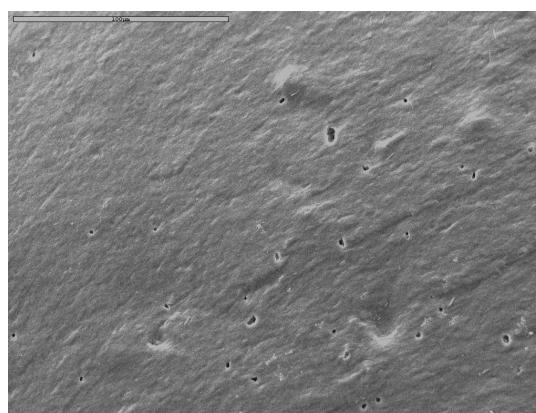
Mikrostruktura materijala na slici 3 a. okarakterisana je velikim udelom krupnih pora, koje su posledica prisustva krupnih čestica u polaznom prahu G 1300, koji je dobijen tokom 0,5 h mlevenja (slika 1 a). Sa slike 4 a. se uočava da viša temperatura sinterovanja nije dovela do povećanja sinterabilnosti ovog praha, jer su čestice praha očigledno veoma krupne i formiraju tokom presovanja krupne pore, koje se teško uklanjaju

sinterovanjem. Značajno smanjenje veličine čestica praha G 1300 zahvaljujući dužem mlevenju omogućilo je da se sinterovanjem na 1400 °C dobije mikrostruktura znatno veće gustine, sa veoma malim udelom pora (slika 3 b). Međutim, povišenje temperature sinterovanja na 1430 °C ima suprotan efekat, jer se dobija materijal sa krupnijim, sfernim porama. Pretpostavljeno je da su ove pore nastale usled pojave određene količine tečne faze, odnosno topljenja, zahvaljujući maloj veličini čestica, a visokoj temperaturi sinterovanja. Početak topljenja je uočen i vizuelno, na osnovu deformacije sinterovanih uzoraka. Početak topljenja na temperaturama koje su niže od teorijske vrednosti (1460 °C) može se objasniti prisustvom jona natrijuma u solu SiO<sub>2</sub>, koji je korišćen za sintezu gela.

Slični rezultati su dobijeni i za prah G 950. Povišenje temperature sa 1400 na 1430 °C nije uticalo bitno na stepen sinterovanja praha koji je dobijen mlevenjem u toku 0,5 h, jer su u oba slučaja dobijeni materijali sa velikim udelom krupnih pora (slike 5 a. i 6 a.). Produženim mlevenjem i sinterovanjem na 1400 °C dobijen je materijal sa manjim udelom pora (Slika 5 b), ali je udeo pora veći i njihove dimenzije veće nego kod uzorka koji je pri istim uslovima dobijen od praha G 1300. Kao i u slučaju praha G 1300, prisustvo sfernih pora većih dimenzija u materijalu koji je dobijen sinterovanjem na 1430 °C praha G 950, mlevenog 3 h, je rezultat pojave tečne faze usled topljenja.

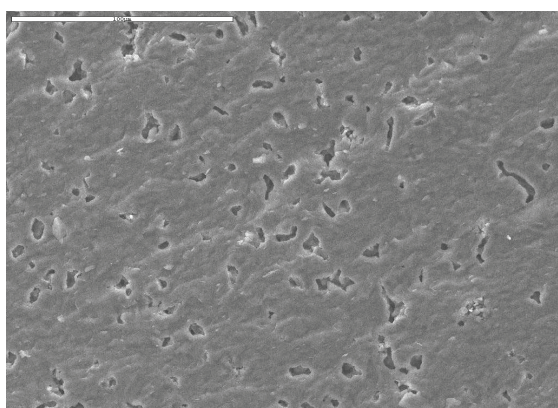


a)

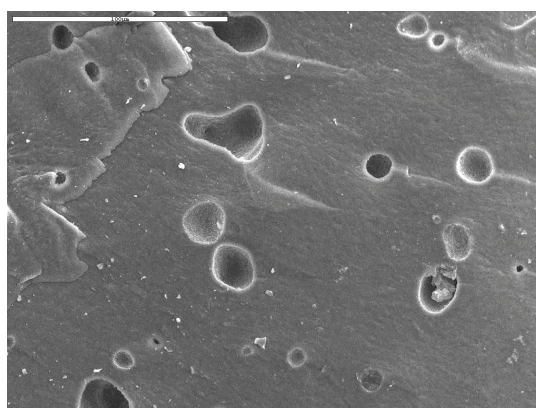


b)

Slika 3. Mikrostruktura materijala dobijenih sinterovanjem na 1400 °C kompakata prahova koji su dobijeni mlevenjem kalcinisanog gela G 1300 u toku: a) 0,5 h; b) 3 h. (bar = 100 μm)

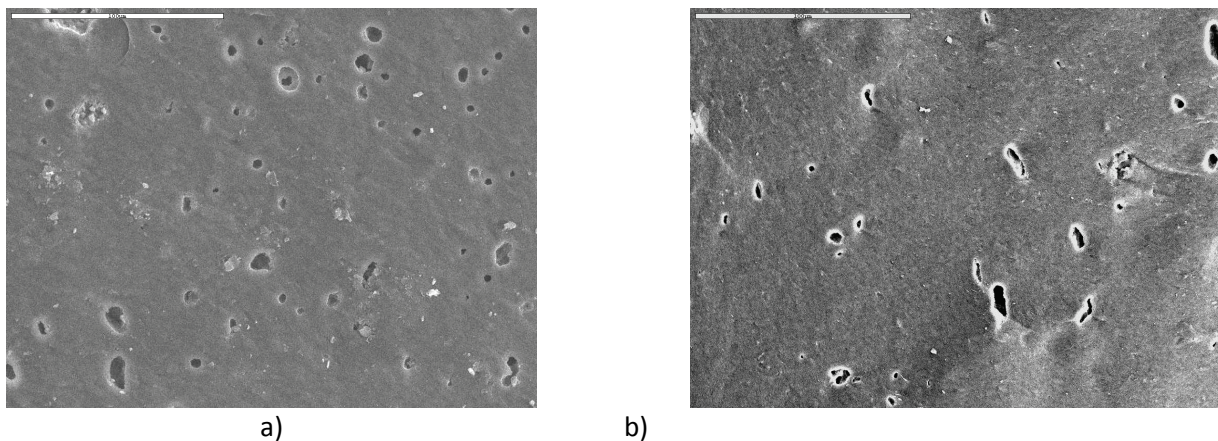


a)

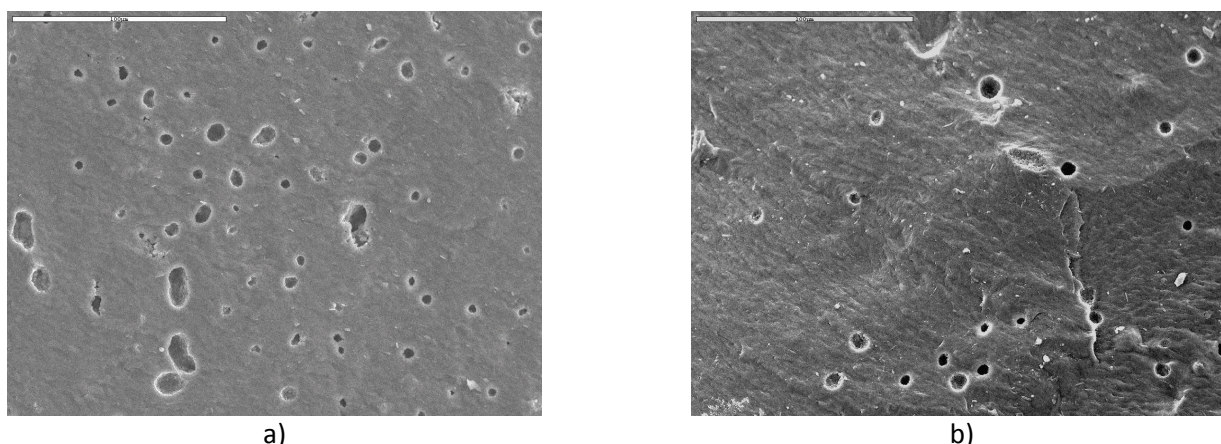


b)

Slika 4. Mikrostruktura materijala dobijenih sinterovanjem na 1430 °C kompakata prahova koji su dobijeni mlevenjem kalcinisanog gela G 1300 u toku: a) 0,5 h; b) 3 h. (bar = 100 μm)



Slika 5. Mikrostruktura materijala dobijenih sinterovajem na 1400 °C kompakata prahova koji su dobijeni mlevenjem kalcinisanog gela G 950 u toku: a) 0,5 h; b) 3 h. (bar = 100 μm)



Slika 6. Mikrostruktura materijala dobijenih sinterovajem na 1430 °C kompakata prahova koji su dobijeni mlevenjem kalcinisanog gela G 950 u toku: a) 0,5 h; b) 3 h. (bar = 100 μm)

### Zaključak

Sinterabilnost kordijeritnih prahova dobijenih koloidnim sol-gel postupkom zavisi od temperature kalcinacije gela, dužine trajanja mlevenja kalciniranih gelova i temperature sinterovanja. Smanjenje veličine čestica kalciniranih gelova sa produženjem mlevenja u najvećoj meri doprinosi povećanju stepena sinterovanja. Bolju sinterabilnost ima prah koji sadrži dobro kristalisani  $\alpha$ -kordijerit u odnosu na prah u kome je došlo do viskozno sinterovanja bez kristalizacije komponente koja sadrži  $\text{SiO}_2$ . Iako je sol-gel postupak omogućio sniženje temperature sinteze  $\alpha$ -kordijerita u odnosu na tradicionalne postupke, optimalna temperatura sinterovanja (1400 °C) je bliska temperaturi inkongruentnog topljenja kordijerita.

*Zahvalnica:* Autori se zahvaljuju Ministarstvu prosvete i nauke za finansiranje istraživanja u okviru projekta No. III 45019.

### Sinterability of Cordierite Powders Synthesized by Colloidal Sol-Gel Method

*Sinterability of cordierite powders synthesized by colloidal sol-gel method starting from silica sol, boehmite sol and aqueous solution of  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  has been studied. According to microstructure of obtained materials, it was shown that sinterability of cordierite powders depends on temperature of gel calcination, time of grinding of calcined gels and sintering temperature. The densification degree was highly improved by decreasing the mean particle size of powders by prolonged grinding. The powder contained well crystallized  $\alpha$ -cordierite had a better sinterability compared to powder obtained by viscous sintering of gel before the onset of crystallization of the  $\text{SiO}_2$ -containing component. Although the sol-gel method enabled decreasing temperature of  $\alpha$ -cordierite synthesis compared to traditional processing, optimal sintering temperature is still high and close to the temperature of incongruent melting of cordierite.*

### Literatura

1. M.A. Camerucci, G. Urretavizcaya, A.L. Cavalieri, *Ceramics International*, **29** (2003) 159.
2. R. Petrović, Đ. Janačković, S. Zec, S. Drmanić, Lj. Kostić-Gvozdenović, *Journal of Materials Research*, **16** (2001) 451.
3. R. Petrović, Đ. Janačković, S. Zec, S. Drmanić, Lj. Kostić-Gvozdenović, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **28** (2003) 111.
4. R. Petrović, Đ. Janačković, B. Božović, S. Zec, Lj. Kostić-Gvozdenović, *Journal of Serbian Chemical Society*, **66** (2001) 335.
5. A. M. Kazakos, S. Komarneni, R. Roy, *Journal of Materials Research*, **5** (1990) 1095.

## У свету хемије ученика седмог разреда

Борис Пејин, Гордана Јовић\*, Љиљана Вуковић\*\*, Јасминка Королија

*Хемијски факултет, Универзитет у Београду, Студентски трг 16, 11000 Београд, Србија*  
([borispejin@yahoo.com](mailto:borispejin@yahoo.com))

\*Основна школа „Краљ Александар I”, Алексиначких рудара 22, 11070 Нови Београд, Србија

\*\*Основна школа „Веселин Маслеша”, Кумодрашка 72, 11000 Београд, Србија

### Увод

У основној школи Хемија се као посебан предмет учи од седмог разреда. За велики број ученика она представља тежак наставни предмет<sup>1-4</sup> чија примена се не види у свакодневном животу<sup>3,4</sup> упркос томе што се ради о централној природној науци<sup>5</sup> која је опште присутна. Последица таквог стања је неуспостављање веза између хемијске науке и друштва што је обесхрабрујуће будући да та спона, која укључује и технологију, представља један од важних принципа савременог образовања<sup>6,7</sup>. У 21. веку наука, па самим тим ни хемија, не може бити привилегија мањине већ би требало да постане власништво сваког појединца<sup>8</sup>. Из тог разлога задатак савремене школе је да кроз учење / наставу повеже науку и друштво. С друге стране, ученици седмог разреда (13-14 година) су у узрасту када код њих почињу да се стварају формалне мисаоне операције<sup>9</sup>, а учење о субмикросвету, предвиђено планом и програмом хемије<sup>10</sup>, може допринети развијању њиховог апстрактног мишљења. Појмови који се односе на структуру супстанце (атом и субатомске честице, молекул, јон и хемијска веза) не могу се видети и у том процесу могу настајати многе погрешне представе које би требало одмах исправљати<sup>11</sup>. Увид у доживљај хемије и менталне представе ученика о њој могу се остварити на различите начине; најчешће се то постиже кроз анкете, тестирање или разговор са њима. У овом раду, међутим, представљена је могућност сагледавања ученичког виђења хемије, посебно субмикросвета, путем цртежа. Ликовни рад, у ствари, представља и алтернативан начин провере знања кроз који ученици 'несвесно' дају 'праве' одговоре.

Ово истраживање реализовано је у две основне школе у Београду, „Краљ Александар I” (А; 71 ученик) и „Веселин Маслеша” (Б; 77 ученика), и у њему је укупно учествовало 148 ученика седмог разреда. На часу ликовне културе *Композиција* ученици из обе школе добили су тему *Свет хемије* на коју је требало да одговоре у року од 45 минута. Сами су бирали и садржај свог цртежа и технику рада. Након тога, на првом идућем часу хемије, уследила је дискусија датих ликовних радова.

### Резултати и дискусија

Анализа ученичких цртежа показала је њихову пуну спремност да одговоре изазову који је пред њих био постављен: наиме, ниједан ученик није предао празну хартију. Већина ликовних радова у обе школе (83% А и 87% Б) била је обојена, при чему се као доминантна боја најчешће издвајала плава (37% А и 33% Б). Када је о њиховом садржају реч, макросвет (40% А и 44% Б) био је више заступљен од субмикросвета (15% А и 12% Б); највећи број ученика, међутим, на својим цртежима приказао је оба поменутог света (45% А и 44% Б). Може се рећи да им је лабораторијско посуђе и прибор (77% А и 84% Б) представљало прву асоцијацију на хемију (табела 1); саму лабораторију, пак, нацртали су појединци (10% А и 10% Б). На датим цртежима упечатљиво је било и присуство атома (49% А и 56% Б), хемијских елемената и / или периодног система елемената (37% А и 63% Б), хемијских једињења (15% А и 48% Б), као и физичких и хемијских промена (42% А и 45% Б), табела 1. Мањи број ученика уврстио је и познате хемичаре у приказ њиховог света хемије (11% А, – Б), опредељујући се притом за Менделејева, Далтона, Перкина, као и за Демокрита и Леукипа. Ликовни радови су углавном били уопштено (72% А и 79% Б) и реално (70% А и 57% Б) осмишљени, без присуства писаног текста (56% А и 53% Б).

Табела 1. Садржај и боје ликовних радова ученика

**А. Основна школа: „Краљ Александар I”****Садржај**

лабораторијско посуђе и прибор 77%  
 атом 49%  
 физичке и хемијске промене 42%  
 хемијски елементи и/или периодни систем елемената 37%  
 природа 28%  
 хемијска једињења 15%  
 субатомске честице (протон, неутрон и електрон) 11%  
 хемијске везе 11%  
 хемијске дефиниције 11%  
 историја хемије (познати хемичари) 11%  
 лабораторија 10%  
 екологија 6%  
 стихови о хемији 5%  
 материја и физичко поље 4%  
 смеше 4%  
 уџбеник из хемије 3%  
 јони 1%  
 хемија = љубав 1%

**Боје**

плава 37%  
 браон 21%  
 љубичаста 16%  
 жута 13%  
 зелена 8%  
 наранџаста 5%

**Б. Основна школа: „Веселин Маслеша”****Садржај**

лабораторијско посуђе и прибор 84%  
 хемијски елементи и/или периодни систем елемената 63%  
 атом 56%  
 хемијска једињења 48%  
 физичке и хемијске промене 45%  
 субатомске честице (протон, неутрон и електрон) 22%  
 хемијске дефиниције 19%  
 лабораторија 10%  
 хемијске везе 9%  
 смеше 6%  
 природа 6%  
 екологија 1%  
 историја хемије (познати хемичари) –  
 стихови о хемији –  
 материја и физичко поље –  
 уџбеник из хемије –  
 јони –  
 хемија = љубав –

**Боје**

плава 33%  
 љубичаста 21%  
 зелена 20%  
 браон 14%  
 наранџаста 6%  
 роза 6%

Са тачке гледишта хемијске науке, у вези са ликовним радовима ученика, потребно је истаћи следеће:

- величина субатомских честица није била коректно приказана (већина ученика из обе школе није правила разлику између величине протона, неутрона и електрона);
- субатомске честице најчешће су представљане као лоптице;
- однос величина атома и атомског језгра на скоро свим цртежима био је, такође, неадекватно представљен;
- у највећем броју случајева удаљеност електрона од атомског језгра није одговарала чињеничном стању јер су сви приказани на подједнаком растојању од језгра;
- путање електрона углавном су биле као елипсе;
- само је један ученик нацртао електрон у покрету;
- није било вођено рачуна о међусобној величини атома различитих хемијских елемената.

Чињеница да је врло мали проценат ученика својим цртежом указао на место и / или примену хемије у свакодневном животу (17% А и 9 % Б) у сагласности је са резултатима претходне студије<sup>3,4</sup> и представља значајну информацију до које се дошло другачијим путем.

### Закључак

Сагледавање ученичких представа о свету хемије кроз ликовне радове показало се као вишеструко корисно и оправдано за све актере, ученике и наставнике. Ученици су тако на часу који није час хемије на нов начин приказали и своје знање о различитим хемијским појмовима. Будући да овакав приступ они нису доживели као тестирање могли су слободно да представе менталне слике које су створили. Наставници су имали прилику да изведу закључке о хемијским заблудама у вези са апстрактним појмовима; да уоче где је потребно интервенисати у даљем раду; да повежу школске предмете (садржаји хемије били су тема на часу ликовног образовања); да схвате у којој мери ученици виде хемију у свакодневном животу. Када се ученици буду зближили са хемијом, доживљаваће је сврсисходнијом, а требало би да је тада и боље разумеју, што је један од најважнијих циљева наставника овог предмета природне науке.

*Захвалница:* Аутори се најлепше захваљују Министарству просвете и науке Републике Србије (пројекат бр. 179048).

## In a chemistry world of seventh-grade primary school students

*The possibility of considering of students' perceptions and knowledge of chemistry, in particular regarding submicro world, with drawings is presented in this manuscript. The research was conducted in two primary schools in Belgrade, King Aleksandar I (A; 71 students) and Veselin Maslesa (B; 77 students). At the art class Composition students were given the topic A Chemistry World that was supposed to respond within 45 minutes. Both the content of their drawing and corresponding technique they selected all by themselves. Laboratory ware and accessories (77% A u 84% B), atom (49% A u 56% B) and chemical elements (37% A u 56% B) were the most common associations of chemistry. The insight into students' mental performances of atomic structure pointed out their chemical misconceptions which were immediately corrected. Majority of them did not indicate on the application of chemistry in everyday life. That fact underlines the important task of modern teaching chemistry in establishing a connection between this central natural science and society.*

### Литература

1. С. Наход, Ставови ученика према настави предмета природних наука, Министарство просвете Републике Србије, Едиција "Образовање и друштво", Београд, 1997.
2. И. Ивић и сарадници, Свеобухватна анализа система основног образовања у СРЈ, Уницеф - Београд, 2001.
3. Б. Пејин, Б. Станимировић, Т. Купусаревић, Д. Шишовић, Ставови основаца о важним питањима образовања у области хемије, XLII саветовање Српског хемијског друштва, Нови Сад, 2004, изводи радова, стр. 158.
4. В. Pejin, В. Stanimirovic, Т. Kupusarevic, D. Sisovic, The analysis of students' replies regarding education in the field of natural sciences and mathematics according to the achieved success in the mentioned subjects, ICOSSECS 4, Belgrade, 2004, Book of Abstracts, p. 258.
5. T.L. Brown, H.E. LeMay Jr, B.E. Bursten, Chemistry, The Central Science, Practice/Hall Inc., New Jersey, 1997.
6. P.J. Fensham, *J. Curriculum Stud.* **17** (1985) 415
7. Ј. Костојица, Ј. Станишић, *Journal of the Institute for Educational Research* **41** (2009) 241
8. J. Hassard, J. Weisberg, *Int. J. Sci. Educ.* **21** (1999) 731
9. G.D. Singer, A.T. Revenson, A Piaget primer: How a child thinks, 2st edition, Harmondsworth: Penquin Books, 1996.
10. Наставни план и програм за основну школу, Службени гласник Р Србије, *Просветни гласник* **6** (2009) 53-58.
11. K. Taber, Chemical misconceptions – prevention, diagnosis and cure, Volume 1, Royal Society of Chemistry, 2002.



## Осмаци као наставници на првом часу хемије у основној школи

Борис Пејин, Љубинка Пешић-Илић\*, Љиљана Бошковић\*\*\*\*, Василије Планић\*\*\*\*,  
Јасминка Королија

*Хемијски факултет, Универзитет у Београду, Студентски трг 16, 11000 Београд, Србија*  
(borispejin@yahoo.com)

\*Основна школа „Свети Сава”, Гложане бб, 16210 Гложане, Србија

\*\*Основна школа „Светозар Марковић”, Олге Јовичић Рите бб, 36000 Краљево, Србија

\*\*\*Основна школа „Драган Ђоковић Учо”, Тавник бб, 36204 Тавник, Србија

\*\*\*\*Основна школа: „Миодраг Чајетинац Чајка”, Бранка Радичевића 1, 37240 Трстеник, Србија

### Увод

У основној школи хемија се учи две године, у седмом и осмом разреду, и обухвата садржаје из опште, неорганске и органске хемије. Планом и програмом<sup>1</sup> предвиђено је да се настава / учење хемије одвија на часовима редовне, допунске и додатне наставе, као и у току слободних активности. Уобичајено је да се ова природна наука учи кроз предавања, демонстрационе огледе, лабораторијске и рачунске вежбе. Међутим, у школској пракси, у оквиру редовне наставе, ретко се излажу и разматрају самостални и групни ученички радови и експерименти и организују квизови. Предавања о актуелним темама, односно о месту хемије у свакодневном животу, нису честа у основној школи. Ове активности ученика и наставника предвиђене су углавном за слободне активности. Тако, на пример, не постоје организовани циклуси предавања из области заштите животне средине и правилне исхране, као и о месту и улози ове природне науке у очувању националног и културног блага који би ученицима предочили да је она свакодневно присутна и неопходна. Стога, већина ученика не сагледава примену садржаја који учи, већ они за њих представљају обавезу коју треба одрадити. У таквим условима не може се развијати ни креативност ни критичко мишљење о којима се иначе, декларативно, стално говори.

Циљ овог рада био је да се испитају виђења ученика о садржајима на уводном часу хемије као новог наставног предмета у основној школи. Мада је у Србији је до сада било покушаја да уводни часови буду део наставног програма хемије у основној школи<sup>2-5</sup>, они ипак нису заживели у школској пракси. Ученицима осмог разреда постављен је писмени задатак на тему *Ја као наставник хемије са следећим упутством: Од наставника хемије добили сте задатак да одржите ПРВИ ЧАС из тог предмета ученицима седмог разреда. Замислите себе као наставника на првом часу хемије и укратко опишите како би изгледао тај ваш час.* Као што се види, у оквиру овог задатка требало је да ученици укратко изнесу садржај и организацију њиховог првог часа хемије у седмом разреду у својству предметног наставника; притом им нису биле дате никакве смернице о томе шта и како би све могло да се уради на поменутом часу (на пример, указивање на информације чиме се бави хемија; извођење демонстрационог / демонстрационих огледа; упућивање на неопходност знања хемије у тумачењу текстова у дневној штампи, у тумачењу декларација различитих намирница и робе широке потрошње, доза лекова, резултата лабораторијских анализа; итд.). У овој сумативној провери исхода учења / наставе хемије тест за проверу знања замењен је једним слободнијим начином праћења исхода двогодишњег учења хемије и сагледавања резултата рада који о њему пружа квалитативну слику. Треба имати у виду да овакав начин праћења ученичких постигнућа није уобичајен за хемију. Међутим, с обзиром на то да је стицање функционалних знања задатак сваког образовног система, потребно је да се непрекидно проналазе различити начини праћења нивоа ученичких постигнућа који би показали у којој мери они поседују применљива знања.

### Резултати и дискусија

Пилот студија новог начина праћења исхода двогодишњег учења хемије урађена је у другој половини маја 2008. године у четири основне школе у Србији: „Свети Сава” - Гложане (А), „Светозар Марковић” и „Драган Ђоковић Учо” - Краљево (Б) и „Миодраг Чајетинац Чајка” - Трстеник (В). У овој активности учествовало је 164 ученика који су рад писали 30 минута, након чега је уследила дискусија. Анализа њихових писмених задатака показала је следеће:

**највећем броју ученика (35% А, 54% Б и 38% В) на првом месту био је разговор о хемији.**

Причали би о ученицима већ познатим реакцијама и процесима у природи, објаснивши да је и како је хемија присутна у њима. Предочила би им и неке основне појмове како би им олакшала касније учење. Разговарали би и о томе где су се све до тада сусрели са хемијом и колико је она уствари битна. Оно што је посебно важно јесте да хемију не схвате као предмет који се учи напамет већ као предмет за који је потребно разумевање и стална 'присутност'. За крај бих им показала одабрани експеримент уз помоћ којег бих покушала да их уверим у ту чињеницу, и мислим да би њима стварно било јако занимљиво да га уживо пропрате.

**значајан број ученика (48% А, 16% Б и 33% В) пажњу је превасходно посветио понашању наставника, описујући притом у општим цртама и атмосферу у учионици.**

Разговарао бих са децом, као што је наша наставница хемије разговарала са нама. Све време бих био врло љубазан у том разговору. Објаснио бих им како треба да се понашају на мом часу и упознао бих их са својим плановима за даљи рад.

С обзиром да су сва деца немирна и непослушна, за почетак, завела бих ред и показала бих им зубе. За мене би најважније било да ме ученици поштују као наставника, то би ми било прече и од њиховог знања. Затим би се упознали и онда бих полако почела да им објашњавам градиво и дајем савете како најлакше могу да схвате предмет Хемију.

Поносно и озбиљно улазим у школу у Гложану. Прво одлазим у канцеларију да се одморим, попијем кафу, а затим идем на први час хемије у једном одељењу седмог разреда. Улазим у учионицу, поздрављам ученике и представљам им се напомињући им да нема разлога да се плаше јер хемија није толико тешка као што причају осмаци. Рекла бих им и то да ће увек и то баш увек добити оцену коју заслужују, без обзира каква она била. На том часу било би наравно и смешних тренутака. Потом бих им предавала лекцију по плану и програму. Тада бих им све објаснила и показала, исправљајући их у њиховим грешкама. Себе замишљам као добру и паметну жену која зна и уме да научи децу неким вредним стварима које ће им касније требати у животу. Не бих лупала глупости и не бих се зевзечила на часу јер мислим да то није ни лепо ни паметно. Ако једног дана постанем наставница хемије, волела бих да мој први час буде баш овакав.

Улазим у учионицу... наравно, осмех је већ на лицу, како ученици не би, већ на први поглед, помислили да сам нека 'вештица'. Први утисак ученика – веома је битан! Прво што бих очекивала од ученика јесте да устану када уђем и тако ме поздраве. Пошто би још увек сређивали емоције са распуста, имала бих стрпљења да сачекам да се смире, па бих започела да се упознајем са њима. .... Иначе, не би ми пало на памет, као што појединим наставницима пада, да их питам за успех у шестом разреду, јер он стварно нема никакве везе са мојим предметом. Затим бих, укратко, упознала са хемијом и шта их очекује у првом полугодишту. Саопштила бих им и то да нисам много строга, али да на часу мора да се ради! И да нарочито ценим усмене одговоре! Да жваке и мобилне телефоне никоме нећу забрањивати пошто то није мој, већ њихов проблем! Као и то да имају на уму да касније неће знати оно што смо радили, ако буду играли игрице на телефону. Уколико се, пак, одлуче да се на контролним вежбама користе пушкицама и сличним помагалима, истакла би им да буду спремни на последице таквог понашања, пошто имам очи и на леђима!!!

Не бих била строга наставница. У ствари, трудила бих се да са децом имам једно велико пријатељство како би могли да ми се повере ако би их нешто мучило. Била бих им и пријатељ и родитељ у исто време. Волела бих када ме се ниједан ученик не би плашио. Хтела бих, као и сваки други наставник, да их нешто научим, пошто ниједан наставник својим ђацима не жели зло већ добро. Наставници им желе да што више науче и да постану неко и нешто у животу. Надам се да ћу завршити за професора хемије, јер је тај предмет веома леп, лак и поучан.

Увек сам причала како бих ја, да сам наставник хемије, радила ово овако а оно онако. Међутим, сад кад сам добила тај задатак, признајем, не бих се снашла. Мој први час хемије у седмом разреду замишљам као први одржан час уопште у основној школи на месту наставника. Улазим у учионицу. Ученици седе на својим местима и нервозно, више уплашено, ишчекују упознавање са хемијом - новим предметом и новом наставницом. Као ученик, често помислим да је наставницима лако. Они седе за катедром, уписују час и оцене, и то је то. Ипак, сада када се налазим иза катедре, и када гледам та унезверена и несташна дечија лица, тек сада схватам да су наставници и деца подједнако уплашени. Сви се плашимо прихватања и одбијања. На мојој катедри (како то лепо звучи!) стоји тридесетак папирних беџева које делим ученицима. Замолила сам их да на њима испишу своја имена и да их носе барем неколико првих часова док их запамтим. На свом првом часу се трудим да остварим лепу комуникацију са одељењем. Упућујем их у правила понашања којих се на мом часу морају придржавати. Наговештавам им, наравно, да ни ја као наставница, ни хемија као предмет нисмо бауци који једу седмаке, већ да је пред њима једна веома занимљива наука која је увек и свуда присутна, иако тога сами често нисмо свесни; говорим им и то да сам ја ту као неко ко ће им бити водич на том невероватном путовању. Знам да би ми тих 45 минута прошло као дланом о длан; неко би помислио да сам досадна, а неко да сам добра наставница; сигурно бих се трудила и надала да са њима остварим добру сарадњу, пуну подршке, разумевања и узајамног поштовања. Ја као наставница хемије ... занимљиво! ... било би то једно ново и лепо искуство, али ... да бих икада то заиста постала ...

боље ми је да се отарасим маштања и сањарења и да што пре научим оне хемијске везе које ми још увек задају муке.

Прво бих се наравно представила својим будућим ученицима и покушала бих да на што бољи начин организујем час како би свако од ђака схватио да хемија није тежак предмет (као што сви причају) и да уз мало љубави и пажње може лако да се заволи. Као наставник имала бих пуно разумевања за ђаке и њихове проблеме.

Прво бисмо се сви упознали једни са другима, а наравно и са новим предметом. Трудила бих се да им на што занимљивији и лакши начин објасним појединости везане за хемију. Мислим да хемију 95% ученика доживљава као тежак или претежак предмет. То не мора да буде тако ако се све лепо схвати у школи. Тада бих им нарочито истакла значај пажње и слушања на часу за савладавање овог предмета.

Први утисак је јако важан. Када је у питању упознавање са новим предметом који притом изучава све оно што чини нашу околину, о чему мање или више знамо, онда је дилема о томе шта рећи некоме ко се први пут сусреће са хемијом, као предметом у школи, утолико већа. Час бих започела личним представљањем и упознавањем са децом (можда се ово чини небитним али по мени то уопште није тако), пошто зближавање са наставником обично значи и зближавање са његовим предметом. Потом, пре него што бисмо прешли на упознавање наставног плана и програма, покушала бих што више да им приближим овај предмет. Како? ... Настојањем да сваки час буде посебан и другачији од претходног како би ученици стекли знање које ће им касније бити од користи у животу.

**мањем броју ученика (4% А, 9% Б и 37% В) приоритет је био разговор о огледима и њихово извођење на датом часу; конкретније се, међутим, изразила само једна петина ових осмака (растварање калијум-перманганата у води; сагоревање магнезијумове траке; реакције у којима супстанце мењају боју; доказивање јона; доказивање састојака урина). Тако је само делимично сагледано који огледи су на њих оставили највећи утисак, које разумеју и које су спремни да покажу млађим друговима.**

Показао бих им два огледа које бих им потом укратко и објаснио.

Улазим у учионицу и упознајем се са децом. На првом часу дефинисала бих им хемију и саопштила основно о њој. Рекла бих им да је она због огледа веома интересантан предмет.

Прво бих им објаснила каква је то наука, а затим бих им извела више једноставних огледа са супстанцама из свакодневног живота.

Рекла бих им да ћемо током године урадити пуно узбудљивих вежби и експеримената. Можда бих неки и тог часа спровела у дело како бих им показала колико ће нам свима скупа идући часови бити занимљиви. Укратко бих их упознала и са кабинетом укључујући основни лабораторијски прибор и посуђе напомињући им њихову важност у дружењу са светом хемије.

Пошто бих се упознала са ученицима, у предмет изучавања хемије увела бих их огледом чију сврху и резултате бих им детаљније објашњавала на часовима који би уследили.

Након завршетка кратког филма са хемјском тематиком сви бисмо заједно извели неки оглед у учионици, а затим бисмо га скупа и прокоментарисали. Потом би свако од ученика имао за задатак да на једном листићу напише шта за њега представља хемија. На крају би ученици, редом један за другим, излазили пред таблу и укратко износили своје мишљење.

**незнатан број ученика (2% А, 0% Б и 4% В) би за време тог првог часа настојао да организује сусрет седмака с осмацима, дидактичке игре (асоцијације), квизове или пројекције научно-популарних филмова о хемији.**

Потом бих им довео неколико најбољих ђака из хемије из осмог разреда како би мало попричали са њима и тако им смањили евентуалну трему.

На првом часу бих им кроз игре и асоцијације показала да хемија не треба да се буба, већ да треба да се учи са разумевањем и да се увек размишља о пређеном градиву.

Током друге половине часа бих их поделила у групе при чему би свака од њих имала задатак да наброји што више примера примене хемије у свакодневном животу. Победник би била она група која би навела највише тачних одговора.

На почетку часа пустио бих им један посебно леп филм који би их увео у свет хемије и њене тајне. Филм би садржао више различитих огледа који би ученицима заокупирали сву њихову пажњу.

Затим бих им показала разне сликовнице (сходно финансијској могућности школе), како би се ученици што више заинтересовали за нови предмет. То знам по себи, јер волим да учим само оно што ми је интересантно, односно што ми привлачи пажњу. И од досадне лекције из хемије може се направити занимљива прича јер је она таква наука!

Комбинацијом ученичких размишљања на задату тему осмишљен је могући сценарио уводног часа хемије у седмом разреду у трајању од 40 минута.

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1. korak - Представљање и упознавање с ученицима. Претходи припрема беџева с симболима и називима хемијских елемената (из програма хемије за основну школу) и местом на коме ученик уписује своје име. Ученици бирају беџеве који су обележени бројевима од 1 до 30 | <b>5 минута</b> |
| 2. korak - Упознавање с правилима понашања која су истакнута на паноима у учионици и кабинету.  | <b>2 минута</b> |
| 3. korak - Дефиниција хемије уз показивање узорака различитих супстанци из самоуслуге и лабораторије.   | <b>6 минута</b> |
| 4. korak - Демонстрациони оглед (извођење и дискусија). Ученик осмог разреда је демонстратор  | <b>8 минута</b> |
| 5. korak - Порекло речи хемија. Осврт на историју хемије (када и где је настала). О хемији у Србији (фотографије или видео презентација).   | <b>6 минута</b> |
| 6. korak - Сажет приказ програма и плана хемије у првом тромесечју.   | <b>3 минута</b> |
| 7. korak - Начини и критеријуми за оцењивање.   | <b>3 минута</b> |
| 8. korak - Дидактичка игра (хемијска слагалица).  | <b>4 минута</b> |
| 9. korak - Постављање домаћег задатка (Хемија у дневној штампи).  | <b>2 минута</b> |
| 10. korak - Добре жеље за успешно учење хемије.   | <b>1 минут</b>  |

### Закључак

У настави хемије потребно је посветити пажњу разради уводних часова. У овом раду разматран је уводни час хемије у седмом разреду из угла ученика осмог разреда након њиховог двогодишњег учења овог предмета. Кроз писмени задатак *Ја као наставник хемије* осмаци су изнели своје виђење првог часа хемије. Резултати њиховог рада показују да је ученицима од посебне важности разговор о хемији (38-54%) и понашање наставника уз атмосферу у учионици (16-48%), док су огледима дали мањи приоритет (4-37%). С друге стране, за дидактичке игре, квизове и пројекције филмова о хемији определио се незнатан број њих (0-4%). Будући да осмаци имају различите приступе реализацији уводног часа хемије у седмом разреду, у циљу побољшања релевантног процеса наставе / учења, требало би их најпре утврдити на већем узорку, а потом разрадити и каналисати у школску праксу. Најбоља настава је она која је усмерена на активност и ефикасност ученика.

*Захвалница:* Аутори се најлепше захваљују Министарству просвете и науке Републике Србије (пројекат бр. 179048).

### **Eighth-grade students as teachers on a first chemistry class in primary school**

*A pilot study of new way of monitoring the outcome of a two-year process of learning chemistry is carried out in four primary schools in Serbia in the second half of May, 2008; 164 eighth-grade students are participated in it. They are polled in writing (written task) on the topic "I as a Chemistry Teacher" within which they should briefly present the content and organisation of their first chemistry class in seventh grade as a subject teacher. The results of this paper show different approaches of students to the school class; for majority of them, the talk about chemistry (38-54%) and the behaviour of teacher including the atmosphere in the classroom (16-48%) are of special importance, while a smaller number of students (4-37%) has given priority to performing of chemical experiments. On the other side, didactic games, quizzes and screenings of films about chemistry are poorly chosen (0-4%). In order to improve teaching / learning process of chemistry in primary school firstly it should be identified the students' thinking on a larger sample, then developed and channeled them into school practice.*

### Литература

1. Наставни план и програм за основну школу, Службени гласник Р Србије, Просветни гласник број 6, 10. јун 2009., стр. 53-58.
2. Ј. Королија, Докторска дисертација, Хемијски факултет Универзитета у Београду, 2006.
3. Ј. Korolija, Lj. Mandic, *Aust. J. Ed. Chem.* **68** (2007) 11
4. Ј. Korolija, G. Jovic, B. Steljic, Lj. Mandic, *J. Sci. Edu.* **62** (2005) 76
5. Z. Savic, G. Jovic, J. Korolija, Lj. Mandic, *Chemistry* **17** (2008) 378

## Открића хемичара у блиској будућности која би одушевила основце

Борис Пејин, Гордана Јовић\*, Љиљана Вуковић\*\*, Јасминка Королија

Хемијски факултет, Универзитет у Београду, Студентски трг 16, 11000 Београд, Србија  
([borispejin@yahoo.com](mailto:borispejin@yahoo.com))

\*Основна школа „Краљ Александар I”, Алексиначких рудара 22, 11070 Нови Београд, Србија

\*\*Основна школа „Веселин Маслеша”, Кумодрашка 72, 11000 Београд, Србија

### Увод

У овом раду приказани су резултати проистекли из обраде есеја на тему *Откриће хемичара у блиској будућности које би Те одушевило* спроведеног у седмом разреду основне школе након три месеца учења хемије. Избор есеја као одговарајуће форме изражавања ученика у складу је са ставом да они треба да решавају концептуалне задатке отвореног типа пошто дати задаци не подразумевају препознавање и понављање дефиниција или усвојени алгоритама, већ напротив истичу употребу неалгоритамске анализе<sup>1</sup>. Циљ рада био је подстицање основаца на размишљање о новом предмету природне науке уз развијање њихове маште и жеље за хемијским сазнањима. Сагледавање очекивања која ученици имају од одређене науке, пре сусрета с већим делом њених садржаја кроз наставни предмет, пружа заправо увид у њихове представе о датој науци, а тиме и о самом наставном предмету кроз који се она изучава; сакупљени подаци, у ствари, могу бити од значаја при избору и изменама његовог садржаја. То се посебно односи на групу предмета за које се показало да не постоји довољна заинтересованост и да су ученицима тешки за учење, у коју се убраја и хемија<sup>2</sup>.

### Резултати и дискусија

Дати есеј урадило је 173 основаца седмог разреда, 96 ученика основне школе: „Краљ Александар I” (А) и 77 ученика истог разреда основне школе: „Веселин Маслеша” (Б), у периоду од 11. до 27. децембра 2006. године, односно три месеца од првог сусрета с наставним предметом Хемија. У року од 30 минута, ученици из укупно седам одељења две основне школе у Београду, писмено су изнели своје жеље у вези са открићима хемичара у блиској будућности која би их одушевила и укратко су их образложили; на крају часа (10 минута) дискутовано је о задатој теми и њиховим размишљањима. Скоро сви основци (98%) су били вољни да одговоре на задатак: празну хартију предала су само 4 ученика. Премда је требало да се определе искључиво за једно откриће, већина основаца (67% А и 62% Б) навела их је неколико. Највећи број ученика се конкретно и прецизно изразио (70% А и 84% Б); при томе је свој одговор образложило 56% основаца из основне школе: „Краљ Александар I” и 88% основаца из основне школе: „Веселин Маслеша”.

На почетку школске године, при упознавању са њеним садржајем, хемија је дефинисана као природна наука која се бави својствима и променама супстанци. С обзиром на то, међу открићима за која су се ученици из обе школе првенствено определили, издвајају се она која се односе на нове супстанце (68% А и 86% Б); жеље основаца по том питању разврстане су у неколико група (табела 1).

Табела 1. Нове супстанце које би хемичари требало да открију

А. основна школа: „Краљ Александар I”	Б. основна школа: „Веселин Маслеша”
<b>нове сложене супстанце - 'класични' лекови (А - 36%; Б - 49%)</b>	
лекови за рак и сиду; лек за жутицу; лекови за људе који су парализовани и заостали у развоју; лек за зависност од никотина; лек за птичији грип; лек за зависност од дроге; лек за поремећај у расту; лекови за болести зуба; лекови за побољшање чула вида, слуха, мириса, укуса и додира.	лек за Алцхајмера; лекови за све бактеријске и вирусне болести људи; лек за мршављење, ради избегавања липосукције; лек за леукемију; ефикаснији лекови за каријес зуба; специјалне помаде уместо гипса; лекови за алергије; пилуле уместо исхране, искључиво у посебним случајевима; лек за слепило; лек за зависност од алкохола; квалитетнији противотрови; лекови за брзо залечивање оштећених ткива и рана; пилуле против бубуљица и митисера; лек за стрес; супстанца која обнавља нервне ћелије; смеша која убрзава метаболизам; лекови који би помогли особама са различитим инвалидитетима.
<b>нове сложене супстанце - 'некласични' лекови (А - 43%; Б - 36%)</b>	
супстанца за бесмртност; супстанца за вечито битисање у тинејџерском добу; напитака за левитацију; лек за љубав и чистач за тугу, самоћу и боли; серум за мирољубивост; лек за продужење животног века на 200 година; лек за све болести које постоје; лек који би људима омогућио да дишу у космосу.	лек који би манекенкама утврдио у главу да се беспотребно не изгладњују; напитака за вечну младост; лек за брзину и јачину; серум за бољи брачни живот и слогу међу људима различитих раса, националности и религија; таблете за срећан породичан живот; пилуле за памет, интелигенцију и несебичност; лек за зло, покварењаштво, безобразлук и неваспитање.
<b>нове сложене супстанце за решавање еколошких проблема (А - 3%; Б - 14%)</b>	
супстанце за пречишћавање вода; супстанце за смањење загађености ваздуха; супстанце за решавање проблема са озонским рупама.	супстанце за пречишћавање воде и ваздуха; супстанце за спречавање глобалног загревања; супстанце за претварање отпадних у пијаће воде; супстанца која би заменила природно дрво као сировину у индустрији.
<b>нова горива (А - 5%; Б - 14%)</b>	
специјално гориво (један литар до Сатурна)	бензин који не би загађивао ваздух
<b>нове сложене супстанце друге намене (А - 10%; Б - 32%)</b>	
супстанца за прављење слаткиша са разним укусима; бомбе и експлозивни; атомска бомба.	витамини; напитака за чаролију помоћу кога би наша држава постала популарна, а људи познати по добром а не по лошем; течност за брзо размишљање; необичне супстанце за славу и популарност; супстанце помоћу којих би људи могли да лете; мање штетне фарбе за косу; супстанца од које се постаје најјачи на свету; материјал који ни само Сунце не би могло да истопи; руде; напитака за подсећање на прошли живот; супстанца за прелазак у другу димензију; крема за изазивање лажног грипа (због 'оправданог' извлачења са контролних вежби и слично); напитака за промену боје тела; средство за невидљивост; лакови за нокте који сами мењају боје; средство које би омогућило људима да дишу под водом без маске за роњење; напитака за разумевање немуштог језика; средство за улепшавање које моментално делује; ради забаве, нове супстанце помоћу којих би наша кожа могла да светли у мраку.
<b>нове једноставне супстанце - 'класични' лекови (А - 4%; Б - 3%)</b>	
јединствен хемијски елемент који би могао да излечи и оне најстрашније болести	елементи за очување и побољшање здравственог стања; хемијски елементи који позитивно утичу на интелигенцију људи.
<b>нове једноставне супстанце друге намене (А - 16%; Б - 15%)</b>	
природни хемијски елементи, већи периодни систем елемената; атом аљосинијум (хемијски симбол <sup>115</sup> As), назван по имену анкетираног основца.	вештачки хемијски елементи; хемијски елемент – алтернатива кисеоника; лакши и сигурнији метали за грађевинске конструкције; хемијски елемент младеновицијум, назван по презимену анкетираног основца.

У оквиру нових супстанци фармаколошка открића имала су приоритет за 55% ученика из основне школе: „Краљ Александар I” и 66% ученика из основне школе: „Веселин Маслеша”, при чему је сам појам лека био широко схваћен од стране ученика ('класични' и 'некласични' лекови, **табела 1**). То показује да су основци били свесни чињенице да је хемија битан сегмент науке о лековима и да у њиховом креирању заједнички учествују хемичари и фармацеути. Интерес за новим лековима креће се од личних разлога (нпр. лек за моју грозну алергију - алергичан сам на јаја, рибу и брескву, а тако бих волео да их бар једанпут пробам) до потреба човечанству (нпр. лекови за рак, сиду и Алцхајмерову болест). Поред лекова, у истој категорији, ученици су навели супстанце за решавање еколошких проблема, горива и супстанце друге намене у свакодневном животу за које показују много мању заинтересованост у односу на фармаколошке агенсе (табела 1). Кључна очекивања основаца од биолошких открића која би се десила у скорије време су нови лекови и нове врсте организама укључујући микробе (проблематика биолошке разноврсности)<sup>3</sup>. Овакви резултати указују да би садржај програма хемије и биологије, између осталих, требао да обухвати у значајнијој мери теме које се односе на здравље, правилну исхрану и заштиту животне средине. У тим садржајима би се могле давати и прве информације о разним лековима и њиховој употреби. Када је реч о врсти супстанце, већина основаца у обе школе (59% А и 83% Б) истакла је сложене супстанце, док је мањи број њих (11% А и 17% Б) показао интересовање за једноставне супстанце, подразумевајући под тим хемијске елементе. Кроз највећи број есеја (43% А и 56% Б) провлаче се веома конкретне и углавном реалне жеље ученика спрам хемијских испитивања. С обзиром на њихов узраст, има основаца (19% А и 9% Б) код којих је превагнула машта при одабиру датих открића.

Ученици у обе школе (45% А и 26% Б) навели су и друга открића као предмете њиховог интересовања (табела 2). Она се, између осталог, односе на нове инструменте, машине и превозна средства (42% А и 22% Б), нове информације (30% А и 13% Б), космос (22% А и 4% Б) и нове предмете широке намене (7% А и 18% Б).

Нови инструменти, машине и превозна средства и нови предмети широке намене које су основци навели су одраз њихове маште. Могуће је да су њихову израду ученици повезали с хемијом због материјала од којих би могли да се направе (нови хемијски елементи) и горива која би их покретала. Међу овим маштовитим предлозима могу се наћи и размишљања која се односе на конкретне ситуације; она могу бити и резултат праћења нових решења у области технологије која се примењују у свакодневном животу (аутомобили који иду на водоник). Када је о лабораторијском прибору и посуђу реч, основци сматрају да на том пољу нема могућности за радикално нова открића (98%); ни нови технолошки процеси нису у сфери њиховог интересовања (97%). Генерално, ученицима привлачи пажњу макросвет (98%). Сазнања у оквиру микросвета и виђење или откривање невидљивог нагласило је само 4% основаца из основне школе: „Веселин Маслеша”. С обзиром на то да се у хемији супстанца изучава на три сазнајна нивоа (макросвет, субмикросвет и хемијска симболика), ови подаци о интересовањима ученика могли би послужити при састављању наставних програма; већа заступљеност оном приступу супстанци који је ближи одређеном узрасту ученика вероватно би позитивно утицала на мотивацију за учење хемије.

### **Закључак**

На основу резултата есеја може се закључити да су основци при крају првог полугодишта седмог разреда у стању да сагледају могућности хемијске науке и да су им најинтересантније теме здравље (нови лекови) и даљи развој технологије (нове машине и превозна средства). Наставницима хемије у основној школи добијени подаци могу бити од помоћи при обради и систематизацији првих хемијских појмова кроз избор и измену метода и начина рада у школској пракси. Треба имати у виду да међусобна повезаност хемије и биологије с једне и релевантних интересовања ученика с друге стране, у ствари, пружа могућност унапређења процеса наставе / учења оба предмета природних наука, нпр. биологија – екологија – заштита животне средине – органска хемија – фармација на редовној и додатној настави у другом полугодишту осмог разреда<sup>4</sup>. У том смислу било би веома корисно утврдити размишљања основаца о открићима хемичара и биолога у блиској будућности на великом и разноликом узорку у оквирима наше државе.

Табела 2. Друга открића која се очекују од хемичара

А. основна школа: „Краљ Александар I”	Б. основна школа: „Веселин Маслеша”
<b>нови инструменти, машине и превозна средства (А - 42%; Б - 22%)</b>	
времеплов; инструменти за откривање физичких појава; телепорт који би човека могао да подели на атоме како би га пренео на неко друго место; справа за откривање будућности; робот за пеглање и куповину намирница у супермаркету; машина за премештање особе из једног тела у друго; справа за смањење загађења наше планете; аутомобили на Сунчеву светлост; машина за испуњење жеља која би радила само за Божић и Нову годину; фабрика за пречишћавање ваздуха.	ласери за уклањање великих младежа; ракете за претраживање свемира; аутомобили који иду на водоник; машине за увећање молекула због праћења процеса формирања хемијских веза (ковалентна и јонска веза).
<b>нови технолошки процеси (А - 7%; Б - 2%)</b>	
како од бакра на најисплативији могући начин направити злато - знам да је то могуће али је сам експеримент много скуп; процедура за пречишћавање ваздуха.	добијање нове врсте енергије која би људима омогућавала да им увек буде топло
<b>микросвет (А - 0%; Б - 3%)</b>	
—	микроскоп за атоме и атомско језгро; мања од најмање познате честице у овом тренутку.
<b>космос (А - 22%; Б - 4%)</b>	
нови хемијски елемент са Месеца који би био толико посебан да би у периодном систему елемената сам имао своју групу и периоду - било би заиста лепо када би га назвали Анин елемент; супстанца која би 'натерала' Сунце да усиса све друге планете осим Земље; начин за оспособљавање људи за живот на другим планетама; шта је иза космоса; да ли и где има живота у свемиру; нова планета у Сунчевом систему.	да ли има живота у космосу (осим наше планете)
<b>нове информације (А - 30%; Б - 13%)</b>	
четворострука хемијска веза; знање о бацању моћи и коришћењу силе; тачан датум смрти; како мајмуни мисле; да ли ће се диносауруси вратити на Земљу; да ли су древни богови заиста постојали; да ли је човека створио Бог или смо еволуирали од мајмуна; како је саграђен Stonehenge; да ли постоји загробни живот; шта ће се десити након 1000 година; најповољније станиште за живот свих живих бића.	изузетно опасни експерименти, лични сан анкетираниог основца; клон диносауруса; магија и моћ; начин добијања енергије који је ефикаснији од нуклеарне производње; напредак у клонирању; укусна храна која не гоји.
<b>нови предмети широке намене (А - 7%; Б - 18%)</b>	
капа за брзо учење; лабораторијски прибор и посуђе; чаробни штапић.	штит против гасова које праве фабрике и аутомобили; светлосни мач; патике које би нам омогућиле да скачемо више него што лете авиони; савршена оловка тј. оловка са специфичном супстанцом која би јој омогућавала да самостално пише; гумица која сама исправља наше грешке у писању пошто има способност да уочи места где смо их направили; летећа метла.

Захвалница: Аутори се најлепше захваљују Министарству просвете и науке Републике Србије (пројекат бр. 179048).

### The discoveries of chemists in near future which would delight primary school students

*This paper shows the results of an activity which is conducted in two primary schools, King Aleksandar I and Veselin Maslesa, in Belgrade (Serbia) during the first semester of the 2006/2007. school year. The students from the seventh-grade class (173 students from seven selected sections) were writing an announced essay about the discovery of chemists which would delight them in their regular chemistry class for 30 minutes. The students should choose only one discovery but a great number of them (67% and 62%, respectively) gave more different examples with corresponding explanations. On the basis of this activity it can be concluded that the*



*students are primarily interested in discoveries regarding new drugs (55% and 66%, respectively), novel substances / compounds of other use (10% and 32%, respectively) and development of new instruments, machines and transports (42% and 22%, respectively) which should be taken in consideration by teachers of chemistry in primary schools due to possible reforms in their work.*

#### **Литература**

1. K.C. Smith, M.B. Nakhleh, S.L. Bretz, *Chem. Educ. Res. Pract.* **11** (2010) 147
2. Б. Пејин, Б. Станимировић, Т. Купусаревић, Д. Шишовић, Ставови основаца о важним питањима у области природних наука и математике, XLII саветовање Српског хемијског друштва, Нови Сад, 2004, изводи радова, стр 157.
3. Б. Пејин, Открића биолога у блиској будућности која би одушевила основце, XLVIII саветовање Српског хемијског друштва, Нови Сад, 2010, изводи радова, стр. 174.
4. Б. Пејин, Додатна настава: пројекат "Биодиверзитет = Лек", XLVII саветовање Српског хемијског друштва, Београд, 2009, изводи радова, стр. 135.

## Index Autora / Author Index

**A**

Aleksić, R R.....	103
Alessio, E.....	2
Ali Saied moftah, O.....	151
Andjelić, B.....	107
Andjelković, U Ž.....	146
Andrić, V.....	107
Antov, M G.....	155
Arnhold, J.....	11
Arsenijević, Z Lj.....	80, 89
Arsovski, V M.....	193
Asanović, K.....	180

**B**

Babić, B M.....	37, 72
Bajat, J B.....	76
Bajić, D.....	98
Balanović, Lj.....	111
Bezbradica, D I.....	151
Bibić, N.....	60
Bojić, A Lj.....	115
Bojić, D V.....	115
Bošković, Lj.....	201
Bošković-Vragolović, N M.....	89
Bratsos, I.....	2
Brčeski, I.....	163
Budimir, M V.....	25
Bugarčić, Ž D.....	11, 163

**C**

Cekić-Lasković, I.....	68
Cvijetić, I N.....	167

**Č**

Čučulović, A A.....	122
Čučulović, R D.....	122

**Ć**

Ćalasan, S.....	50
Ćirić, A.....	29, 46

**D**

Damnjanović, B.....	11, 21
Dimitrijević, S I.....	189
Diouf, P.....	64
Dojčinović, D.....	129
Dožić, S D.....	42, 50
Drakulić, B J.....	167

**Đ**

Đorđević, D.....	184
Đorđević, J S.....	55
Đurđević, P.....	29, 46
Đuriš, M M.....	80

**E**

El Buaishi, N M.....	193
Eraković, S.....	64

**G**

Gadžurić, S B.....	42, 50
Garić-Grulović, R V.....	80, 89
Gianferrara, T.....	2
Gojković, S Lj.....	72
Grbavčić, S.....	151
Grbavčić, Ž B.....	80, 89
Grozdanić, D.....	98
Grozdanić, N.....	94
Grujić, S.....	159

**H**

Honić-Avdović, M.....	184
-----------------------	-----

**I**

Ivaniš, G.....	94
----------------	----

**J**

Jakovljević, I Ž.....	29, 46
Jakovljević, M M.....	103
Janačković, Đ T.....	64, 193
Jančić-Heinemann, R M.....	76
Jelić, R.....	29, 46
Jelikić-Stankov, M.....	46
Joksović, Lj.....	29
Jovančić, P M.....	189
Jovanović, I.....	107
Jovanović, J.....	98
Jovanović, S.....	184
Jovanović, V M.....	25
Jovanović, Ž.....	60, 76
Jović, G.....	198, 205
Jovičić, M.....	107
Juranić, I O.....	16, 167

## K

Kačarević-Popović, Z.....	60
Kalagasidis Krušić, M.....	159
Kalijadis, A.....	37
Kaluđerović Radoičić, T.....	85
Kamčeva, T T.....	11, 21, 137, 163
Karan, V Ž.....	118
Kijevčanin, M.....	94, 98
Klašnja, M T.....	155
Knežević-Jugović, Z D.....	151
Knežević-Stevanović, A.....	98
Kocić, B D.....	115
Koleva, Y K.....	126
Korolija, J.....	198, 201, 205
Kostić, I S.....	115
Kostić, M.....	172, 176, 180
Kostić, S N.....	103
Kostić-Rajačić, S.....	141
Kovrlija, J S.....	193
Kramar, A D.....	180
Krklješ, A.....	60
Krstajić, N V.....	72
Kukić, D V.....	155
Kumrić, K R.....	55

## L

Lah, J.....	146
Laušević, M D.....	37, 159
Laušević, Z.....	37
Lazarević, I T.....	29, 46
Lazić, V M.....	189
Lučić, M.....	159
Luković, N D.....	151

## M

Malinconico, M.....	3
Manojlović, D D.....	16, 129
Marković, B.....	111
Marković, D A.....	122
Marković, D P.....	122
Marković, R.....	68
Matković, V.....	111
Mihajlović, I.....	111, 133
Milak, M E.....	118
Milanović, J Ž.....	172, 176, 180
Milosavljević, N.....	159
Milošev, I.....	76
Minić, D M.....	68
Mišković-Stanković, V B.....	60, 64, 76
Mitić, S.....	33
Mitovski, A.....	111
Mitrić, M.....	64
Mitrović, J Z.....	115
Mojašević, M M.....	118

## N

Nakarada, Đ.....	167
Nedeljković, J M.....	189
Nešić, J.....	129
Nikolić, D.....	107

## O

Obradović, B.....	60
Obradović, M D.....	72

## P

Pajić-Lijaković, I.....	176
Pavlović, A.....	33
Pavlović, R.....	33
Pejić, B M.....	37, 172, 176
Pejin, B.....	198, 201, 205
Penjišević, J.....	141
Pešić-Ilić, Lj.....	201
Petković, B B.....	25
Petković, M.....	11, 21, 137, 163
Petrović, R D.....	193
Planić, V.....	201
Prodanović, J M.....	155

## R

Radetić, M M.....	189
Radisavljević, M.....	11, 21, 137, 163
Radišić, M.....	37
Radojević, V J.....	103
Radonić, J.....	133
Radović, I M.....	98, 103
Radović, M D.....	115
Radulović, M.....	167
Raičević, S.....	85
Rajaković, Lj V.....	5
Ranđelović, P.....	184
Roglić, G.....	129, 141

## S

Sejmanović, D M.....	25
Sentić, M N.....	16, 129
Sokić, M.....	107, 111
Sovilj, S P.....	25
Stanić-Vučinić, D J.....	10
Stanković, D M.....	16
Stevanović, T.....	64
Stoiljković, M.....	21
Stojanović, D B.....	103
Stojkowska, J.....	60
Sunarić, S.....	33

## Š

Šaponjić, Z V.....	189
Šaptović, D.....	184
Šćiban, M B.....	155
Šerbanović, S.....	98
Škundrić, P.....	172, 176
Šoškić, V.....	141
Špirović, B D.....	118
Štrbac, N.....	107, 111
Šukalović, V.....	141

## T

Tamaš, N D.....	118
Tasheva Y Ts.....	126
Tošić, S.....	33
Trtić-Petrović, T M.....	55
Turk Sekulić, M.....	133

---

**U**

Uskoković, P S ..... 103

---

**V**

Veljović, Đ N..... 64, 193

Verbić, T Ž ..... 16

Višak, Z ..... 94

Vitorović-Todorović, M D ..... 167

Vodnik, V V ..... 189

Vojinović Miloradov, M..... 133

Volanschi, E ..... 68

Vraneš, M B ..... 42, 50

Vukavić, T..... 133

Vukčević, M M..... 37, 176

Vukićević, I A ..... 11, 21, 137, 163

Vuković, Lj ..... 198, 205

Vuksanović, J..... 94

---

**Z**

Zloh, M..... 16

---

**Ž**

Živković, D ..... 107, 111

Živković, E..... 94

Žuža, M G..... 151