

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET ZA FIZIČKU HEMIJU

Milica C. Stević

**VOLTAMETRIJSKO I
HROMATOGRAFSKO
PONAŠANJE I ODREĐIVANJE
6- I 8-SUPSTITUISANIH HINOLINA**

doktorska disertacija

Beograd, 2012

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHYSICAL CHEMISTRY

Milica C. Stević

**VOLTAMMETRIC AND
CHROMATOGRAPHIC
BEHAVIOUR AND DETERMINATION
OF 6- AND 8-SUBSTITUTED
QUINOLINES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2012

MENTOR:

dr Ljubiša M. Ignjatović, vanredni profesor
Fakultet za fizičku hemiju
Univerzitet u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Gordana Ćirić-Marjanović, vanredni profesor
Fakultet za fizičku hemiju
Univerzitet u Beogradu

dr Dragan Manojlović, vanredni profesor
Hemijski fakultet
Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane:

Ova Doktorska disertacija je rezultat saradnje Departmana za analitičku hemiju, Karlovog Univerziteta u Pragu, Fakulteta za fizičku hemiju, Univerziteta u Beogradu i Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Započeta je u UNESCO laboratoriji za elektrohemiju životne sredine, Karlovog Univerziteta u Pragu, koja je pod rukovodstvom profesora Jiří Barek i Jiří Zima, a nastavljena na Fakultetu za fizičku hemiju, pod rukovodstvom profesora Ljubiše Ignjatovića, u saradnji sa profesorkom Gordanom Ćirić-Marjanović, kao i na Hemijskom fakultetu, u Laboratoriji za instrumentalne metode, pod rukovodstvom profesora Dragana Manojlovića.

Ovom prilikom bih želela da iskažem najiskreniju zahvalnost svom mentoru, profesoru Ljubiši Ignjatoviću, na svemu što je učinio za mene: nesebičnom prenošenju znanja iz oblasti u kojima je ekspert, na pomoći, poverenju i strpljenju u toku celokupne saradnje.

Profesorki Gordani Ćirić-Marjanović se posebno, od srca, zahvaljujem na ukazanom poverenju, pomoći i volji da saraduje sa mnom. Takođe, zahvaljujem joj se i na sugestijama i savetima, na aktivnom angažovanju i doprinosu pri izradi ove disertacije u meri koja prevazilazi samo članstvo komisije.

Ogromnu zahvalnost iskazujem Budimiru Marjanoviću, koji je najzaslužniji za ovakvu koncepciju teze, na njegovoj nesebičnoj i svesrdnoj pomoći.

Zahvaljujem se profesoru Draganu Manojloviću što mi je omogućio da uradim elektrohemijska merenja u njegovoj laboratoriji, kao i na ukazanim savetima.

I take this opportunity to thank Dr Thomas Henry Ryan for all the time and help he has given me.

Milica Stević

Naslov doktorske disertacije:

Voltametrijsko i hromatografsko ponašanje i određivanje 6- i 8-supstituisanih hinolina

Rezime:

Kako se ispitivana jedinjenja, 6-aminohinolin (6AQ), 6-hidroksihinolin (6HQ) i 8-hidroksihinolin (8HQ), sve intenzivnije primenjuju u industriji, poljoprivredi i medicini, često se mogu naći kao zagađivači životne sredine. U skladu sa tim, postoji potreba za formiranjem novih analitičkih metoda koje bi omogućile njihovo što osetljivije, kvalitativno i kvantitativno određivanje. U okviru ovog rada, ispitano je voltametrijsko i hromatografsko ponašanje proučavanih supstanci u cilju kreiranja elektrohemijske, kao i hromatografske metode za njihovo određivanje u smeši ili pojedinačno.

Ispitan je uticaj pH osnovnog elektrolita na izgled UV-vis spektara 6AQ, 6HQ i 8HQ, zatim, na izgled cikličnih i diferencijalnopulsnih (DP) voltamograma, pri dovoljno velikom opsegu potencijala i pri različitim brzinama polarizacije i amplitudama pulsa. Takođe, ispitano je ponašanje datih hinolina pri kontinualnom cikliranju, bez čišćenja radne elektrode – paste staklastog ugljenika (GCPE). Dobijene su informacije o oksidabilnosti molekulskih vrsta, vrednostima konstanti pK_a , prirodi elektrohemijskog procesa u pogledu reverzibilnosti i kinetike, kao i podaci o osnovnom elektrolitu najoptimalnije pH vrednosti za određivanje datog hinolina.

Koristeći RM1 ili AM1 semi-empirijske, kvantnohemijske proračune, analizirani su reakcioni putevi inicijalnog jednoelektronskog, kao i inicijalnog dvoelektronskog transfera elektrona i pretpostavljeno ponašanje ispitivanih hinolina predlaganjem najverovatnijih mehanizama elektro-oksidacije. Ispitano je hromatografsko ponašanje svakog od proučavanih hinolina pri eksperimentalnim uslovima promenljivog udela organske faze u eluentu primenom reverznofazne HPLC tehnike (RP-HPLC).

Kombinacijom voltametrijskih i teorijskih proučavanja zaključeno je da je elektrohemijska oksidacija 6AQ, 6HQ i 8HQ dvoelektronski, ireverzibilan i difuzijom kontrolisan proces. Prilikom cikliranja rastvora datih jedinjenja na površini GCPE dolazi do formiranja neprovodnog filma polimera. Primenom DP voltametrije određene su granice detekcije datih jedinjenja, koje se mogu smanjiti primenom adsorptivne

striping voltametrije. Pronađeni su optimalni uslovi za hromatografsko određivanje smeše ispitivanih hinolina, odnosno, formirana RP-HPLC metoda.

Ključne reči: 6-aminohinolin, 6-hidroksihinolin, 8-hidroksihinolin, pasta od staklastog ugljenika, ciklična voltametrija, diferencijalno pulsna voltametrija, elektrohemijska oksidacija, kompjutacioni metod, računarska elektrohemija.

Naučna oblast: Fizička hemija

Uža naučna oblast: Fizička hemija životne sredine

UDK broj:

Title: Voltammetric and Chromatographic Behaviour and Determination of 6- and 8-substituted Quinolines

Abstract:

Due to the increased industrial, agricultural and medical use of 6-aminoquinoline (6AQ), 6-hydroxyquinoline (6HQ) and 8-hydroxyquinoline (8HQ) they are very often found as environmental pollutants. Therefore, it is necessary to develop new and sensitive analytical methods for their qualitative and quantitative determination. In this thesis the voltammetric and chromatographic behaviour of the above mentioned substances have been thoroughly investigated, using the latest developments in electrochemical and chromatographic techniques.

The influence of the pH of the supporting electrolyte on the UV-vis spectra, cyclic voltammograms and differential-pulse (DP) voltammograms, using a wide potential window, different scan rates and pulse amplitudes, has been investigated. Additionally, continual cyclic-voltammetric behaviour of the investigated substances under the condition of no wiping the of the Glassy Carbon Paste (GCPE) working electrode surface has been investigated. Data such as the molecular species oxidizability, pK_a values, the nature of the electrochemical process (regarding reversibility and kinetics), the optimal supporting electrolyte pH for the investigated substances determination have all been obtained.

Using RM1 and AM1 semi-empirical quantum-chemical calculations, the initial single-electron and two-electron transfer reaction pathways have been computationally analyzed. The investigated quinolines' behaviours have been deduced from the most likely electro-oxidation mechanism proposed. The influence of the variable eluent content of methanol on each studied quinoline chromatographic behaviour has been investigated by applying Reverse Phase HPLC (RP-HPLC).

Combining the voltammetric and the computational methods it was concluded that the oxidation of 6AQ, 6HQ and 8HQ is a two-electron, irreversible, diffusion controlled process. Repeated potential cycling of the investigated substances solutions results in the formation of non-conductive polymeric species on the surface of the working electrode. Using DP voltammetry the limits of detection of 6AQ, 6HQ and 8HQ have been determined. The sensitivity of the determination can be increased using Adsorptive Stripping DPV. The optimum conditions for the separation and

determination of a mixture of the investigated quinoline mixture have been found, i.e., the details of the RP-HPLC method are given.

Keywords: 6-aminoquinoline, 6-hydroxyquinoline, 8-hydroxyquinoline, Glassy Carbon Paste Electrode, Cyclic Voltammetry, Differential Pulse Voltammetry, Electrochemical Oxidation, Computational Methods, Computational Electrochemistry.

Scientific Field: Physical Chemistry

Field of Academic Expertise: Environmental Physical Chemistry

UDC Number:

SADRŽAJ

	1
1. UVODNI DEO	1
1.1. UVOD	1
1.2. CILJ RADA	2
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. ISPITIVANE SUPSTANCE I RADNA ELEKTRODA	4
2.2. ELEKTRODE OD UGLJENIČNE PASTE	6
2.3. POLAROGRAFSKO I VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE I ODREĐIVANJE IZABRANIH DERIVATA HINOLINA	8
3. EKSPERIMENTALNI DEO	11
3.1. METODE	11
3.1.1. Ciklična voltometrija	11
3.1.1.1. <i>Opšti deo</i>	11
3.1.1.2. <i>Reverzibilni sistem</i>	14
3.1.1.3. <i>Ireverzibilni sistem</i>	15
3.1.2. Diferencijalno pulsna voltometrija	17
3.1.3. Adsorptivna striping voltometrija	19
3.1.4. Reverznofazna hromatografija	19
3.2. REAGENSI I HEMIKALIJE	21
3.3. INSTRUMENTI	22
3.4. PROCEDURE	22
3.4.1. Računske metode	22
3.4.2. Priprema rastvora i radne elektrode	23
3.4.2.1. <i>Elektrohemijska analiza</i>	23
3.4.2.2. <i>Spektrofotometrijska analiza</i>	24
3.4.2.3. <i>HPLC analiza</i>	24
3.4.3. Snimanje ciklovoltamograma i DP voltamograma	26
3.4.4. Snimanje AdSDP voltamograma	27

3.4.5. Snimanje kalibracionih dijagrama	28
3.4.6. Snimanje hromatograma	28
4. REZULTATI	29
4.1. SPEKTROFOTOMETRIJSKA STUDIJA ISPITIVANIH HINOLINA	29
4.1.1. UV-vis spektar 6AQ	29
4.1.2. UV-vis spektar 6HQ	30
4.1.3. UV-vis spektar 8HQ	31
4.2. KVANTNOHEMIJSKA STUDIJA ISPITIVANIH HINOLINA	32
4.2.1. Teorijski aspekti 6AQ	32
4.2.2. Teorijski aspekti 6HQ	39
4.2.3. Teorijski aspekti 8HQ	47
4.3. VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE I ODREĐIVANJE ISPITIVANIH HINOLINA	52
4.3.1. Ciklična voltometrija	52
4.3.1.1. <i>Uticaj pH na CV ponašanje 6AQ</i>	52
4.3.1.2. <i>Uticaj pH na CV ponašanje 6HQ</i>	57
4.3.1.3. <i>Uticaj pH na CV ponašanje 8HQ</i>	61
4.3.1.4. <i>Kontinualno CV ponašanje 6AQ, 6HQ i 8HQ</i>	65
4.3.2. Diferencijalno pulsna voltometrija	68
4.3.2.1. <i>Uticaj pH na DPV ponašanje 6AQ</i>	68
4.3.2.2. <i>Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 6AQ</i>	69
4.3.2.3. <i>Određivanje 6AQ koristeći DPV</i>	70
4.3.2.4. <i>Uticaj pH na DPV ponašanje 6HQ</i>	71
4.3.2.5. <i>Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 6HQ</i>	72
4.3.2.6. <i>Određivanje 6HQ koristeći DPV</i>	73
4.3.2.7. <i>Uticaj pH na DPV ponašanje 8HQ</i>	74
4.3.2.8. <i>Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 8HQ</i>	75
4.3.2.9. <i>Određivanje 8HQ koristeći DPV</i>	76
4.4. HROMATOGRAFIJA ISPITIVANIH HINOLINA	77
4.4.1. RP-HPLC ponašanje 6AQ, 6HQ i 8HQ	77
4.4.2. RP-HPLC određivanje smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ	87

5. DISKUSIJA	93
5.1. UV-Vis SPEKTROFOTOMETRIJSKO PONAŠANJE ISPITIVANIH HINOLINA	93
5.1.1. 6AQ	93
5.1.2. 6HQ	94
5.1.3. 8HQ	95
5.2. VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE ISPITIVANIH HINOLINA	95
5.2.1. Ciklovoltametrijsko-teorijski aspekt proučavanja mehanizma oksidacije	95
5.2.1.1. 6AQ	95
5.2.1.2. 6HQ	97
5.2.1.3. 8HQ	99
5.2.2. Osnovni parametri elektro-oksidacionog ponašanja	101
5.3. VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE ISPITIVANIH HINOLINA	104
5.3.1. DPV određivanje	104
5.3.2. AdSDPV određivanje	105
5.4. HPLC ANALIZA ISPITIVANIH HINOLINA	106
5.4.1. RP-HPLC ponašanje	106
5.4.2. RP-HPLC određivanje	107
6. ZAKLJUČAK	109
7. LITERATURA	112

1. UVODNI DEO

1.1. UVOD

Hinolini pripadaju grupi heterocikličnih jedinjenja koji predstavljaju prekursore za proizvodnju lekova, pesticida, boja, jedinjenja metalnih kompleksa, rastvarača.¹ Neki derivati hinolina pripadaju jednoj klasi alkaloida², a poznato je i da se sve intenzivnije primenjuju u industriji³, poljoprivredi⁴ i medicini⁵. Neki od hinolina se koriste kao antimalarici (hlorokin, hinin, meflokin)⁶⁻⁸, fungicidi (oksim)⁹, boje za lekove i hranu (E 104 hinolin žuta)¹⁰, herbicidi („Assert“)¹¹. Usled toga, različite forme jednostavnijih hinolina kao što su npr. hidroksidi, amini, halogenidi hinolina, se mogu naći kao produkti razradnje nekog složenog hinolina u organizmu¹², ili kao zagađivači životne sredine¹³⁻¹⁵. U skladu sa tim, postoji potreba za poznavanjem osobina i ponašanja kako složenih derivata hinolina, tako i njihovih jednostavnih formi pri različitim uslovima (uticaj pH sredine, prisustvo drugih molekula sa kojim interaguju, mehanizam oksidacije ili redukcije, itd.), kao i potreba za formiranjem osetljivih, efikasnih i selektivnih analitičkih metoda koje će obezbediti njihovo kvalitativno i kvantitativno određivanje.

Ovaj rad predstavlja analizu tri derivata hinolina: 6-aminohinolina, 6-hidroksihinolina i 8-hidroksihinolina. Proučavanje njihovog ponašanja je izvršeno kombinacijom primene eksperimentalnih tehnika (spektrofotometrija, voltometrija, hromatografija) i teorijskih proračuna. Ispitana je mogućnost kvantitativnog i kvalitativnog određivanja korišćenjem izabranih voltometrijskih tehnika, kao i HPLC sa UV-vis detekcijom, pri reverznofaznom, izokratskom režimu rada. Zahvaljujući rezultatima teorijskih proračuna, omogućeno je ispitivanje i predlaganje veoma složenog mehanizma elektro-oksidacije proučavanih hinolina. Za potrebe ispitivanja voltometrijskog ponašanja i određivanje, kao radna elektroda korišćena je čista, ručno izrađivana pasta od staklastog ugljenika, koja je za proučavane sisteme, koji su zahtevali korišćenje značajnog udela organske faze, kao i jednostavno obnavljanje površine, predstavljala pravi izbor.

Ova studija otvara nove perspektive u razumevanju komplikovanih mehanizama elektrohemijske oksidacije heterocikličnih fenola i arilamina. Od značaja je za savremenu kvalitativnu i kvantitativnu analizu, i doprinosi razvijanju novih, osetljivijih metoda.

1.2. CILJ RADA

Cilj ovog rada je ispitivanje voltametrijskog i hromatografskog ponašanja, proučavanje mehanizma elektrohemijske oksidacije, kao i formiranje metoda za što osetljivije, selektivnije i efikasnije kvalitativno i kvantitativno, elektrohemijsko i hromatografsko određivanje 6-aminohinolina (6AQ), 6-hidroksihinolina (6HQ) i 8-hidroksihinolina (8HQ),

Najpre će biti ispitane spektrofotometrijske osobine, odnosno uticaj pH vrednosti osnovnog elektrolita na izgled UV-vis spektara proučavanih hinolina. Koristeći RM1 ili AM1 semi-empirijske, kvantnohemijske proračune, analizirani su reakcioni putevi inicijalnog jednoelektronskog, kao i inicijalnog dvoelektronskog transfera elektrona. Na osnovu izračunatih energija jonizacije, toplota formiranja i spinske gustine pojedinih molekulskih vrsta, trebalo bi pretpostaviti ponašanje ispitivanih hinolina predlaganjem najverovatnijih mehanizama elektro-oksidacije.

Voltametrijskom analizom bi trebalo dobiti podatke o uticaju pH osnovnog elektrolita na izgled cikličnih i diferencijalnopulsnih voltamograma, pri dovoljno velikom opsegu potencijala i pri različitim brzinama polarizacije, odnosno amplitudama pulsa. Takođe, potrebno je proučiti ponašanje ispitivanih supstanci pri kontinualnom cikliranju, bez čišćenja elektrode. Iz ovih eksperimentalnih podataka bi trebalo dobiti informacije o oksidabilnosti molekulskih vrsta, vrednostima konstanti pK_a , prirodi elektrohemijskog procesa u pogledu reverzibilnosti, kinetike, adsorpcije, kao i podatke o osnovnom elektrolitu najoptimalnije pH vrednosti za kvalitativno određivanje datog hinolina. Po završetku voltametrijske analize potrebno je proveriti usklađenost ovako dobijenih, eksperimentalnih podataka za dati hinolin sa teorijski predviđenim podacima o njegovom ponašanju i mehanizmu elektrohemijske oksidacije.

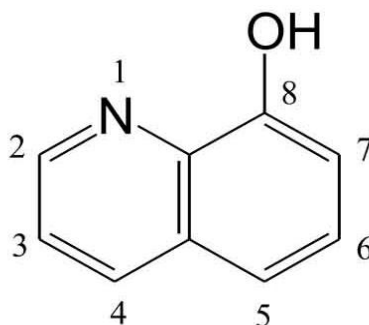
Za kvalitativno i kvantitativno elektrohemijsko određivanje i određivanje granice detekcije koristiće se diferencijalno pulsna voltometrija (DPV). Za svaki ispitivani hinolin potrebno je proveriti da li na određenim potencijalima pokazuje tendenciju za adsorpciju na površini elektrode, pri kom potencijalu je maksimalna adsorpcija, kao i ispitati uticaj vremena akumulacije na intenzitet DPV signala. Svrha ovog eksperimenta je utvrđivanje mogućnosti povećanja osetljivosti određivanja, adsorpcijom ispitivanog analita na površinu radne elektrode.

U cilju dobijanja što osetljivije HPLC metode za selektivno kvalitativno i kvantitativno određivanje smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ potrebno je ispitati ponašanje svakog od proučavanih hinolina pri eksperimentalnim uslovima promenljivog sastava eluenta, odnosno, udela organske faze u eluentu.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. ISPITIVANE SUPSTANCE I RADNA ELEKTRODA

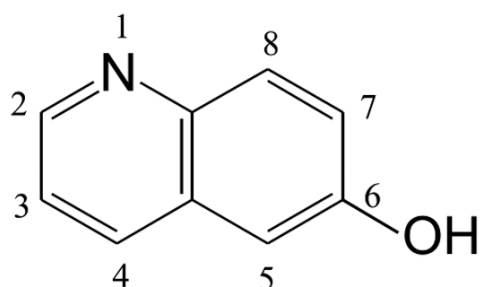
8HQ, slika 2.1, je posle EDTA najčešće korišćeno kompleksirajuće sredstvo u analitičkoj hemiji.¹⁶⁻¹⁸ Samo jedinjenje 8HQ, ili u formi Cu kompleksa, $\text{Cu}(\text{8HQ})_2$, ima izuzetne fungicidne sposobnosti¹⁹⁻²¹, što mu omogućava primenu u poljoprivredi, kao pesticid²², ili kozmetičkoj industriji, kao konzervans, baktericid ili dezinficijens^{23,24}. Moderna tehnologija izrade monitora tipa organskih *light-emitting* dioda (OLED) uključuje primenu jedinjenja Al i 8HQ, Tris-8-hidroksihinolato-aluminijum²⁵. Nova farmakološka ispitivanja ukazuju na to da bi 8HQ mogao da nađe svoju primenu i kao lek za skraćivanje tretmana aktivne i latentne tuberkuloze²⁶.



Slika 2.1. Strukturna formula 8-hidroksihinolina.

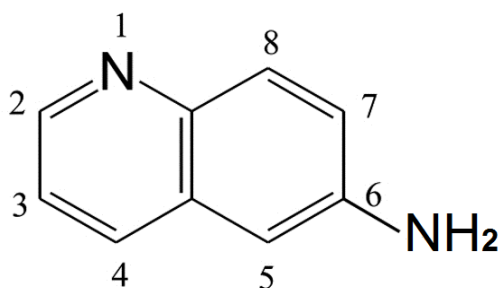
6HQ, slika 2.2, je u poslednje dve decenije veoma proučavano jedinjenje, kako sa fundamentalnog, tako i sa praktičnog aspekta. Posebnu pažnju privlači istraživanje u oblasti foto-indukovanog proton ili elektron transfera 6HQ²⁷⁻³⁰, fluorescentncije 6HQ³¹⁻³³, kao i nekih drugih njegovih foto-fizičkih osobina³⁴⁻³⁶. 6HQ predstavlja hromoforni deo molekula mnogih alkaloida koji pokazuju npr. fungicidnu (Disomadin A)³⁷, anti-aritmičnu (kupreidin) aktivnost³⁸. Nedavno je pronađeno da derivati 6HQ

pokazuju izuzetnu intracelularnu inhibitornu aktivnost i selektivnost prema virusu Hepatitis B.³⁹



Slika 2.2. Strukturna formula 6-hidroksihinolina.

Aminohinolini (AQ) imaju široku primenu u industriji kao farmaceutici, boje i pesticidi.⁴⁰ Na slici 2.3 prikazana je strukturalna formula 6-aminohinolina. Pošto se javljaju i kao proizvod nepotpunog sagorevanja određenih organskih jedinjenja u motorima automobila⁴¹, predstavljaju polutante životne sredine. Međunarodna agencija za istraživanje kancera je neke AQ klasifikovala u grupu verovatnih ljudskih karcinogena (grupa 2A).⁴²



Slika 2.3. Strukturna formula 6-aminohinolina.

U okviru ove studije voltametrijsko ponašanje i određivanje izabranih jedinjenja će po prvi put biti ispitano na pasti staklaskog ugljenika (Glassy Carbon Paste Electrode, GCPE)⁴³, kao radnoj elektrodi. Ova elektroda zadržava karakteristike čvrstog staklaskog ugljenika: (1) primena u širokom opsegu potencijala za anodna ispitivanja, (2) mali otpor i velika osetljivost određivanja (daje jasno definisane, uske pikove, velikog intenziteta), (3) hemijska inertnost, (4) nepermeabilnost gasova i tečnosti, (5)

kompatibilnost sa organskim rastvaračima⁴⁴. Uzevši u obzir da se pasta staklastog ugljenika ručno izrađuje, korišćenjem praha staklastog ugljenika sfernih čestica i vezivnog ulja⁴⁵, postoji mogućnost njene impregnacije različitim alternativnim jedinjenjima, što omogućava kreiranje potpuno nove elektrode, u skladu sa eksperimentalnim zahtevima, i na taj način proširuje mogućnost istraživanja.

2.2. ELEKTRODE OD UGLJENIČNE PASTE

Prvi rad o elektrodi koja je nazvana pasta ugljenika je objavljen od strane **Adamsa (1958)**.⁴⁶ Iako su njegova istraživanja bila usmerena ka formiranju kapljuće ugljenične elektrode, koja je trebalo da predstavlja analog kapljućoj živinoj elektrodi u anodnoj oblasti, ovom prilikom otkrivena je nova elektroda koja je imala konzistenciju paste. Prva Adamsova elektroda od ugljenične paste (CPE) nastala je mešanjem 1 g grafitnog praha i 7 mL bromoforma. Ovaj događaj predstavlja istorijski trenutak jer označava početak elektrohemijskog ispitivanja anodno aktivnih jedinjenja. U periodu od 1959. god. do početka devedesetih, trend u razvoju CPE je bio sledeći⁴⁷:

1959–1963: Postuliranje prvih i osnovnih elektrohemijskih karakteristika CPE.

1964–1990: Pojava modifikovanih CPE i elektroda sa elektrolitom kao vezivnom tečnošću.

Početak devedesetih, istraživačka grupa profesora Švancare prvi put uvodi elektrodu od paste staklastog ugljenika (GCPE)^{48–51}, čija je glavna prednost, u odnosu na do tada korišćene CPE, mogućnost korišćenja u prisustvu velike koncentracije organskog rastvarača (do 90 vol. % metanola).

Švancara i sar. (1995)⁵² su prvi put proučavali površine različitih ugljeničnih pasta koristeći skenirajući elektronski mikroskop u cilju ispitivanja uticaja vezivnog ulja i ugljeničnog praha na formiranje određene mikrostrukture elektrodne paste. Ovo istraživanje je pokazalo da su različite fizičko-hemijske karakteristike korišćenih ulja (Trikrezil fosfata, TKF i Nužola, N), kao i specifične osobine koršćenih prahova staklastog ugljenika (Sigradur K, S-K i Sigradur G, S-G) i grafitnog praha (multikristalni grafitni prah, RW-B), uzrok značajnih promena u mikrostrukтури ispitivanih elektrodnih pasta dobijenih mešanjem pomenutih ulja i prahova (RW-

B/TKF, RW-B/N, S-K/N, S-G/N). Na osnovu rezultata autora i rezultata koje su citirali, pri čemu su se ispitivani elektrodni materijali koristili kao elektrode u realnim elektrohemijским merenjima, zaključeno je da je mikrostruktura površine paste odgovorna za postojanje odgovarajućih elektrodnih kvaliteta: elektrohemijско (voltometrijsko) ponašanje, reproduktivnost, podobnost za depoziciju živinog filma.

U ovoj studiji su prvi put istaknute prednosti elektrode izrađene od paste staklastog ugljenika (S-K/N, S-G/N ili GCP) u odnosu na elektrodu izrađenu od ugljenične paste (RW-B/TKF, RW-B/N ili CP). Neke od prednosti koje su autori istakli su: (1) pogodnost u pogledu depozicije živinim filmom, jer GCP pokazuju veću provodljivost, osetljivost i hemijsku stabilnost od CPE, (2) širi opseg potencijala u kome se GCP može koristiti, (3) niska pozadinska struja kod GCP. Ove prednosti su posledica fizičkih osobina pojedinačnih sfernih čestica staklastog ugljenika: pravilan i gladak oblik, mala sposobnost adsorpcije, neznatna poroznost i nepropustljivost za gasove i tečnosti.

Wang i sar. (2001)⁴⁴ su se nadovezali na ispitivanja grupe profesora Švancare i opisali elektrohemijско ponašanje i elektroanalitičke performanse GCPE. U tu svrhu, oni su koristili četiri vrste elektroda, čvrst staklast ugljenik (GCE) i tri elektrode dobijene mešanjem sledećih komponenti: (1) prah staklastog ugljenika (veličine čestica 20–50 μm)/mineralno ulje (GCPE₁); (2) prah staklastog ugljenika (veličine čestica 0,4–12 μm)/mineralno ulje (GCPE₂); (3) grafitni prah/mineralno ulje (CPE). Zaključili su da se elektrohemijška reaktivnost ispitivanih elektroda menja na sledeći način: GCE > GCPE > CPE.

GCE > GCPE usled toga što neprovodno mineralno ulje u GCPE nepovoljno utiče na brzinu prenosa elektrona,

GCP > CPE usled toga što gusto pakovane, neporozne sfere staklastog ugljenika pokazuju bolju elektron-transfer kinetiku od mikroporozne neuniformne strukture grafitnog praha.

Elektrohemijšku reaktivnost, takođe, određuje i maseni odnos praha staklastog ugljenika i ulja u GCPE. Uočeno je da se maksimalna struja pika dobija pri 70% masenom udelu praha staklastog ugljenika.

Opseg potencijala, oko 2 V, u kom se GCPE može koristiti, uski pikovi velikog intenziteta i njihova široka analitička primena, kao biosenzori ili senzori metala u

tragovima, su neke od karakteristika korišćene elektrode u ovom radu. Njena značajna osobine je kompatibilnost sa osnovnim elektrolitima koji sadrže značajan udeo organske faze. Zatim, mogućnost jednostavnog čišćenja, odnosno, obnavljanja njene površine je od naročitog značaja kod proučavanja jedinjenja koje se elektrohemijski polimerizuju na površini elektrode.

2.3. POLAROGRAFSKO I VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE I ODREĐIVANJE IZABRANIH DERIVATA HINOLINA

Stock (1944)⁵³ je prvi put ispitao polarografsko ponašanje 8HQ koristeći kapljuću živinu elektrodu kao radnu elektrodu. U okviru ispitivanog pH opsega (2–12) 8HQ daje jedan polarografski talas. U pH opsegu 2,7–5,2 dešava se $2e^-$ redukcija, pri čemu nastaju di-hidro 8HQ derivati koji, zatim, podležu polimerizaciji. U pH opsegu 6,3–6,7 dešava se $4e^-$ redukcija pri čemu nastaju tetra-hidro derivati 8HQ. Najpre dolazi do formiranja di-hidro 8HQ vrsta ($2e^-$ redukcija), koji podležu daljoj $2e^-$ redukciji. Novoformirane vrste se vezuju i formiraju polimere.

Yang i sar.⁵⁴ su ispitivali elektrohemijsku oksidaciju 8HQ u širokom opsegu pH vrednosti koristeći CPE, GCE i Pt, kao radne elektrode, Ag/AgCl referentnu elektrodu i Pt žicu, kao pomoćnu elektrodu, dok je CV bila metoda korišćena za ispitivanje. Osnovni rastvor 8HQ je dobijen rastvaranjem 8HQ u etanolu. Na ciklovoltamogramima dobijenim snimanjem 0,1 mM rastvora 8HQ u 0,1 M acetatnom puferu pH = 6, brzina skeniranja 50 mV/s, na CPE, GCE i Pt može se uočiti jedan oksidacioni pik na potencijalima 0,63 V, 0,66 V i 0,59 V, respektivno.

Promena struje pika i potencijala pika sa brzinom skeniranja je ispitana na GCE i CPE. CV je pokazano da je oksidacioni pik 8HQ ireverzibilan pri osegu brzine skeniranja 20–500 mV/s. Zavisnost $\log I_p = f(\log v)$ je linearna sa nagibima 0,60 za GCE i 0,55 za CPE, iz čega je zaključeno da je proces elektro-oksidacije kontrolisan uglavnom difuzijom, pri čemu je adsorpcija više izražena na GCE nego na CPE. Adsorpcija je potvrđena i tako što je rađena 1 min akumulacija na površini elektroda, u rastvoru 8HQ koncentracije 2×10^{-5} M. Pokazano je da je povećanje intenziteta oksidacionog pika 90% posle akumulacije na GCE i 70% posle akumulacije na CPE.

Uticaj pH na intenzitet i položaj oksidacionog pika je proučavan koristeći GCE u 0,1 M CH₃COOH čiji pH je podešavan dodatkom HCl ili NaOH. Zavisnost $E_p = f(\text{pH})$ pokazuje tri linearna dela koja se mogu izraziti sledećim jednačinama:

$$\text{pH} < 5,0 \quad E_p = 1,16 - 0,090 \times \text{pH}$$

$$5,0 < \text{pH} < 9,8 \quad E_p = 1,00 - 0,065 \times \text{pH}$$

$$\text{pH} > 9,8 \quad E_p = 0,58 - 0,015 \times \text{pH}$$

Zapaženo je da dva preseka pH = 5,0 i pH = 9,8 odgovaraju pK_{a1} i pK_{a2} vrednostima za 8HQ. Pronađeno je da je broj razmenjenih elektrona 2. U opsegu potencijala od -0,4 V do +0,8 V na cikličnom voltamogramu 8HQ postoji jedan oksidacioni pik. Snimanjem drugog ciklusa (bez prethodnog čišćenja elektrode), pored pika koji je postojao u prvom ciklovoltamogramu i čiji intenzitet je smanjen, uočen je još jedan pik, na negativnijem potencijalu od prethodnog. Povećanjem opsega do +1,4 V, u drugom ciklusu, uočena je pojava tri pika, odnosno, novog pika u anodnoj oblasti, koji se nalazio na nižem potencijalu od dva prethodno pomenuta. Snimanjem CV 1,4-naftohinolina uočeno je da se položaj njegovog oksidacionog pika poklapa sa potencijalom ovog trećeg pika.

Zima i sar. (2005)⁴⁰ su objavili studiju vezanu za voltametrijsko određivanje 3-, 5- i 6-aminohinolina (AQ) na CPE. Oni su pronašli optimalne uslove za određivanje ispitivanih supstanci primenom DPV i AdSDPV, kao i limit njihovog određivanja, koji je reda veličine 1×10^{-7} M. Takođe su pokazali da je moguće izvršiti razdvajanje nekoliko parova izomera aminohinolina (8- i 3-AQ; 8- i 6-AQ) u smeši, primenom DPV.

Stoica i sar. (2005)⁵⁵ su objavili DPV i AdSDPV određivanje 8AQ koristeći CPE. Optimalni uslovi (pH osnovnog elektrolita, vreme akumulacije) određivanja 8AQ su pronađeni. U 0,1 M H₃PO₄ je moguće odrediti 8AQ $c = 2 \times 10^{-6}$ M primenom DPV, dok se primenom AdSDPV u 0,1 M NaOH limit određivanja (LOQ) smanjuje 10 puta. U radu su pronađeni uslovi za DPV određivanje 8AQ i 5AQ u smeši.

Nemcova i sar. (2009)⁵⁶ su primenili voltametriju sa jednosmernom strujom, AdSDPV i HPLC sa elektrohemijom i UV/Vis detekcijom za određivanje 5-amino-6-nitrohinolina (5A6NQ) na CPE. Tom prilikom je iskorišćen potencijal supstance da se oksiduje ili redukuje. CV je iskorišćena za elektrohemijску karakterizaciju ispitivanog

jedinjenja. Pronađeno je da je limit detekcije (LOD) za 5A6NQ 2×10^{-6} M za anodnu DPV, dok je za HPLC sa UV-vis detekcijom u osnovnom elektrolitu BR/MeOH, $1,1 \times 10^{-7}$ M. Praktična primena formirane metode je izvršena na realnim uzorcima iz reke.

Yuanyuan i sar. (2011)⁵⁷ su za određivanje 8HQ koristili elektrodu višeslojne ugljenične nanotube/Nafion/staklasti ugljenik. U ciklovoltamogramima 8HQ, na korišćenoj elektrodi, katodni pik se ne pojavljuje, što je ukazalo na ireverzibilnost procesa. Oni su pronašli da je LOD za DPV određivanja 8HQ 9×10^{-9} M, da je jedan elektron razmenjen u toku elektro-oksidacije, pri čemu nastaje radikal, 8HQ[•]. Efekat adsorpcije nije imao uticaj na povećanje osetljivosti određivanja.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. METODE

3.1.1. Ciklična voltametrija

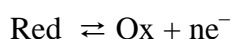
3.1.1.1. Opšti deo

Ciklična voltametrija predstavlja jednu od najčešće korišćenih tehnika za kvalitativno ispitivanje elektrohemijskih reakcija.⁵⁸⁻⁶¹ Na osnovu ciklovoltametrijskih ispitivanja može se dobiti mnoštvo informacija o ispitivanom redoks sistemu od kojih su neke: na kom potencijalu elektrohemijska reakcija počinje, stepen reverzibilnosti reakcije, prisustvo konsektivnih elektrohemijskih stupnjeva u mehanizmu reakcije, prisustvo hemijskih stupnjeva, kao i na njihov redosled, da li su učesnici u reakciji rastvorni u elektrolitu ili su adsorbovani na elektrodi, i ako su adsorbovani, koji tip adsorpcije je prisutan.⁶² Ciklična voltametrija je često tehnika koja se primenjuje prva u okviru neke elektroanalitičke studije.⁶³

Ovu tehniku karakteriše promena potencijala elektrode konstantnom brzinom, v (brzina polarizacije), od početnog potencijala E_1 do potencijala E_2 a zatim ponovo do početne vrednosti E_1 , slika 3.1.a⁶⁵. Istovremeno se beleži zavisnost struje od vremena tokom promene potencijala elektrode, slika 3.1.b.⁶⁵

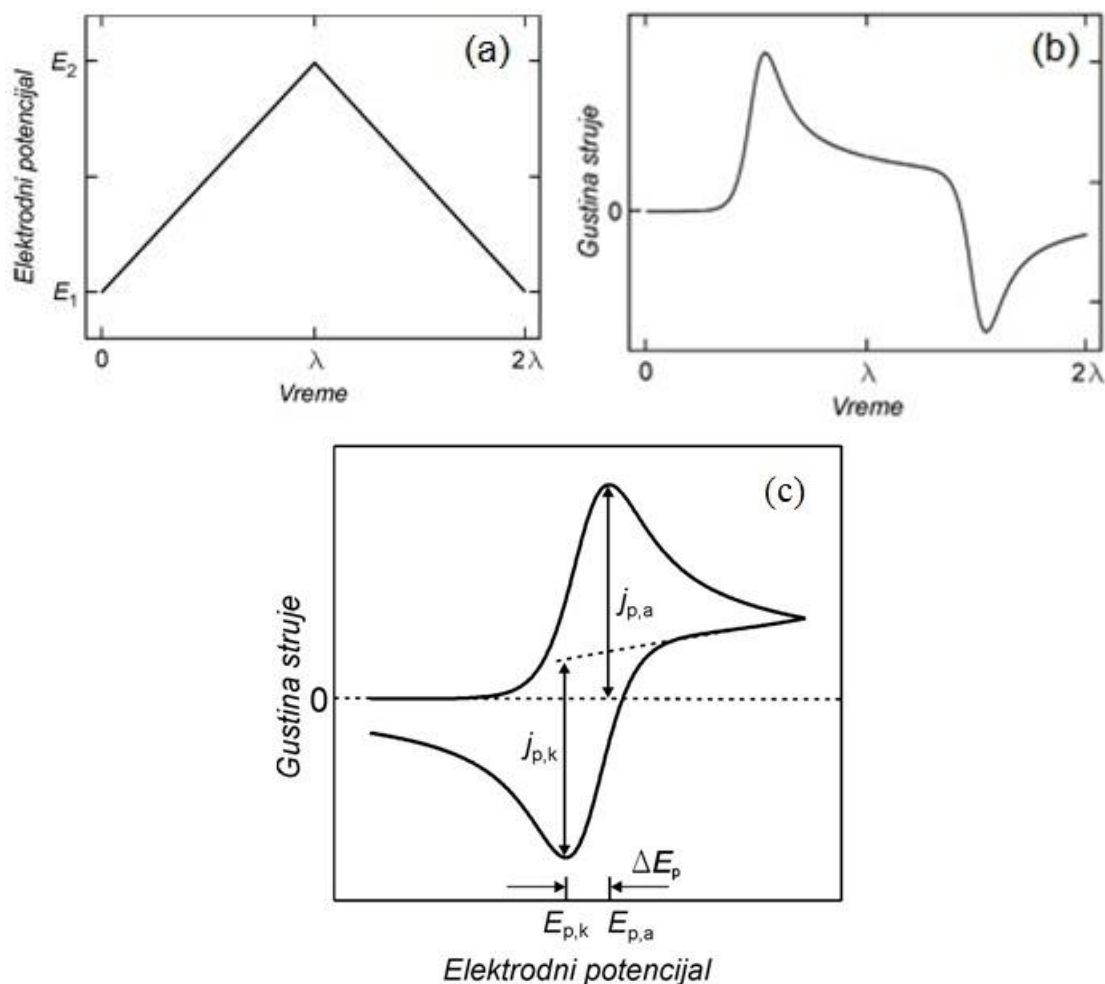
Pošto je vremenska osa istovremeno i osa potencijala, uobičajeno je da se rezultati prikazuju kao zavisnost struje od potencijala, kao što je prikazano na slici 3.1.c. Ovakav način prikazivanja omogućava da se odmah uoči potencijal elektrode na kome se odigrava elektrohemijska reakcija kao i da se jednostavno uporede struje pri promeni potencijala od E_1 do E_2 i od E_2 do E_1 . Zavisnost struje od potencijala elektrode koja je prikazana na slici 3.1.c naziva se ciklični voltamogram.⁶⁶

Za neku elektrohemijsku reakciju:

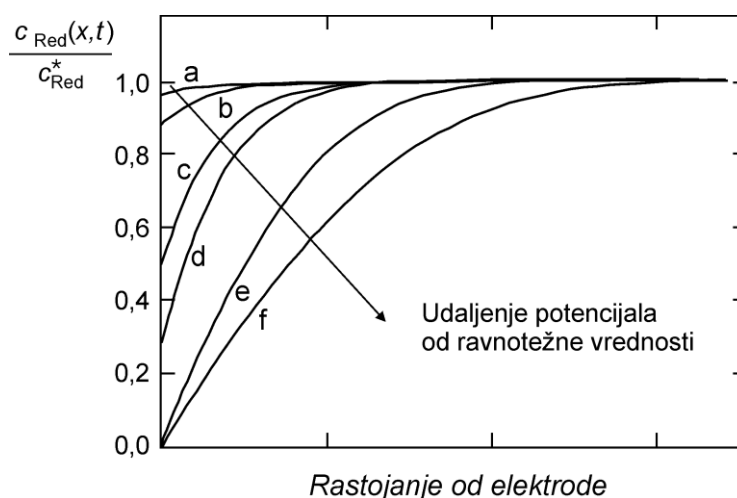


karakterističan izgled cikličnog volamograma sa strujnim pikom se kvalitativno može objasniti na sledeći način:

Kada se pri promeni potencijala od negativnijih ka pozitivnijim vrednostima dođe do potencijala na kom počinje oksidacija vrste Red, struja postaje veća od nule, koncentracija vrste Red uz elektrodu postaje nešto manja nego u dubini rastvora, a koncentracija vrste Ox postaje veća od nule. Drugim rečima, uspostavlja se gradijent koncentracije vrsta Red i Ox uz elektrodu. Gradijent koncentracije reaktanta Red prikazan je krivom *a* na slici 3.2⁶⁷. Sa daljom promenom potencijala ka pozitivnijim vrednostima koncentracija reaktanta uz elektrodu dalje opada, a koncentracioni gradijent raste (krive *b*, *c* i *d* na slici 3.2), što dovodi do povećanja struje. Struja će rasti sve dok raste gradijent koncentracije tj. dok koncentracija reaktanta ne padne na nulu (krive *e* i *f* na slici 3.2).



Slika 3.1. Promena potencijala u cikličnoj voltametriji (a)⁶⁵; promena gustine struje sa vremenom u cikličnoj voltametriji (b)⁶⁵; ciklični voltamogram (c)⁶⁶.



Slika 3.2. Koncentracijski profili elektroaktivne vrste A. Krive odgovaraju potencijalima: a) $E_o - 90$ mV, b) $E_o - 50$ mV, c) $E_o = 0$ mV, d) $E_o + 28$ mV, e) $E_o + 128$ mV, f) $E_o + 280$ mV.⁶⁷

Nakon toga, gradijent koncentracije opada, jer se difuzioni sloj širi u rastvor, što dovodi do pada vrednosti struje. Rezultat toga je pojava strujnog pika na voltamogramu. Struja koja se registruje nakon pojave strujnog pika je granična difuziona struja, jer je koncentracija reaktanta uz elektrodu jednaka nuli. Zbog toga ova struja ne zavisi više od potencijala, već isključivo od vremena.⁶⁷

U celoj oblasti potencijala gustina struje je utoliko veća ukoliko je veća brzina linearne promene potencijala. To se dešava zato što se pri većim brzinama linearne promene potencijala do date vrednosti potencijala dolazi brže, tako da difuzioni sloj ima manje vremena da se proširi u rastvor i da tako smanji gradijent koncentracije. Kada se promeni smer promene potencijala, počinje da raste struja redukcije vrste Ox sve dok koncentracija uz elektrodu ne padne na nulu i tada se ponovo javlja strujni pik.

Strujni pik na delu krive za oksidaciju vrste Red naziva se anodni strujni pik, a strujni pik na delu krive koji odgovara redukciji vrste Ox se naziva katodni strujni pik. Karakteristične vrednosti jednog cikličnog voltamograma su: gustina struje anodnog pika $j_{p,a}$, gustina struje katodnog pika $j_{p,k}$, potencijal anodnog pika $E_{p,a}$ i potencijal

katodnog pika $E_{p,k}$. Na cikličnom voltamogramu 3.1.c⁶⁶ označene su pomenute karakteristične vrednosti.

3.1.1.2. Reverzibilni sistem

U slučaju reverzibilnog sistema^{68,69} brzina prenosa elektrona pri svim potencijalima je znatno veća od brzine masenog transporta elektroaktivnih vrsta i samim tim na površini elektrode stalno postoji Nernst-ovska ravnoteža. Struja pika za reverzibilni redoks par, za difuzijom kontrolisan proces, je data Rendls-Ševčikovom jednačinom koja se na temperaturi od 25 °C može napisati kao:

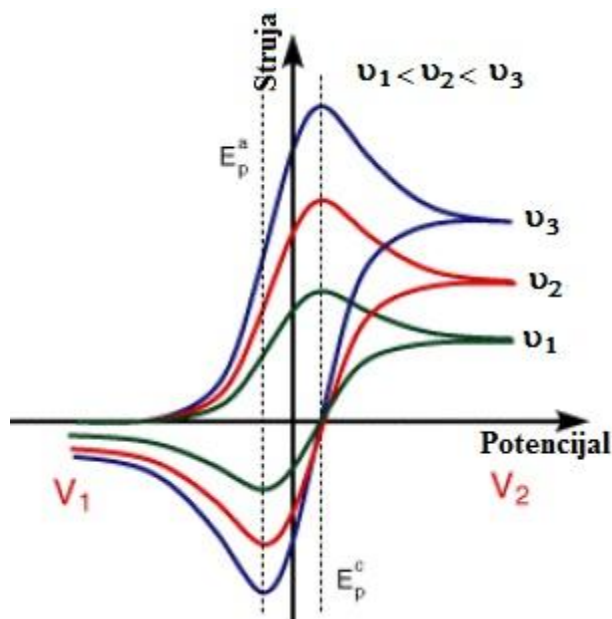
$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 \cdot A \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \cdot C_0$$

I_p – struja pika izražena u amperima, A – površina elektrode izražena u cm^2 , D – difuzioni koeficijent izražen u cm^2S^{-1} , v – brzina promene potencijala izražena u Vs^{-1} , C_0 – koncentracija oksidovane vrste izražena kao molcm^{-3} .

Odavde se vidi da je struja proporcionalna kvadratnom korenu brzine polarizacije i kvadratnom korenu koeficijenta difuzije, što znači da se sa povećanjem brzine polarizacije elektrode, v , povećava i struja pika I_p , kao što je prikazano na slici 3.3.

Iz **Randles-Sevčik-ove** jednačine proizlazi da struja pika zavisi od:

- koncentracije elektroaktivne vrste
- difuzionog koeficijenta
- broja izmenjenih elektrona
- veličine površine elektrode
- brzine promene potencijala.



Slika 3.3. Ciklični voltamogrami pri različitim brzinama skeniranja, v_1, v_2, v_3 .⁶⁹

Osnovni kriterijumi reverzibilnosti elektrodnog procesa:

- razlika potencijala katodnog i anodnog pika je konstantna i na $T = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ je približno⁷¹ $59/n \text{ mV}$. Pri ponovljenim snimanjima (ciklusima) uspostavlja se stacionarno stanje⁷² pri kome je razlika potencijala $58/n \text{ mV}$;
- apsolutna vrednost razlike E_p i $E_{p/2}$ je na navedenoj temperaturi jednaka $56,5/n \text{ mV}$;
- struje katodnog i anodnog pika su posle izvesnog broja cikliranja jednake;⁵⁹
- struja pika je proporcionalna $v^{1/2}$;
- potencijal pika je nezavisan od brzine promene potencijala;
- pri potencijalima „iza E_p “, kvadratni koren recipročne vrednosti struje je srazmeran vremenu⁷¹.

3.1.1.3. Ireverzibilni sistem

Kada je brzina prenosa elektrona nedovoljna da omogući površinsku Nernstovsku ravnotežu, radi se o ireverzibilnom sistemu^{62,73}. Oblik ciklovoltamograma se menja u odnosu na ciklovoltamogram reverzibilnog sistema, i zavisi od brzine

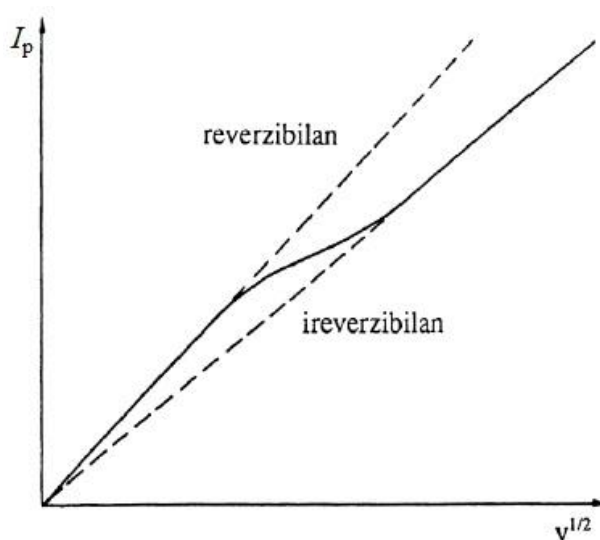
polarizacije. Sa porastom brzine polarizacije raste i brzina masenog transporta tako da ove dve veličine postaju uporedive i dolazi do remećenja ravnoteže na površini elektrode. Najvidljiviji efekat ovakvog nereverzibilnog ponašanja je povećanje razlike potencijala katodnog i anodnog pika sa povećanjem brzine polarizacije.

Struja pika ireverzibilnog procesa na 25 °C je data relacijom:

$$I_p = 2,99 \cdot 10^5 \cdot n \cdot (\alpha \cdot n_a)^{1/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot v^{1/2} \cdot C_0$$

Sve veličine imaju isto značenje kao i kod reverzibilnog sistema, pri čemu je α -koeficijent prenosa elektrodne reakcije.

Moguće je da isti elektrodni proces pri niskim brzinama promene potencijala bude reverzibilan, a da pri većim brzinama postaje ireverzibilan. Između ta dva slučaja postoji oblast u kojoj se elektrohemijski proces odvija kao kvazireverzibilan. Kvazireverzibilni procesi se javljaju kada postoji ograničenje u brzini prenosa elektrona. Ovaj prelaz od reverzibilnog preko kvazireverzibilnog do potpuno ireverzibilnog sistema se može zapaziti na dijagramu prikazanom na slici 3.4, koji daje zavisnost I_p od $v^{1/2}$.



Slika 3.4. Dijagram zavisnosti struje pika od kvadratnog korena brzine promene potencijala.^{62,73}

Najsigurnija identifikacija ireverzibilnosti nekog elektrohemijškog procesa je odsustvo reverzibilnog ciklovoltometrijskog pika. Međutim, u nekim slučajevima pik se može javiti kao posledica neke naknadne i vrlo brze hemijske reakcije te ga ne treba odmah i bez drugih provera pripisati reverzibilnosti elektrohemijškog procesa. Danas, na osnovu Matsudinih parametara postoje opšte prihvaćeni uslovi koje moraju da ispunjavaju vrednosti standardne konstante brzine prenosa elektrona k_0 (izražena u cm s^{-1}) i brzine promene potencijala v da bi se elektrodni proces svrstao u jednu od grupa reverzibilnosti:

za reverzibilne procese $k_0 > 0,3 \cdot v^{1/2}$

za kvazireverzibilne $2 \times 10^{-5} \cdot v^{1/2} \leq k_0 \leq 0,3 \cdot v^{1/2}$

za ireverzibilne $k_0 < 2 \times 10^{-5} \cdot v^{1/2}$.

Kod elektrohemijških ireverzibilnih procesa povratna reakcija je toliko spora da se može zanemariti.

3.1.2. Diferencijalno pulsna voltometrija

Diferencijalno pulsna voltometrija^{58,74,75} (DPV) je voltometrijska tehnika kod koje se posmatra razlika između dve struje, prve koja se meri odmah posle završetka zadavanja pulsa i druge koja se meri nekoliko milisekundi pre početka zadavanja pulsa. Početni potencijal se povećava tako da se dobija oblik stepenica. Puls je konstantne visine, 10 ili više puta manji nego „stepenica“ talasa (slika 3.5). Razlika između dve merene struje u tačkama 1 i 2, ($I_2 - I_1$) koja je prikazana na slici 3.5 dovodi do nastanka pika prikazanog na slici 3.6.

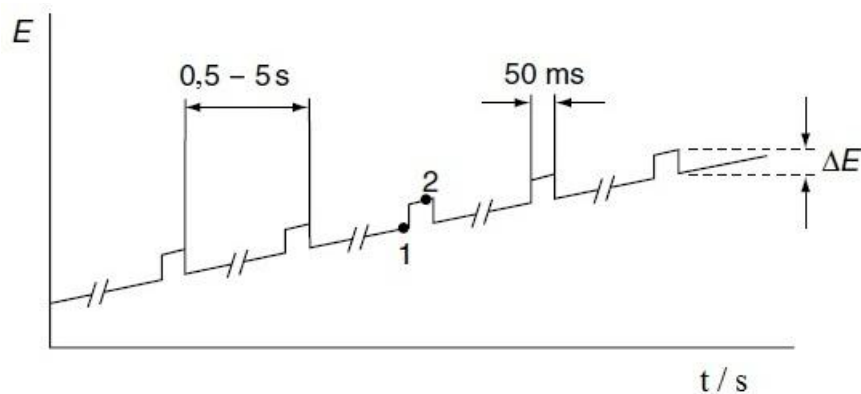
Struja koja odgovara piku je data izrazom:

$$I_p = \frac{n \cdot F \cdot A \cdot D^{1/2} c}{(\pi \cdot t_m)^{1/2}} \left(\frac{1 - \sigma}{1 + \sigma} \right)$$

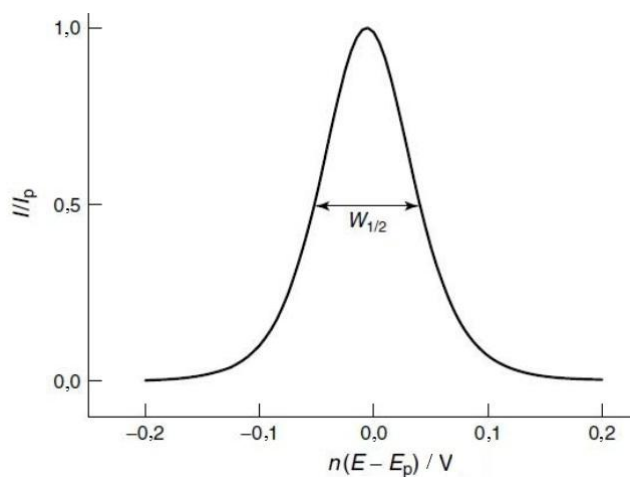
t_m je vreme posle primene pulsa, σ se računa po formuli, dok ostale oznake imaju napred pomenuto značenje.

$$\sigma = \exp \left[\left(\frac{n \cdot F}{R \cdot T} \right) \cdot \left(\frac{\Delta E}{2} \right) \right]$$

ΔE je amplituda pulsa; maksimalna vrednost $\left(\frac{1-\sigma}{1+\sigma} \right)$ je jednaka jedinici.



Slika 3.5. Izgled promene potencijala kod DPV.⁵⁸



Slika 3.6. Izgled DPV pika.⁷⁴

Potencijal pika E_p služi za identifikaciju vrsta koje se oksiduju ili redukuju.

Poluširina pika se računa na sledeći način:

$$W_{1/2} = \frac{3,52 \cdot R \cdot T}{n \cdot F}$$

i trebalo bi da ima vrednost 90,4/n mV na 25 °C, što nam ukazuje na to da pikovi razdvojeni 50/n mV bi trebalo da se vidno razlikuju, odnosno, mogu da se posmatraju posebno.

3.1.3. Adsorptivna stripping voltometrija

Adsorptivna stripping voltometrija^{58,66} (AdSV) predstavlja voltometrijsku tehniku u kojoj dolazi do prekoncentracije, odnosno, akumulacije ispitivane vrste na površini radne elektrode, adsorpcijom. Nakon kratkog akumulacionog perioda primenjuje se neka od voltometrijskih tehnika za detekciju površinske koncentracije analita. U skladu sa tim, ako se koristi DPV, metoda je AdSDPV. Ova metoda veoma često pokazuje povećanje osetljivosti određivanja, odnosno najmanji LOD kako organskih tako i neorganskih analita, u odnosu na neku drugu voltometrijsku metodu, primenjenu bez prekoncentracionog koraka.

3.1.4. Reverznofazna hromatografija

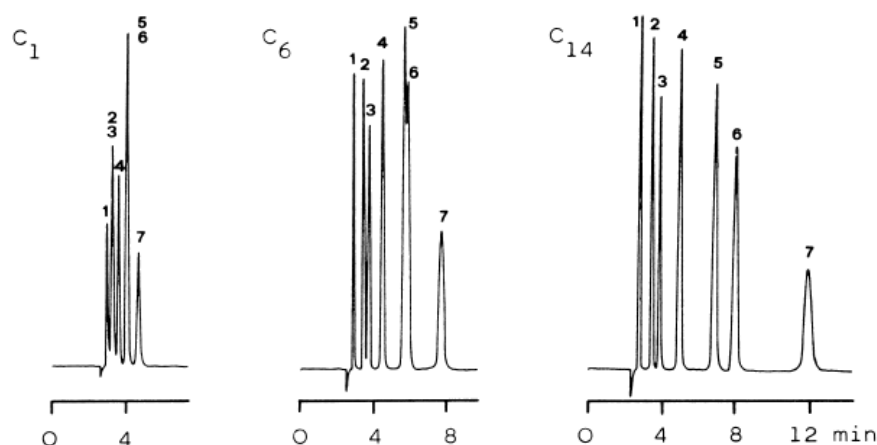
Tečna hromatografija u kojoj se razdvajanje molekula analizirane smeše ostvaruje na osnovu razlike u njihovoj polarnosti, korišćenjem nepolarane, hidrofobne stacionarne faze i polarne mobilne faze, naziva se reverznofazna hromatografija (Reversed Phase Chromatography, RP-C)⁷⁸⁻⁸³. To je jedna od najčešće korišćenih hromatografskih tehnika u modernoj analitičkoj hemiji.⁸⁴ Princip ovakvog načina razdvajanja je baziran na tendenciji onih molekula smeše koji su najviše polarni (najhidrofilniji) da se eluiraju na početku, dok se najmanje polarni (najhidrofobniji) molekuli, eluiraju na kraju, odnosno, ostaju najduže zadržani na koloni.⁸⁵ RPC se koristi za razdvajanje kako nepolarnih jedinjenja, tako i polarnih, nejonskih i jonskih, npr., organskih kiselina, vitamina, nukleotida, proteina (pri specifičnim uslovima).⁸⁶⁻⁹⁰

Kao stacionarna faza najčešće se koristi materijal izgrađen iz SiO₂ ili nekog polimera (npr. metakrilata, polistiren divinil benzen), kao nosača, za koga su kovalentno vezani ugljovodonični lanci (C4-, C8-, C18- i C30-kolona), ugljovodonični lanac+fenil grupa (fenil kolona), ugljovodonični lanac+cijano grupa (cijano kolona).⁹¹ Jedna od osnovnih karakteristika stacionarne faze je hidrofobnost.⁹² Kapacitet zadržavanja zavisi

od načina na koji je površina stacionarne faze modifikovana i od njene specifične površine. C18 materijal ima najveću hidrofobnost.⁹³ Povećanjem ugljovodoničnog lanca, smanjuje se kapacitet kolone i javlja se sterni efekat. Smanjenjem ugljovodoničnog lanca, analit će imati manje mesta za vezivanje. Povećanjem specifične površine nosača (npr., smanjenjem veličine njegovih pora), javlja se više mesta za vezivanje ugljovodoničnih lanaca, a samim tim i povećanje hidrofobnosti stacionarne faze.⁹⁴

Kao mobilna faza koristi se rastvarač ili smeša rastvarača koji su veoma polarni. Najčešće je u pitanju vodeni rastvor koji sadrži manji zapreminski udeo nekog organskog rastvarača (metanol, acetonitril, izopropanol, tetrahidrofuran).⁹⁵

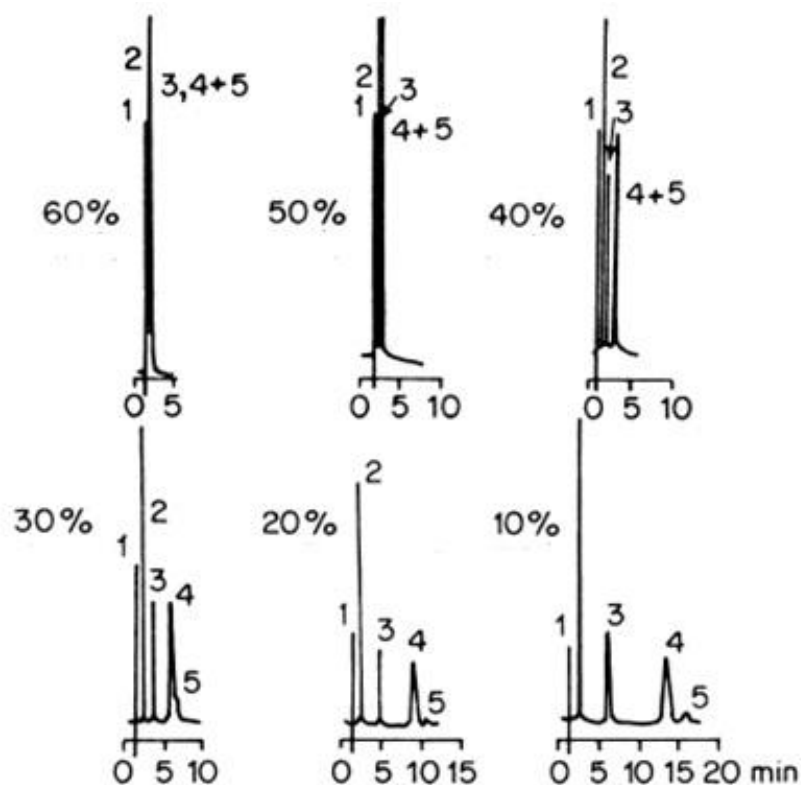
Retenciono vreme nekog jedinjenja je određeno njegovom polarnošću, kao i eksperimentalnim uslovima: sastavom mobilne faze, tipom kolone i temperaturom.⁹⁶ Postoje načini na koje se manipulisanjem navedenih uslova utiče na retenciono vreme date komponente.⁹⁷⁻⁹⁹



Slika 3.7. Uticaj dužine alkil lanca stacionarne faze na retenciono vreme.¹⁰⁰

Smanjenje retencionog vremena se može ostvariti¹⁰⁰⁻¹⁰²:

- Upotrebom polarnije kolone (npr. C4 umesto C8 ili C18)⁸⁵, slika 3.7¹⁰⁰,
- Povećanjem udela organskog rastvarača u mobilnoj fazi⁸⁶, slika 3.8,
- Korišćenjem istog udela manje polarnog organskog rastvarača (od prethodno korišćenog) u eluentu⁸⁷,
- Povećanjem temperature⁸⁸.



Slika 3.8. Uticaj udela metanola na retenciono vreme⁸⁶.

3.2. REAGENSI I HEMIKALIJE

6AQ (95%), 6HQ (95%), 8HQ (99%) i prah staklastog ugljenika, koji se sastoji iz sfernih čestica dijametra 2–12 μm , su nabavljeni od Sigma-Aldrich-a (Poole, UK). Metanol (HPLC čistoće) je kupljen od J.T.Baker-a (Deventer, Holandija). Parafinsko ulje (Nujol), orto-fosforna kiselina, borna kiselina, sirćetna kiselina i natrijum hidroksid su kupljeni od Merck-a (Darmstadt, Nemačka). Dejonizovana voda je dobijena korišćenjem Ultra Clear Basic SG Water aparata (SG Wasseraufbereitung GmbH, Nemačka).

3.3. INSTRUMENTI

Sva voltametrijska merenja su izvedena koristeći kompjuterizovan voltametrijski sistem CH Instruments (Austin, SAD) koji koristi voltametrijski softver CHI (Version 4.03) osim merenja vezanih za AdSDPV koja su izvršena na Methrohm 797 VA Computrace instrumentu (Herisau, Švajcarska).

Troelektrodni sistem se sastojao iz GCPE, kao radne elektrode, zasićene kalomelove elektrode (ZKE), kao referentne elektrode, u odnosu na koju su dati svi pomenuti potencijali u radu, i Pt žice, kao pomoćne elektrode. Međusobni položaj elektroda je odgovarao trougaonoj geometriji. Merenja pH su izvršena koristeći pH-metar, model 744, snabdeven kombinovanom staklenom pH elektrodom i temperaturskim senzorom, Metrohm (Herisau, Švajcarska).

Spektrofotometrijska snimanja su izvršena na spektrofotometru Cintra GB-10 UV-vis (GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australija) pri čemu su korišćene kvarcne kivete čiji je optički put 1,00 cm.

Hromatogrami su snimani na tečnim hromatografu visokih performansi (HPLC)

Proizvođač: Bischoff,

Kolona: PRONTOSIL 120-5-C18 ace-EPS 5,0 μm

Dimenzije kolone: 120 \times 4,6 mm

Detektor: UV-vis detektor, Lambda 1010

Pumpa: Bischoff 2250

Zapremina petlje: 20 μL .

3.4. PROCEDURE

3.4.1. Računske metode

Semiempirijski AM1 metod (Austin Model 1)¹⁰³ (koji je uključen u molekulsko-orbitalni paket MOPAC 97¹⁰⁴, deo Chem3D Pro 5.0 paketa, CambridgeSoft Corporation) je primenjen za dobijanje toplote nastajanja (ΔH_f) i spinske gustine ispitivanih vrsta. Ovaj metod je dovoljno tačan, tako da ima veoma korisnu prediktivnu moć, i dovoljno brz da omogući ispitivnje oligomera¹⁰⁵⁻¹¹². Energije jonizacije (E_i)

različitih kiselinsko-baznih vrsta ispitivanih molekula, kao i E_i njihovih produkata oksidacije su izračunate koristeći RM1 metod (**R**eparameterized **AM1** method)¹¹³ (poboljšana verzija AM1 metode uključena u MOPAC 2009, kao deo paketa ChemBio3D Ultra 12.0, CambridgeSoft Corporation). Solvatacioni efekti su uzeti u obzir koristeći **CO**nductor-like **S**creening **MO**del (COSMO)¹¹⁴ da bi se aproksimirao efekat vode koja se nalazi u okruženju analiziranog molekula. Urađena je i konformaciona analiza intermedijera. Sterna energija je minimizirana koristeći MM2 molecular mechanics force-field metod¹¹⁵. Ulazni fajlovi za semi-empirijske kvantnohemijske proračune dimernih 8HQ, 6HQ i 6AQ intermedijera predstavljali su najstabilnije konformacije ispitivanih molekulskih struktura. Optimizacija geometrije je izvedena primenom Eigenvector Following procedure¹¹⁶. Ograničen Hartree–Fock metod je korišćen za ispitivanje molekula i jona, dok je neograničen Hartree–Fock metod korišćen za ispitivanje slobodnoradikalnih vrsta.

3.4.2. Priprema rastvora i radne elektrode

3.4.2.1. Elektrohemijska analiza

- ✚ Osnovni rastvor 8HQ, koncentracije 1×10^{-2} M, je pripremljen rastvaranjem 145,16 mg 8HQ u metanolu u normalnom sudu zapremine 100 mL. Razblaženiji rastvori 1×10^{-3} M i 1×10^{-4} M su pripremani serijskim razblaživanjem osnovnog rastvora metanolom. Spektrometrijskim ispitivanjem je pokazano da je osnovni rastvor stabilan bar tri meseca, dok su razblaženiji rastvori 1×10^{-3} M i 1×10^{-4} M pripremani nedeljno.
- ✚ Osnovni rastvor 6HQ, koncentracije 1×10^{-2} M, je pripremljen rastvaranjem 145,16 mg 6HQ u metanolu u normalnom sudu zapremine 100 mL. Razblaženiji rastvori 1×10^{-3} M i 1×10^{-4} M su pripremani serijskim razblaživanjem osnovnog rastvora metanolom. Spektrometrijskim ispitivanjem je pokazano da je osnovni rastvor stabilan bar tri meseca, dok su razblaženiji rastvori 1×10^{-3} M i 1×10^{-4} M pripremani nedeljno.
- ✚ Osnovni rastvor 6AQ, koncentracije 5×10^{-2} M, je pripremljen rastvaranjem 360,43 mg 6AQ u metanolu u normalnom sudu zapremine 50 mL. Razblaženiji rastvori $1 \times$

10^{-2} M i 1×10^{-3} M su pripremani serijskim razblaživanjem osnovnog rastvora metanolom. Spektrometrijskim ispitivanjem je pokazano da su i osnovni rastvor i rastvor koncentracije 1×10^{-2} M stabilni bar tri meseca, dok je rastvor 1×10^{-3} M pripreman nedeljno.

- ✚ Briton–Robinson-ov (BR) pufer je pripreman mešanjem odgovarajućih zapremina kisele i bazne komponente. Kisela komponenta pufera predstavlja mešavinu 0,04 M orto-fosforne kiseline, 0,04 M borne kiseline i 0,04 M sirćetne kiseline, dok je bazna komponenta 0,2 M rastvor natrijum hidroksida. Osnovni elektrolit je dobijen mešanjem BR pufera odgovarajuće pH vrednosti i metanola u odnosu 80:20 (v/v). Termin *osnovni elektrolit određene pH*, znači da se radi o pomenutoj smeši (BR pufer odgovarajuće pH vrednosti i metanola u odnosu 80:20 (v/v)), kao osnovnom elektrolitu, koja ima određen pH.
- ✚ GCPE je pravljen mešanjem 250 mg praha staklastog ugljenika i 90 μ L Nujol-a u avanu sa tučkom, dok se ne dobije homogena pasta. Ovom pastom se puni teflonsko, cilindrično telo elektrode, prečnika 2 mm i dužine 20 mm.

3.4.2.2. Spektrofotometrijska analiza

- ✚ Rastvor za spektrofotometrijsko ispitivanje koncentracije 3×10^{-5} M dobijen je rastvaranjem 300 μ L rastvora ispitivanog hinolina koncentracije 1×10^{-3} M u osnovnom elektrolitu odgovarajuće pH vrednosti, u normalnom sudu zapremine 10 mL.

3.4.2.3. HPLC analiza

Rastvori pojedinačnih hinolina za HPLC snimanja su pravljeni na sledeći način:

- ✚ rastvaranjem 600 μ L rastvora 8HQ koncentracije 1×10^{-2} M u metanolu u normalnom sudu zapremine 10 mL dobijen je rastvor 8HQ koncentracije 87,1 mg/L;
- ✚ rastvaranjem 600 μ L rastvora 6HQ koncentracije 1×10^{-2} M u metanolu u normalnom sudu zapremine 10 mL dobijen je rastvor 6HQ koncentracije 87,1 mg/L;

- ✚ rastvaranjem 500 μL rastvora 6AQ koncentracije 1×10^{-2} M u metanolu u normalnom sudu zapremine 10 mL dobijen je rastvor 6AQ koncentracije 72,1 mg/L.

Standardni rastvori korišćeni za kalibraciju pri formiranju HPLC metode su pravljeni na sledeći način:

- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 101,6 mg/L, koncentracija 6HQ 100,9 mg/L, koncentracija 8HQ 100,9 mg/L, (*std. 100.1*) dobijen je rastvaranjem 3,52 mL 6AQ koncentracije 1×10^{-2} M, 3,48 mL 6HQ koncentracije 1×10^{-2} M i 3,48 mL 8HQ koncentracije 1×10^{-2} M u metanolu u normalnom sudu zapremine 50 mL;
- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 101,6 mg/L, koncentracija 6HQ 100,9 mg/L, koncentracija 8HQ 201,8 mg/L, (*std. 100.2*) dobijen je rastvaranjem 3,52 mL 6AQ koncentracije 1×10^{-2} M, 3,48 mL 6HQ koncentracije 1×10^{-2} M i 6,96 mL 8HQ koncentracije 1×10^{-2} M u metanolu u normalnom sudu zapremine 50 mL;
- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 10,16 mg/L, koncentracija 6HQ 10,09 mg/L, koncentracija 8HQ 10,09 mg/L, dobijen je razblaženjem *std. 100.1* metanolom 10 puta;
- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 10,16 mg/L, koncentracija 6HQ 10,09 mg/L, koncentracija 8HQ 20,18 mg/L (*std 10*), dobijen je razblaženjem *std. 100.2* metanolom 10 puta;
- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 50,8 mg/L, koncentracija 6HQ 50,5 mg/L, koncentracija 8HQ 100,9 mg/L (*std 50*), dobijen je razblaženjem *std. 100.2* metanolom 2 puta;
- ✚ rastvor gde je koncentracija 6AQ 1,02 mg/L, koncentracija 6HQ 1,01 mg/L, koncentracija 8HQ 2,02 mg/L, dobijen je razblaženjem *std. 100.2* metanolom 100 puta.
- ✚ Eluent za HPLC je predstavljao smešu metanola (MeOH) i BR pufera pH = 7,00, razblaženog 10 puta, čiji je konačan pH iznosio 7,28, u sledećem zapreminskom odnosu:

MeOH:BR pufer (pH 7,28) = 80:20

MeOH:BR pufer (pH 7,28) = 50:50

MeOH:BR pufer (pH 7,28) = 20:80.

3.4.3. Snimanje ciklovoltamograma i DP voltamograma

Najpre se u elektrohemijsku ćeliju doda 20 mL osnovnog elektrolita pH ~2 i snimi ciklični voltamogram i DP voltamogram u odgovarajućem opsegu potencijala. Zatim se u prisutni osnovni elektrolit doda 200 µL osnovnog rastvora ispitivane supstance koncentracije 1×10^{-2} M tako da se dobije rastvor koncentracije 1×10^{-4} M. Nakon homogenizacije ovog rastvora, ostvarene primenom mehaničke mešalice 10 s, isto toliko se ostavi da se uravnoteži rastvor, a zatim se snimi ciklični voltamogram pri sledećim brzinama skeniranja: 10, 20, 50, 100 i 200 mV/s za 6HQ i 8HQ, i pri 5, 10, 20 i 50 mV/s za 6AQ. Na ovaj način dobijeni su ciklični voltamogrami za rastvor koncentracije ispitivane supstance 1×10^{-4} M pri pH ~2.

Za pomenuti rastvor (koncentracija ispitivane supstance 1×10^{-4} M pri pH ~2) se snimaju kontinualni ciklični voltamogrami, u istom opsegu potencijala kao i ciklični voltamogrami. Snimano je 50 ciklusa pri brzini polarizacije 50 mV/s. Nakon snimanja kontinualnih cikličnih voltamograma, za isti rastvor (koncentracija ispitivane supstance 1×10^{-4} M pri pH ~2) snimljeni su DP voltamogrami. Korišćena brzina polarizacije pri ovom snimanju za sva tri ispitivana jedinjenja je 20 mV/s pri amplitudi pulsa: 5, 10, 25, 50 i 100 mV. U slučaju 6AQ ciklični voltamogrami su snimani za duži opseg potencijala, za rastvor koncentracije 4×10^{-4} M.

Pre početka snimanja i cikličnih i DP voltamograma površina radne elektrode se očisti prevlačenjem preko nakvašenog filter papira tako da je svaki voltamogram dobijen da čistoj, novoj površini elektrode. Suprotno tome, pri dobijanju kontinualnih cikličnih voltamograma, pre početka snimanja radna elektroda se očisti i fiksira i ne pomera dok se ne završi snimanje ciklovoltamograma svih pedeset ciklusa.

Zatim, na gore opisane načine su snimljeni ciklični, kontinualni ciklični i DP voltamogrami i za pH opseg 3–12, tako da su ovom prilikom za pH opseg 2–12 dobijeni podaci za proučavanje voltametrijskog ponašanja 6AQ, 6HQ i 6HQ.

3.4.4. Snimanje AdSDP voltamograma

Ova vrsta snimanja se sastoji iz određivanja najoptimalnijeg potencijala depozicije (akumulacije), E_{dep} i određivanja najoptimalnijeg vremena depozicije (akumulacije) t_{dep} .

Ispitivanje mogućnosti depozicije je vršeno koristeći onaj osnovni elektrolit koji je služio za snimanje kalibracionih krivih, dok je izabrana koncentracija ispitivanog analita predstavljala najmanju koncentraciju kvantifikovanja analita. Određivanje E_{dep} se vrši tako što se rastvor odgovarajuće koncentracije ispitivane supstance 1 min podvrgne fiksiranom potencijalu koji je za oko 100 mV niži od potencijala oksidacionog pika, i zatim se snima DP voltamogram¹¹⁷. Onda se isti rastvor podvrgava potencijalima za oko 200, zatim 300, 400 mV itd. nižim od potencijala oksidacionog pika, pri čemu se nakon svake depozicije na pomenutim potencijalima snima DP voltamogram. Ovaj postupak se završava snimanjem DP voltamograma nakon depozicije na 0 V. Struje DP pikova (I_p) dobijene nakon snimanja na različitim navedenim potencijalima se izmere i onaj potencijal koji daje najveću struju pika se uzima kao najoptimalniji E_{dep} . Pre početka snimanja svakod novog DP voltamograma GCPE se čisti na nakvašenom filter papiru. U toku jednogminutne depozicije na određenom potencijalu, rastvor se meša mehurićima azota. Po završetku depozicije, mešanje prestaje, rastvor da se uravnoteži 10 s i bez promene geometrije sistema (nema pomeranja položaja elektroda, ni čišćenja GCPE) snima se DP voltamogram.

Određivanje najoptimalnijeg vremena depozicije je izvedeno tako što se za gore pomenut rastvor na izabranom E_{dep} vršila depozicija različito vreme (npr. za 6AQ t_{dep} : 0, 5, 10, 20, 30, 60, 150, 300 i 600 s), nakon čega su snimljeni DP voltamogrami u odgovarajućem opsegu potencijala i za svaki pik izmerene I_p . Ono t_{dep} kome odgovara DP voltamogram sa najvećom I_p je izabrano za optimalno t_{dep} .

3.4.5. Snimanje kalibracionih dijagrama

Nakon snimanja DP voltamograma za svaku od ispitivanih supstanci u osnovnim elektrolitima pH opsega 2–12, izabran je najoptimalniji osnovni elektrolit na kome struja DP pika ima najveći intenzitet (npr. za 8HQ osnovni elektrolit pH = 9,00 je

izaban). Zatim se snime DP voltamogrami za koncentracione opsege $(1-10) \times 10^{-7}$ M, $(1-10) \times 10^{-6}$ M i/ili $(1-10) \times 10^{-5}$ M, izmere se I_p DP voltmograma za svaku koncentraciju i konstruiše zavisnost I_p u funkciji koncentracije analita (c).

Sa grafika koji je dobijen za najmanji ispitivani opseg koncentracija očita se odsečak na y-osi (y_0), i odredi se standardna devijacija (σ), merenja. U skladu sa metodom datom od strane Miller-a¹¹⁸ granica detekcije (limit of detection, LOD) za ispitivano jedinjenje je x-koordinata one tačke na grafiku čije y-koordinata predstavlja zbir y_0 i trostruke vrednosti σ .

3.4.6. Snimanje hromatograma

Za odgovarajuće rastvore, hromatogrami su snimani u duplikatu. U okviru faze pred kalibraciju ispitano je ponašanje odgovarajućih komponenti smeše, dok su u okviru faze kalibracije smimljeni hromatogrami rastvora *std 10*, *std 50* i *std 100.2*. U petlju zapremine 20 μ L injektirano je 100 μ L svakog od hromatografski ispitivanih rastvora.

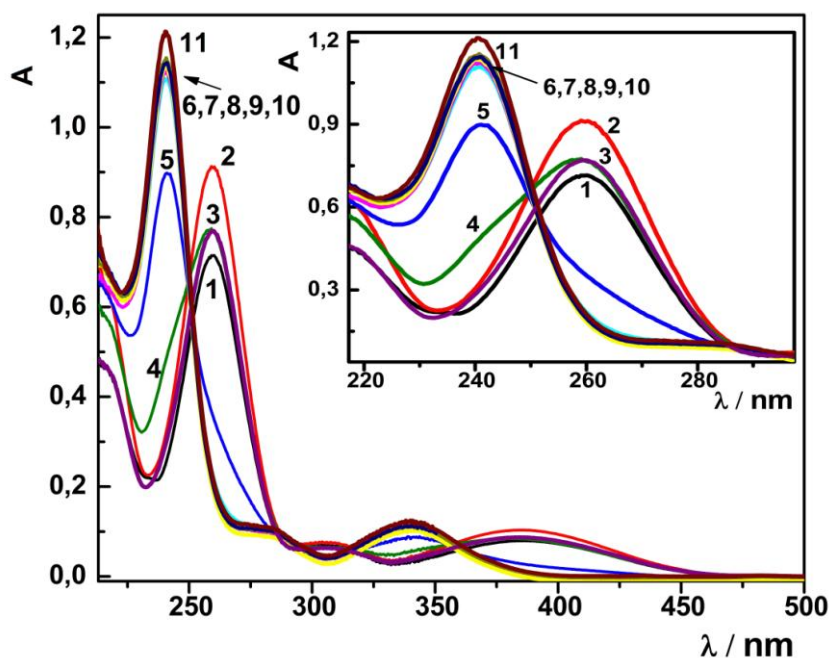
4. REZULTATI

4.1. SPEKTROFOTOMETRIJSKA STUDIJA ISPITIVANIH HINOLINA

Poznavanje spektrofotometrijskog ponašanja ispitivanih hinolina je neophodno za proučavanje voltametrijskog i hromatografskog ponašanja, kao i za izvođenje teorijskih proračuna u cilju predlaganja elektro-oksidacionog mehanizma.

4.1.1. UV-vis spektar 6AQ

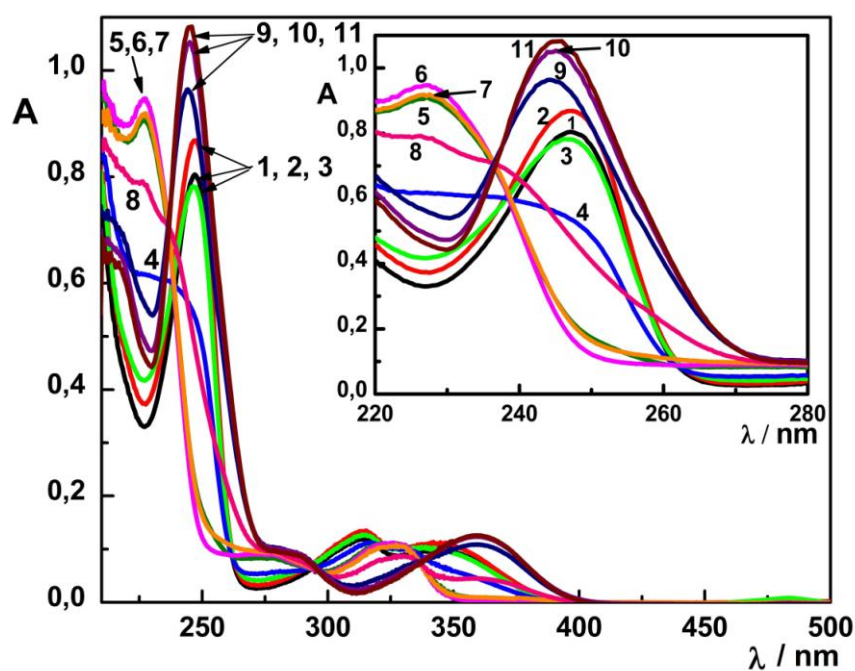
U spektrofotometrijskoj studiji sprovedenoj od strane Armarego-a i Chai-a¹¹⁹ pokazano je da 6AQ ima dve kiselinsko-bazne ravnoteže, (NH^+/N) kojoj odgovara $\text{p}K_{a1} = 1,63$ i ($\text{NH}_3^+/\text{NH}_2$) kojoj odgovara $\text{p}K_{a2} = 5,59$. Iz UV-vis spektra (slika 4.1) se može videti da 6AQ u ispitivanom pH opsegu 2–12 pokazuje apsorpcione maksimume na 259 nm i 241 nm.



Slika 4.1. UV-vis spektar 3×10^{-5} 6AQ u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH: 1,98 (1); 3,03 (2); 4,01 (3); 4,94 (4); 6,05 (5); 7,08 (6); 8,01 (7); 8,89 (8); 9,90 (9); 10,80 (10); 11,82 (11).

4.1.2. UV-vis spektar 6HQ

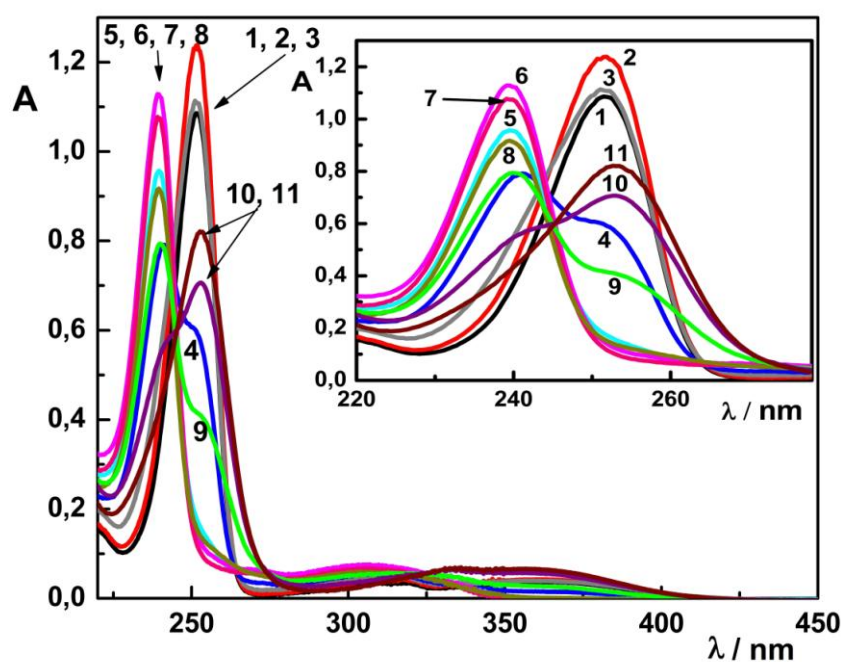
U spektrofotometrijskoj studiji sprovedenoj od strane Bardez-a i sar.¹²⁰ pokazano je da 6HQ ima dve kiselinsko-bazne ravnoteže, (NH^+/N) kojoj odgovara $\text{p}K_{a1} = 5,17$ i (OH/O^-) kojoj odgovara $\text{p}K_{a2} = 8,88$. Na osnovu UV-vis spektra 6HQ prikazanog na slici 4.2 može se zapaziti da ovo jedinjenje u ispitivanom pH opsegu 2–12 pokazuje prisustvo tri apsorpciona maksimuma i to na 244 nm, 227 nm i 247 nm.



Slika 4.2 UV-vis spektar 3×10^{-5} 6HQ u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH: 1,98 (1); 3,03 (2); 4,01 (3); 4,94 (4); 6,05 (5); 7,08 (6); 8,01 (7); 8,89 (8); 9,90 (9); 10,80 (10); 11,82 (11).

4.1.3. UV-vis spektar 8HQ

U spektrofotometrijskoj studiji sprovedenoj od strane Mottola i Freiser-a¹²¹ pokazano je da 8HQ ima dve kiselinsko-bazne ravnoteže, (NH^+/N) kojoj odgovara $\text{p}K_{a1} = 4,85$ i (OH/O^-) kojoj odgovara $\text{p}K_{a2} = 9,95$. Na osnovu UV-vis spektra 8HQ prikazanog na slici 4.3 može se zaključiti da ovo jedinjenje u ispitivanom pH opsegu 2–12 pokazuje apsorpcione maksimume na 251 nm, 240 nm i 253 nm.



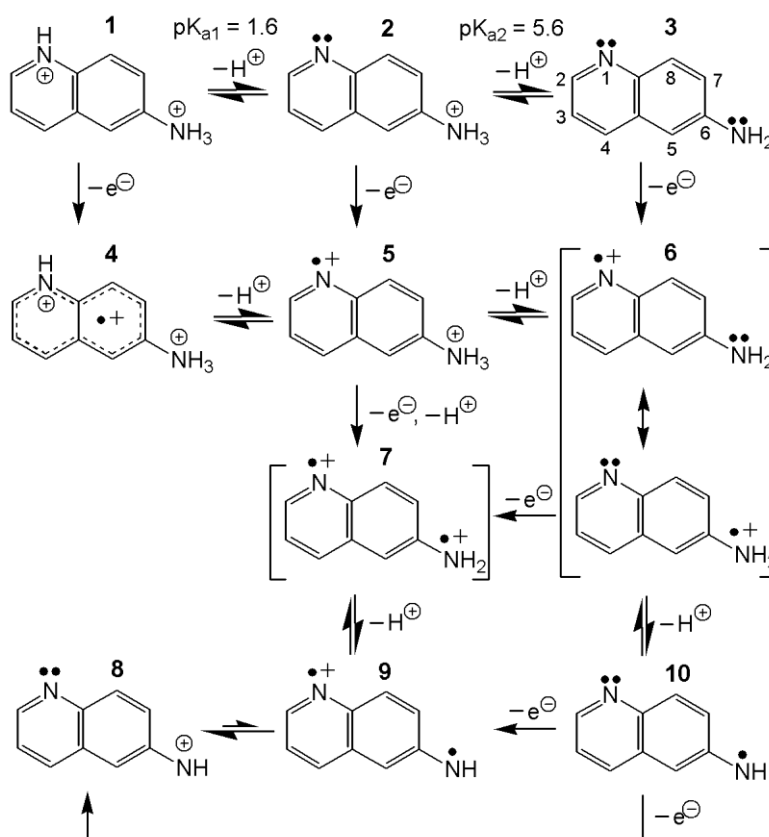
Slika 4.3. UV-vis spektar 3×10^{-5} M 8HQ u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH: 1,98 (1); 3,03 (2); 4,01 (3); 4,94 (4); 6,05 (5); 7,08 (6); 8,01 (7); 8,89 (8); 9,90 (9); 10,80 (10); 11,82 (11).

4.2. KVANTNOHEMIJSKA STUDIJA ISPITIVANIH HINOLINA

U cilju interpretacije elektrohemijske oksidacije hinolina, teorijski, upotrebom kompjuterskih proračuna, analizirani su reakcioni putevi inicijalnog jednoelektronskog, kao i inicijalnog dvoelektronskog transfera elektrona.

4.2.1. Teorijski aspekti 6AQ

Poznata kiselinsko-bazna ravnoteža 6AQ (**1** \rightarrow **2**, $pK_{a1} = 1,63$; **2** \rightarrow **3**, $pK_{a2} = 5,59$; shema 4.1)¹¹⁹ ukazuje na stvaranje trikatjonskih radikala $[H-6-QNH_3]^{*3+}$ (**4**), dikatjonskih radikala $[6-QNH_3]^{*2+}$ (**5**) i monokatjonskih radikala $[6-QNH_2]^{*+}$ (vrsta predstavljena u shemi 4.1 kao rezonantni hibrid (**6**), usled inicijalne jednoelektronske oksidacije $[H-6-QNH_3]^{2+}$ (**1**), $[6-QNH_3]^+$ (**2**) i $[6-QNH_2]$ (**3**), respektivno (shema 4.1).



Shema 4.1. 6AQ kiselinsko-bazne ravnoteže i inicijalna elektro-oksidacija.

RM1/COSMO kompjuterski proračuni energija jonizacije (E_i) različitih kiselinsko-baznih vrsta 6AQ su pokazali da oksidabilnost tih vrsta raste na sledeći način: $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$ (**1**, $E_i = 10,18$ eV) < $[\text{6-QNH}_3]^+$ (**2**, $E_i = 9,61$ eV) < $[\text{6-QNH}_2]$ (**3**, $E_i = 8,15$ eV) (tabela 4.1), odnosno, oksidabilnost 6AQ raste sa porastom pH.

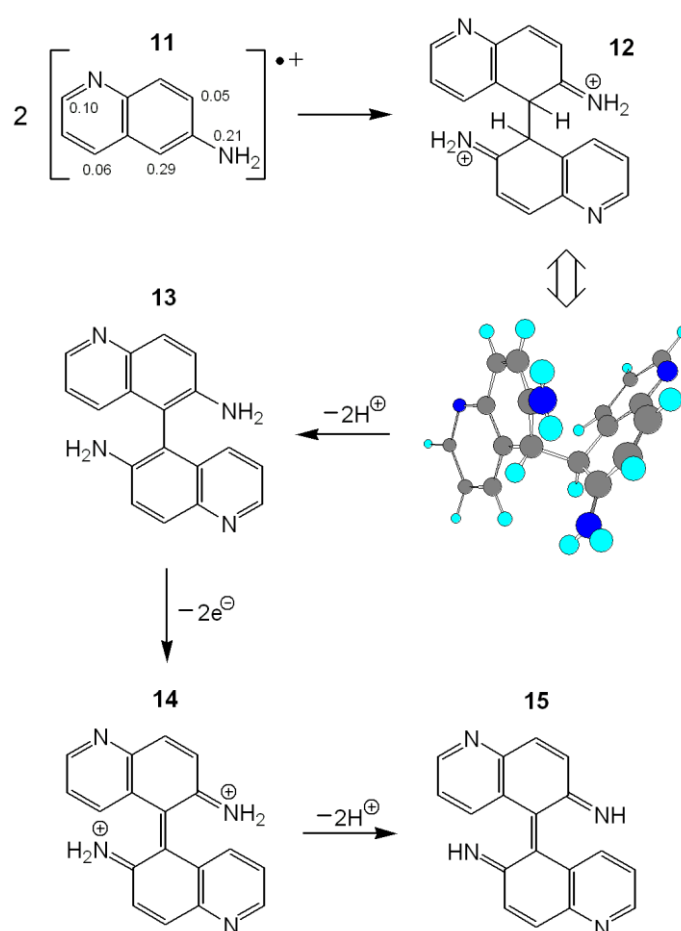
Tabela 4.1. Energije jonizacije (E_i) različitih kiselinsko-baznih 6AQ vrsta.

Vrsta	$[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$	6-QNH_3^+	6-QNH_2	$[\text{H-6-QNH}_3]^{3+}$	$[\text{6-QNH}_3]^{2+}$	$[\text{6-QNH}_2]^{++}$	$[\text{6-QNH}]^*$
E_i (eV)	10,18	9,61	8,15	11,39	10,72	9,70	9,12

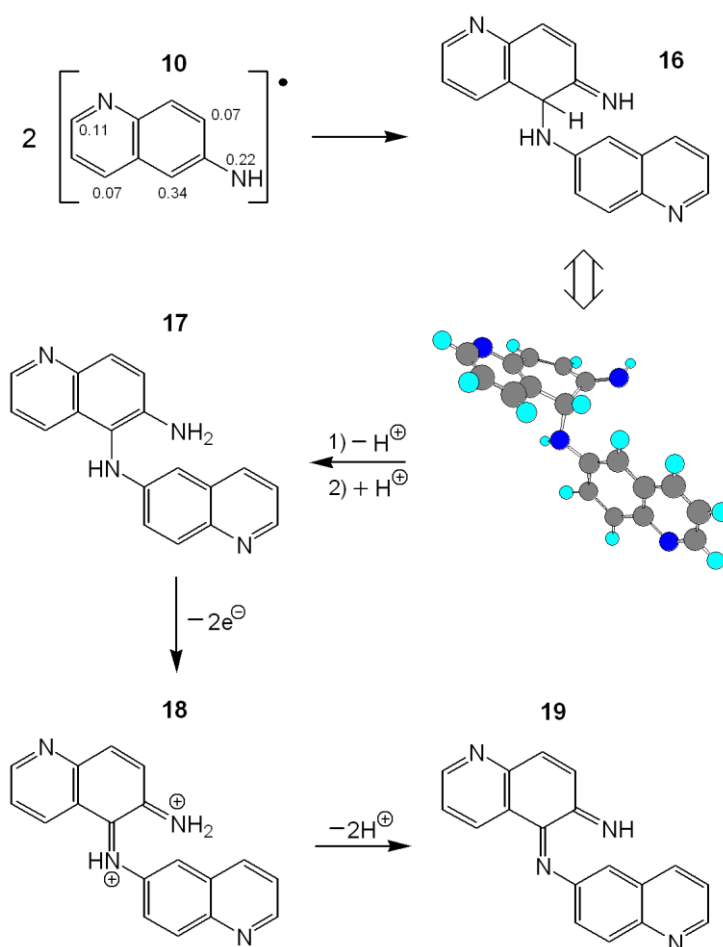
Inicijalno formiranje $[\text{H-6-QNH}_3]^{3+}$ vrsta (**4**) se očekuje da je dominantno pri $\text{pH} < 1,6$ gde je više od 50% 6AQ molekula u diprotonovanom obliku $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$. $[\text{6-QNH}_3]^{2+}$ vrste (**5**) bi inicijalno mogle biti formirane u značajnim količinama samo u pH oblasti $1,6 < \text{pH} < 5,6$ gde više od 50% 6AQ molekula postoji u monoprotovanom obliku $[\text{6-QNH}_3]^+$. Inicijalno formiranje $[\text{6-QNH}_2]^{++}$ vrsta je očekivano da bude dominantno pri $\text{pH} > 5,6$ gde više od 50% 6AQ molekula postoji u neprotonovanom obliku.

Jednom formirane na površini elektrode, $[\text{H-6-QNH}_3]^{3+}$ i $[\text{6-QNH}_3]^{2+}$ radikalske vrste, kao mnogo kiselije od svojih roditeljskih vrsta, $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$ i $[\text{6-QNH}_3]^+$, respektivno, bivaju podvrgnute brzom deprotonaciji do $[\text{6-QNH}_2]^{++}$ u kiselom vodenom rastvoru. Uzevši u obzir činjenicu da je $\text{p}K_a$ katjenskog radikala anilina 7,05,¹²² može se pretpostaviti da neutralni radikali $[\text{6-QNH}]^*$ (**10**, shema 4.1), formirani deprotonacijom $[\text{6-QNH}_2]^{++}$, preovlađuju u baznom vodenom rastvoru, dok $[\text{6-QNH}_2]^{++}$ preovlađuju u kiselom rastvoru. Pošto su slobodni radikali veoma reaktivne vrste može se pretpostaviti da će oni stupati u reakcije rekombinacije. Na osnovu napred navedenih zaključaka sledi da će rekombinacije $[\text{6-QNH}_2]^{++}$ i $[\text{6-QNH}]^*$ predstavljati osnovne 6AQ dimerizacione puteve, koji prate inicijalnu jednoelektronsku oksidaciju u kiselom i baznom vodenom rastvoru, respektivno, shema 4.1.

Regioselektivnost formiranja 6AQ dimera rekombinacijom $[6\text{-QNH}_2]^{+\bullet}$ (**11**, shema 4.2) i $[6\text{-QNH}]^{\bullet}$ (**10**, shema 4.3) je analizirana koristeći AM1/COSMO kompjuterski proračun. Ovim proračunima određena spinska gustina ukazuje na to da su, za obe vrste, $[6\text{-QNH}_2]^{+\bullet}$ i $[6\text{-QNH}]^{\bullet}$, (shema 4.2 i 4.3) C2, C4, C5, C7 i N_{NH_2} glavna reakciona mesta na kojima se dešava povezivanje navedenih slobodnih radikala. U skladu sa Hammond-ovim postulatom¹²³, regioselektivnost ovih reakcija nije kontrolisana stabilnošću konačnog produkta dimera (**13**, shema 4.2 i **17**, shema 4.3) već je određena stabilnošću njegovih intermedijera (**12**, Shema 4.2 i **16**, shema 4.3) koji su strukturno slični odgovarajućim prelaznim stanjima (aktivacionim kompleksima).



Shema 4.2. Dimerizacija 6AQ katjonskog radikala ($[6\text{-QNH}_2]^{+\bullet}$) praćena dvoelektronskom oksidacijom formiranog dimera. Spinska gustina osnovnih reakcionih mesta $[6\text{-QNH}_2]^{+\bullet}$ je, takođe, data.



Shema 4.3. Dimerizacija 6AQ radikala ($[6\text{-QNH}]^{\bullet}$) praćena dvoelektronskom oksidacijom formiranog dimera. Spinska gustina osnovnih reakcionih mesta $[6\text{-QNH}]^{\bullet}$ je, takođe, data.

Na osnovu AM1/COSMO proraćuna pokazano je da je C5–C5 povezivanje dominantan 6AQ dimerizacioni put u kiselim rastvorima, npr. u slućaju $[6\text{-QNH}_2]^{+\bullet}$ rekombinacije (shema 4.2, tabela 4.2), dok NH–C5 povezivanje dimera preovlađuje pri rekombinaciji slobodnih radikala $[6\text{-QNH}]^{\bullet}$ u alkalnim rastvorima (shema 4.3, tabela 4.3). Dvoelektronska oksidacija formiranih C5–C5 (**13**, $E_i = 8,02$ eV) i NH–C5 (**17**, $E_i = 8,11$ eV) 6AQ dimera, koji imaju nešto manju E_i u odnosu na odgovarajuće 6AQ monomere, kako je potvrđeno RM1 proraćunima, vodi ka formiranju odgovarajućih hinonoidnih jedinjenja u obliku razlićitih kiselinsko-baznih formi (**14** i **15**, shema 4.2, **18** i **19**, shema 4.3).

Tabela 4.2. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6AQ dikatjonskog dimer-intermedijera formiranog u reakciji rekombinacije $[6\text{-QNH}_2]^{*+}$ radikala, izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	349,9	C4–C4	349,2	C5–C7	331,8
C2–C4	349,1	C4–C5	332,9	C5–NH ₂	324,6
C2–C5	331,1	C4–C7	345,9	C7–C7	348,7
C2–C7	344,3	C4–NH ₂	336,8	C7–NH ₂	340,8
C2–NH ₂	338,5	C5–C5	318,5	H ₂ N–NH ₂	368,6

Znatno manja oksidabilnost, odnosno, znatno viša E_i katjonskih radikalskih vrsta $[\text{H-6-QNH}_3]^{*3+}$ (**4**, $E_i = 11,39$ eV), $[\text{6-QNH}_3]^{*2+}$ (**5**, $E_i = 10,72$ eV) i $[\text{6-QNH}_2]^{*+}$ (rezonantni hibrid **6**, $E_i = 9,70$ eV) u poređenju sa njihovim roditeljskim vrstama $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$ (**1**), 6-QNH_3^+ (**2**) i 6-QNH_2 (**3**), respektivno (tabela 4.1, shema 3.1) ukazuje na to da su elektrodni potencijali koji odgovaraju jednoelektronskoj oksidaciji katjonskih radikala $[\text{H-6-QNH}_3]^{*3+}$, $[\text{6-QNH}_3]^{*2+}$ i $[\text{6-QNH}_2]^{*+}$ viši u poređenju sa elektrodnim potencijalima koji odgovaraju njihovom formiranju. Energija jonizacije radikala $[\text{6-QNH}]^*$ (**10**, $E_i = 9,12$ eV) je znatno niža u poređenju sa katjonskim radikalskim vrstama ($[\text{H-6-QNH}_3]^{*3+}$, $[\text{6-QNH}_3]^{*2+}$ i $[\text{6-QNH}_2]^{*+}$), što ukazuje na to da se inicijalna dvoelektronska oksidacija 6AQ vrsta dešava na znatno nižem anodnom potencijalu u alkalnom nego u kiselom rastvoru.

Pretpostavlja se da 6AQ, slično drugim arilaminima kao što je anilin, koji ne daje stabilno hinonoidno jedinjenje usled dvoelektronske oksidacije, daje nitrenijum katjon $[\text{6-QNH}]^+$ (**8**, shema 4.1) kao glavni produkt inicijalne, dvoelektronske oksidacije u širokom pH opsegu. Formirani nitrenijum katjon, kao veoma reaktivna elektrofilna vrsta, može dalje reagovati sa neoksidovanim molekulima 6AQ formirajući dimere. Regioselektivnost elektrofilne, aromatične supstitucione reakcije 6-QNH_2 sa nitrenijum katjonom, vođena stabilnošću intermedijera katjonskog dimera (**20**, shema 4.4.) a ne stabilnošću finalnog dimera (**17**, shema 4.4), u skladu sa Hammond-ovim postulatom¹²³, je analizirana AM1/COSMO proračunima.

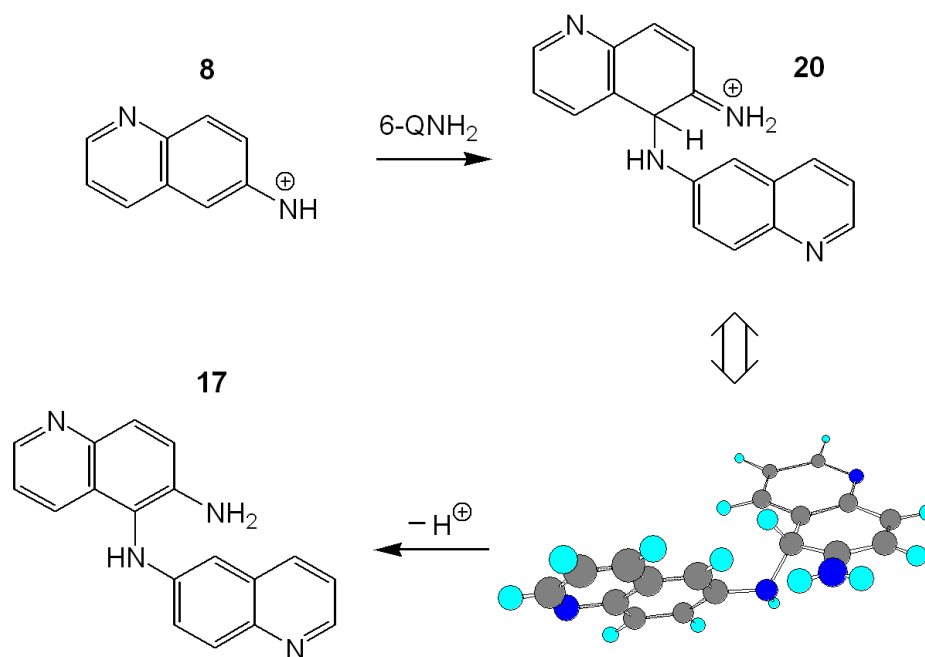
Tabela 4.3. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6AQ dikatjonskog dimer-intermedijera formiranog u reakciji rekombinacije $[6\text{-QNH}]^{\bullet}$ radikala, izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	167,3	C4–C4	166,8	C5–C7	141,3
C2–C4	166,0	C4–C5	145,6	C5–NH	115,4
C2–C5	146,8	C4–C7	160,4	C7–C7	157,8
C2–C7	161,8	C4–NH	135,8	C7–NH	131,9
C2–NH	139,2	C5–C5	126,4	HN–NH	119,5

Tabela 4.4. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6AQ monokatjonskog dimer-intermedijera formiranog u reakciji elektrofilne aromatične supstitucije 6-QNH₂ sa $[6\text{-QNH}]^+$, izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	258,2	C4–C4	256,7	C5–C7	236,6
C2–C4	257,0	C4–C5	237,3	C5–NH	208,9
C2–C5	237,6	C4–C7	251,9	C7–C7	250,8
C2–C7	254,1	C4–NH	228,0	C7–NH	223,2
C2–NH	230,7	C5–C5	221,1	H2N–NH	236,5

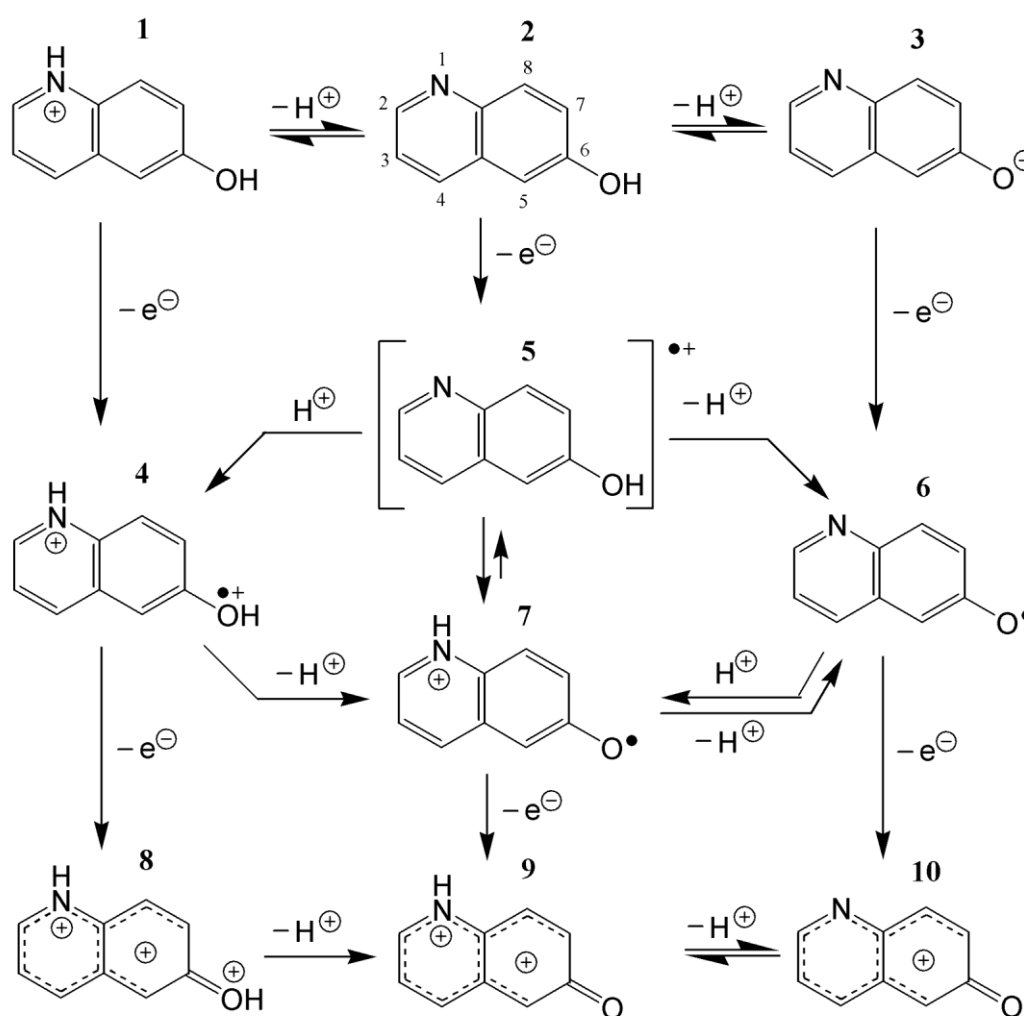
Ovim proračunima je dokazano da je osnovni proizvod reakcije $[6\text{-QNH}]^+$ vrste sa 6-QNH₂ molekulima NH–C5 povezan dimer (tabela 4.4, shema 4.4), koji je, dalje, podvrgnut dvoelektronskoj oksidaciji do odgovarajućih hinonoidnih jedinjenja u različitim kiselinsko-baznim oblicima (**18** i **19**, shema 4.3).



Shema 4.4. Elektrofilna aromatična supstitucionna reakcija 6-QNH₂ i nitrenijum katjona [6-QNH]⁺.

4.2.2 Teorijski aspekti 6HQ

Poznata kiselinsko-bazna ravnoteža 6HQ (**1** → **2**, $pK_{a1} = 5,17$; **2** → **3**, $pK_{a2} = 8,88$; shema 4.5)¹²⁰ ukazuje na to da najpre dolazi do formiranja 6HQ dikatjon radikala, $[H-6-QOH]^{2+}$ (**4**), 6HQ monokatjon radikala, $[6-QOH]^+$ (**5**) i 6HQ neutralnih radikala, $[6-QO]^{\bullet}$ (**6**) usled inicijalne jednoelektronske oksidacije monoprotovanog 6HQ, $[H-6-QOH]^+$ (**1**), neutralnog 6HQ, $[6-QOH]$ (**2**) i deprotonovanog 6HQ, $[6-QO]^{-}$ (**3**), respektivno (shema 4.5).



Shema 4.5. Kiselinsko-bazne ravnoteže 6HQ (**1–3**), jednoelektronski (**4–7**) i dvoelektronski oksidacioni produkti (**8–10**) u vodeno-metanolnom rastvoru.

AM1/COSMO proračuni energije jonizacije (E_i) različitih kiselinsko-baznih formi 6HQ su pokazali da njihova oksidabilnost raste na sledeći način: $[\text{H-6-QOH}]^+$ (**1**, $E_i = 9,52$ eV) < $[\text{6-QOH}]$ (**2**, $E_i = 9,19$ eV) < $[\text{6-QO}]^-$ (**3**, $E_i = 8,18$ eV) (tabela 4.5), što znači da oksidabilnost raste sa porastom pH. Očigledno je da bi $[\text{H-6-QOH}]^{2+}$ vrste (**4**) mogle biti formirane na početku u znatnoj meri samo na visokim oksidacionim potencijalima na $\text{pH} < 5,2$ gde više od 50% 6HQ molekula postoji u monoprotovanom obliku. Nastanak $[\text{6-QOH}]^{++}$ vrsta (**5**) se očekuje u velikoj meri u pH oblasti 5,2 – 8,9 (gde $[\text{6-QOH}]/[\text{H-6-QOH}]^+ \geq 1$ i $[\text{6-QOH}]/[\text{6-QO}]^- \geq 1$), dok je nastanak $[\text{6-QO}]^{\bullet}$ vrsta (**6**) dominantan u oblasti $\text{pH} > 8,9$ ($[\text{6-QO}]^-/[\text{6-QOH}] > 1$). Jednom formirane na površini elektrode, radikalske vrste **4**, **5** i **6** podležu procesima deprotonacije i/ili protonacije u vodeno-metanolnom rastvoru.

Tabela 4.5. Energije jonizacije (E_i) različitih kiselinsko-baznih 6HQ vrsta.

Vrsta	$[\text{H-6-QOH}]^+$	6-QOH	$[\text{6-QO}]^-$	$[\text{H-6-QNH}_3]^{3+}$	$[\text{6-QNH}_3]^{2+}$	$[\text{6-QNH}_2]^{++}$	$[\text{6-QNH}]^{\bullet}$
E_i (eV)	9,52	9,19	8,18	11,39	10,72	9,70	9,12

AM1/COSMO analizom kiselinsko-baznih osobina radikalskih vrsta **4**, **5**, **6** i **7** (shema 4.5) je utvrđeno da je formiranje katjon radikalske vrste **7** ($\Delta H = 132,5$ kcal mol^{-1}), u vodeno-metanolnom rastvoru, u okviru celog ispitivanog pH opsega 2–12, termodinamički povoljnije da se dogodi nego formiranje $[\text{6-QOH}]^{++}$ vrste (**5**) ($\Delta H = 143,0$ kcal mol^{-1}) prilikom praktično ireverzibilne deprotonacije $[\text{H-6-QOH}]^{2+}$ vrste (**4**). Ovo je u skladu sa nedavno objavljenom studijom o visokoj kiselosti fenol katjonskih radikala ($\text{p}K_a = -2,75$).¹²⁴

$[\text{6-QOH}]^{++}$ vrste (**5**) pokazuju neuobičajene kiselinsko-bazne osobine (shema 4.5): one mogu biti ireverzibilno protonovane do $[\text{H-6-QOH}]^{2+}$ (**4**) samo pri super-kiselim uslovima ($\text{pH} < -3$) u nevodenom rastvoru, dok se praktično ireverzibilna deprotonacija do $[\text{6-QO}]^{\bullet}$ (**6**) dešava u baznim, neutralnim, kao i kiselim rastvorima ($\text{pH} \geq 0$). Nastale $[\text{6-QO}]^{\bullet}$ vrste dalje podležu reverzibilnoj deprotonaciji do vrste **7**. Na osnovu strukturne sličnosti između $[\text{H-6-QOH}]^+$ (**1**) i katjon radikalske vrste **7**, može se pretpostaviti da je kiselost vrste **7** prilično slična kiselosti $[\text{H-6-QOH}]^+$, na primer, $\text{p}K_{a(7)}$

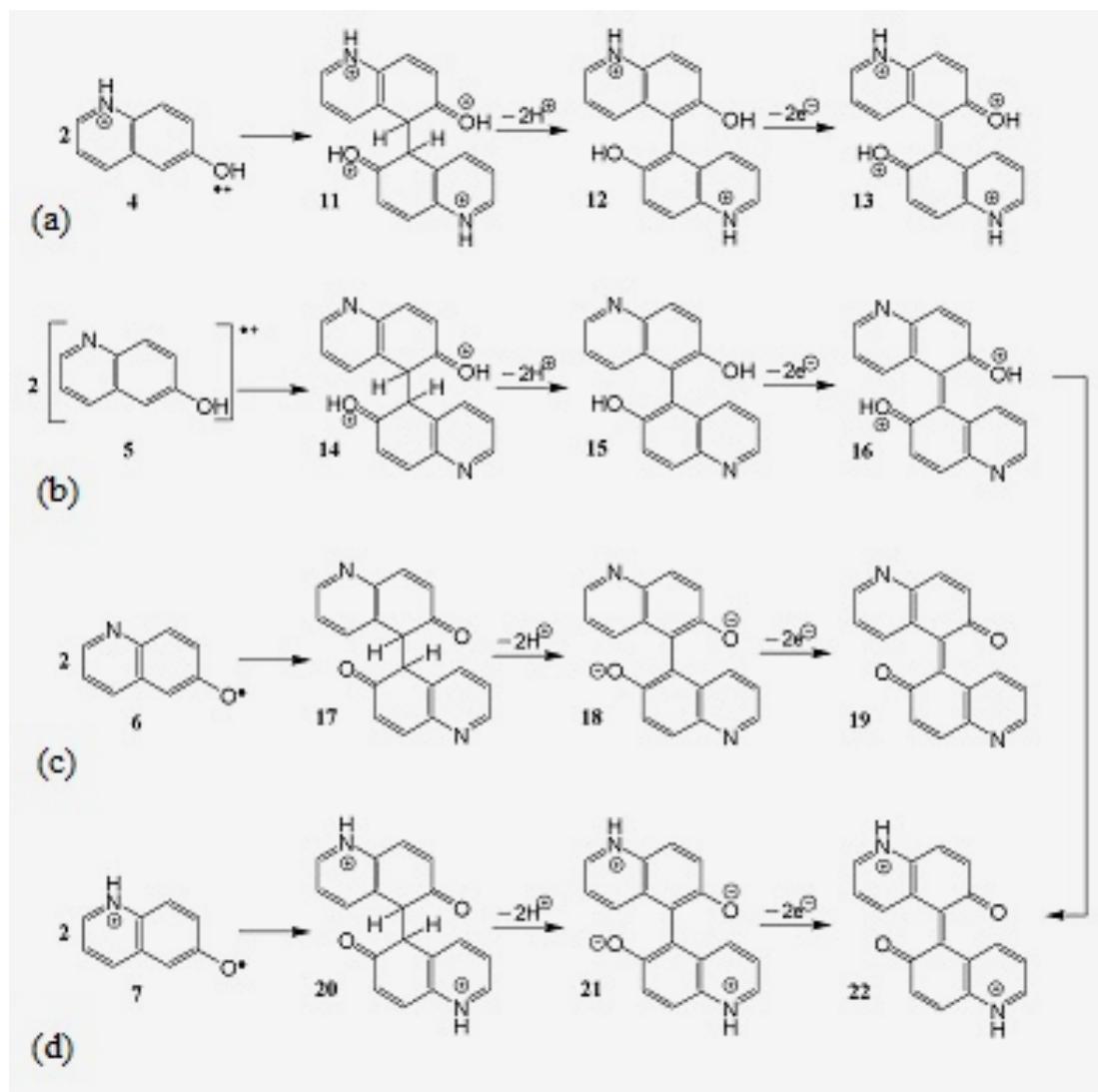
se očekuje da bude ~ 5. U skladu sa tim, pretpostavlja se da u blizini elektrode, pri pH < 5, dominiraju katjon radikalske vrste **7**, dok pri pH > 5 dominiraju [6-QO][•] radikalske vrste (**6**). Može se zaključiti da, u zavisnosti od kiselosti ispitivanog rastvora, reakcije rekombinacije reaktivnih radikalskih vrsta **6** i/ili **7** predstavljaju glavne puteve 6HQ dimerizacije.

Regioselektivnost formiranja 6HQ dimera rekombinacijom [H-6-QOH]²⁺, [6-QOH]^{•+}, [6-QO][•] i radikalskih vrsta **7** je analizirana AM1/COSMO metodom. U skladu sa Hammond-ovim postulatom¹²³, regioselektivnost ovih reakcija nije kontrolisana stabilnošću finalnih produkata (**12**, **15**, **18** i **21**, shema 4.6) već stabilnošću intermedijera (**11**, **14**, **17** i **20**, shema 4.6) koji su strukturno slični prelaznim stanjima odgovarajućih vrsta.

Pokazano je da je C5–C5 povezivanje dominantan 6HQ dimerizacioni put i u kiselim i baznim rastvorima, na primer, u slučaju reakcija rekombinacija [H-6-QOH]²⁺ (shema 4.6a, tabela 4.6), [6-QOH]^{•+} (shema 4.6b, tabela 4.7) i [6-QO][•] (shema 4.6c, tabela 4.8), kao i u slučaju rekombinacije katjon radikalskih vrsta **7** (shema 4.6d, tabela 4.9).

Tabela 4.6. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6HQ tetrakatjonskih intermedijernih dimera formiranih rekombinacijom radikala [H-6QOH]²⁺, izračunate AM1/COSMO metodom.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	529,2	C4–C4	523,7	C5–C7	489,6
C2–C4	529,1	C4–C5	511,7	C5–O	524,8
C2–C5	511,5	C4–C7	509,7	C7–C7	497,9
C2–C7	513,7	C4–O	526,8	C7–O	522,5
C2–O	535,4	C5–C5	488,4	O–O	511,9



Shema 4.6. Formiranje C5–C5 povezanog 6HQ dimera u različitim kiselinsko-baznim formama (**12**, **15**, **18** i **21**) rekombinacijom 6HQ radikala (**4**, **5**, **6** i **7**). Dvoelektronska oksidacija 6HQ dimera do odgovarajućih hinonoidnih jedinjenja različitim kiselinsko-baznih formi (**13**, **16**, **19** i **22**). Najstabilniji intermedijeri dobijeni reakcijom rekombinacije 6HQ radikala **4**, **5**, **6** i **7** su označeni sa **11**, **14**, **17** i **20**, respektivno.

Dvoelektronska oksidacija 6HQ dimera nastalih C5–C5 kuplovanjem različitih kiselinsko-baznih formi (**12**, **15**, **18** i **21**, shema 2), koji su oksidabilniji od njima odgovarajućih 6HQ kiselinsko-baznih formi, kao što je ustanovljeno AM1/COSMO proračunima E_i , vodi ka formiranju odgovarajućih hinonskih jedinjenja u različitim

kiselinsko-baznim oblicima (**13**, **16**, **19** i **22**, shema 4.6). Ovaj složeni elektro-oksidacioni proces predstavlja dvoelektronski transfer po jednom 6HQ molekulu.

Tabela 4.7. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6HQ dikatjonskog dimernog intermedijera formiranog reakcijom rekombinacije radikala $[6HQ]^{++}$, izračunate AM1/COSMO metodom.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	295,7	C4–C5	285,0	C5–O	310,7
C2–C4	295,3	C4–C7	289,8	C7–C7	287,0
C2–C5	283,7	C4–N	275,4	C7–N	273,3
C2–C7	288,5	C4–O	310,5	C7–O	312,2
C2–N	277,6	C5–C5	265,3	N–O	347,8
C2–O	313,9	C5–C7	278,6	N–N	286,6
C4–C4	295,7	C5–N	267,9	O–O	298,2

Tabela 4.8. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6HQ dimer intemedijera formiranih rekombinacijom $[6-QO]^*$, izračunate AM1/COSMO metodom.

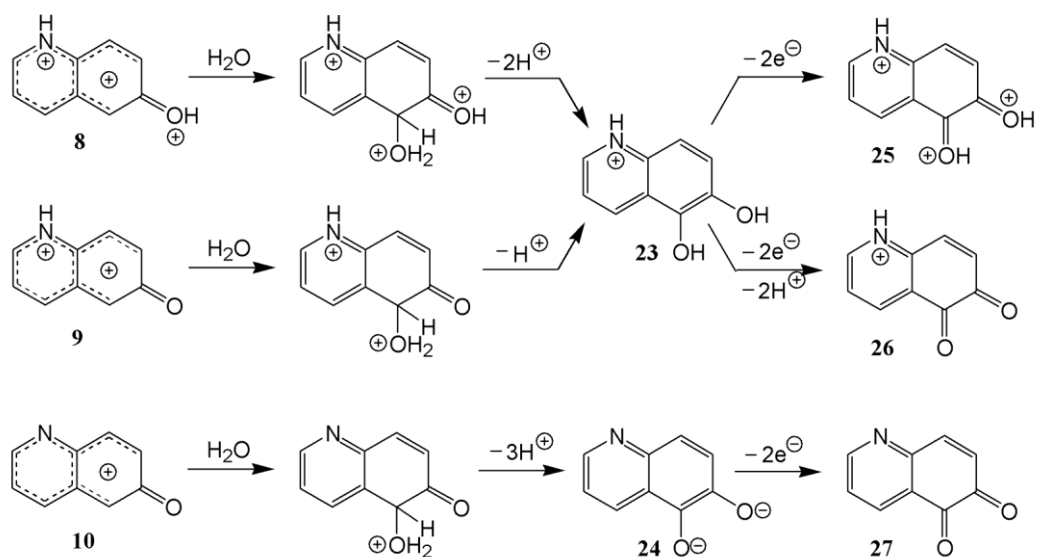
Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	64,5	C4–C5	43,3	C5–O	29,9
C2–C4	64,0	C4–C7	56,9	C7–C7	50,6
C2–C5	44,1	C4–N	62,4	C7–N	57,5
C2–C7	57,1	C4–O	50,3	C7–O	44,6
C2–N	65,5	C5–C5	23,7	N–O	85,1
C2–O	53,0	C5–C7	36,8	N–N	96,2
C4–C4	63,1	C5–N	43,1	O–O	96,1

Tabela 4.9. Toplote nastajanja, ΔH_f , 6HQ dimer intermedjera formiranog rekombincijom katjon radikalske vrste **7**, izračunate AM1/COSMO metodom.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	280,6	C4–C4	152,6	C5–C7	240,5
C2–C4	276,6	C4–C5	252,6	C5–O	232,6
C2–C5	254,4	C4–C7	265,9	C7–C7	146,4
C2–C7	265,6	C4–O	256,0	C7–O	246,2
C2–O	258,2	C5–C5	129,9	O–O	297,2

Semi-empirijskim kvantnohemijskim proračunima je pokazano da je oksidabilnost radikal/katjon radikal vrsta (**4**, **5**, **6** i **7**, shema 4.5) znatno niža u poređenju sa njihovim roditeljskim molekulskim vrstama (**1**, **2** i **3**, shema 4.5). Ovo ukazuje na činjenicu da su potencijali oksidacije koji odgovaraju formiranju 6HQ fenoksonijum katjona u različitim kiselinsko-baznim formama ([H-6-QOH]³⁺ (**8**), [6-QOH]²⁺ (**9**) i [6-QO]⁺ (**10**), shema 4.5) viši u pređenju sa potencijalima oksidacije koji odgovaraju formiranju radikal/katjon radikal vrsta **4**, **5** i **6**, respektivno. Formirani 6HQ fenoksonijum katjon koji je veoma reaktivna elektrofilna vrsta, može dalje reagovati sa neoksidovanim 6HQ vrstama, molekulom vode ili molekulom metanola formirajući 6HQ dimere, dihidroksi hinoline i metoksihidroksi hinoline, respektivno.

AM1/COSMO studija reakcija između različitih kiselinsko-baznih formi 6HQ fenoksonijum katjona i molekula vode ukazuje na to da uglavnom dolazi do formiranja 5,6-dihidroksi hinolina i u kiselom i u baznom rastvoru (**23** i **24**, shema 4.7, tabela 4.10). 5,6-Dihidroksi hinolin ima nižu E_i od 6HQ molekula, kako je određeno AM1/COSMO proračunima, tako da veoma često biva podvrgnut dvoelektronskoj oksidaciji do odgovarajućeg hininoidnog produkta u različitim kiselinsko-baznim formama (**25–27**, shema 4.7) u zavisnosti od pH sredine. Pomenuti proračuni ukazuju, takođe, na dominantno formiranje 5-metoksi-6-hidroksihinolina i u kiselim i u baznim rastvorima (tabela 4.11) pri reakcijama između različitih kiselinsko-baznih oblika 6HQ fenoksonijum katjona i molekula metanola.



Shema 4.7. Formiranje 5,6-dihidroksihinolina u monoprotonovanom (23) i deprotonovanom obliku (24) u reakciji različitih kiselinsko-baznih formi 6HQ fenoksonijum katjona (8–10) sa molekulom vode. Prikazana je i dvoelektronska oksidacija prethodno formiranih 5,6-dihidroksihinolina do odgovarajućih hihonoidnih jedinjenja u različitim kiselinsko-baznim formama (25–27).

Tabela 4.10. Toplote nastajanja, ΔH_f , intermedijera formiranih reakcijom različitih kiselinsko-baznih formi fenoksonijum katjona ($[\text{H-6-QOH}]^{3+}$, $[\text{6-QOH}]^{2+}$ i $[\text{6-QO}]^+$) i molekula vode, izračunate AM1/COSMO metodom.

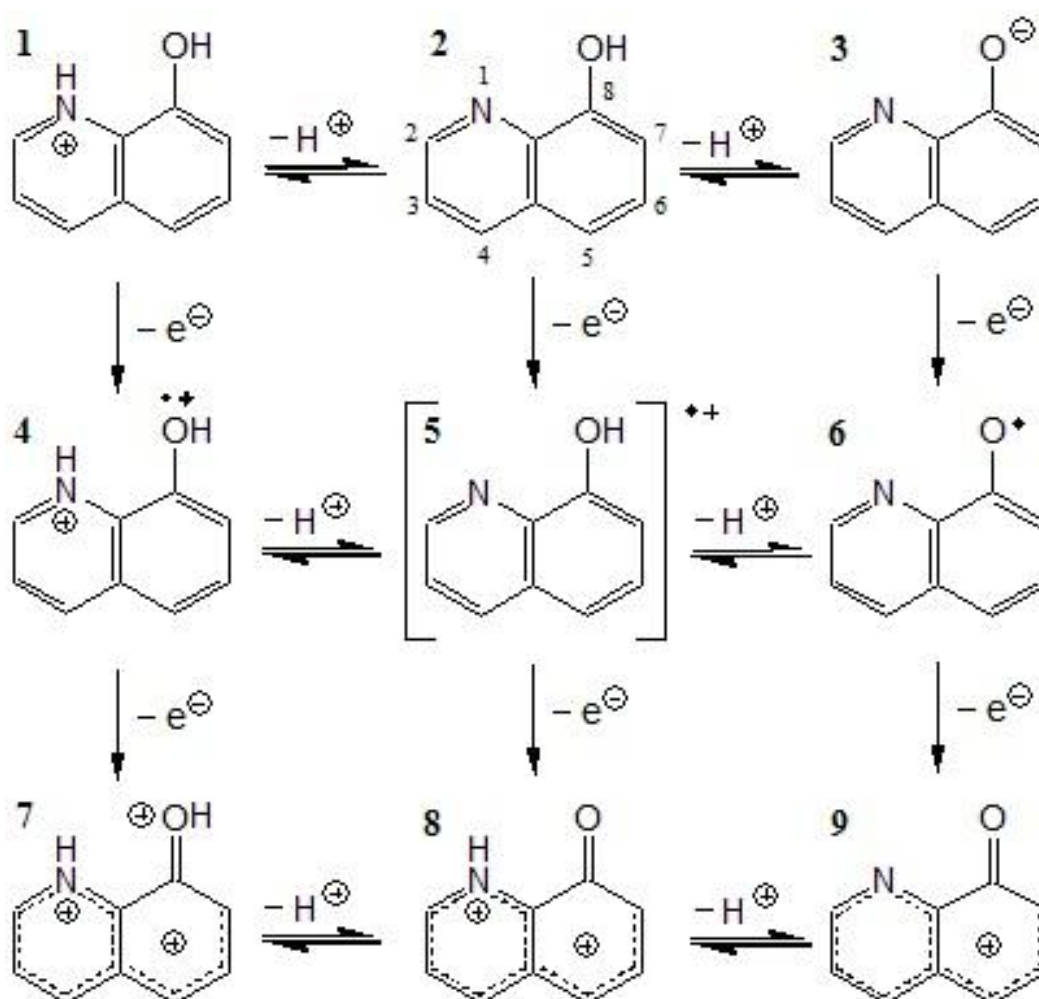
Način povezivanja $[\text{H-6-QOH}]^{3+} + \text{H}_2\text{O}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja $[\text{6-QOH}]^{2+} + \text{H}_2\text{O}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja $[\text{6-QO}]^+ + \text{H}_2\text{O}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2-O	345,3	C2-O	217,4	C2-O	108,1
C4-O	339,9	C4-O	213,0	C4-O	106,2
C5-O	320,9	C5-O	192,0	C5-O	87,4
C7-O	334,0	C7-O	205,1	C7-O	103,6

Tabela 4.11. Toplote nastajanja, ΔH_f , intermedijera formiranih reakcijom različitih kiselinsko-baznih formi fenoksonijum katjona ($[\text{H-6-QOH}]^{3+}$, $[\text{6-QOH}]^{2+}$ i $[\text{6-QO}]^+$) i molekula metanola, izračunate AM1/COSMO metodom.

Način povezivanja $[\text{H-6-QOH}]^{3+} + \text{MeOH}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja $[\text{6-QOH}]^{2+} + \text{MeOH}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja $[\text{6-QO}]^+ + \text{MeOH}$	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2-O	358,1	C2-O	229,4	C2-O	118,1
C4-O	354,3	C4-O	224,6	C4-O	117,4
C5-O	332,5	C5-O	205,0	C5-O	98,8
C7-O	345,2	C7-O	217,5	C7-O	114,6

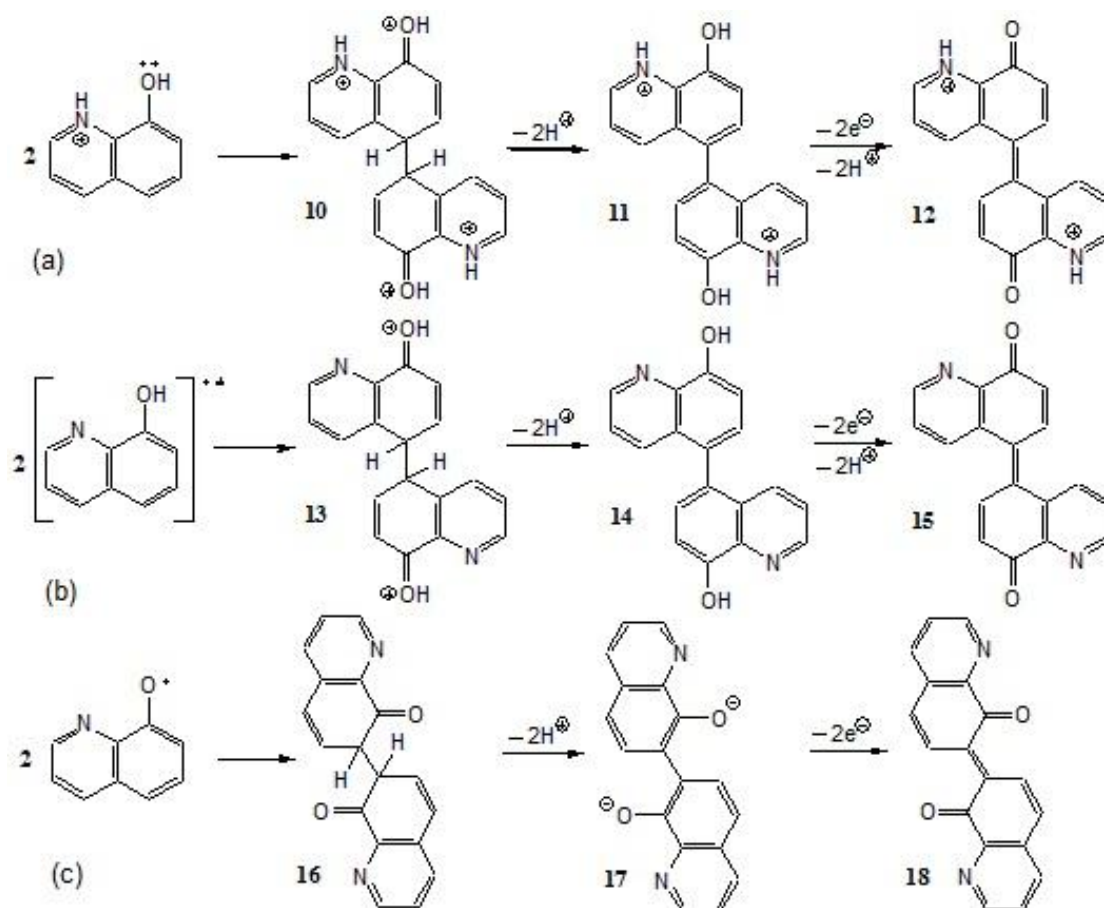
4.2.3. Teorijski aspekti 8HQ

Poznata kiselinsko-bazna ravnoteža 8HQ ($1 \rightarrow 2$, $pK_{a1} = 4,85$; $2 \rightarrow 3$, $pK_{a2} = 9,95$,¹²¹ shema 4.8) ukazuje na to da na početku dolazi do formiranja monoprotovanih 8HQ dikatjon radikala $[H-8-QOH]^{2+}$ (**4**), 8HQ monokatjon radikala $[8-QOH]^{+}$ (**5**) i deprotonovanih 8HQ neutralnih radikala $[8-QO]^\bullet$ (**6**) u toku jednelektronske oksidacije monoprotovanih 8HQ vrsta, $[H-8-QOH]$ (**1**), neutralnih 8HQ vrsta, $[8-QOH]$ (**2**) i deprotonovanih 8HQ vrsta $[8-QO]^-$ (**3**), respektivno (shema 4.8).



Shema 4.8. Kiselinsko-bazna ravnoteža 8HQ vrsta (**1–3**) i njegovih jednelektronskih (**4–6**) i dveelektronskih (**7–9**) oksidacionih produkata.

AM1/COSMO kompjuterskim proračunima energije jonizacije (E_i) različitih kiselinsko-baznih 8HQ vrsta pokazano je da oksidabilnost 8HQ raste na sledeći način: monoprotinovani 8HQ ([H-8-QOH]) ($E_i = 9,37$ eV) < neutralani 8HQ ([8-QOH]) ($E_i = 9,07$ eV) < deprotonovani 8HQ ([8-QO]) ($E_i = 8,03$ eV). Zaključuje se da oksidabilnost 8HQ raste sa porastom pH.



Shema 4.9. Formiranje 8HQ dimera (**11**, **14** i **17**) rekombinacijom radikala i njihova dvoelektronska oksidacija.

Regioselektivnost 8HQ dimera formiranih rekombinacijom $[H-8-QOH]^{2+}$, $[8-QOH]^{+}$ i $[8-QO]^{\bullet}$ je analizirana AM1/COSMO metodom. U skladu sa Hammond-ovim postulatom,¹²³ regioselektivnost ovih reakcija nije kontrolisana stabilnošću krajnjih produkata (**11**, **14** i **17**, shema 4.9) već stabilnošću intermedijera (**10**, **13** i **16**, shema 4.9) koji su strukturno slični odgovarajućim prelaznim stanjima.

Pokazano je da je C5–C5 povezivanje dominantan put dimerizacije u slučaju [H-8-QOH]²⁺ reakcije rekombinacije u kiselom vodenom rastvoru (shema 4.9, tabela 4.12), kao i u slučaju [8-QOH]⁺ rekombinacije (shema 4.9, tabela 4.13). Pronađeno je da su C7–C7 povezani 8HQ dimeri, koji su praćeni C5–C5 povezanim 8HQ dimerima, dominantni u slučaju rekombinacije [8-QO)]^{*} koja se dešava u alkalnom rastvoru (shema 4.9, tabela 4.14).

Tabela 4.12. Toplote nastajanja, ΔH_f , 8HQ tetrakatskih dimer-intermedijera formiranih u reakciji rekombinacije radikala [H-8OHQ]^{•2+} izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	554,1	C4–C4	541,4	C5–C7	489,6
C2–C4	551,3	C4–C5	511,3	C5–O	521,4
C2–C5	525,6	C4–C7	522,0	C7–C7	500,3
C2–C7	525,7	C4–O	543,5	C7–O	531,3
C2–O	587,0	C5–C5	487,2	O–O	571,4

Tabela 4.13. Toplote nastajanja, ΔH_f , 8HQ dikatskih dimer-intermedijera formiranih u reakciji rekombinacije radikala [8OHQ]^{•+} izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	303,1	C4–C5	281,3	C5–O	297,5
C2–C4	302,5	C4–C7	285,2	C7–C7	276,9
C2–C5	282,4	C4–N	284,9	C7–N	266,6
C2–C7	289,4	C4–O	314,8	C7–O	302,8
C2–N	288,2	C5–C5	264,0	N–O	347,5
C2–O	318,0	C5–C7	265,9	N–N	293,3
C4–C4	300,4	C5–N	264,9	O–O	346,1

Dvoelektronska oksidacija prethodno formiranih 8HQ dimera, koji su oksidabilniji od početnih 8HQ vrsta ($[H-8-QOH]$, $[8-QOH]$ i $[8-QO]^-$) vodi ka formiranju odgovarajućih hinonskih jedinjenja (**12**, **15** i **18**, shema 4.9). U skladu sa tim, predlaže se da je inicijalna, jednoelektronska oksidacija 8HQ, koja se događa na relativno niskom potencijalu, u širokoj pH oblasti, i koja najpre vodi formiranju odgovarajućih slobodnoradikalskih vrsta, praćena dimerizacijom tih vrsta, pri čemu nastaju odgovarajući 8HQ dimeri, koji se, zatim, dvoelektronski oksiduju do odgovarajućih hinonoidnih jedinjenja.

Tabela 4.14. Toplote nastajanja, ΔH_f , 8HQ dimer-intermedijera formiranih u reakciji rekombinacije radikala $[8HQ(-H)]^\bullet$, izračunate koristeći AM1/COSMO metod.

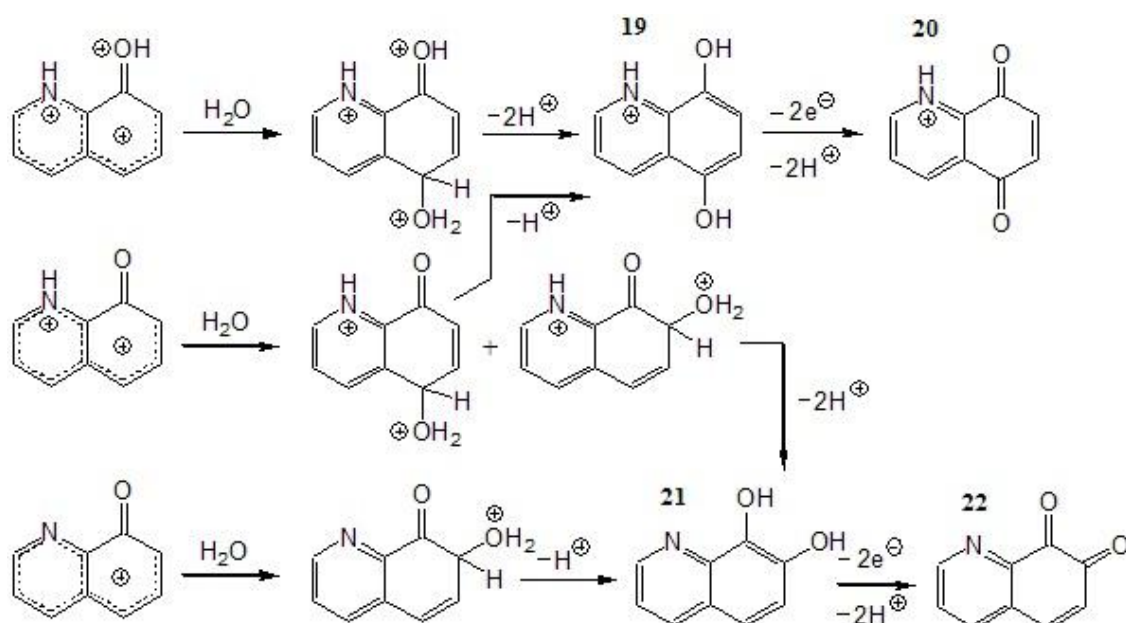
Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹	Način povezivanja	ΔH_f kcal mol ⁻¹
C2–C2	67,8	C4–C5	43,0	C5–O	33,1
C2–C4	64,2	C4–C7	45,2	C7–C7	21,2
C2–C5	43,6	C4–N	72,8	C7–N	45,5
C2–C7	47,8	C4–O	53,5	C7–O	33,1
C2–N	71,1	C5–C5	22,1	N–O	90,4
C2–O	56,2	C5–C7	24,2	N–N	101,7
C4–C4	63,5	C5–N	47,0	O–O	100,6

Znatno manja oksidabilnost radikal/katjon radikal vrsta (**4**, **5** i **6**, shema 4.8) u poređenju sa roditeljskim 8HQ molekulskim vrstama (**1**, **2** i **3**, shema 4.8), što je pokazano semi-empirijskim AM1/COSMO proračunima, ukazuje na to da su vrednosti za oksidacione potencijale koji odgovaraju formiranju 8HQ fenoksonijum katjona **7**, **8** i **9** (shema 4.8) više u poređenju sa oksidacionim potencijalima koji odgovaraju formiranju radikal/katjon radikal vrsta **4**, **5** i **6**, respektivno.

Rezultujući 8HQ fenoksonijum katjoni, kao visokoreaktivne elektrofilne vrste mogu reagovati sa neoksidovanim 8HQ molekulima i molekulima vode formirajući 8HQ dimere i dihidroksihinoline, respektivno. AM1/COSMO računski studija reakcija između različitih kiselinsko-baznih formi 8HQ fenoksonijum katjona i molekula vode ukazuje na to da uglavnom dolazi do formiranja 5,8-dihidroksihinolina (**19**) u kiselom

rastvoru i 7,8-dihidroksihinolin (**21**) u baznom vodenom rastvoru (shema 4.10). Dvoelektronska oksidacija prethodno formiranog dihidroksihinolina, koji je oksidabilniji od 8HQ, vodi ka formiranju odgovarajućih jedinjenja tipa naftohinon-a (**20** i **22**, shema 4.10).

Na osnovu semi-empirijskih kvantohemijskih proračuna predloženo je da se nastajanje 8HQ fenoksonijum katjona, koje je praćeno složenim hemijskim/elektrohemijskim procesima, dešava na oksidacionim potencijalima većim od 1,2 V u vodenim rastvorima za pH opseg 2–12. Očekuje se, takođe, da formiranje 8HQ fenoksonijum katjona zavisi od pH, slično formiranju odgovarajućih 8HQ radikal/katjon radikal vrsta.



Shema 4.10. Reakcije različitih kiselinsko-baznih formi 8HQ fenoksonijum katjona sa vodom.

4.3. VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE I ODREĐIVANJE ISPITIVANIH HINOLINA

4.3.1. Ciklična voltametrija

U cilju razumevanja procesa elektrohemijske oksidacije hinolina na GCPE, snimljeni su ciklovoltamogrami u opsegu potencijala 0,0–1,2 V ili širem, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v) pH = 2–12, pri različitim brzinama polarizacije, kao i kontinualni ciklovoltamogrami.

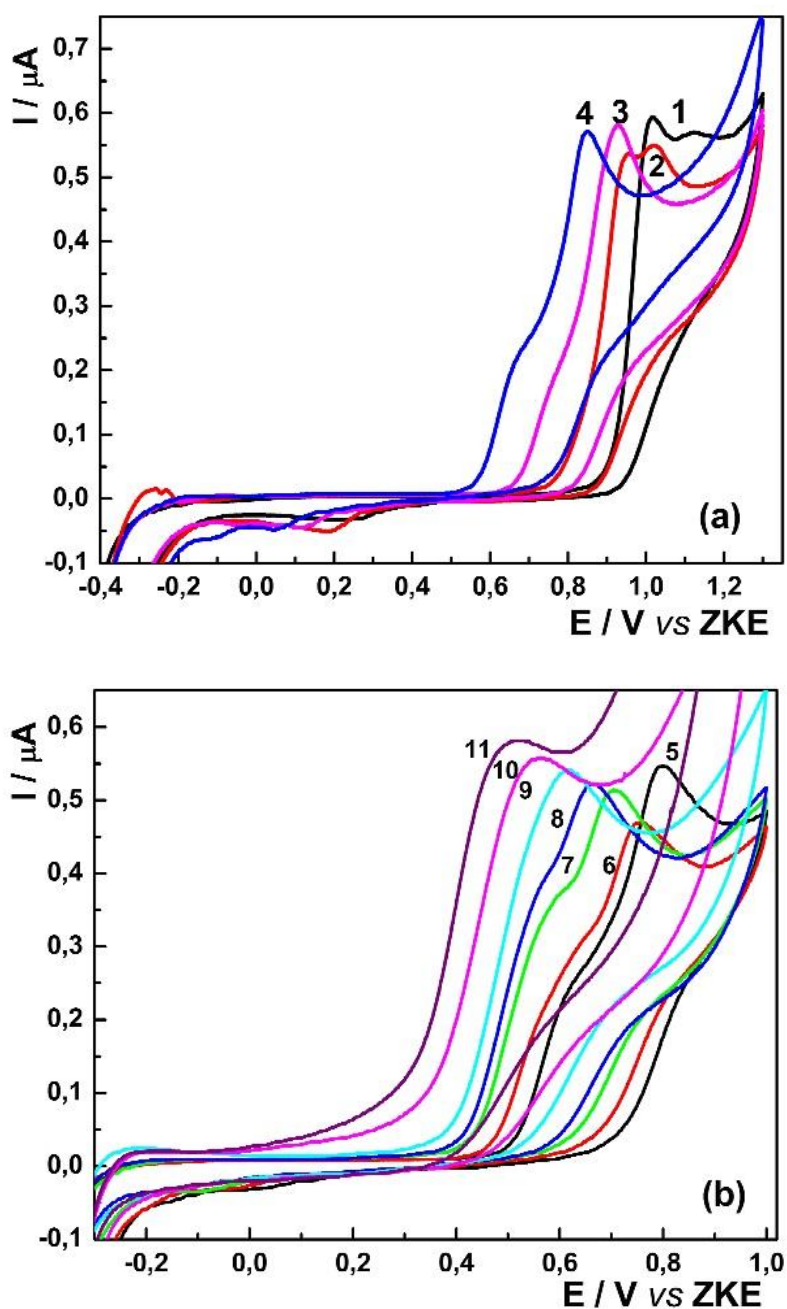
4.3.1.1. Uticaj pH na ciklovoltametrijsko ponašanje 6AQ

Na slici 4.4a i b su prikazani ciklični voltamogrami 6AQ, dobijeni na čistoj GCPE, na osnovu kojih se može zaključiti sledeće:

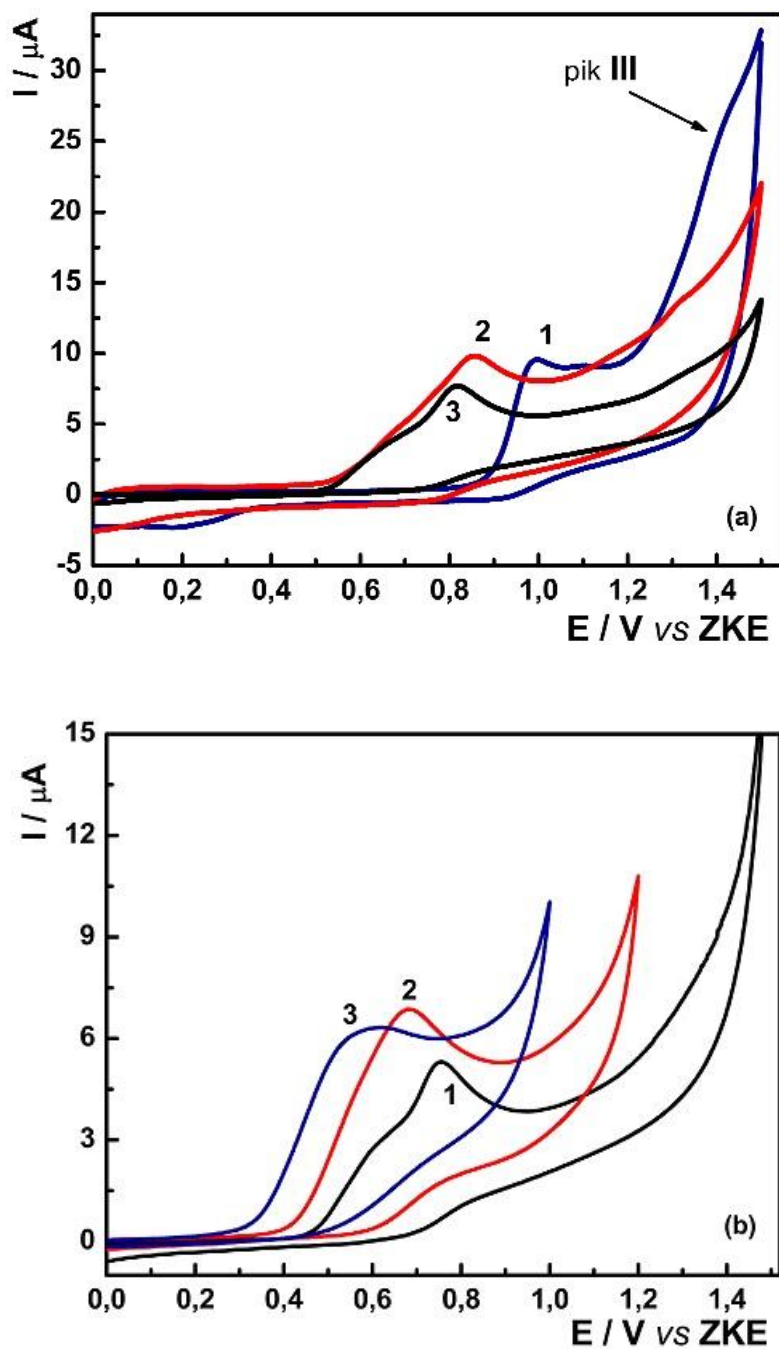
- (1) na pH = 2 i pH = 3, u opsegu potencijala 0,9–1,2 V, 6AQ daje dva slabo razdvojena anodna pika;
- (2) u opsegu $4 \leq \text{pH} \leq 9$, u opsegu potencijala 0,5–0,9 V, slika 4.4a i b, krive 3–8, 6AQ daje jedan pik, kao i "rame pika" koje se javlja na nižem potencijalu u odnosu na dati pik. Sa porastom pH osnovnog elektrolita intenzitet "ramena pika" raste, da bi se na pH = 10 skoro izjednačio sa osnovnim pikom;
- (3) u opsegu $10 \leq \text{pH} \leq 12$, u opsegu potencijala 0,4–0,7 V slika 4.4a i b, krive 9–11, zapaža se samo jedan široki pik;
- (4) sa porastom pH osnovnog elektrolita potencijal/i pika/ova se pomera/ju ka nižim vrednostima potencijala.

Na osnovu cikličnih voltamograma 6AQ koji su snimani u širem opsegu potencijala u odnosu na prethodni, 0,0–1,5 V, u osnovnom elektrolitu pH = 2–12, slika 4.5, može zaključiti sledeće:

- (5) pri pH ≤ 6 , slika 4.5a, pored dva jasno izražena anodna pika, javlja se i treći anodni pik na potencijalu $> 1,2$ V;
- (6) pri pH > 6 , slika 4.5b, na potencijalu $> 1,2$ V ne pojavljuje se treći pik.

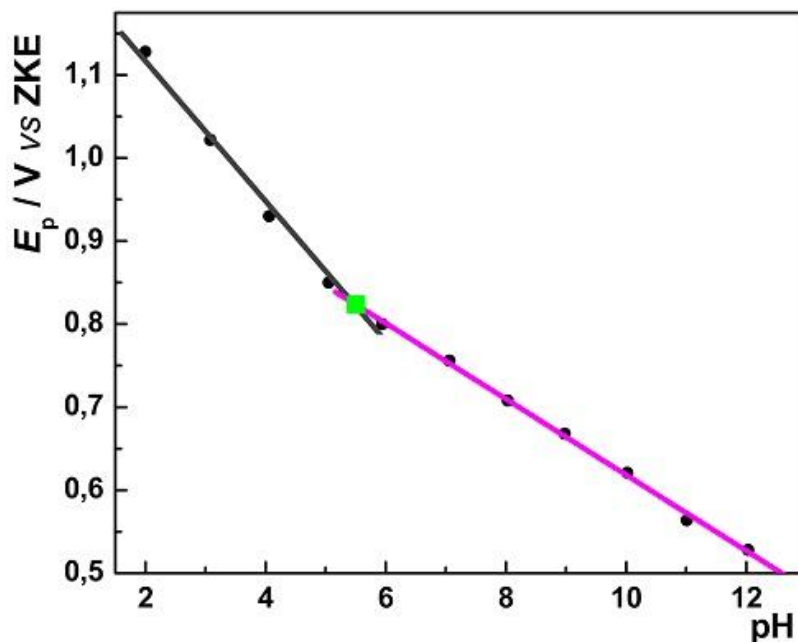


Slika 4.4. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6AQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH (a): 2,00 (1); 3,08 (2); 4,06 (3); 5,05 (4); (b): 5,94 (5); 7,06 (6); 8,03 (7); 8,98 (8); 10,02 (9); 11,01 (10); 12,03 (11); $v = 5$ mV/s.



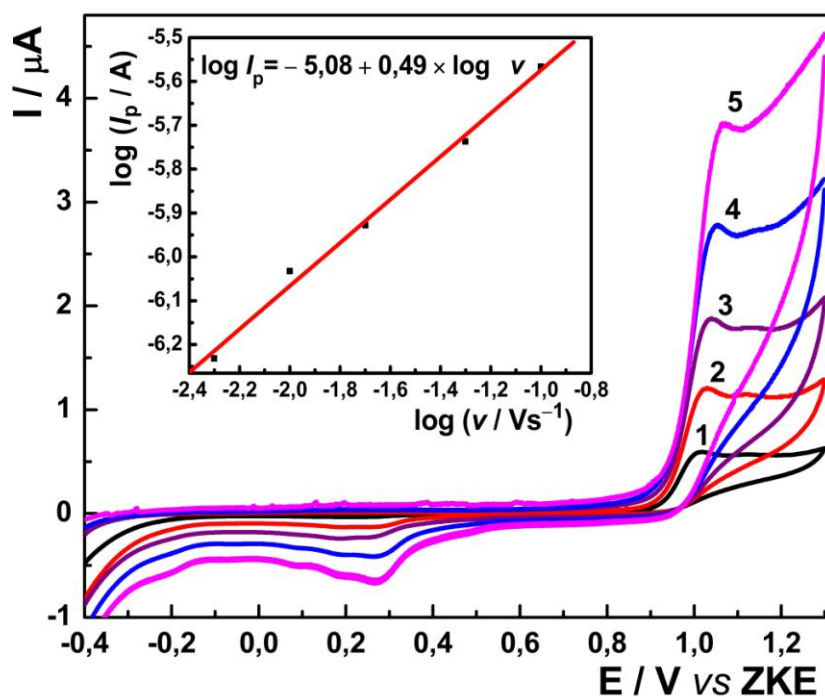
Slika 4.5. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6AQ snimljeni u širem opsegu potencijala, do 1,5 V vs. ZKE, na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), $v = 5$ mV/s, pH (a): 2,00 (1), 5,05 (2), 5,94 (3); Strelice pokazuju pik III koji se javlja na $E > 1,2$ V ; (b): 7,06 (1); 8,98 (2); 12,03 (3).

Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal prvog anodnog CV pika (E_{pa}) prikazan je na slici 4.6. Može se zaključiti da je E_{pa} –pH zavisnost linearna u celom ispitivanom pH opsegu, sa jednom promenom koeficijenta pravca.



Slika 4.6. Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal prvog CV pika; $v = 5$ mV/s; 6AQ koncentracija 1×10^{-4} M. Zeleni kvadrat predstavlja pK_{a2} 6AQ.

Na slici 4.7 dati su ciklični voltamogrami 6AQ snimljeni pri različitim brzinama polarizacije. Zavisnost logaritma struje CV pika od logaritma brzine skeniranja, $\log I_p = f(\log v)$, je linearna (slika 4.7, isečak), gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9966$ a nagib 0,492.

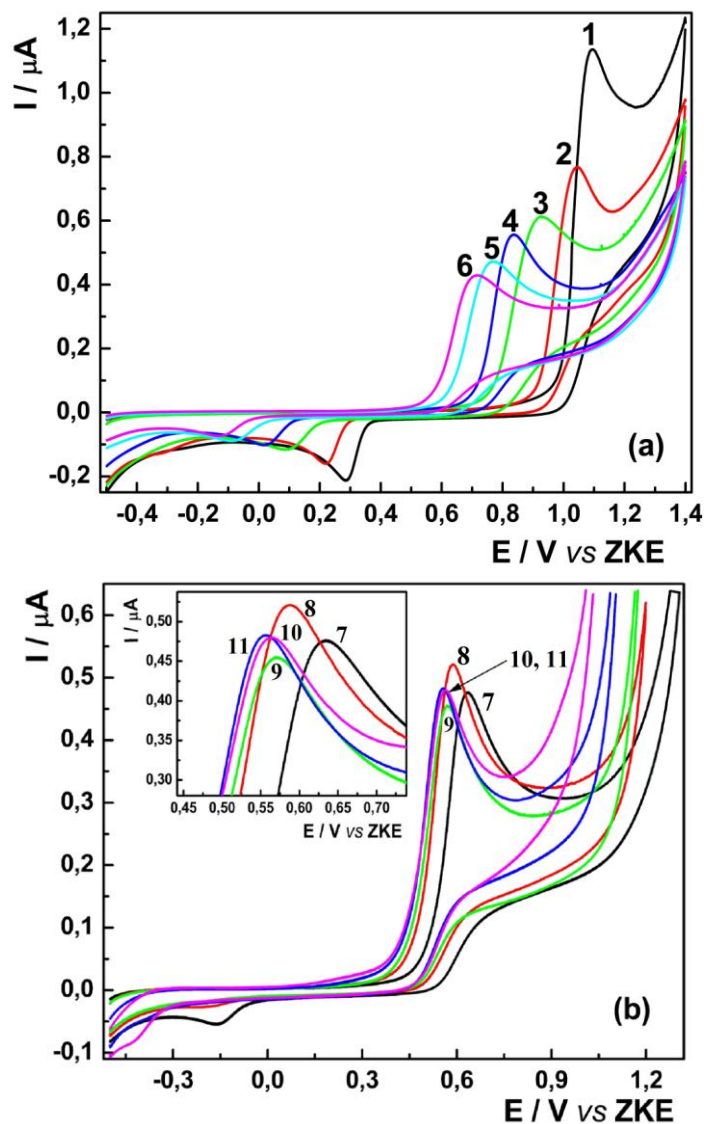


Slika 4.7. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6AQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR buffer/metanol, 80:20 (v/v), pH 2,00, pri različitim brzinama skeniranja: 5 mV/s (1); 20 mV/s (2); 50 mV/s (3); 100 mV/s (4); 200 mV/s (5). Zavisnost logaritma struje prvog, anodnog CV pika, $\log I_p$, od logaritma brzine skeniranja, $\log v$, data je u isečku.

4.3.1.2. Uticaj pH na ciklovoltametrijsko ponašanje 6HQ

Na slikama 4.8a i b i 4.9a i b su prikazani ciklični voltamogrami 6HQ, dobijeni na čistoj GCPE, na osnovu kojih se može zaključiti sledeće:

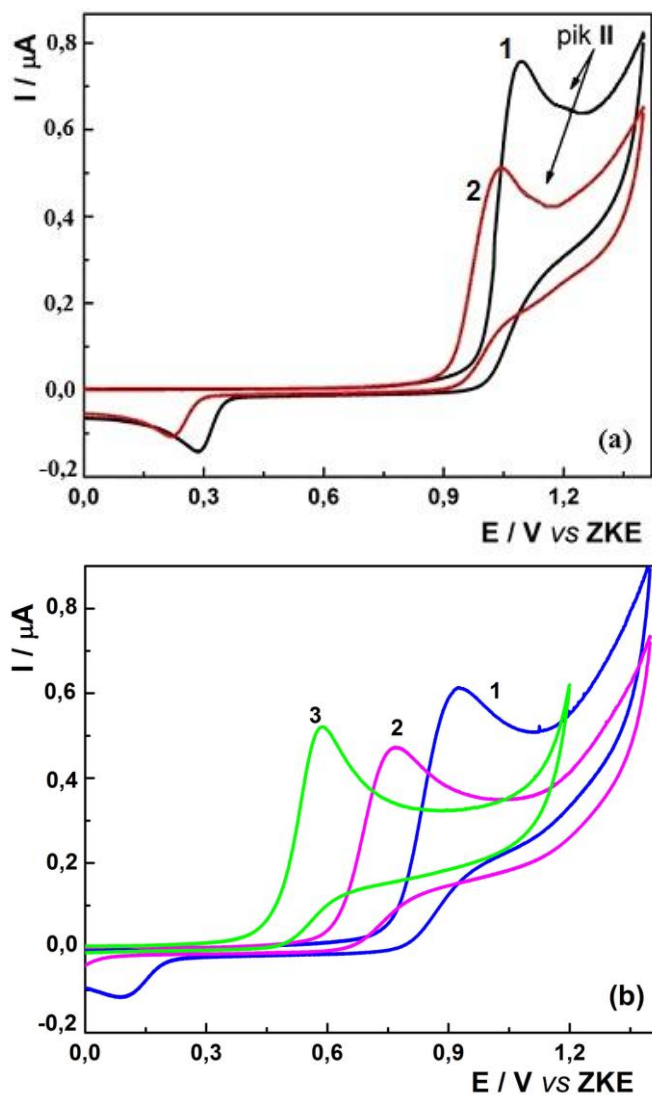
- (1) pri brzini polarizacije 50 mV/s, slika 4.8a i b, krive 1–11 javlja se samo jedan anodni pik u okviru celog ispitivanog pH opsega 2–12;



Slika 4.8. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6HQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20% (v/v), pH (a): 2,00 (1); 2,95 (2); 3,99 (3); 4,96 (4); 6,03 (5); (b): 7,10 (6); 8,09 (7); 9,00 (8); 9,95 (9); 11,05 (10); 11,93 (11); $v = 50$ mV/s.

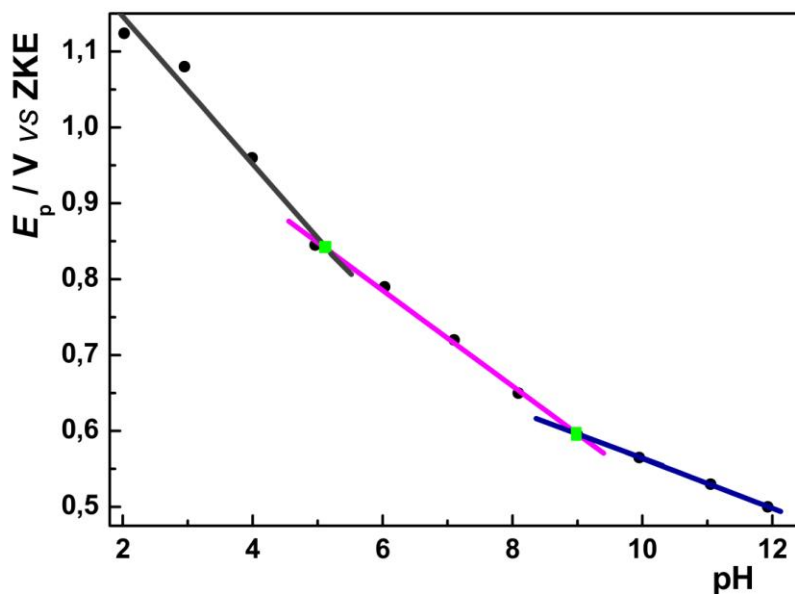
(2) pri brzini polarizacije 10 mV/s, slika 4.9a i b, pri:

- $\text{pH} \leq \sim 3$ posle glavnog oksidacionog pika, javlja se mali pik
- $\text{pH} > \sim 3$ posle glavnog oksidacionog pika, nema pojave malog pika.



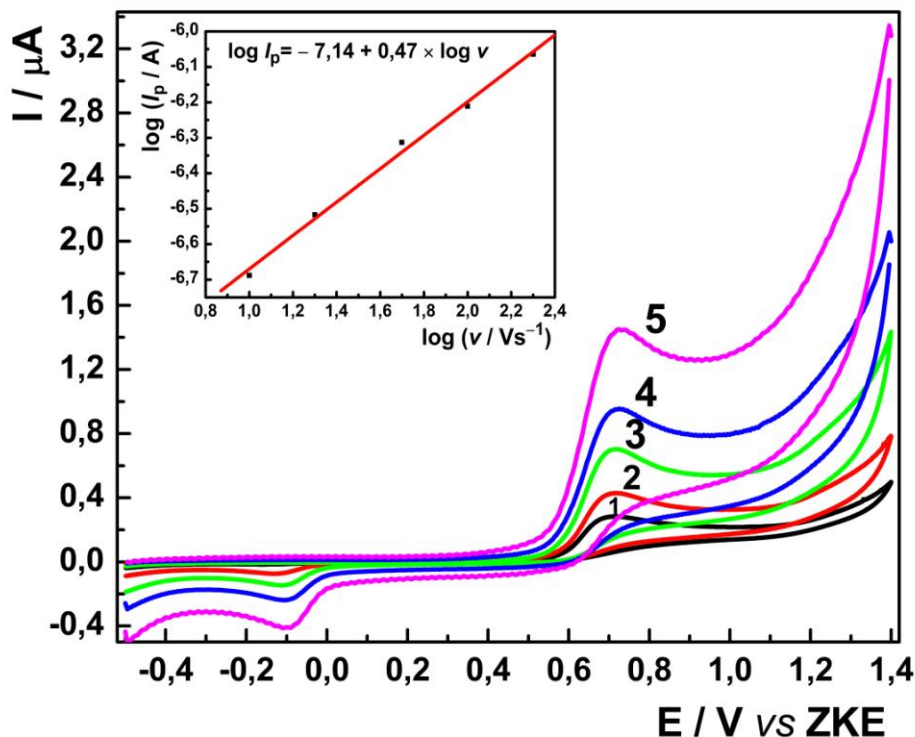
Slika 4.9. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6HQ snimljeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), $v = 10$ mV/s, pH **(a)**: 2,00 (1), 2,95 (2); **(b)**: 3,99 (1); 6,03 (2); 9,00 (3).

Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal glavnog anodnog CV pika (E_{pa}) prikazan je na slici 4.9. Može se zaključiti da je E_{pa} –pH zavisnost linearna u celom ispitivanom pH opsegu, sa dve promene koeficijenta pravca.



Slika 4.10. Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal glavnog CV pika; $v = 100$ mV/s; 6HQ koncentracija 1×10^{-4} M. Zeleni kvadrati predstavljaju 6HQ pK_{a1} i pK_{a2} (s leva na desno).

Na slici 4.11 dati su ciklični voltamogrami 6HQ snimljeni pri različitim brzinama polarizacije. Zavisnost logaritma struje CV pika od logaritma brzine skeniranja, $\log I_p = f(\log v)$, je linearna (slika 4.11, isečak), gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9971$, a nagib 0,47.

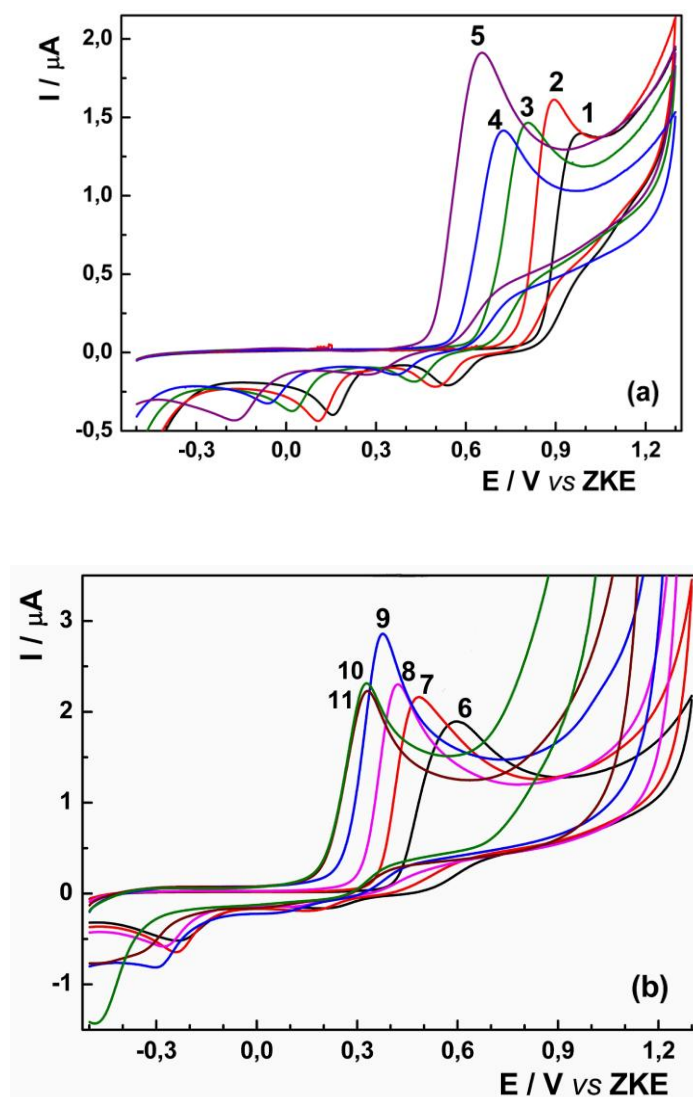


Slika 4.11. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6HQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR buffer/metanol, 80:20 (v/v), pH 7,10, pri različitim brzinama skeniranja: 10 mV/s (1); 20 mV/s (2); 50 mV/s (3); 100 mV/s (4); 200 mV/s (5). Zavisnost logaritma struje prvog, anodnog CV pika, $\log I_p$, od logaritma brzine skeniranja, $\log v$, data je u isečku.

4.3.1.3. Uticaj pH na ciklovoltametrijsko ponašanje 8HQ

Na slikama 4.12a i b i 4.13a i b su prikazani ciklični voltamogrami 8HQ, dobijeni snimanjem na čistoj GCPE, na osnovu kojih se može zaključiti sledeće:

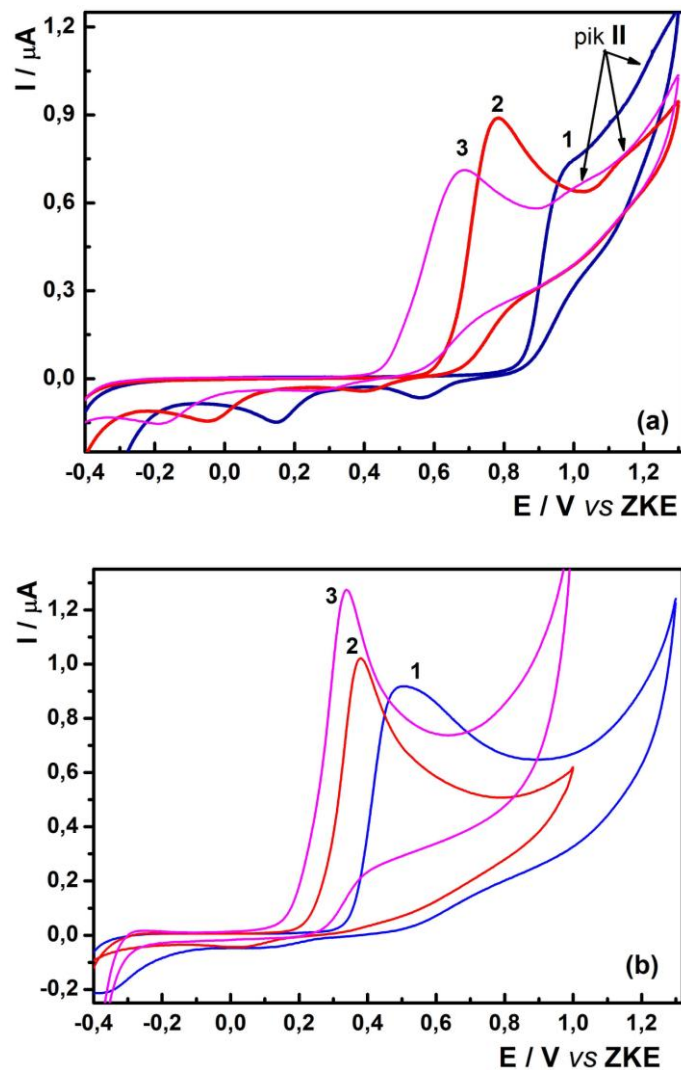
- (1) Na slikama 4.12a i b, gde je 50 mV/s korišćena brzini polarizacije, javlja se samo jedan anodni pik u okviru celog ispitivanog opsega;



Slika 4.12. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 8HQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH **(a)**: 2,02 (1); 2,95 (2); 3,99 (3); 4,96 (4); 6,03 (5); **(b)** 7,10 (6); 8,09 (7); 9,00 (8); 9,95 (9); 11,05 (10); 11,93 (11) $v = 50$ mV/s.

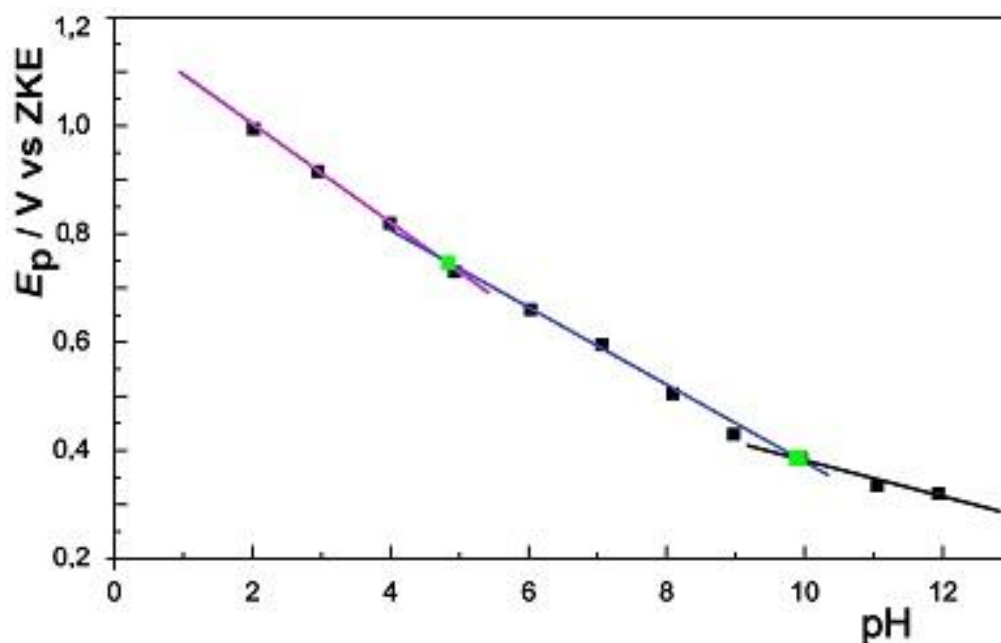
(2) Na slikama 4.13a i b, gde je 20 mV/s korišćena brzina polarizacije, pri:

- $\text{pH} \leq \sim 6$ posle glavnog oksidacionog pika, javlja se mali pik;
- $\text{pH} > \sim 7$ posle glavnog oksidacionog pika, nema pojave malog pika.



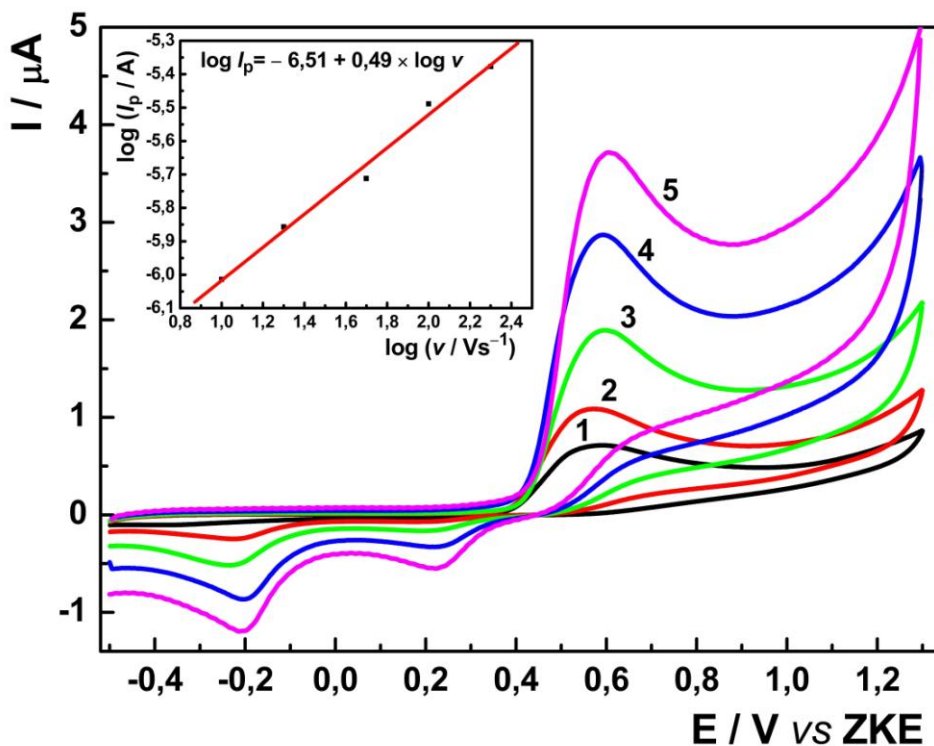
Slika 4.13. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 8HQ snimljeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH (a): 2,02 (1), 3,99 (2), 6,03 (3); Strelice pokazuju pik II; (b): 8,09 (1); 9,95 (2); 11,93 (3); $v = 20$ mV/s.

Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal glavnog anodnog CV pika (E_{pa}) prikazan je na slici 4.14. Može se zaključiti da je E_{pa} –pH zavisnost linearna u celom ispitivanom pH opsegu, sa dve promene koeficijenta pravca.



Slika 4.14. Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal CV pika; $v = 100$ mV/s; koncentracija 8HQ 1×10^{-4} M. Zeleni kvadrati predstavljaju pK_{a1} i pK_{a2} 8HQ, respektivno.

Na slici 4.15 dati su ciklični voltamogrami 8HQ snimljeni pri različitim brzinama polarizacije. Zavisnost logaritma struje CV pika od logaritma brzine skeniranja, $\log I_p = f(\log v)$, je linearna (slika 4.15, isečak), gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9946$, a nagib 0,49.

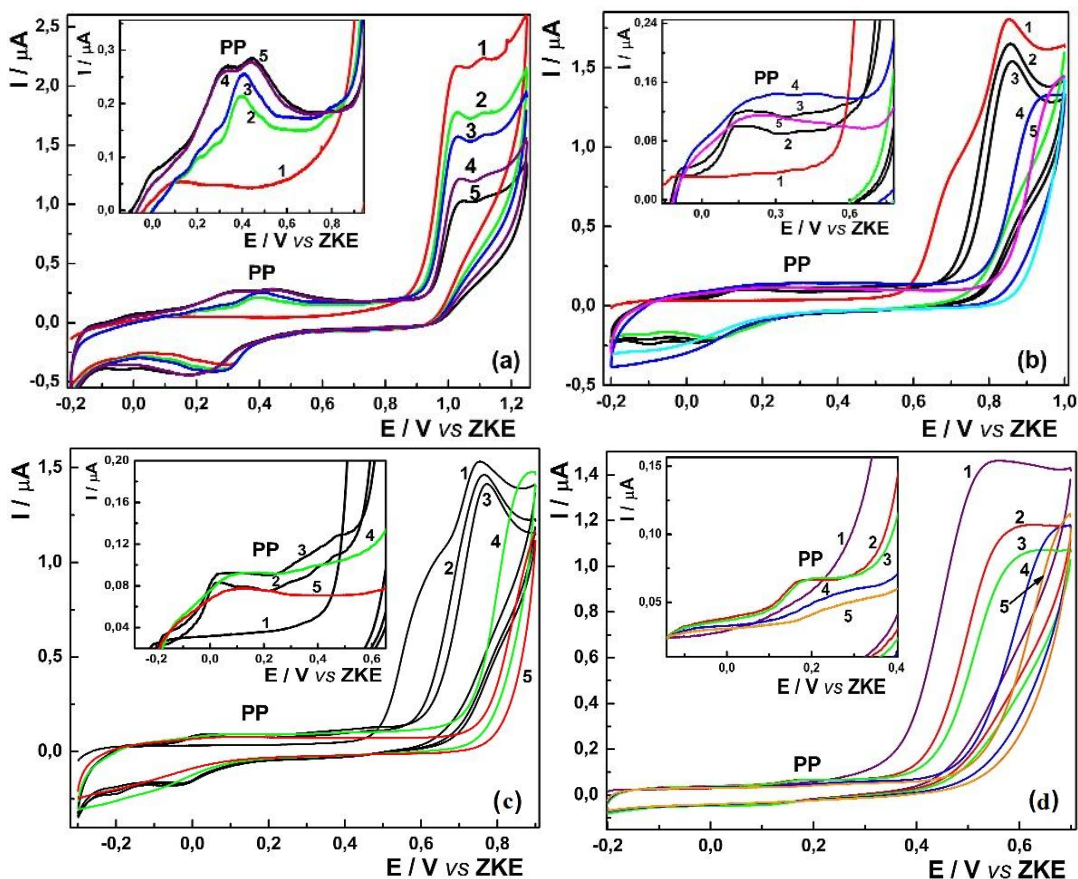


Slika 4.15. Ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 8HQ, dobijeni na čistoj površini GCPE, u osnovnom elektrolitu BR buffer/metanol, 80:20 (v/v), pH 8,09, pri različitim brzinama skeniranja: 10 mV/s (1); 20 mV/s (2); 50 (mV/s) (3); 100 mV/s (4) i 200 mV/s (5). Zavisnost logaritma struje anodnog CV pika, $\log I_p$, od logaritma brzine skeniranja, $\log v$, data je u isečku.

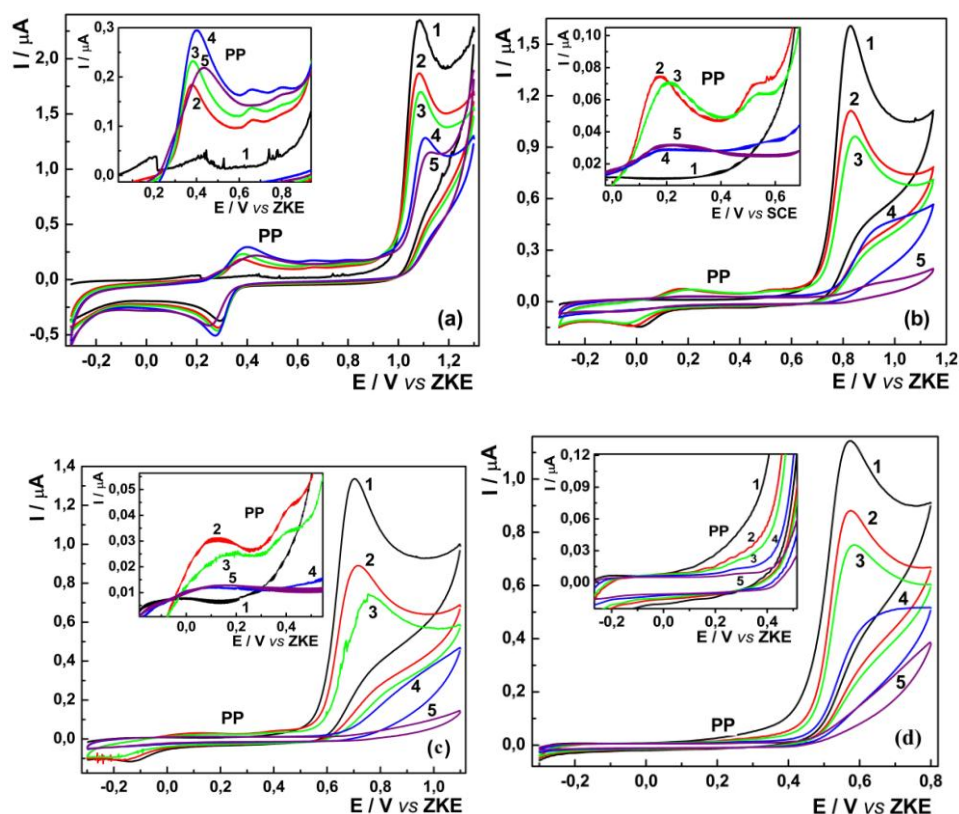
4.3.1.4. Kontinualno ciklovoltametrijsko ponašanje 6AQ, 6HQ i 8HQ

Na slikama 4.16, 4.17 i 4.18 prikazani su kontinualni ciklični voltamogrami za 6AQ, 6HQ i 8HQ, respektivno, dobijeni na GCPE čija površina, osim pre prvog, nije čišćena pre snimanja svakog sledećeg voltamograma, za osnovne elektrolite odabranih pH vrednosti, u pH opsegu 2–12. Može se primetiti sledeće:

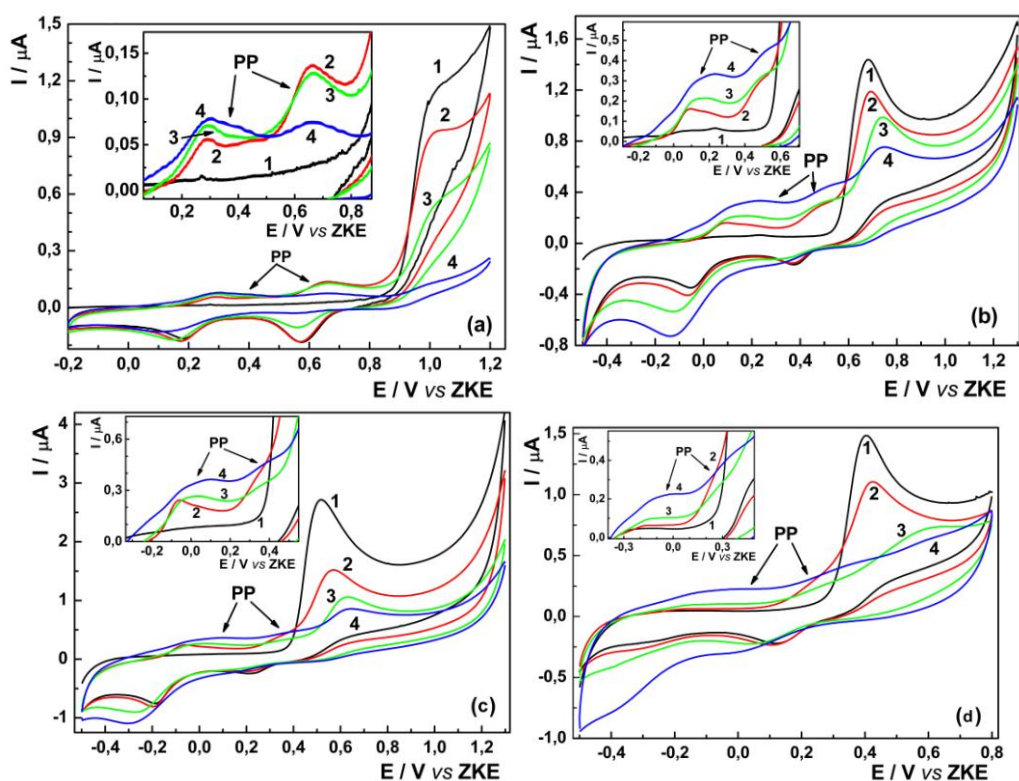
(1) osim u prvom, u svakom sledećem ciklusu u anodnoj oblasti pojavljuju se



Slika 4.16. Kontinualni ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6AQ dobijeni na površini GCPE u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pri različitim pH: 2,10 (a); 4,99 (b); 7,00 (c); 12,03 (d); snimljeni nakon različitog broja ciklusa: prvog (1), drugog (2), trećeg (3), desetog (4) i pedesetog (5); $v = 50$ mV/s. Anodni pred-pikovi (PP). Na uveličanom delu se mogu zapaziti anodni PP.



Slika 4.17. Kontinualni ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 6HQ dobijeni na površini GCPE u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pri različitim pH: 2,00 (a); 4,96 (b) ; 7,10 (c); 11,93 (d); snimljeni nakon različitog broja ciklusa: prvog (1), drugog (2), trećeg (3), desetog (4) i pedesetog (5); $v = 50$ mV/s. Na uveličanim delovima se mogu zapaziti anodni predpikovi, **PP**.

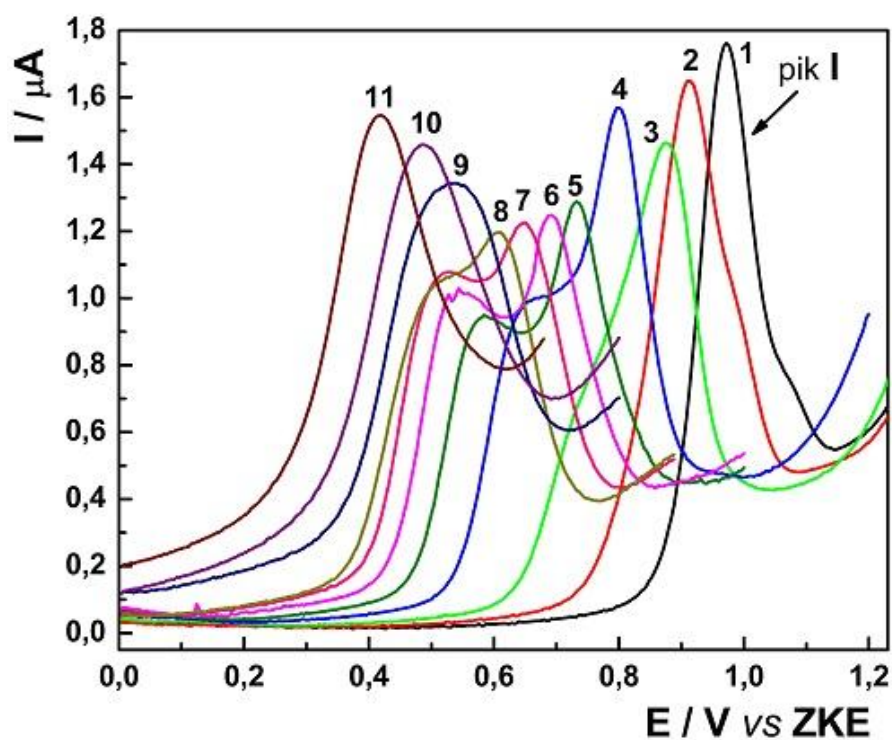


Slika 4.18. Kontinualni ciklični voltamogrami 1×10^{-4} M 8HQ dobijeni na površini GCPE u osnovnom elektrolitu BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pri različitim pH: 2,95 (a); 4,96 (b); 7,10 (c); 9,00 (d); snimljeni nakon različitog broja ciklusa: prvog (1), drugog (2), desetog (3) i pedesetog (4); $v = 50$ mV/s. Anodni pred-pikovi (PP) se mogu zapaziti na glavnoj slici kao i na uveličanom delu.

4.3.2. Diferencijalno pulsna voltimetrija

4.3.2.1. Uticaj pH na DPV ponašanje 6AQ

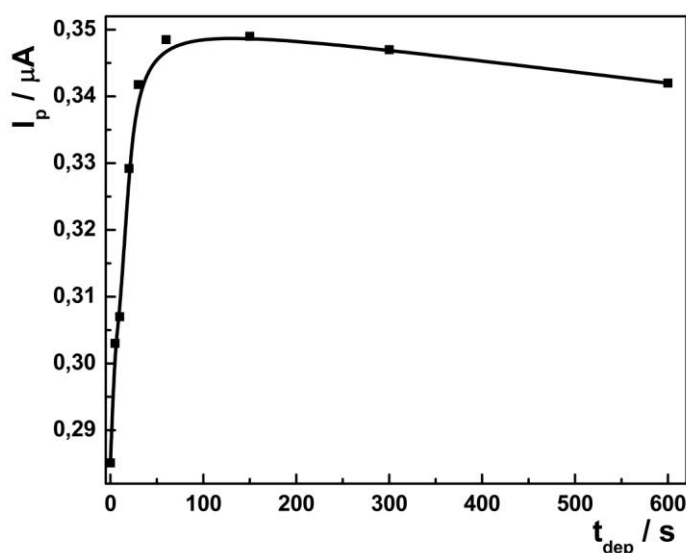
Uticaj pH na DP voltametrijsko ponašanje 6AQ prikazan je na slici 4.19. Može se uočiti da se sa porastom pH potencijali anodnih pikova pomeraju ka nižim vrednostima.



Slika 4.19. DP voltamogrami 1×10^{-4} M 6AQ na GCPE, u BR pufar/metanol, 80:20 (v/v), pH: 2,00 (1); 3,08 (2); 4,06 (3); 5,05 (4); 5,94 (5); 7,06 (6); 8,03 (7); 8,98 (8); 10,02 (9); 11,01 (10); 12,03 (11); $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 50 mV. Strelica pokazuje pik korišćen za dobijanje kalibracionih pravih.

4.3.2.2. Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 6AQ

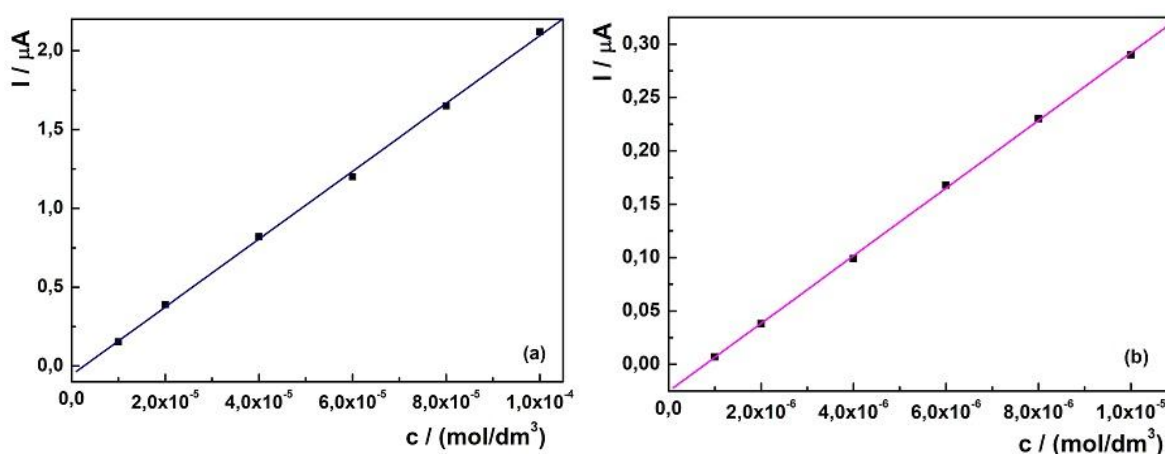
Primena AdSDPV za određivanje 6AQ imala je za cilj proveru mogućnosti povećanja osetljivosti određivanja. Koncentracija analita u osnovnom elektrolitu pH = 2 je bila 1×10^{-6} M. Optimalni depozicioni potencijal, odnosno, potencijal na kome je struja DPV pika najveća je pronađen na prethodno opisan način i za 6AQ iznosi $E_{\text{dep}} = 0,0$ mV. Za E_{dep} , različito vreme depozicije je primenjeno, t_{dep} : 0, 5, 10, 20, 30, 60, 150, 300 i 600 s, nakon čega su snimljeni DPV u opsegu 0,0–1,2 V. Struje pikova, I_p , dobijenih posle različitog vremena depozicije, su predstavljene u funkciji t_{dep} na slici 4.20.



Slika 4.20. Uticaj vremena depozicije na inenzitet DP pika, I_p , u 1×10^{-6} M 6AQ u Briton-Robinson pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH = 2,00, na čistoj površini GCPE; $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 50 mV, potencijal depozicije 0,0 V vs ZKE.

4.3.2.3. Određivanje 6AQ koristeći DPV

Na slici 4.28 date su kalibracione prave za kvantitativno određivanje 6AQ na GCPE snimane u osnovnom elektrolitu pH = 2, u koncentracionom opsegu $1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$ M, za anodni pik I, koji se javlja na oko 0,95 V, označen strelicom na slici 4.26, a koji odgovara jednoelektronskoj oksidaciji $[6\text{-QNH}_3]^+$ vrste. Statistički parametri – nagib (A) i njegova standardna greška S(A), odsečak (B) i njegova standardna greška S(B), korelacioni koeficijent (*r*) i limit detekcije (LOD) prikazani su u tabeli 4.15. Za koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-6}$ M za 6AQ određen je LOD od $4,3 \times 10^{-7}$ M.



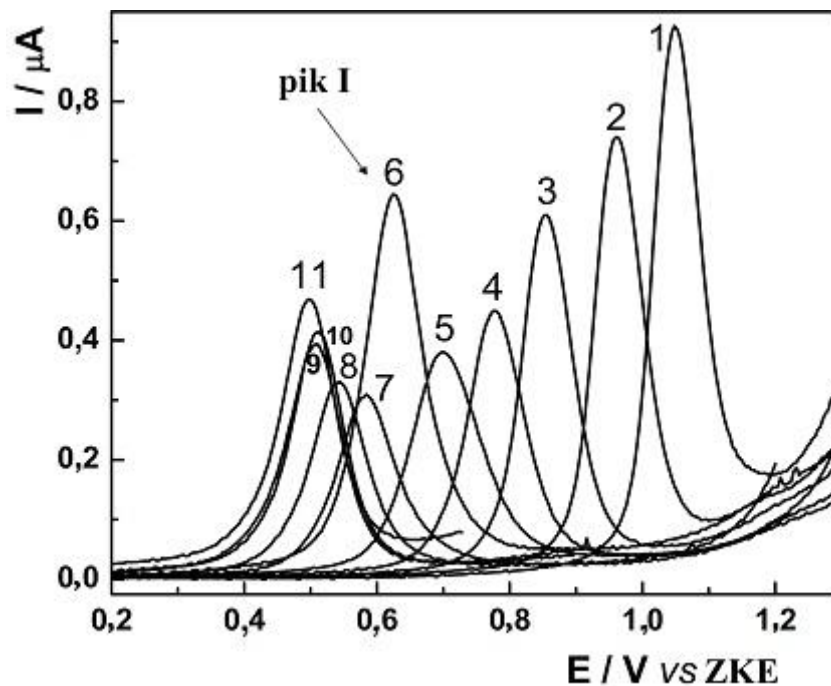
Slika 4.21. Kalibracione prave za određivanje 6AQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 2,00, na površini čiste GCPE za različite koncentracione opsege: $(1-10) \times 10^{-5}$ mol/dm³ (a); $(1-10) \times 10^{-6}$ mol/dm³ (b).

Tabela 4.15. Kalibracioni parametri DPV određivanja 6AQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 9,00, na površini čiste GCPE. A—odsečak, S(A)—greška određivanja odsečka, B—koeficijent pravca, S(B)—greška određivanja koeficijenta pravca, *r*—korelacioni koeficijent, LOD—limit detekcije.

C mol/dm ³	A±S(A) nA	B±S(B) mA/ mol·dm ⁻³	r	LOD mol/dm ³
$(1-10) \times 10^{-5}$	22 ± 1	-64 ± 48	0,9956	—
$(1-10) \times 10^{-6}$	31 ± 1	-24 ± 3	0,9996	$4,3 \times 10^{-7}$

4.3.2.4. Uticaj pH na DPV ponašanje 6HQ

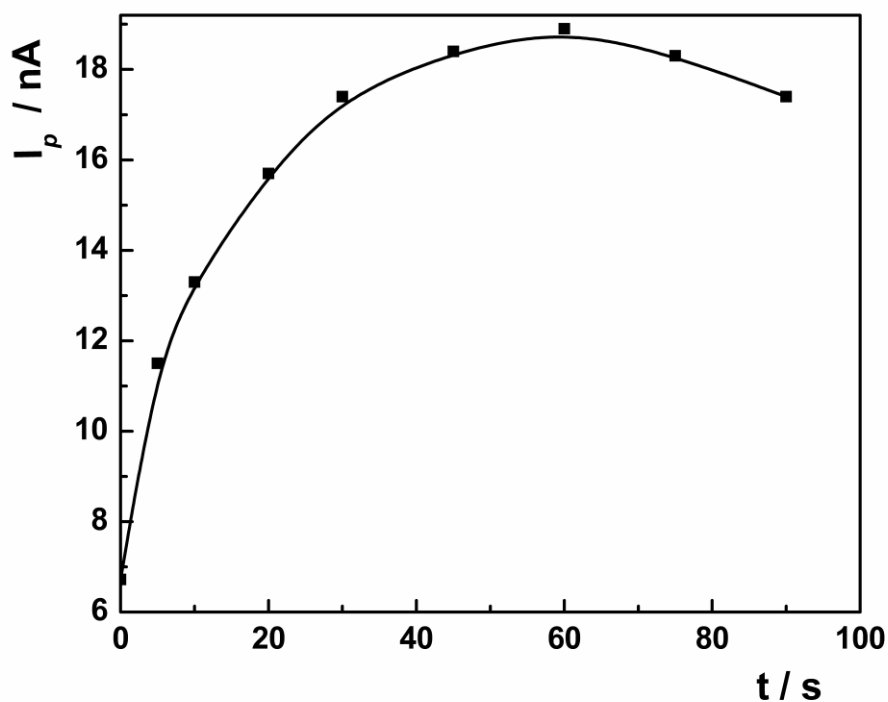
Uticaj pH na DP voltometrijsko ponašanje 6HQ prikazan je na slici 4.22. Može se uočiti da se sa porastom pH potencijal anodnog pika pomera ka nižim vrednostima.



Slika 4.22. DP voltamogrami 1×10^{-4} M 6HQ na čistoj površini GCPE, u BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH: 2.02 (1); 2.95 (2); 3.99 (3); 4.96 (4); 6.03 (5); 7.10 (6); 8.09 (7); 9.00 (8); 9.95 (9); 11.05 (10); 11.93 (11); $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 25 mV. Strelica pokazuje pik korišćen za dobijanje kalibracionih pravih.

4.3.2.5. Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 6HQ

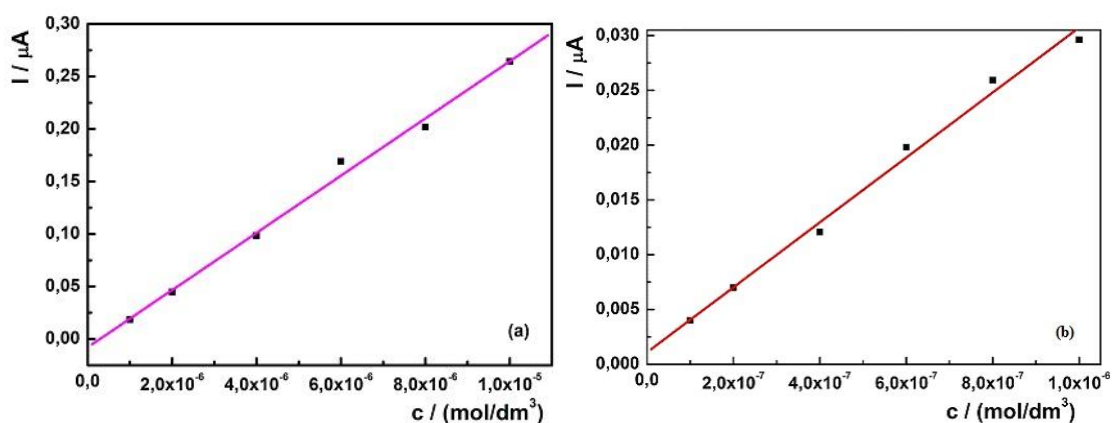
U cilju povećanja osetljivosti određivanja 6HQ primenjena je AdSDPV. Koncentracija analita u osnovnom elektrolitu pH = 7,10 je bila 1×10^{-7} M. Optimalni depozicioni potencijal, odnosno, potencijal na kome je struja DPV pika najveća je pronađen na prethodno opisan način i za 6HQ iznosi $E_{\text{dep}} = 0,0$ mV. Za E_{dep} , primenjeno je različito vreme depozicije, t_{dep} : 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 75 i 90 s, nakon čega su snimljeni DPV u opsegu 0,0–0,9 V. Struje pikova, I_p , dobijenih posle različitog vremena depozicije, su predstavljene u funkciji t_{dep} na slici 4.23.



Slika 4.23. Uticaj vremena depozicije na inenzitet DP pika, I_p , u 1×10^{-7} M 6HQ u BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH = 7,10, na čistoj površini GCPE; $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 25 mV, potencijal depozicije 0,0 V vs ZKE.

4.3.2.6. Određivanje 6HQ koristeći DPV

Na slici 4.24 date su kalibracione prave za kvantitativno određivanje 6HQ na GCPE snimane u osnovnom elektrolitu pH = 7,10, u koncentracionom opsegu 1×10^{-7} – 1×10^{-5} M, za glavni anodni pik I koji se javlja na oko 0,63 V, označen strelicom na slici 4.22, a koji odgovara jednoelektronskoj oksidaciji [6-QOH]. Statistički parametri – nagib (A) i njegova standardna greška S(A), odsečak (B) i njegova standardna greška S(B), korelacioni koeficijent (r) i limit detekcije (LOD) su dati u tabeli 4.16. Za koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-7}$ M za 6HQ određen je LOD koji iznosi $9,0 \times 10^{-8}$ M.



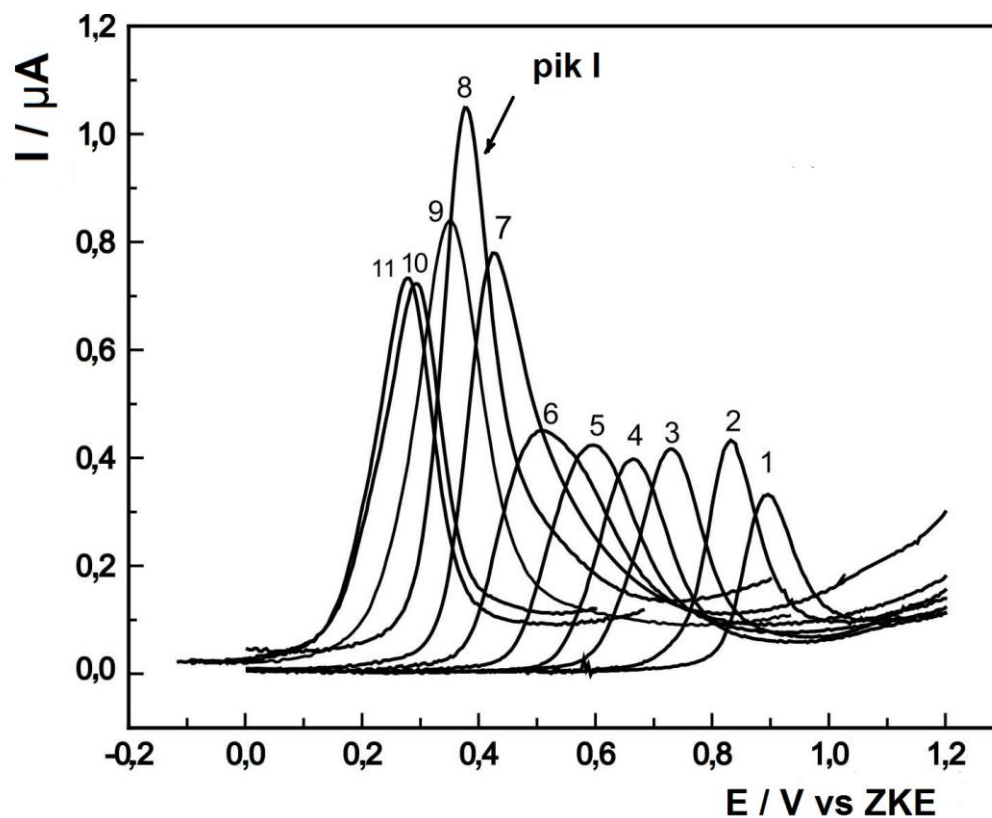
Slika 4.24. Kalibracione prave za određivanje 6HQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 7,10, na površini čiste GCPE za različite koncentracione opsege: $(1-10) \times 10^{-6}$ mol/dm³ (a); $(1-10) \times 10^{-7}$ mol/dm³ (b).

Tabela 4.16. Kalibracioni parametri DPV određivanja 6HQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 7,10, na površini čiste GCPE. A—odsečak, S(A)—greška određivanja odsečka, B—koeficijent pravca, S(B)—greška određivanja koeficijenta pravca, r —korelacioni koeficijent, LOD—limit detekcije.

C mol/dm ³	A±S(A) nA	B±S(B) mA/ mol·dm ⁻³	r	LOD mol/dm ³
$(1-10) \times 10^{-6}$	-9 ± 6	26 ± 1	0,9974	-
$(1-10) \times 10^{-7}$	$0,7 \pm 0,1$	31 ± 2	0,9963	$9,0 \times 10^{-8}$

4.3.2.7. Uticaj pH na DPV ponašanje 8HQ

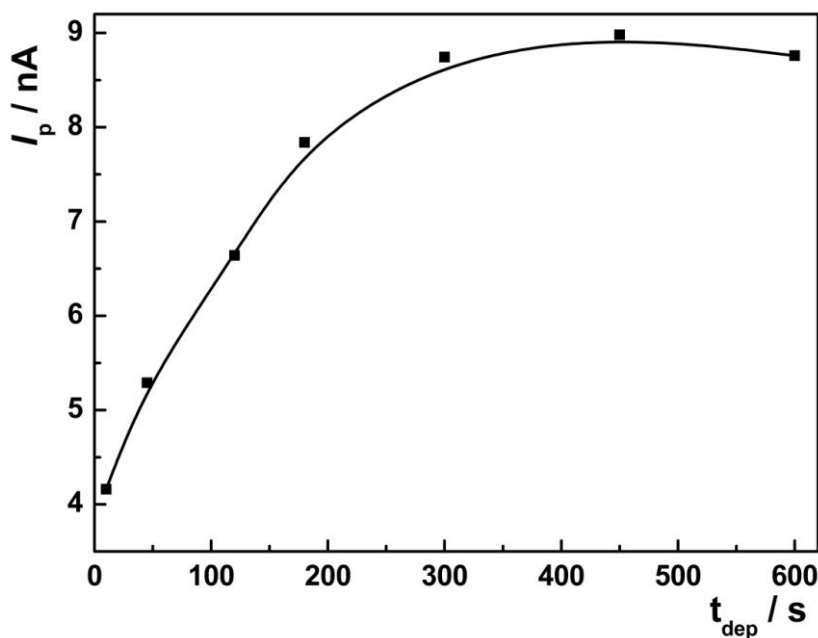
Uticaj pH na DP voltametrijsko ponašanje 8HQ prikazan je na slici 4.25. Može se uočiti da se sa porastom pH potencijali anodnog pika pomeraju ka nižim vrednostima.



Slika 4.25. DP voltamogrami 1×10^{-4} M 8HQ na GCPE, u BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH: 2,02 (1); 2,95 (2); 3,99 (3); 4,96 (4); 6,03 (5); 7,10 (6); 8,09 (7); 9,00 (8); 9,95 (9); 11,05 (10); 11,93 (11); $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 25 mV. Strelica pokazuje pik korišćen za dobijanje kalibracionih pravih.

4.3.2.8. Uticaj vremena i potencijala akumulacije na DPV ponašanje 8HQ

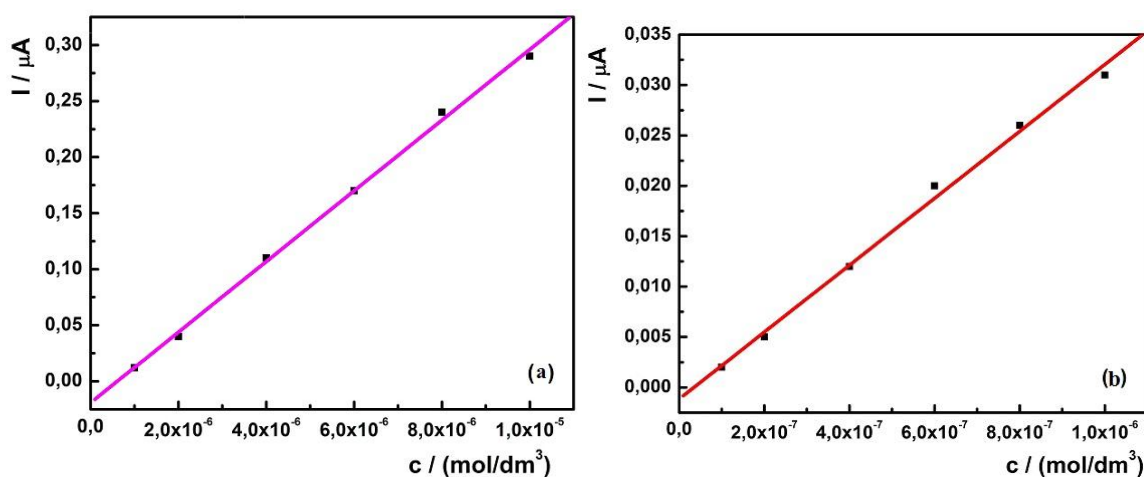
U cilju povećanja osetljivosti određivanja 8HQ primenjena je AdSDPV. Koncentracija analita u osnovnom elektrolitu pH = 9,00 je bila 1×10^{-7} M. Optimalni depozicioni potencijal, odnosno, potencijal na kome je struja DPV pika najveća je pronađen na prethodno opisan način i za 8HQ iznosi $E_{\text{dep}} = 0,0$ mV. Za E_{dep} , primenjeno je različito vreme depozicije, t_{dep} : 0, 50, 150, 200, 300, 400 i 500 s, nakon čega su snimljeni DPV u opsegu 0,0–1,2 V. Struja pikova, I_p , dobijenih posle različitog vremena depozicije, su predstavljene u funkciji t_{dep} na slici 4.26.



Slika 4.26. Uticaj vremena depozicije na inenzitet DP pika, I_p , u 1×10^{-7} M 8HQ u BR pufer/metanol, 80:20 (v/v), pH = 9,00, na čistoj površini GCPE; $v = 20$ mV/s, amplituda pulsa 25 mV, potencijal depozicije 0,0 V vs ZKE.

4.3.2.9. Određivanje 8HQ koristeći DPV

Na slici 4.27 date su kalibracione prave za kvantitativno određivanje 8HQ na GCPE snimane u osnovnom elektrolitu pH = 9,00, u koncentracionom opsegu 1×10^{-7} – 1×10^{-5} M, za glavni anodni pik I koji se javlja na oko 0,38 V, označen strelicom na slici 4.32, a koji odgovara jednoelektronskoj oksidaciji [8-QOH]. Statistički parametri – nagib (A) i njegova standardna greška S(A), odsečak (B) i njegova standardna greška S(B), korelacioni koeficijent (r) i limit detekcije (LOD) su dati u tabeli 4.17. Za koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-7}$ M za 8HQ određen je LOD koji iznosi $5,2 \times 10^{-8}$ M.



Slika 4.27. Kalibracione prave za određivanje 8HQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 9,00, na površini čiste GCPE za različite koncentracione opsege: $(1-10) \times 10^{-6}$ mol/dm^3 (a); $(1-10) \times 10^{-7}$ mol/dm^3 (b).

Tabela 4.17. Kalibracioni parametri DPV određivanja 8HQ u BR pufer/metanol-u, 80:20 (v/v), pH 9,00, na površini čiste GCPE. A—odsečak, S(A)—greška određivanja odsečka, B—koeficijent pravca, S(B)—greška određivanja koeficijenta pravca, r —korelacioni koeficijent, LOD—limit detekcije.

C mol/dm^3	A±S(A) nA	B±S(B) $\text{mA/ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$	r	LOD mol/dm^3
$(1-10) \times 10^{-6}$	-15 ± 9	32 ± 1	0,9967	-
$(1-10) \times 10^{-7}$	$-0,9 \pm 0,1$	34 ± 2	0,9955	$5,2 \times 10^{-8}$

4.4. HROMATOGRAFIJA ISPITIVANIH HINOLIA

U cilju dobijanja što osetljivije HPLC metode za selektivno kvalitativno i kvantitativno određivanje 6AQ, 6HQ i 8HQ, ispitano je ponašanje svakog od proučavanih hinolina pri eksperimentalnim uslovima detaljno navedenim u prethodnom poglavlju.

4.4.1. RP-HPLC ponašanje 6AQ, 6HQ i 8HQ

Za HPLC određivanje nekih hinolina, pri reverznofaznom separacionom modu, jedna od kolona od izbora je C18 kolona, a eluent smeša metanol:voda.^{125,126} U skladu sa tim je izvršen izbor kolone i eluenta za ispitivanja proučavanih hinolina.

Koncentracije rastvora ispitivanih hinolina u metanolu su bile sledeće:

C (6HQ) = 87,1 mg/L

C (6AQ) = 72,1 mg/L

C (8HQ) = 87,1 mg/L

Najpre su snimljeni hromatogrami, pri izokratskom načinu rada, svakog od ispitivanih hinolina, u duplikatu, koristeći tri eluenta različitih zapreminskih udela metanola i BR pufera (pH 7,00, razblaženog 10 puta) pH 7,28:

(1) 80% MeOH:20% BR 7,28

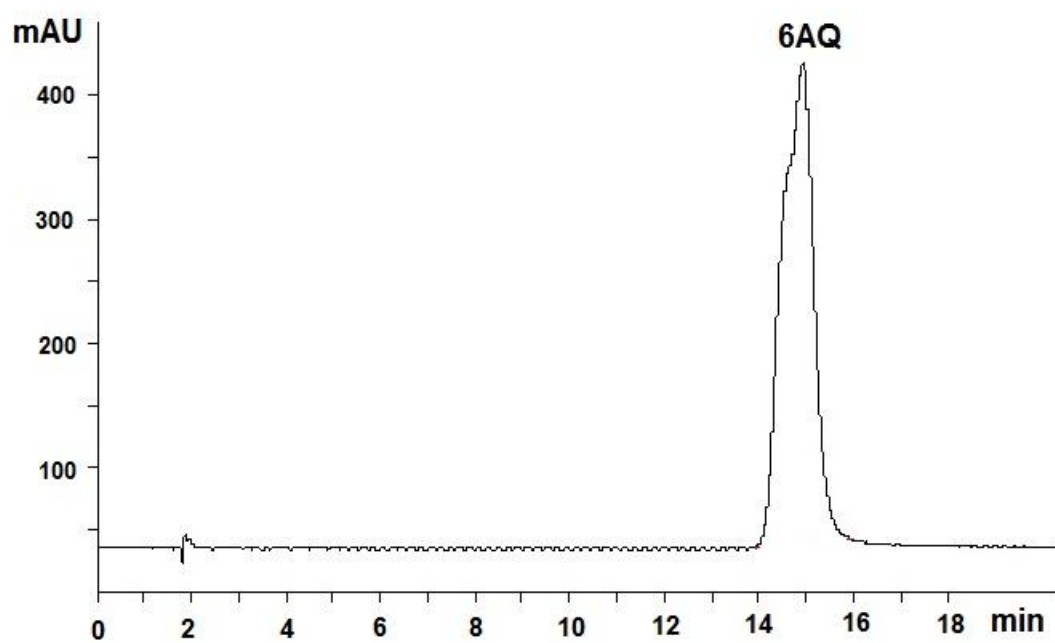
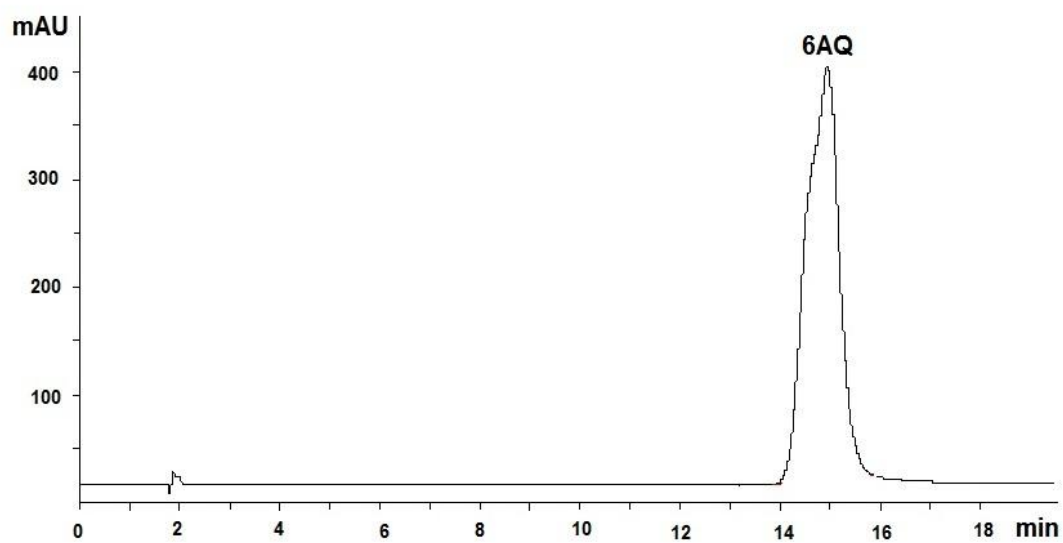
(2) 50% MeOH:50% BR 7,28

(3) 20% MeOH:80% BR 7,28

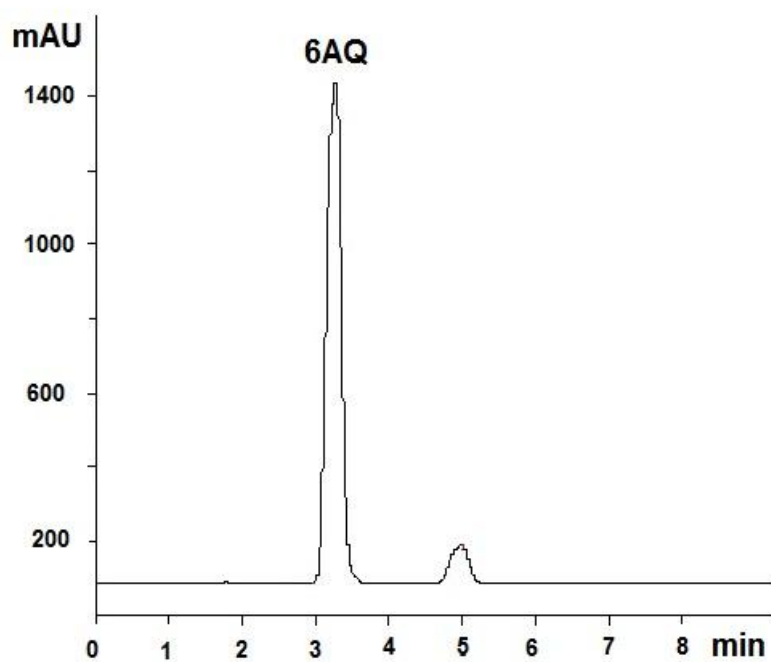
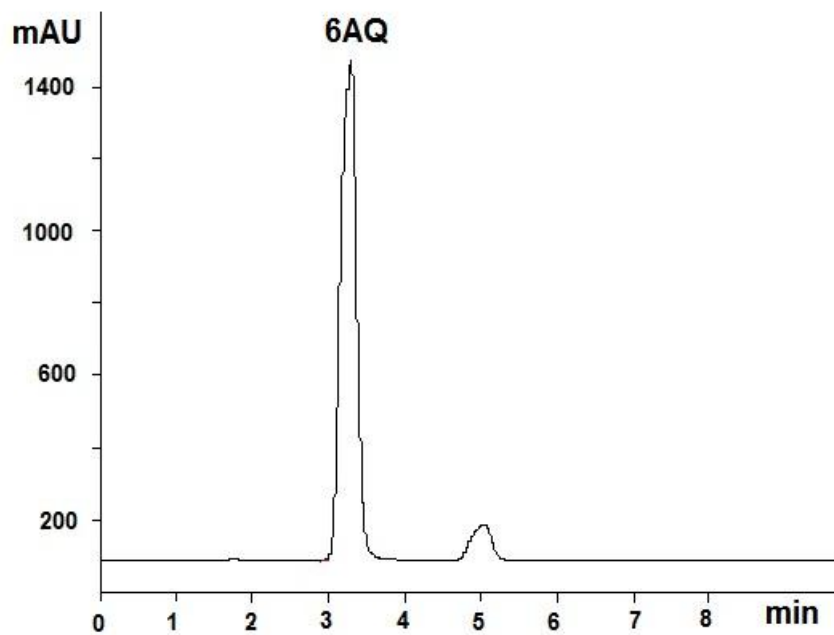
Na osnovu spektrofotometrijskog ispitivanja utvrđeno je da su maksimumi apsorpcije na pH ~7,0 za 6AQ 241 nm, 6HQ 227 nm i 8HQ 240 nm, tako da su ove vrednosti talasnih dužina korišćene pri snimanju HPLC hromatograma datih jedinjenja.

Hromatogrami svake od ispitivanih supstanci (slike 4.28–4.36) dobijeni korišćenjem tri različita eluenta su dati u produžetku. Položaji svakog od ispitivanih hinolina u hromatogramima (retenciona vremena) sumirani su u tabeli 4.18.

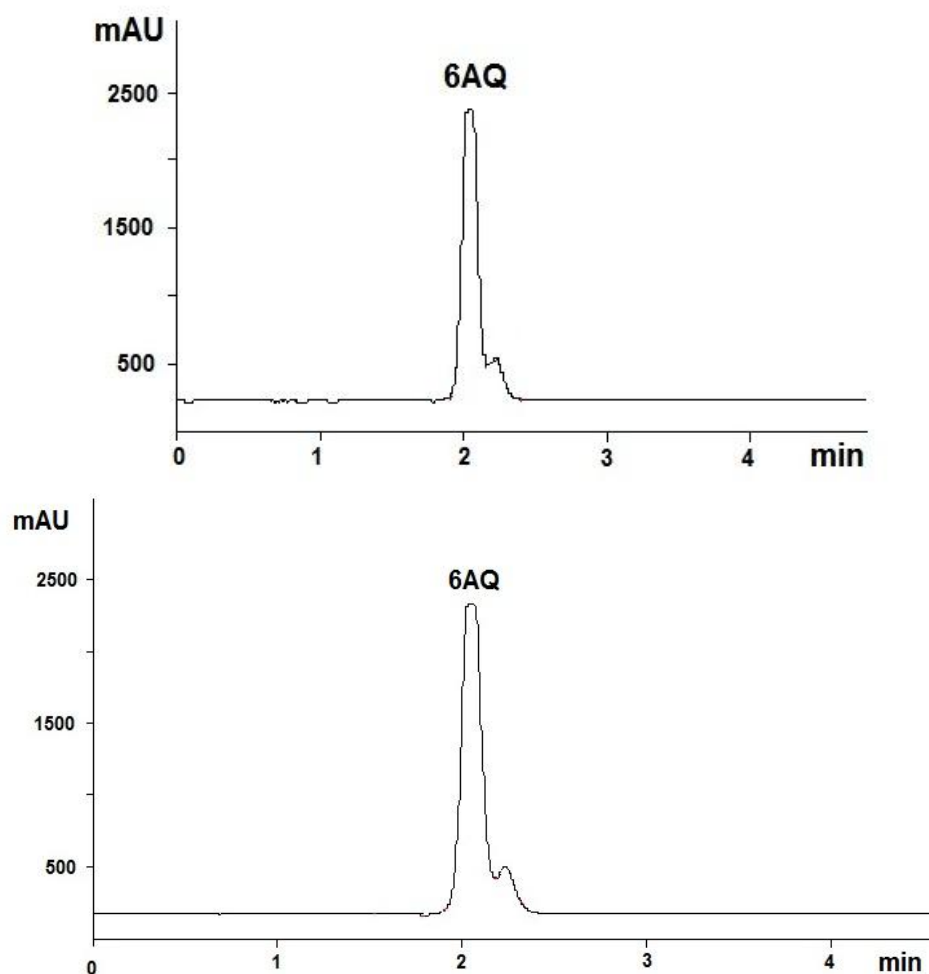
Cilj ovog ispitivanja je izbor eluenta čijom upotrebom će biti zadovoljeni sledeći uslovi: ostvareno najbolje razdvajanje ispitivanih hinolina u smeši, dobijeni pikovi analita najpravilnijeg oblika, postignuto najbrže eluiranje (kratko trajanje analize), postignuta najveća osetljivost određivanja.



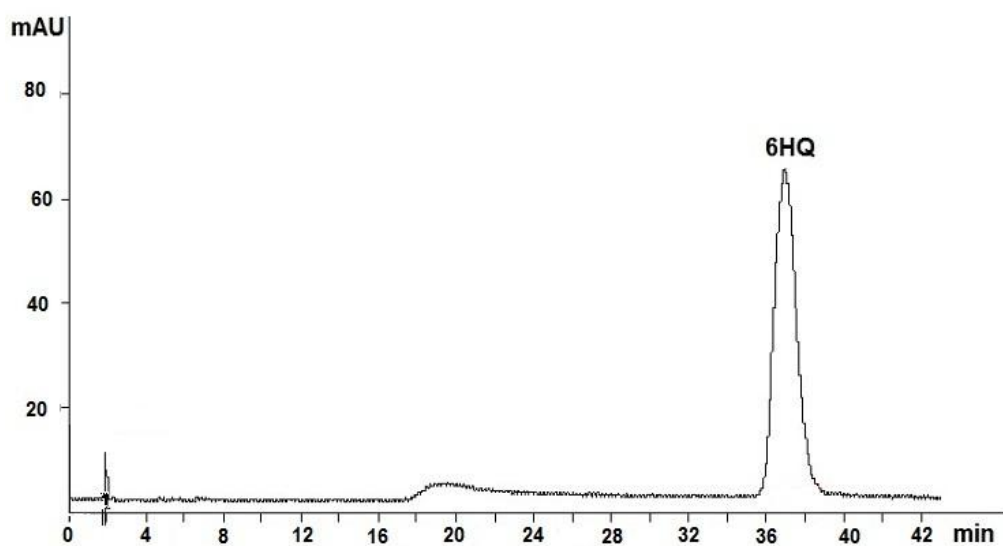
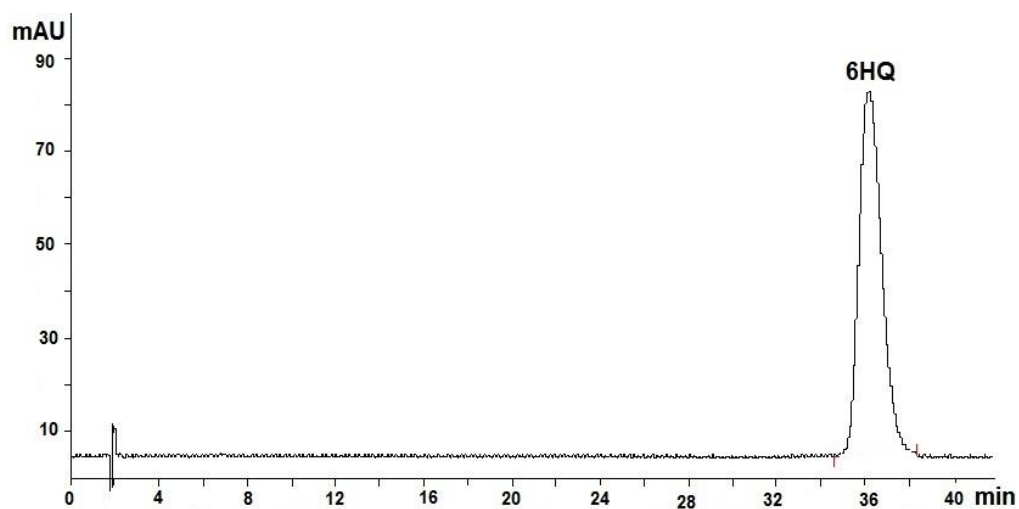
Slika 4.28. Hromatogrami 6-aminohinolina koncentracije 72,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 20:80 (v/v).



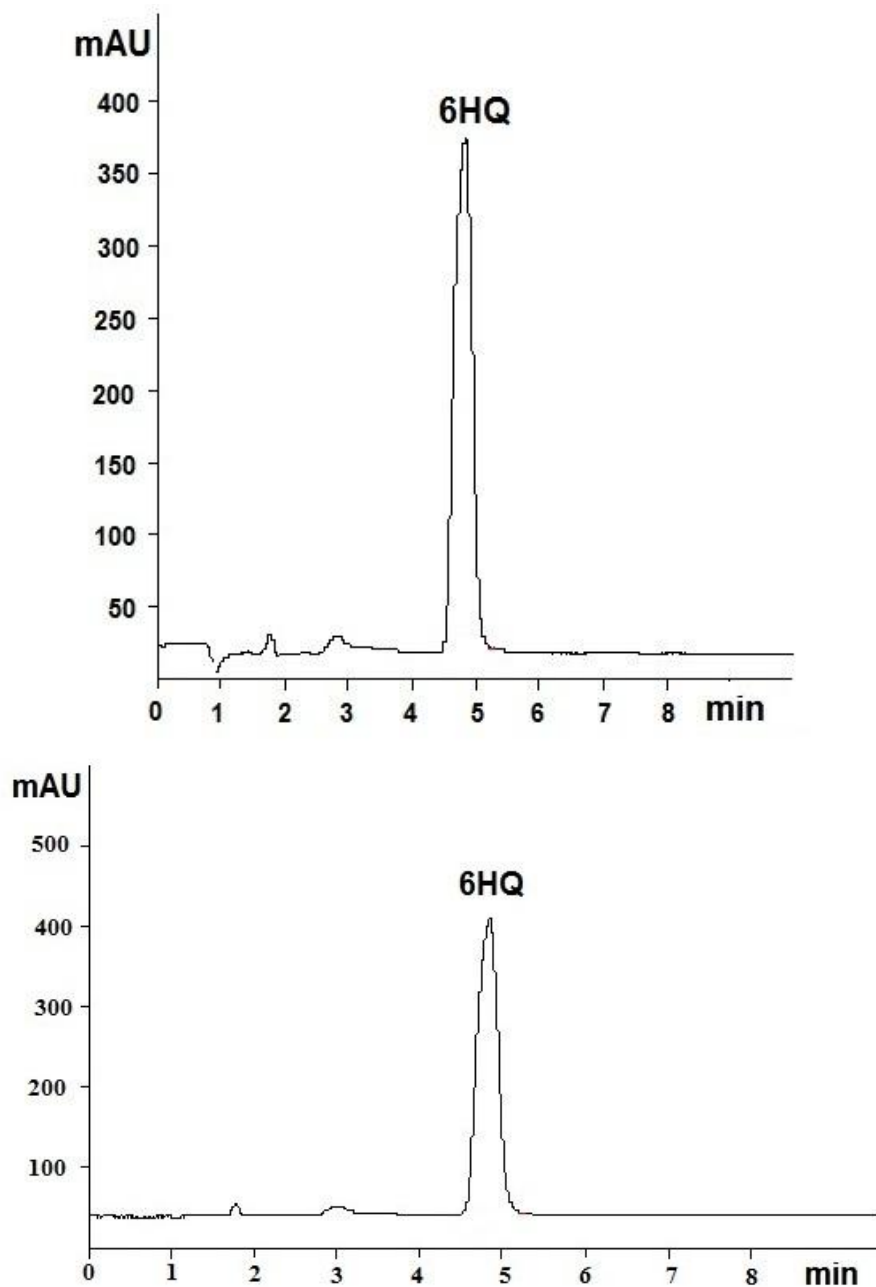
Slika 4.29. Hromatogrami 6-aminohinolina koncentracije 72,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).



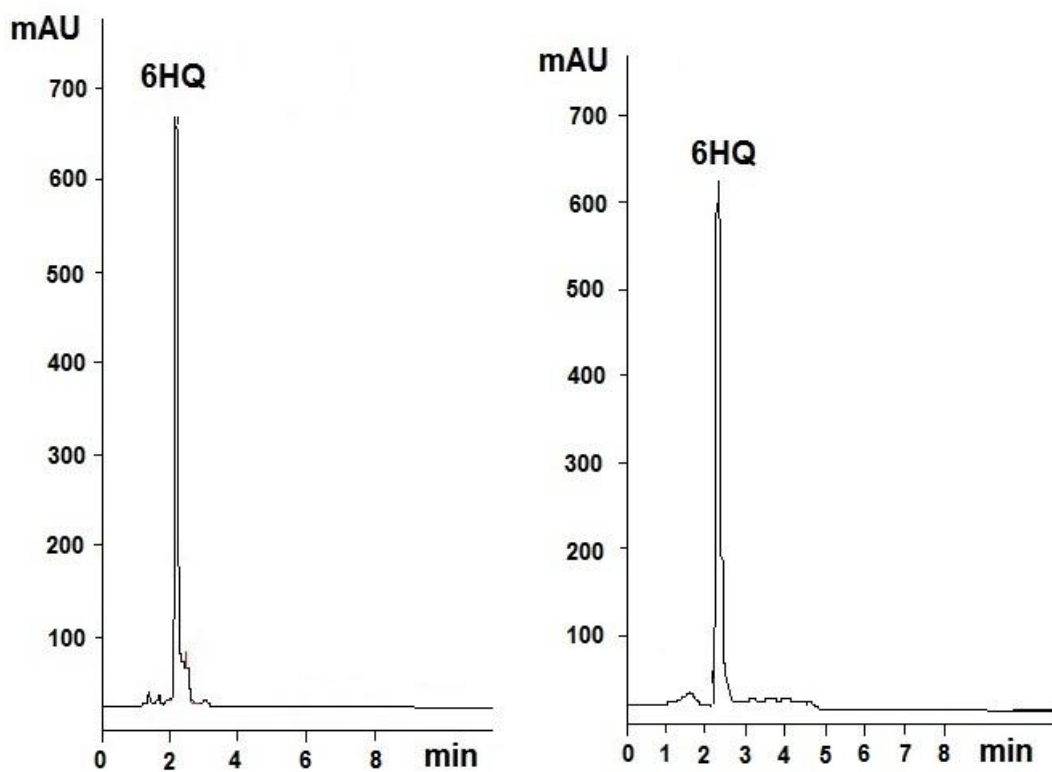
Slika 4.30. Hromatogrami 6-aminohinolina koncentracije 72,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 80:20 (v/v).



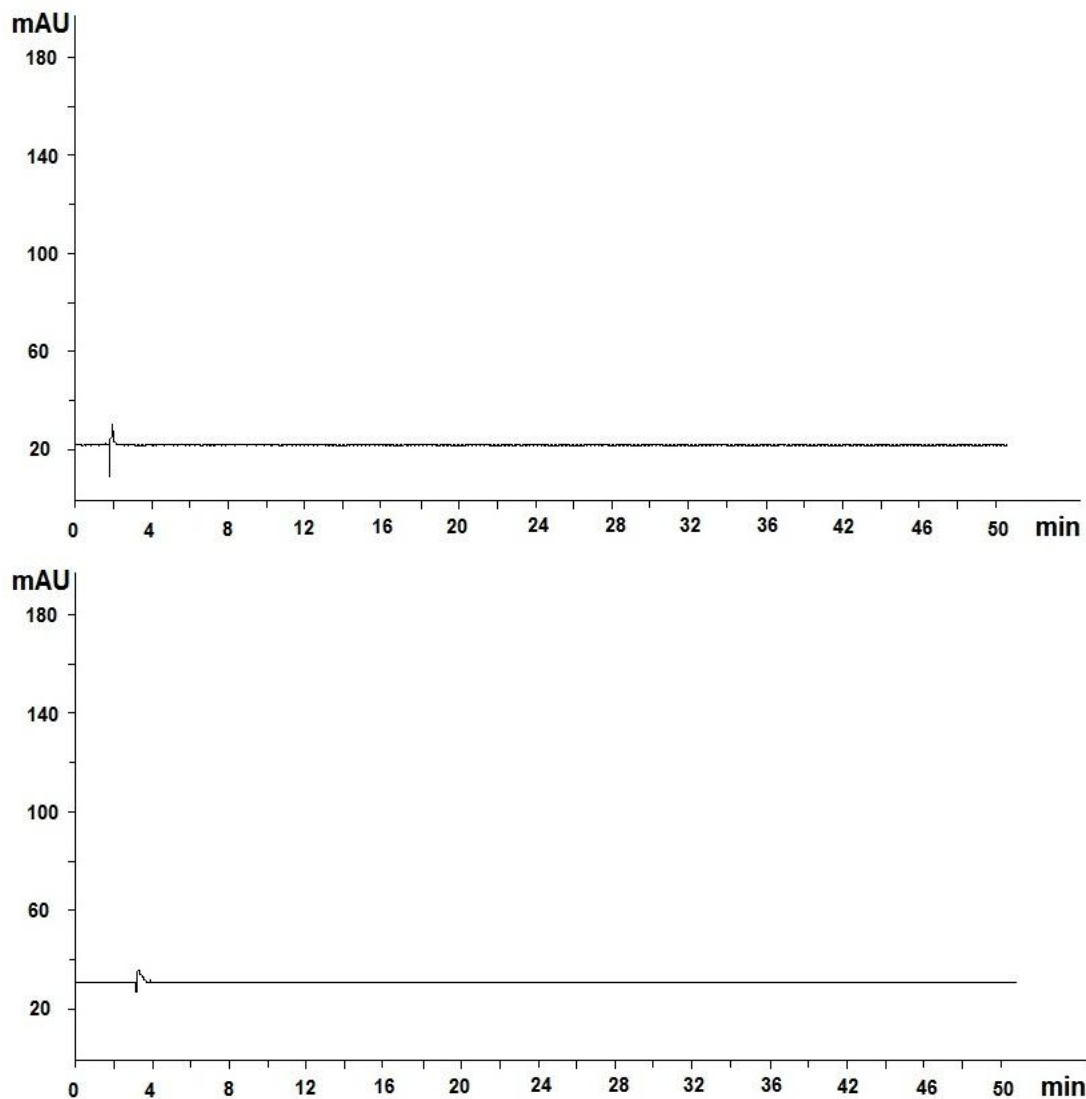
Slika 4.31. Hromatogrami 6-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 20:80 (v/v).



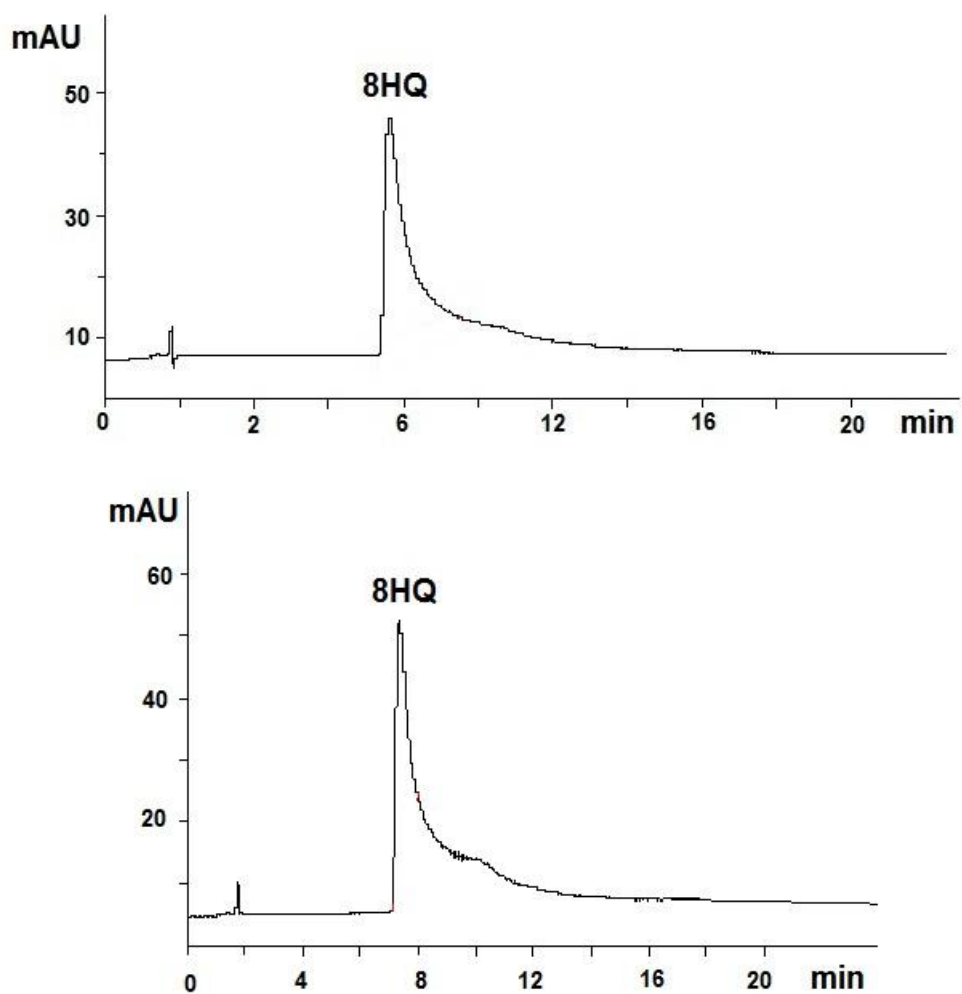
Slika 4.32. Hromatogrami 6-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR puffer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).



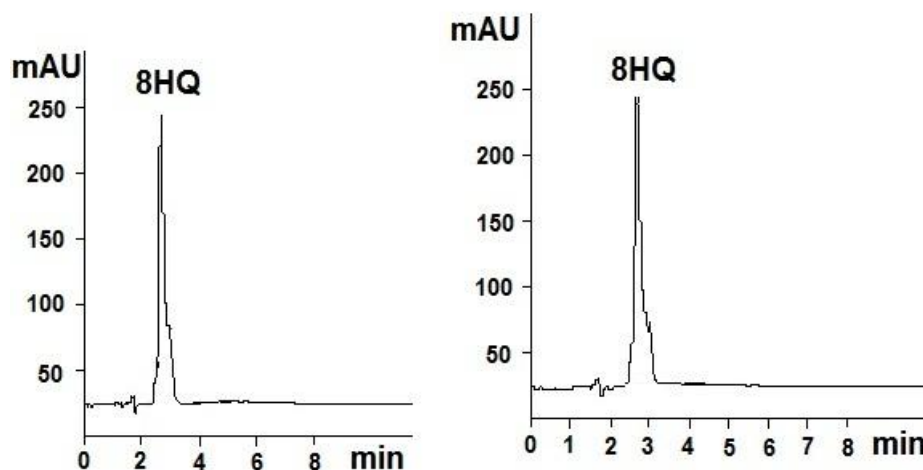
Slika 4.33. Hromatogrami 6-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 80:20 (v/v).



Slika 4.34. Hromatogrami 8-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 20:80 (v/v).



Slika 4.35. Hromatogrami 8-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR puffer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).



Slika 4.36. Hromatogrami 8-hidroksihinolina koncentracije 87,1 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 80:20 (v/v).

Tabela 4.18. Zavisnosti položaja pika jedinjenja 6HQ, 6AQ i 8HQ za eluente MeOH/BR pufer različitog zapreminskog udela.

Eluent MeOH:BR	80:20	50:50	20:80
Jedinjenje	Položaj pika (min)		
6HQ	2,18	4,85	36,22
	2,32	4,84	36,95
6AQ	2,03	3,29	14,94
	2,03	3,27	14,93
8HQ	2,68	7,35	–
	2,69	7,64	–

4.4.2. RP-HPLC određivanje smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ

Na osnovu vrednosti za retenciona vremena 6AQ, 6HQ i 8HQ prikazanih u tabeli 4.18 može se zaključiti da eluent od izbora za formiranje metode za kvalitativno i kvantitativno određivanje smeše pomenutih hinolina ima sastav 50% MeOH 50%BR 7,28.

Sledeći korak je da se pri datim uslovima snimanja uradi kalibracija aparata i formira metoda određivanja smeše hinolina:

Eluent: 50% MeOH 50%BR 7,28

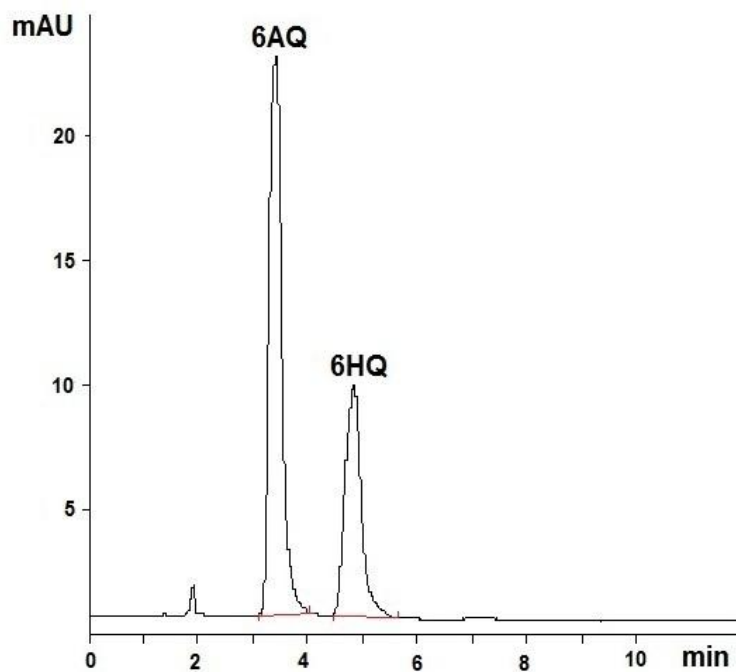
Rad pumpe/i: izokratski

Kolona: C18

Protok eluenta: 1 mL/min

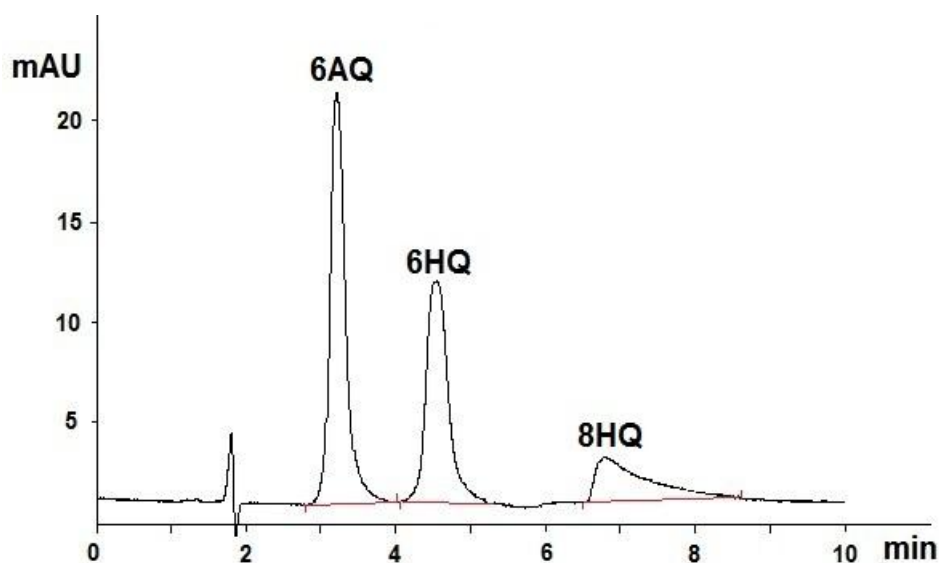
Talasna dužina: 240 nm (T = 22 °C)

Najpre je za rastvor smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ u kome je koncentracija svake od komponenti bila oko 10 mg/L snimljen hromatogram prikazan na slici 4.37. Iz tog hromatograma se vidi da pik koji potiče od 8HQ izostaje, što je značilo da je koncentracija 8HQ od oko 10 mg/L ispod granice određivanja 8HQ pri gore navedenim uslovima.



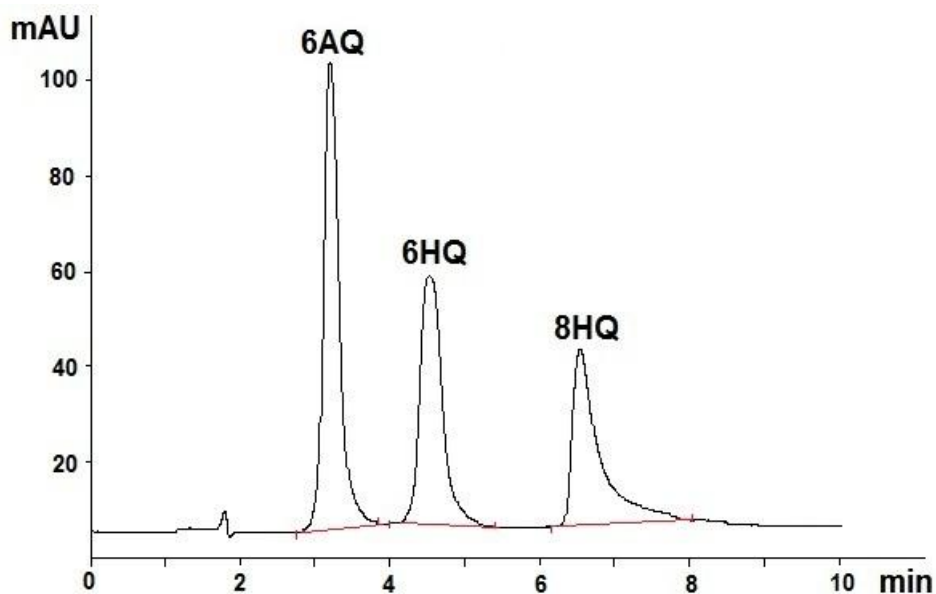
Slika 4.37. Hromatogram standardnog rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 10,16 mg/L; 6-hidroksihinolin: 10,09 mg/L; 8-hidroksihinolin 10,09 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).

Zatim je za rastvor smeše 6AQ, 6HQ, 8HQ koncentracije oko 10 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L, respektivno, snimljen hromatogram prikazan na slici 4.38. Iz tog homatograma se vidi prisustvo pika koji potiče od 8HQ, što je značilo da je koncentracija 8HQ od oko 20 mg/L iznad granice određivanje 8HQ pri gore navedenim uslovima. Pik 8HQ je nešto širi sa uočljivim tailing-om, međutim, analitički posmatrano, kao takav je prihvatljiv.

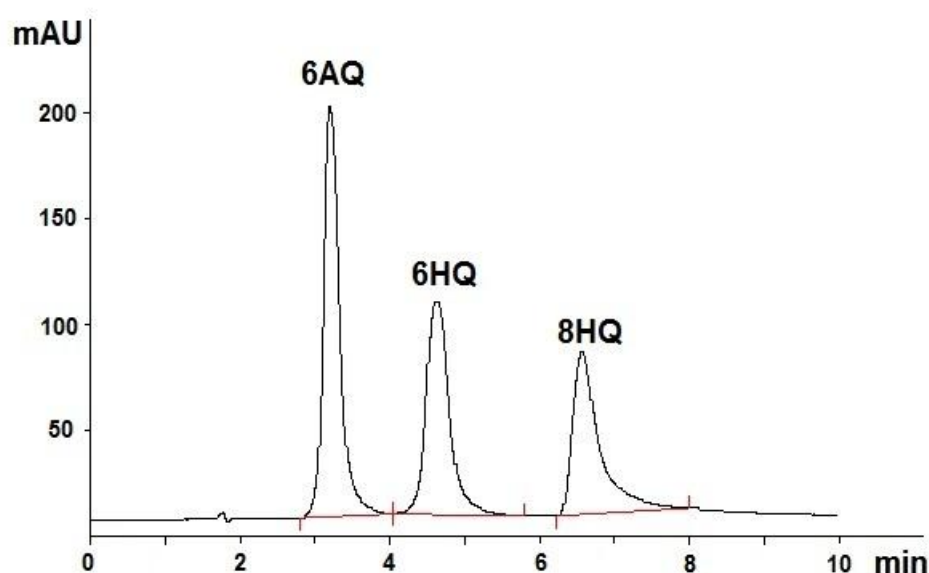


Slika 4.38. Hromatogram standardnog rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 10,16 mg/L; 6-hidroksihinolin: 10,09 mg/L; 8-hidroksihinolin 20,18 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).

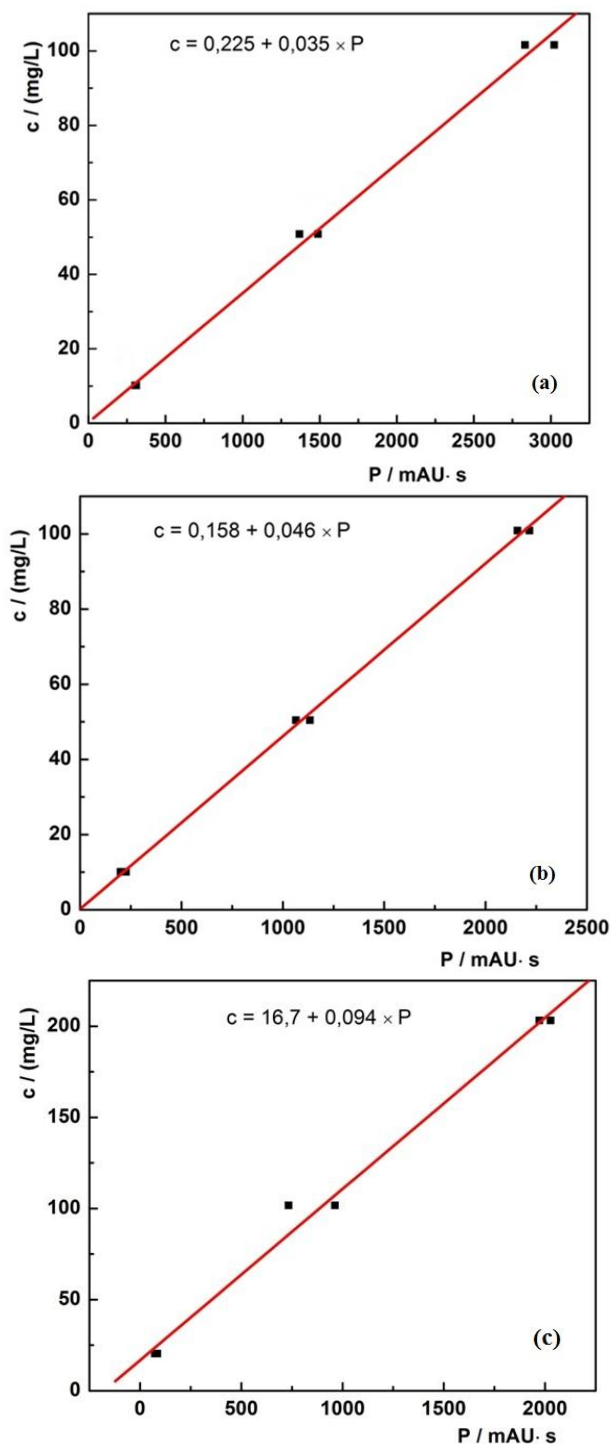
Za kalibraciju aparata prilikom formiranja nove metode iskorišćen je prethodni hromatogram, slika 4.38, snimljen u duplikatu. Zatim, hromatogram rastvora smeše 6AQ, 6HQ, 8HQ koncentracije oko 50 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, respektivno, slika 4.39, snimljen u duplikatu. Kao i rastvor smeše 6AQ, 6HQ, 8HQ koncentracije oko 100 mg/L, 100 mg/L, 200 mg/L, respektivno, slika 4.40, snimljen u duplikatu. Kalibracione prave (koncentracija u funkciji površine pika) za svaku od supstanci su prikazane na slici 4.41.



Slika 4.39. Hromatogram standardnog rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 50,8 mg/L; 6-hidroksihinolin: 50,5 mg/L; 8-hidroksihinolin 100,9 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).

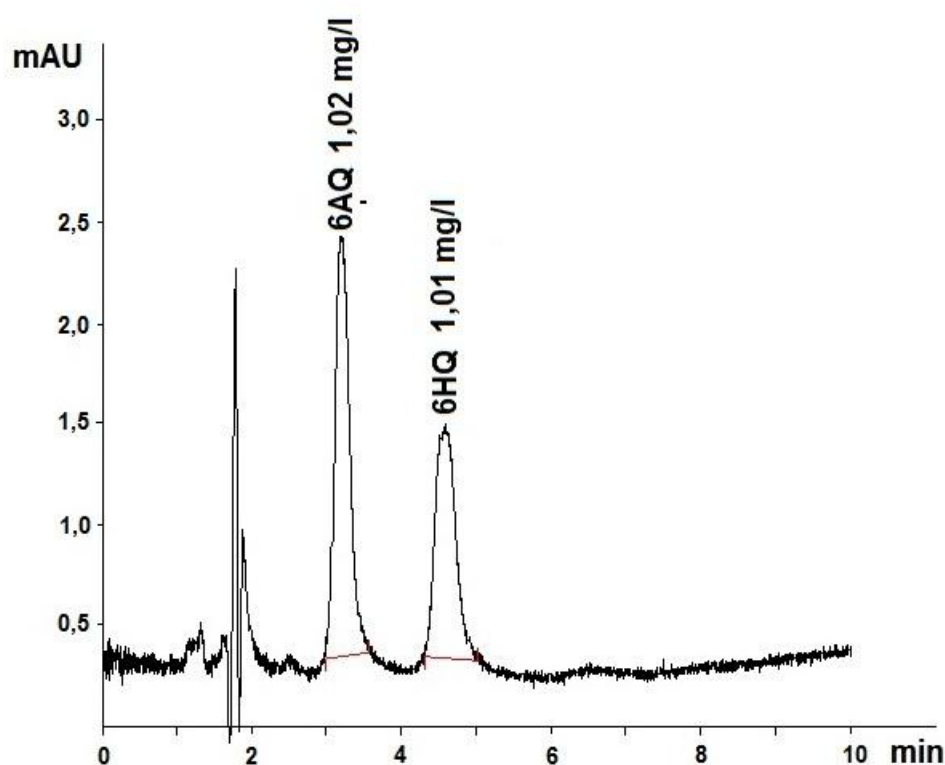


Slika 4.40. Hromatogram standardnog rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 101,6 mg/L; 6-hidroksihinolin: 100,9 mg/L; 8-hidroksihinolin 201,8 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v).

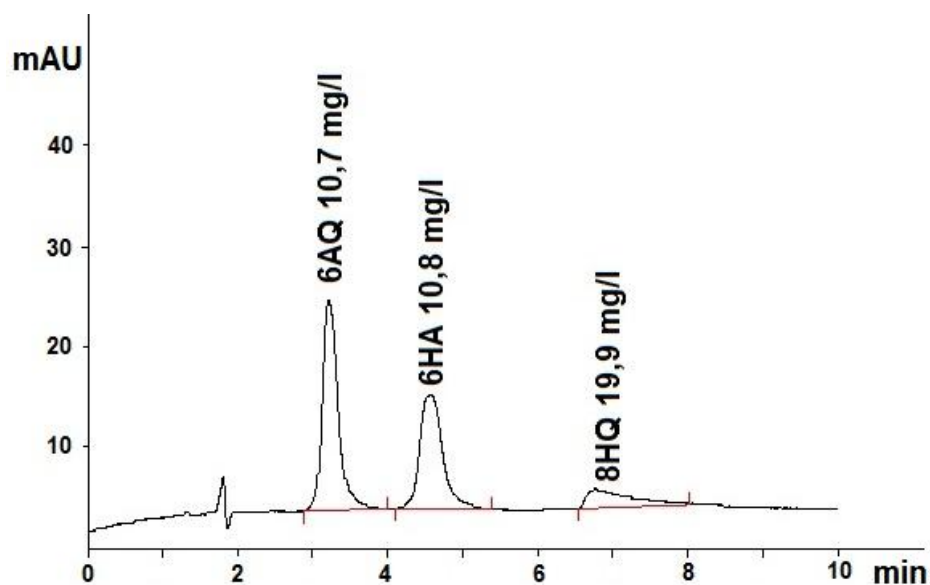


Slika 4.41. Prave dobijene kalibracijom instrumenta pri formiranju HPLC metode za određivanje: 6-aminohinolina (a), 6-hidroksihinolina (b) i 8-hidroksihinolina (c).

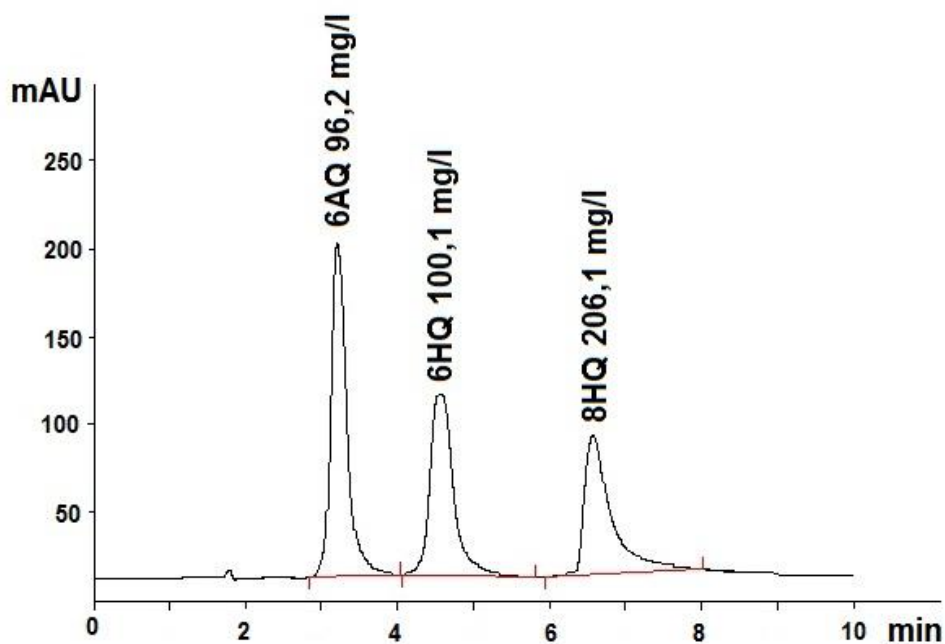
Nakon izvršene kalibracije, formirana je HPLC metoda za određivanje smeše ispitivanih hinolina, 6AQ, 6HQ i 8HQ. Provera metode je izvršena snimanjem hromatograma kontrolnih rastvora gde je koncentracija analita bila 6AQ: 1,02 mg/L; 6HQ: 1,01 mg/L; 8HQ 2,02 mg/L, slika 4.42. Naravno, izostanak 8HQ pika je bio očekivan jer je prisutna koncentracija 8HQ u datom rastvoru ispod granice određivanja ove komponente smeše datom metodom. Kvantifikacija 6AQ i 6HQ koja je urađena na osnovu kalibracije je u odličnom slaganju sa koncentracijom datih supstanci u kontrolnom uzorku. Provera metode je izvršena i snimanjem hromatograma kontrolnog rastvora gde je koncentracija analita bila 6AQ: 10,16 mg/L; 6HQ: 10,09 mg/L; 8HQ: 20,18 mg/L, slika 4.43, kao i hromatograma kontrolnog rastvora gde je koncentracija analita bila 6AQ: 101,6 mg/L; 6HQ: 100,9 mg/L; 8HQ: 201,8 mg/L, slika 4.44. Zaključuje se da je kvantifikacija odlična i pri ovim opsezima koncentracija.



Slika 4.42. Kontrolni hromatogram rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 1,02 mg/L; 6-hidroksihinolin: 1,01 mg/L; 8-hidroksihinolin: 2,02 mg/L; eluent metanol/BR puffer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v), dobijen formiranom HPLC metodom.



Slika 4.43. Kontrolni hromatogram provere rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 10,16 mg/L; 6-hidroksihinolin: 10,09 mg/L; 8-hidroksihinolin: 20,18 mg/L; eluent metanol/BR pufer (10× razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v), dobijen formiranom HPLC metodom.



Slika 4.44. Kontrolni hromatogram provere rastvora hinolina koncentracije 6-aminohinolin: 101,6 mg/L; 6-hidroksihinolin: 100,9 mg/L; 8-hidroksihinolin: 201,8 mg/L; eluent metanol/BR pufer 50:50 (v/v), dobijen formiranom HPLC metodom.

5. DISKUSIJA

5.1. UV-Vis SPEKTROFOTOMETRIJSKO PONAŠANJE ISPITIVANIH HINOLINA

5.1.1. 6AQ

Iz UV-vis spektra 6AQ (Slika 4.1) se može zaključiti sledeće:

- za $\text{pH} = 2,0\text{--}4,0$ ($\text{p}K_{a1} + 0,35 \leq \text{pH} \leq \text{p}K_{a2} - 1,5$), krive 1, 2 i 3, slika 4.1, apsorpcioni maksimum se javlja na 259 nm što se može pripisati $[\text{6-QNH}_3^+]$ vrsti.
- za $\text{pH} = 7,1\text{--}11,8$ ($\text{pH} \geq \text{p}K_{a2} + 1,5$), krive 6, 7, 8, 9, 10 i 11, slika 4.1 apsorpcioni maksimum se javlja na 241 nm i može se pripisati $[\text{6-QNH}_2]$ vrsti.
- za $\text{pH} \sim 5$ i ~ 6 , ($\text{pH} \sim \text{p}K_{a2} \pm 0,5$) krive 4 i 5, slika 4.1, apsorpcioni maksimum se pojavljuju u spektru na obe pomenute talasne dužine, što ukazuje na to da su obe vrste, $[\text{6-QNH}_3^+]$ i $[\text{6-QNH}_2]$, prisutne u pH oblasti 5–6.

Uzevši u obzir da je $\text{p}K_{a1} = 1,63^{119}$ može se izračunati da u diprotonovanom obliku, $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$, postoji ~30% 6AQ molekula na pH 2, dok ~4% 6AQ molekula postoji na pH = 3. Apsorpciona traka koja potiče od $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$ vrste nije detektovana u spektru na pH 2 i 3, verovatno zato što je prekrivena apsorpcionom trakom $[\text{6-QNH}_3^+]$ vrste, odnosno, vrste dominantne u ovoj pH oblasti. Ovi rezultati su u skladu sa prethodnom spektrofotometrijskom studijom kiselinsko-bazne ravnoteže 6AQ.¹¹⁹

Primenom Beer-ovog zakona, moguće je odrediti vrednost molarnog apsorpcionog koeficijenta (a) za određenu talasnu dužinu. Za talasnu dužinu od 240 nm (koja je od značaja za HPLC) izračunato je $a(6\text{AQ}) = 3,7 \times 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$.

5.1.2. 6HQ

Na osnovu UV-vis spektra 6HQ prikazanog na slici 4.2 može se zaključiti sledeće:

- za $\text{pH} = 2,02\text{--}4,96$ ($2,02 \leq \text{pH} \leq \text{p}K_{a1} - 0,21$), krive 1, 2, 3 i 4, slika 4.2,

apsorpcioni maksimum se pojavljuje u spektru na 244 nm, što se može pripisati monoprotovanoj 6HQ vrsti, $[\text{H-6-QOH}]^+$.

- za $\text{pH} = 4,96\text{--}9,00$ ($\text{p}K_{a1} - 0,21 \leq \text{pH} \leq \text{p}K_{a2} - 0,01$), krive 4, 5, 6, 7 i 8, slika 4.2, apsorpcioni maksimum se pojavljuje u spektru na 227 nm, što se može pripisati neutralnoj 6HQ vrsti $[\text{6-QOH}]$.

- za $\text{pH} = 9,00\text{--}11,93$ ($\text{p}K_{a2} \leq \text{pH} \leq 11,93$), krive 8, 9, 10 i 11, slika 4.2, apsorpcioni maksimum se pojavljuje u spektru na 247 nm, što se može pripisati deprotonovanoj 6HQ vrsti $[\text{H-6-QO}]^-$.

- na $\text{pH} \sim 5$ ($\text{pH} \sim \text{p}K_{a1}$) apsorpcione trake se javljaju u spektru na 244 nm i 227 nm, što ukazuje na prisustvo obe 6HQ vrste, $[\text{H-6-QOH}]^+$ i $[\text{6-QOH}]$.

- na $\text{pH} \sim 10$ ($\text{pH} \sim \text{p}K_{a2}$) apsorpcione trake se javljaju u spektru na 227 nm i 247 nm, što ukazuje na prisustvo obe vrste, $[\text{6-QOH}]$ i $[\text{H-6-QO}]^-$.

Ovi rezultati su u skladu sa pomenutom 6HQ spektrofotometrijskom studijom.¹²⁰

Primenom Beer-ovog zakona, moguće je odrediti vrednost molarnog apsorpcionog koeficijenta (a) za određenu talasnu dužinu. Za talasnu dužinu od 240 nm (koja je od značaja za HPLC) izračunato je $a(6\text{HQ}) = 5,0 \times 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$.

5.1.3. 8HQ

Na osnovu UV-vis spektra 8HQ prikazanog na slici 4.3 može se zaključiti sledeće:

- za $\text{pH} = 2,02\text{--}4,96$ ($2,02 \leq \text{pH} \leq \text{p}K_{a1} + 0,11$), krive 1, 2, 3 i 4, slika 4.3, postoji apsorpcioni maksimum na 251 nm, što se može pripisati monoprotovanoj 8HQ vrsti, $[\text{H-8-QOH}]^+$.

- za $\text{pH} = 4,96\text{--}9,95$ ($\text{p}K_{a1} + 0,11 \leq \text{pH} \leq \text{p}K_{a2}$), krive 4, 5, 6, 7, 8 i 9, slika 4.3, postoji apsorpcioni maksimum na 240 nm što se može pripisati neutralnoj 8HQ vrsti, $[\text{8-QOH}]$.

- za $\text{pH} = 9,95\text{--}11,93$ ($\text{p}K_{a2} \leq \text{pH} \leq 11,93$), krive 9, 10 i 11, slika 4.3, postoji apsorpcioni maksimum na 253 nm što se može pripisati deprotonovanoj 8HQ vrsti, $[\text{8-QO}]^-$.

- na $\text{pH} \sim 5$ ($\text{pH} \sim \text{p}K_{a1}$) apsorpcione trake se u spektru javljaju na 251 nm i 240 nm, što ukazuje na prisustvo obe vrste, $[\text{H-8-QOH}]^+$ i $[\text{8-QOH}]$.

- na pH ~10 (pH ~ p*K*_{a2}) apsorpcione trake se uspektru javljaju na 249 nm i 253 nm talasne dužine, što ukazuje na prisustvo obe vrste, [8-QOH] i [8-QO]⁻.

Ovi rezultati su u skladu sa pomenutom 8HQ spektrofotometrijskom studijom.¹²¹

Primenom Beer-ovog zakona, moguće je odrediti vrednost molarnog apsorpcionog koeficijenta (*a*) za određenu talasnu dužinu. Za talasnu dužinu od 240 nm (koja je od značaja za HPLC) izračunato je $a(8HQ) = 4,2 \times 10^4 \text{ dm}^3/\text{mol}\cdot\text{cm}$.

5.2. VOLTAMETRIJSKO PONAŠANJE ISPITIVANIH HINOLINA

5.2.1. Ciklovoltametrijsko-teorijski aspekt proučavanja mehanizma oksidacije

Kombinujući spektrofotometrijska ispitivanja, rezultate semi-empirijskih proračuna i rezultate CV ispitivanja, kao i kiselinsko-bazne osobine 6AQ moguće je zaključiti sledeće:

5.2.1.1. 6AQ

(1) pri pH = 2 i pH = 3 (krive 1 i 2, slika 4.4a)

✓ pik koji se javlja na nižem anodnom potencijalu je posledica, najpre, jednoelektronske oksidacije [6-QNH₃]⁺, reakcija (5.1), koja je praćena dimerizacijom nastalih monokatjonskih radikala, [6-QNH₂]^{•+}, a zatim dvoelektronske oksidacije novonastalih dimera (shema 4.2).



✓ pik koji se javlja na višem anodnom potencijalu se može pripisati kombinaciji jednoelektronske oksidacije vrste [H-6-QNH₃]²⁺, reakcija (5.2), koja je praćena dimerizacijom nastalih radikala, [6-QNH₂]^{•+}, a zatim dvoelektronskoj oksidaciji novonastalih dimera (shema 4.2).



(2) pri $4 \leq \text{pH} \leq 9$ (krive 3–8, slika 4.4a i b)

✓ anodni pik, kao i "rame pika" se javljaju kao posledica, najpre, jednoelektronske oksidacije $[6\text{-QNH}_3]^+$ (reakcija 5.1) i 6-QNH_2 (reakcije 5.3 i 5.4), koje su praćene rekombinacijom nastalih radikala, $[6\text{-QNH}_2]^{*\cdot}$ (shema 4.2), u kiselj sredini (reakcije 5.1 i 5.3), i $[6\text{-QNH}]^*$ (shema 4.3), u baznoj sredini (reakcija 5.4), a zatim, dvoelektronske oksidacije novoformiranih dimera. Pošto se sa porastom pH smanjuje broj $[6\text{-QNH}_3]^+$ vrsta doprinos jednoelektronske oksidacije izražen reakcijama 5.3 i 5.4, raste sa porastom pH.



(3) pri $10 \leq \text{pH} \leq 12$ (krive 9, 10 i 11, slika 4.4b)

✓ javlja se jedan širok, anodni pik kao posledica, najpre, jednoelektronske oksidacije 6-QNH_2 (reakcija 5.4), koja je praćene rekombinacijom nastalih radikala, $[6\text{-QNH}]^*$, a zatim, dvoelektronske oksidacije novoformiranih dimera.

U skladu sa semi-empirijskim kvantno-hemijskim proračunima dešava se i inicijalna dvoelektronska oksidacija 6AQ vrsta: $[\text{H-}6\text{-QNH}_3]^{2+}$, $[6\text{-QNH}_3]^+$ i $[6\text{-QNH}_3]^+$. Na osnovu cikličnih voltamograma 6AQ koji su snimani u opsegu potencijala 0,0–1,5 V, u osnovnom elektrolitu pH = 2–12, slika 4.5, može zaključiti sledeće:

(4) pH ≤ 6 (slika 4.5a)

✓ pored dva jasno izražena anodna pika, javlja se i treći anodni pik na potencijalu $>1,2$ V. Njegova pojava se može objasniti činjenicom da izvestan udeo monokatjonskih radikala $[6\text{-QNH}_2]^{*\cdot}$, koji nastaju jednoelektronskom oksidacijom 6AQ vrsta u ovoj pH oblasti, ne stupa u proces dimerizacije (shema 4.2), već se jednoelektronski oksiduje, kada nastaju $[6\text{-QNH}]^+$ vrste (reakcija 5.5).



(5) $\text{pH} > 6$ (slika 4.5b)

✓ na potencijalu $> 1,2$ V ne pojavljuje se treći pik što se objašnjava činjenicom da neutralni radikali $[6\text{-QNH}]^{\text{•}}$, koji preovladavaju u datoj pH oblasti, imaju znatno manju energiju jonizacije od monokatjonskih radikala $[6\text{-QNH}_2]^{*\text{+}}$, koji su dominantni pri $\text{pH} < 6$, tako da se, verovatno, oksiduju na mestu svojih dimera (shema 4.3). Pik koji potiče od oksidacije $[6\text{-QNH}]^{\text{•}}$ radikala je, verovatno, preklopljen znatno intenzivnijim pikovima oksidacije dimera $[6\text{-QNH}]^{\text{•}}$ radikala. Drugo objašnjenje za njihov izostanak je preklapanje signalom oksidacija osnovnog elektrolita koja se dešava znatno ranije (na nižem poencijalu) u baznoj nego u kiseljoj oblasti.

5.2.1.2. 6HQ

Kombinujući semi-empirijske proračune i CV ispitivanja 6HQ moguće je zaključiti sledeće:

(1) pri $\text{pH} \leq 5$ (krive 1–4, slika 4.8a)

✓ glavni anodni pik je uglavnom posledica jednoelektronske oksidacije $[\text{H-6-QOH}]^{\text{+}}$, reakcija (5.6) koja je praćena deprotonovanjem nastalih dikatjonskih radikala $[\text{H-6-QOH}]^{*\text{2+}}$ do $[\text{H-6-QO}]^{*\text{+}}$, reakcija (5.7), koji se dimerizuju, a zatim dvoelektronski oksiduju do odgovarajućih hinonskih jedinjenja (shema 4.6d).



(2) $\text{pH} = 2$ i $\text{pH} = 3$ (krive 1 i 2, slika 4.9a)

✓ Pojava veoma slabo izraženog anodnog pika na višem potencijalu u odnosu na glavni oksidacioni pik, uočava se pri brzini polarizacije od 10 mV/s. Poreklo ovog pika bi moglo da se objasni činjenicom da izvestan, mali udeo dikatjonskih radikala $[\text{H-6-QOH}]^{*\text{2+}}$, koji nastaju jednoelektronskom oksidacijom $[\text{H-6-QOH}]^{\text{+}}$ u veoma kiselim rastvorima, reakcija (5.6), ne podleže procesu brze deprotonacije, reakcija (5.7), već se dimerizuje, a zatim se dimeri dvoelektronski oksiduju do odgovarajućih hinonskih

jedinjenja (shema 4.6.a). U prilog tome svedoči i činjenica da se pri $\text{pH} \geq 4$, krive 1–3, slika 4.9b, gde je deprotonacija dominantniji proces, ne pojavljuje pik **II**.

✓ Kako je teorijskim proračunima pokazano da oksidabilnost 6HQ vrsta raste sa porastom pH, za očekivati je da se pik koji potiče od oksidacije dimera $[\text{H-6-QOH}]^{2+}$ vrste javi na većem potencijalu od pika koji potiče od oksidacije dimera $[\text{H-6-QO}]^{+}$ vrste, što se može zapaziti na slici 4.9a.

✓ Naravno, pojava anodnog pika na višem potencijalu od potencijala glavnog anodnog pika, bi mogla da se pripiše i inicijalnoj dvoelektronskoj oksidaciji $[\text{H-6-QOH}]^{+}$ vrste reakcija (5.8).



✓ Kako je verovatnoća dešavanja inicijalnog dvoelektronskog oksidacionog procesa manja od verovatnoće inicijalnog jednoelektronskog oksidacionog procesa, to je pik na višem oksidacionom potencijalu (pik **II**) znatno manji od anodnog pika na nižem oksidacionom potencijalu, odnosno prvog (glavnog) anodnog pika.

(3) pri $5 \leq \text{pH} \leq 9$ (krive 4–8, slika 4.8a i b)

✓ javlja se samo glavni anodni pik koji je, verovatno, posledica jednoelektronske oksidacije $[\text{6-QOH}]$, reakcija (5.9), koja je praćena dimerizacijom nastalih monokatjonskih radikala, $[\text{6-QOH}]^{+}$, kao i dvoelektronskom oksidacijom novonastalih dimera (shema 4.6b).



(4) $\text{pH} \geq 9$ (krive 8–11, slika 4.8b)

✓ javlja se samo glavni anodni pik koji je, verovatno, posledica jednoelektronske oksidacije $[\text{6-QO}]^{-}$, reakcija (5.10), koja je praćena dimerizacijom nastalih radikala, $[\text{6-QO}]^{\bullet}$, kao i dvoelektronskom oksidacijom novonastalih dimera (shema 4.6c).



5.2.1.3. 8HQ

Kombinujući semi-empirijske proračune i CV ispitivanja 8HQ moguće je zaključiti sledeće:

(1) pri $\text{pH} \leq 6$ (krive 1–4, slika 4.12a; krive 1–3, slika 4.23a)

✓ jedini oksidacioni pik, odnosno, pik koji se javlja na nižem anodnom potencijalu je posledica jednoelektronske oksidacije $[\text{H-8-QOH}]^+$, reakcija (5.11), koja je praćena dimerizacijom nastalih dikatjonskih radikala, $[\text{H-8-QOH}]^{2+}$, kao i dvoelektronskom oksidacijom novonastalih dimera (shema 4.9a).



✓ pojava anodnog pika na višem potencijalu u odnosu na glavni anodni pik, pik **II**, pri manjim brzinama polarizacije, se može objasniti činjenicom da izvestan udeo dikatjonskih radikala $[\text{H-8-QOH}]^{2+}$ koji nastaju jednoelektronskom oksidacijom 8HQ vrsta u ovoj pH oblasti, ne stupa u proces dimerizacije (shema 4.9a), već se jednoelektronski oksiduje (inicijalna dvoelektronska oksidacija), kada nastaju $[\text{H-8-QOH}]^{3+}$ vrste (reakcija 5.12, shema 4.8).



✓ Kako je verovatnoća dešavanja inicijalnog dvoelektronskog oksidacionog procesa manja od verovatnoće inicijalnog jednoelektronskog oksidacionog procesa, to je pik na višem oksidacionom potencijalu znatno manji od anodnog pika na nižem oksidacionom potencijalu, odnosno prvog (glavnog) pika.

(2) pri $\text{pH} > 6$ (krive 6–12, slika 4.12b; krive 1–3, slika 4.13b)

✓ $\text{pH} < \sim \text{p}K_{a2}$

pik koji se javlja u anodnoj oblasti je posledica jednoelektronske oksidacije $[\text{8-QOH}]$, reakcija (5.13), koja je praćena dimerizacijom nastalih monokatjonskih radikala, $[\text{8-QOH}]^{\bullet+}$, kao i dvoelektronskom oksidacijom novonastalih dimera (shema 4.9b).



✓ $\text{pH} > \sim \text{p}K_{a2}$

pik koji se javlja u anodnoj oblasti je posledica jednoelektronske oksidacije $[8\text{-QO}]^-$, reakcija (5.14), koja je praćena dimerizacijom nastalih neutralnih radikala, $[8\text{-QO}]^*$, kao i dvoelektronske oksidacije novonastalih dimera (shema 4.9c).



✓ Postoje dva objašnjenja za odsustvo drugog anodnog pika čak i pri malim brzinama polarizacije (20 mV/s). Semi-empirijskim kvantnohemijskim proračunima je ustanovljeno da vrste dominantne u ovoj pH oblasti, $[8\text{-QOH}]^{*+}$ i $[8\text{-QO}]^*$, imaju manju energiju jonizacije od energije jonizacije $[\text{H-8-QOH}]^{2+}$, odnosno vrste koja preovladava u oblasti $\text{pH} \leq 6$ (gde se drugi anodni pik pojavljuje), usled čega se one, verovatno, oksiduju na potencijalu bliskom potencijalu oksidacije njihovih dimera (shema 4.9a i b, **12** i **15**, respektivno), odnosno na mestu prvog anodnog pika. Dakle, drugi anodni pik, koji je posledica inicijalne dvoelektronske oksidacije je prekriven prvim anodnim pikom, koji je posledica inicijalne jednoelektronske oksidacije.

✓ Drugo objašnjenje je da je pri $\text{pH} > \sim \text{p}K_{a2}$ anodna oblast ograničena usled oksidacije osnovnog elektrolita, te je stoga onemogućena detekcija pika koji se javlja u toj oblasti.

Na slikama 4.16, 4.17 i 4.18 su dati kontinualni ciklični voltamogrami ispitivanih hinolina dobijeni za osnovne elektrolite odabranih pH vrednosti, u pH opsegu 2–12. Može se konstatovati da:

(1) osim u prvom, u svakom sledećem ciklusu u anodnoj oblasti se pojavljuju pred-pikovi (PP), čiji intenzitet raste sa porastom broja cikliranja.

✓ Pred-pikovi se javljaju kao posledica složenog procesa elektro-oksidacije koji je praćen dimerizacijom, a zatim oligomerizacijom i polimerizacijom. Najverovatnije, oni

odgovaraju elektrooksidaciji formiranih viših oligomera onih formi ispitivanih hinolina koji se pojavljuju u datoj sredini, a koji su oksidabilniji od svojih monomera.

(2) intenzitet glavnih oksidacionih pikova se smanjuje sa porastom broja ciklusa.

✓ Već nakon prvog ciklusa na površini elektrode počinje formiranje sloja oligomera/polimera koji je neprovodan. Sa porastom broja ciklusa, smanjuje se deo elektrode slobodan za reakciju, odnosno, dolazi do njenog postepenog pasiviranja, što ima za posledicu smanjenje intenziteta signala glavnih oksidacionih pikova.

U cilju određivanja broja razmenjenih elektrona prilikom 6AQ, 6HQ i 8HQ elektrooksidacionog procesa, sprovedena je kulometrijska analiza na GCPE. Međutim, pomenuto pasiviranje površine GCPE onemogućava njenu primenu za određivanje broja elektrona razmenjenih u okviru elektrohemijske reakcije oksidacije.

5.2.2. Osnovni parametri elektro-oksidacionog ponašanja

Uticaj pH osnovnog elektrolita na potencijal prvog anodnog CV pika (E_{pa}) prikazan je na slici 4.13, 4.17 i 4.21 za 6AQ, 6HQ i 8HQ, respektivno. Može se zaključiti da je E_{pa} -pH zavisnost linearna u celom ispitivanom pH opsegu, sa promenom koeficijenta pravca na:

(1) za 6AQ

✓ $pH = 5,41$ što odgovara pK_{a2} ($6-QNH_3^+/6-QNH_2$)¹¹⁹. Linearni delovi pomenute zavisnosti se mogu predstaviti sledećim jednačinama:

$$pH < 5,41: E_{pa} (V) = 1,29 - 0,08 \times pH$$

$$pH > 5,41: E_{pa} (V) = 1,08 - 0,05 \times pH$$

(2) za 6HQ

✓ $pH = 5,17$ i $pH = 8,99$ što odgovara pK_{a1} ($[H-6-QOH]^+/[6-QOH]$) i pK_{a2} ($[6-QOH]/[6-QO]^-$), respektivno.¹²⁰ Linearni delovi pomenute zavisnosti se mogu predstaviti sledećim jednačinama:

$$pH < 5,17: E_{pa} (V) = 1,34 - 0,10 \times pH$$

$$5,17 < \text{pH} < 8,99: E_{\text{pa}} (\text{V}) = 1,16 - 0,06 \times \text{pH}$$

$$\text{pH} < 8,99: E_{\text{pa}} (\text{V}) = 0,89 - 0,03 \times \text{pH}$$

(3) za 8HQ

- ✓ $\text{pH} = 4,79$ i $\text{pH} = 9,81$ što odgovara $\text{p}K_{\text{a1}}$ ($[\text{H-8-QOH}]^+ / [\text{8-QOH}]$) i $\text{p}K_{\text{a2}}$ ($[\text{8-QOH}] / [\text{8-QO}]^-$), respektivno.¹²¹ Linearni delovi pomenute zavisnosti se mogu predstaviti sledećim jednačinama:

$$\text{pH} < 4,79: E_{\text{pa}} (\text{V}) = 1,18 - 0,09 \times \text{pH}$$

$$4,79 < \text{pH} < 9,81: E_{\text{pa}} (\text{V}) = 1,09 - 0,07 \times \text{pH}$$

$$\text{pH} < 9,81: E_{\text{pa}} (\text{V}) = 0,71 - 0,03 \times \text{pH}$$

(1) za 6AQ

Iz cikličnih voltamograma prikazanih na slici 4.4 moguće je konstatovati prisustvo jednog katodnog pika u osnovnim elektrolitima cele ispitivane pH oblasti. U pogledu položaja i intenziteta anodnih pikova i datog katodnog pika, a u skladu sa teorijskim predviđanjem da oksidacija 6AQ na GCPE predstavlja dvoelektronski proces, moguće je zaključiti sledeće:

- (1) u anodnoj oblasti se javljaju dva pika, a u katodnoj samo jedan,
- (2) razlika potencijala između prvog anodnog i katodnog pika je znatno veća od 28 mV, koliko se očekuje za dvoelektronski, reverzibilan proces,
- (3) odnos intenziteta prvog anodnog i katodnog pika ($I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}}$) posle izvesnog broja ciklusa je znatno veća od jedinice,
- (4) potencijal pika se menja sa brzinom polarizacije, slika 4.7.

(2) za 6HQ

Iz cikličnih voltamograma prikazanih na slici 4.8 moguće je konstatovati prisustvo jednog anodnog i jednog katodnog pika u osnovnim elektrolitima cele ispitivane pH oblasti. U pogledu položaja i intenziteta anodnog i katodnog pikova, a u skladu sa teorijskim predviđanjem da oksidacija 6HQ na GCPE predstavlja dvoelektronski proces, moguće je zaključiti sledeće:

- (1) i u anodnoj i u katodnoj oblasti se javlja po jedan pik, pri čemu je anodni znatno većeg intenziteta od katodnog,
- (2) razlika potencijala između anodnog i katodnog pika je znatno veća od 28 mV, koliko se očekuje za dvoelektronski, reverzibilan proces,
- (3) odnos intenziteta anodnog i katodnog pika (I_{pa}/I_{pc}) posle izvesnog broja ciklusa je znatno veća od jedinice,
- (4) potencijal pika se menja sa brzinom polarizacije, slika 4.11.

(3) za 8HQ

Iz cikličnih voltamograma prikazanih na slici 4.12 moguće je konstatovati prisustvo jednog anodnog i dva katodna pika u osnovnim elektrolitima cele ispitivane pH oblasti. U pogledu položaja i intenziteta anodnog pika i katodnih pikova, a u skladu sa teorijskim predviđanjem da oksidacija 8HQ na GCPE predstavlja dvoelektronski proces, moguće je zaključiti sledeće:

- (1) u anodnoj oblasti se javlja jedan pik, a u katodnoj dva,
- (2) razlika potencijala između anodnog i prvog katodnog pika je znatno veća od 28 mV, koliko se očekuje za dvoelektronski, reverzibilan proces,
- (3) odnos intenziteta prvog anodnog i katodnog pika (I_{pa}/I_{pc}) posle izvesnog broja ciklusa je znatno veća od jedinice,
- (4) potencijal pika se menja sa brzinom polarizacije, slika 4.15.

Uzevši u obzir pravila o reverzibilnosti procesa⁵⁸, nedvosmisleno se zaključuje se da je proces elektro-oksidacije ispitivanih hinolina ireverzibilan. Ovo se objašnjava time što je elektrodni proces prenosa elektrona, odnosno, elektrohemijski stupanj, praćen brzom hemijskom reakcijom dimerizacije, odnosno hemijskim stupnjem.

Brzina elektrohemijske oksidacije svih ispitivanih hinolina je kontrolisana difuzijom elektroaktivnih vrsta, kao najsporijim stupnjem celokupnog procesa. Difuziona priroda elektro-oksidacije svih ispitivanih hinolina je potvrđena linearnom zavisnošću logaritma struje CV pika od logaritma brzine skeniranja, $\log I_p = f(\log \nu)$.

Ta zavisnost je: za 6AQ prikazana na slici 4.7, isečak, gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9966$, a nagib prave $0,492$; za 6HQ prikazana na slici 4.11, isečak, gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9971$, a nagib $0,471$; za 8HQ prikazana na slici 4.15, isečak, gde je korelacioni koeficijent $r = 0,9946$, a nagib $0,496$ (što je u skladu sa teorijskom vrednošću nagiba difuzijom kontrolisanog procesa, i iznosi $0,50$)⁵⁹.

5.3. VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE ISPITIVANIH HINOLINA

5.3.1. DPV određivanje

Slično CV ponašanju za 6AQ DPV pikove može se konstatovati sledeće:

- anodni DPV pikovi sa ramenom na $\text{pH} = 2$ i $\text{pH} = 3$ (krive 1 i 2, slika 4.19) potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije dikatjonske vrste $[\text{H-6-QNH}_3]^{2+}$ i monokatjonske vrste $[\text{6-QNH}_3]^+$,
- anodni pikovi sa ramenom u pH opsegu $4-9$ (krive 3-8, slika 4.19) mogu biti pripisani inicijalnoj jednoelektronskoj oksidaciji monokatjonske vrste $[\text{6-QNH}_3]^+$ i neutralne vrste $[\text{6-QNH}_2]$,
- široki pikovi na $\text{pH} \geq 10$ (krive 9-11, slika 4.19) se javljaju usled inicijalne, jednoelektronske oksidacije $[\text{6-QNH}_2]$.

Slično CV ponašanju za 6HQ DPV pikove može se konstatovati sledeće:

- $\text{pH} \leq \sim 5$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije protonovane, monokatjonske 6HQ vrste, $[\text{H-6-QOH}]^+$ (krive 1-4, slika 4.22),
- $\sim 6 \leq \text{pH} \leq \sim 9$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije neutralne 6HQ vrste, $[\text{6-QOH}]$ (krive 5-8, slika 4. 22),
- $\text{pH} \geq \sim 10$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije deprotonovane, anjonske 6HQ vrste, $[\text{6-QO}]^-$ (krive 9-11, slika 4.22)

Slično CV ponašanju za 8HQ DPV pikove može se konstatovati sledeće:

- $\text{pH} < \sim 5$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije protonovane, monokatjonske 8HQ vrste, $[\text{H-8-QOH}]^+$ (krive 1–4, slika 4.25),
- $\sim 5 < \text{pH} < \sim 10$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije neutralne 8HQ vrste, $[\text{8-QOH}]$ (krive 5–9, slika 4.25),
- $\text{pH} > \sim 10$ potiču od inicijalne jednoelektronske oksidacije deprotonovane, anjonske 8HQ vrste, $[\text{8-QO}]^-$ (krive 10–11, slika 4.25).

Na slikama 4.21, 4.24 i 4.27 su prikazane kalibracione prave dobijene pri određivanju 6AQ, 6HQ i 8HQ, respektivno. Njihovi korelacioni koeficijenti: 0,9996 za 6AQ, koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-6}$ mol/L, 0,9963 za 6HQ, koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-7}$ mol/L, 0,9955 za 8HQ, koncentracioni opseg $(1-10) \times 10^{-7}$ mol/L, ukazuju na to da se GCPE može koristiti za njihovo kvantitativno određivanje. Najmanja koncentracija analita 8HQ, kao i 6HQ, koja daje analitički koristan pik je 14,5 $\mu\text{g/L}$, dok je za 6AQ ta koncentracija 144 $\mu\text{g/L}$. Kada se radi o smeši ispitivanih hinolina, nije ih moguće razdvojiti usled male razlike potencijala njihovih pikova.

5.3.2. AdSDPV određivanje

Na slikama 4.20, 4.23 i 4.26 su prikazane zavisnosti struja AdSDPV pikova, I_p , u funkciji vremena depozicije, t_{dep} za 6AQ, 6HQ i 8HQ, respektivno. Može se videti da je za 6AQ optimalni depozicioni period 50 s na 0,0 V. Pod ovim uslovima, dobija se pik čiji je intenzitet 50% viši u odnosu na intenzitet pika bez depozicije. Za 6HQ optimalni depozicioni period je 60 s na 0,0 V. Pod ovim uslovima, dobija se pik čiji je intenzitet tri puta veći u odnosu na intenzitet pika bez depozicije. Za 8HQ optimalni depozicioni potencijal je 300 s na 0,0 V. Pod ovim uslovima, dobija se pik čiji je intenzitet oko dva puta veći u odnosu na intenzitet pika bez depozicije.

U sličaju sva tri ispitivana hinolina povećanje osetljivosti kvantitativnog određivanja je moguće postići primenom AdSDPV. Kao i DPV, ni AdSDPV se ne može koristiti za određivanje smeše ispitivanih hinolina.

5.4. HPLC ANALIZA ISPITIVANIH HINOLINA

5.4.1. RP-HPLC ponašanje

Prilikom razvijanja HPLC metode potrebno je napraviti takav odabir eluenta, kolone, detektora i ostalih uslova snimanja tako su zadovoljeni sledeći kriterijumi: (1) dobijeni pikovi su dobro razdvojeni i pravilnog oblika, (2) vreme analize što kraće, (3) osetljivost određivanja maksimalna. U cilju razvijanja i optimizacije HPLC metode za određivanje smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ ispitano je njihovo ponašanje sa aspekta uticaja udela organske faze u eluentu na oblik, položaj i razdvojenost pikova. Neki drugi faktori koje bi moglo menjati pri optimizaciji HPLC metode kao što su kolona (tip, sastav, veličina čestica materijala stacionarne faze), eluent (rastvarač drugačije polarnosti), dužina kolone, tip detektora, protok, temperatura, su u ovom istraživanju bili nepromenjeni.

Pri određivanju smeše nejonskih, slabo polarnih substanci najčešće se primenjuje RP-HPLC tehnika gde se kao stacionarna faza koristi nepolarni materijal, dok je eluent polaran. Na mehanizam razdvajanja bi trebalo da utiču: odnos polarnosti komponenata ispitivane smeše, polarnost materijala kolone i polarnost eluenta. Navedeni faktori direktno određuju redosled eluiranja komponenti ispitivane smeše. Pravilo je da ona komponenta koja ispoljava najveći stepen nepolarnosti (hidrofobnosti), odnosno ona koja je najslabija materijalu stacionarne faze, se eluira poslednja i ovaj efekat se zove efekat polarnosti.

U slučaju ispitivanih hinolina najpre se eluira 6AQ, zatim 6HQ, pa 8HQ, slika 4.38. Za molekul 6AQ, kao najpolarniji (polarna površina $38,91 \text{ \AA}^2$)¹²⁷, se očekuje da će biti prvi eluiran. 6HQ i 8HQ imaju istu polarnost (polarna površina $33,12 \text{ \AA}^2$)¹²⁷ ali se 8HQ duže zadržava na nepolarnom materijalu kolone. Razlog za to je što se 8HQ vezuje za kolonu nepolarnom stranom molekula gde se nalaze atomi C3, C4, C5, C6, C10 (slika 2.1) za razliku od 6HQ koji na C6 ima vezanu OH grupu tako da ispoljava efekat sterne smetnje za zadržavanje na koloni, što ima za rezultat njegovo kraće zadržavanje u odnosu na 8HQ.

Međutim, ne treba zanemariti uticaj eluenta na zadržavanje, a često i poredak eluiranja komponenata ispitivane smeše na koloni. Poznato je da povećanje udela

organske faze u eluentu ubrzava proces eluiranja komponenti i skraćuje vreme analize. Iz tabele 4.18 se vidi da se retenciono vreme svih ispitivanih hinolina skraćuje sa porastom udela metanola u mobilnoj fazi. Preciznije, za eluent sa udelom metanola od 80% retenciona vremena tri komponente su suviše bliska, odnosno rezolucija pikova nedovoljna, tako da je ovaj sastav eluenta neprihvatljiv. Upotrebom eluenta sa udelom metanola od 20% pik koji potiče od 8HQ potpuno izostaje, dok je eluiranje 6HQ neefikasno jer se dešava oko 36. minuta, što je suviše dugo vreme analize za trokomponentnu smešu. Eluent koji ima sastav 50% metanol, 50% BR 7,28, je najprihvatljiviji jer su pikovi svih komponenti dobro razdvojeni, 6AQ i 6HQ imaju pravilne oblike, dok 8HQ ima mali tejljng. Međutim, i kao takav, može se koristiti za kvantitativna određivanja.

5.4.2. RP-HPLC određivanje

Nakon formiranja metode za određivanje smeše ispitivanih hinolina, snimljeni su kontrolni hromatogrami, koji su služili za proveru predložene metode, odnosno kalibracije. Pošto su kalibracione prave dobijene za svaku komponentu u ispitivanom koncentracionom opsegu linearne, 10–100 mg/L za 6AQ i 6HQ, i 20–100 mg/L za 8HQ slika 4.41, konstatuje su da je moguća analiza odgovarajućih hinolina u datim opsezima koncentracija. Analizom hromatograma datih na slikama 4.42–4.44, može se zaključiti sledeće:

(1) 6AQ

- ✓ za male koncentracije slaganje je perfektno, slika 4.42 (injektirana koncentracija 1,02 mg/L, dobijena koncentracija 1,02 mg/L);
- ✓ za velike koncentracije slaganje je dobro, slika 4.44 (injektirana koncentracija 101,6 mg/L, dobijena koncentracija 96,2 mg/L).

(2) 6HQ

- ✓ za male koncentracije je perfektno slaganje, slika 4.42 (injektirana koncentracija 1,01 mg/L, dobijena koncentracija 1,01 mg/L);
- ✓ za velike koncentracije slaganje je dobro, slika 4.44 (injektirana koncentracija 100,9 mg/L, dobijena koncentracija 100,1 mg/L).

(3) 8HQ

- ✓ koncentracije ≤ 10 mg/L nije moguće odrediti ovom metodom, slika 4.37 (ispitivanje uslova za formiranje metode), slika 4.42 (injektirana koncentracija 2,02 mg/L, izostaje merljiv pik)
- ✓ za koncentracije oko 20 mg/L slaganje je dobro, slika 4.43 (injektirana koncentracija 20,18 mg/L, dobijena koncentracija 19,9 mg/L).

Predložena metoda za RP-HPLC kvalitativno i kvantitativno određivanje smeše 6AQ, 6HQ i 8HQ je pogodna za određivanje niskih koncentracija 6AQ i 6HQ, oko 1 mg/L, kao i relativno visokih koncentracija, oko 100 mg/L, kao i za 8HQ koncentracije oko 20 mg/L ili 100 mg/L.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovu prikazanih i diskutovanih rezultata o voltametrijskom i hromatografskom ponašanju i određivanju, kao i o elektrohemijskom mehanizmu oksidacije 6-aminohinolina (6AQ), 6-hidroksihinolina (6HQ) i 8-hidroksihinolina (8HQ), mogu se izvesti sledeći zaključci:

- ✚ CV i DPV merenjima je pokazano, a semi-empirijskim kvantnohemijskim proračunima potvrđeno, da oksidabilnost svih ispitivanih hinolina raste sa porastom pH rastvora osnovnog elektrolita.
- ✚ Kombinujući rezultate CV analize i kvantnohemijske proračune zaključeno je da se mehanizam elektro-oksidacije sastoji iz dva procesa: inicijalna jednoelektronska oksidacija i inicijalna dvoelektronska oksidacija.
- ✚ Pri inicijalnoj jednoelektronskoj oksidaciji nastaju odgovarajuće, veoma reaktivne radikalske vrste koje se vezuju, formirajući dimere, koji, dalje, bivaju podvrgnuti dvoelektronskoj oksidaciji pri čemu kao krajnji produkt nastaje odgovarajuće hinonoidno jedinjenje.
- ✚ Primenom AM1 metode u kombinaciji sa MM2 i COSMO pokazano je da:
 - ✓ rekombinacija slobodnih radikala 6AQ vrsta, $[6\text{-QNH}_2]^{*+}$, generisanih u kiselim rastvorima, uglavnom vodi ka formiranju C5–C5 vezanih 6AQ dimera, dok rekombinacija $[6\text{-QNH}]^*$ slobodnih radikala, generisanih u baznim rastvorima, uglavnom vodi ka formiranju NH–C5 vezanih 6AQ dimera;
 - ✓ rekombinacija slobodnih radikala 6HQ vrsta, $[\text{H-6-QOH}]^{*2+}$, $[6\text{-QOH}]^{*+}$ i $[6\text{-QO}]^*$, u širokoj pH oblasti, vodi ka formiranju C5–C5 vezanih 6HQ dimera;
 - ✓ rekombinacija 8HQ vrsta uglavnom vodi ka formiranju C5–C5 vezanih 8HQ dimera, u slučaju rekombinacije radikala $[\text{H-8-QOH}]^{*2+}$ i [8-

$QOH]^{+}$, pri $pH < \sim 9$, odnosno, C7–C7 vezanih 8HQ dimera u slučaju rekombinacije radikala $[8-QO]^{*}$, pri $pH \geq \sim 9$.

- ✚ Inicijalna jednoelektronska oksidacija je odgovorna za pojavu glavnog anodnog pika/pikova u 6AQ, 6HQ i 8HQ ciklovoltamogramima i DP voltamogramima.
- ✚ Prema semi-empirijskim, kvantnohemijskim predviđanjima, inicijalna dvoelektronska oksidacija se dešava u širokoj pH oblasti i odgovorna je za nastanak anodnog pika na višim potencijalima u odnosu na pik koji potiče od jednoelektronske oksidacije.
- ✚ Ovo predviđanje je potvrđeno pojavom dodatnog pika u ciklovoltamogramima svih ispitivanih jedinjenja u kiseljoj sredini, dok u baznoj, usled oksidacije osnovnog elektrolita, njegova detekcija nije bila moguća.
- ✚ Na osnovu rezultata dobijenih kontinualnim cikliranjem rastvora sve tri ispitivane supstance zapaža se da se intenzitet glavnog pika/pikova smanjuje sa porastom broja ciklusa, iz čega se zaključuje da se površina GCPE sa porastom broja ciklusa sve više pasivizira usled dimerizacije, odnosno oligo/polimerizacije, pri čemu dolazi do formiranja neprovodnog 6AQ, 6HQ ili 8HQ filma.
- ✚ Pretpikovi u kontinualnim ciklovoltamogramima su posledica oksidacije odgovarajućeg oligomera.
- ✚ Kombinacijom voltametrijskih i teorijskih proučavanja zaključuje se da je elektrohemijska oksidacija 6AQ, 6HQ i 8HQ dvoelektronski, ireverzibilan i difuzijom kontrolisan proces.
- ✚ Na osnovu DPV analize u osnovnom elektrolitu, BR pufer/metanol, 80:20, (v/v) $pH = 2,00$, utvrđen je LOD 6AQ od $4,3 \times 10^{-7}$ M, dok je najmanja koncentracija koja daje analitički koristan pik $144 \mu g/L$. Primenom AdSDPV je moguće povećati osetljivost određivanja 6AQ do 1,5 puta, u odnosu na DPV.
- ✚ Na osnovu DPV analize u osnovnom elektrolitu, BR pufer/metanol, 80:20, (v/v) $pH = 7,10$, utvrđen je LOD 6HQ od $9,0 \times 10^{-8}$ M, dok je najmanja koncentracija

- koja daje analitički koristan pik 14,5 $\mu\text{g/L}$. Primenom AdSDPV je moguće povećati osetljivost određivanja 6HQ do tri puta, u odnosu na DPV.
- ✚ Na osnovu DPV analize u osnovnom elektrolitu, BR pufer/metanol, 80:20, (v/v) pH = 9,00, utvrđen je LOD 8HQ od $5,2 \times 10^{-8}$ M, dok je najmanja koncentracija koja daje analitički koristan pik 14,5 $\mu\text{g/L}$. Primenom AdSDPV je moguće povećati osetljivost određivanja 8HQ do dva puta, u odnosu na DPV.
 - ✚ Primenom DPV ili AdSDPV nije moguće pojedinačno odrediti ispitivane hinoline u smeši.
 - ✚ Pronađeni su optimalni uslovi za hromatografsko određivanje smeše ispitivanih hinolina, odnosno, formirana RP-HPLC metoda koja podrazumeva: C18 kolonu, eluent sastava metanol/BR pufer (10 \times razbl, pH 7,28) 50:50 (v/v), protok 1 mL/min, talasnu dužinu snimanja detektora 240 nm (T = 22 $^{\circ}\text{C}$).
 - ✚ Trajanje HPLC analize je 10 min, a redosled eluiranja: 6AQ, 6HQ, 8HQ. Rezolucija je zadovoljavajuća, izgled 6AQ i 6HQ pikova je pravilan, dok 8HQ pik pokazuje post-pik širenje (tejljng), ali je, i pored toga, analitički koristan.
 - ✚ Najmanja koncentracija 6AQ, kao i 6HQ određivana ovom metodom je 1 mg/L, dok je za 8HQ 20 mg/L.
 - ✚ Za veoma osetljiva određivanja ispitivanih hinolina DPV ili AdSDPV su metode od izbora, u odnosu na HPLC.
 - ✚ Zahvaljujući ovoj studiji omogućeno je kreiranje RP-HPLC metode za određivanje ispitivanih hinolina u smeši koristeći elektrohemijску detekciju (RP-HPLC-ED), odnosno, kuplovanje dve ovde primenjene tehnike, što bi rezultiralo povećanjem osetljivosti određivanja u odnosu na pojedinačno primenjene tehnike.

7. L I T E R A T U R A

- [1] G. Jones, *The Chemistry of Heterocyclic Compounds*, John Wiley and Sons, Inc., New York (1990).
- [2] Hans-Joachim Knölker, *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, Volume 71, Elsevier, Dresden (2012).
- [3] E.E. Ebenso, I.B. Obot, L.C. Murulana, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 5 (2010) 1574 - 1586.
- [4] G. Matolcsy, M. Nádasy, V. Andriská, *Studies in Environmental Chemistry: Pesticide Chemistry*, Volume 32, Elsevier, Budapest (1988).
- [5] O.A. Fathalla, M.E.A. Zaki, Eman A. ElHefny, S.A. Swelam, *Int. J. Pharm.*, 2 (2012) 299.
- [6] G. Suzuki, N. Tsukamoto, H. Fushiki, A. Kawagishi, M. Nakamura, H. Kurihara, M. Mitsuya, M. Ohkubo, H. Ohta, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 323 (2007) 147.
- [7] D. Garin, J.F. Chaulet, Y. Robet, J.C. Chapalain, D. Lamarque, F. Peyron, *Med. Trop.*, 51 (1991) 29.
- [8] P. Schlagenhauf, M. Adamcova, L. Regep, M.T. Schaerer, S. Bansod, H.G. Rhein, *Malar. J.*, 10 (2011) 292.
- [9] D.E. Joseph et al., *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals IV Synthesis and Chemistry of Agrochemicals IV*, Chapter 34, American Chemical Society, (1995) 396–405.
- [10] V.K. Macioszek, A.K. Kononowicz, *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 9 (2004) 107.
- [11] J.R. Vyvyan, *Tetrahedron*, 58 (2002) 1631.
- [12] B. Carl, A. Arnold, B. Hauer, S. Fetzner, *Gene*, 331 (2004) 177.
- [13] J. Neuwoehner, A. Reineke, J. Hollender, A. Eisentraeger, *Ecotox. Environ. Safe.*, 72 (2009) 819.
- [14] S. Zhu, D. Liu, L. Fan, J. Ni, *J. Hazard. Mater.*, 160 (2008) 289.
- [15] D.A. Birkholz, R.T. Coutts, S.E. Hrudey, R.W. Danell, W.L. Lockhart, *Water Res.*, 24 (1990) 67.
- [16] V. Arancibia, M. Zúñiga, M.C. Zúñiga, R. Seruga and M. Esteban, *J. Braz. Chem. Soc.*, 21 (2010) 255.

- [17] E.R. de Sousa, E.P. Marques, E.N. Fernandes, J. Zhang and A. L. B. Marques, J. Braz. Chem. Soc., 17 (2006) 177.
- [18] J.P. Phillips, Chem. Rev., 56 (1956) 271.
- [19] N.E. Rigler, G.A. Greathouse, Ind. Eng. Chem., 33 (1941) 693.
- [20] J.L. Stauber, T.M. Florence, Mar. Biol., 94 (1987) 511.
- [21] R. Musiol, M. Serda, S. Hasel-Bielowka, J. Polanski, Curr. Med. Chem., 18 (2010) 1960.
- [22] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle, J. Membr. Sci., 355 (2010) 78.
- [23] L. Fishbein, *Potential industrial carcinogens and mutagens*, Elsevier Scientific Publishing Company, The Netherlands (1979).
- [24] R.S. Yamamoto, G.M. Williams, H.H. Frankel, J.H. Weisburger, Toxicol. Appl. Pharmacol., 19 (1971) 687.
- [25] C.W. Tang, S.A. VanSlyke, Appl. Phys. Lett., 51 (1987) 913.
- [26] C.M. Darby, C.F. Nathan, J. Antimicrob Chemother., 65 (2010) 1424.
- [27] M. Sekine, Y. Nagai, H. Sekiya, M. Nakata, J. Phys. Chem., A 113 (2009) 8286.
- [28] M.S. Mehata, Chem. Phys. Lett., 436 (2007) 357.
- [29] M.S. Mehata, H.C. Joshi, H.B. Tripathi, Chem. Phys. Lett., 359 (2002) 314.
- [30] E. Bardez, A. Chatelain, B. Larrey, B. Valeur, J. Phys. Chem., 98 (1994) 2357.
- [31] M.S. Mehata, H.C. Joshi, H.B. Tripathi, Spectrochem. Acta A, 59 (2003) 559.
- [32] M.S. Mehata, H.C. Joshi, H.B. Tripathi, Chem. Phys. Lett., 366 (2002) 628.
- [33] T.G. Kim, Y. Kim, D. Jang, J. Phys. Chem. A, 105 (2001) 4328.
- [34] K.M. Solntsev, C.E. Clower, L.M. Tolbert, D. Huppert, J. Am. Chem. Soc., 127 (2005) 8534.
- [35] A.R. Nicolaescu, O. Wiest, P.V. Kamat, Journ. Phys. Chem. A, 109 (2005) 2822.
- [36] E. Bardez, I. Devol, A. Châtelain, J. Colloid. Interf. Sci., 205 (1998) 178.
- [37] A.N. Pearce, D.R. Appleton, R.C. Babcock, B.R. Copp, Tetrahedron Lett., 44 (2003) 3897.
- [38] J. Qian, A.M. Brouwer, Phys Chem Chem Phys., 12 (2010) 12562.
- [39] Y. Liu, Y. Zhao, X. Zhai, X. Feng, J. Wang, P. Gong, Bioorgan. Med. Chem., 16 (2008) 6522.
- [40] J. Zima, A. Stoica, A. Zitova, J. Barek, Electroanalysis, 18 (2005) 158.

- [41] J. Jacob, W. Karcher, J.J. Belliardo, R. Dumler, A. Boenke, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 340 (1991) 755.
- [42] <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsGroupOrder.pdf>
- [43] J. Barek, J.C. Moreira, J. Zima, *Sensors*, 2 (2005) 148.
- [44] J. Wang, U.A. Kirgoz, J. Mo, J.Ju, A.N. Kawde, A. Muck, *Electrochem. Comm.*, 3 (2001) 203
- [45] K. Vytras, I. Švancara, R. Metelka, *J. Serb. Chem. Soc.*, 10 (2009) 1021.
- [46] R.N. Adams, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1576.
- [47] I. Švancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 31 (2001) 311.
- [48] I. Švancara, K. Vytras, *Anal. Chim. Acta*, 273 (1993) 195.
- [49] I. Švancara, M. Pravda, M. Hvizdalova, K. Vytras, K. Kalcher, *Electroanalysis*, 6 (1994) 663.
- [50] I. Švancara, K. Kalcher, W. Diewald, K. Vytras. *Electroanalysis*, 8 (1996) 336.
- [51] M. Hvizdalova, Diploma Thesis, University of Pardubice, 1994.
- [52] I. Švancara, M. Hvizdalova, K. Vytras, K. Kalcher, R. Novotny, *Electroanalysis*, 8 (1996) 61.
- [53] J.T. Stock, *J. Chem. Soc.*, (1949) 586.
- [54] Z.P. Yang, M. Alafandy, K. Boutakhrit, J.M. Kauffmann, J. Arcos, *Electroanalysis*, 8 (1996) 25.
- [55] A. Stoica, J. Zima, J. Barek, *Anal. Lett.*, 38 (2005) 149.
- [56] L. Nemcova, J. Zima, J. Barek, *Collect. Czech. Comm.*, 74 (2009) 1477.
- [57] Z. Yuanyuan, L. Song, *Optoelectron. Adv. Mat.*, 5 (2011) 924.
- [58] J. Wang, *Analytical electrochemistry*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York (2000).
- [59] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York (2001).
- [60] J.O'M. Bockris, A.K.N. Reddy, *Modern Electrochemistry*, Kluwer Academic Publishers, 2nd Edition (2002).
- [61] P.T. Kissinger, W. R. Heineman, *J. Chem. Educ.*, 60 (1983) 702.
- [62] V.S. Bagotsky, *Fundamentals of Electrochemistry*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Moscow (2006).
- [63] C. Zoski, *Handbook of Electrochemistry*, Elsevier (2006).

- [64] F. Scholz, *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*, Springer (2010).
- [65] C.M.A. Brett, A.O. Brett, *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*, Oxford University Press, USA (1993).
- [66] R.G. Compton, C.E. Banks, *Understanding Voltammetry*, Imperial College Press, 2nd Edition (2011).
- [67] <http://www2.chemistry.msu.edu/courses/cem419/cem372cyclicvoltammetry.pdf>
- [68] D. Manojlović, J. Mutić, D. Šegan, *Osnove elektroanalitičke hemije*, Hemijski fakultet, Beograd (2011).
- [69] P. Zanello, *Inorganic Electrochemistry: Theory, Practice and Application*, The Royal Society of Chemistry (2003).
- [70] <http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/electrochem/JAVA/electrochemistry/ELEC/14html/cv.html>
- [71] R. Greef, R. Peat, L.M Peter, D. Pletcher, J. Robinson, *Instrumental Methods in Electrochemistry*, Ellis Howood, Chichester (1985).
- [72] H. Matsuda, Y. Ayabe, Z. Elektrochem., 59 (1955) 494.
- [73] S. Mentus, *Elektrohemija*, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd (2001).
- [74] J.G. Osteryoung, M.M. Schreiner, *Electrochemistry, Past and Present*; Chapter 25: *Development of Pulse Polarography and Voltammetry*, American Chemical Society (1989).
- [75] David Harvey, *Analytical Chemistry 2.0 Electrochemical Methods*, Chapter 11, Wiley VHC (2011)
- [76] R. Holze, *Experimental Electrochemistry*, Wiley VHC, Cambridge (2011).
- [77] Amersham Pharmacia Biotech, *Reversed Phase Chromatography Principles and Methods*, Printed in Sweden by Snits & design AB/Västra Aros Tryckeri AB (1999).
<http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/ReversePhase/AmershamRPCManual.pdf>
- [78] A. Braithwaite, F.J. Smith, *Chromatographic Methods*, Fifth Edition, Kluwer Academic Publisher (1999).
- [79] K. Blau, J.M. Halket, *Handbook of Derivatives for Chromatography*, Second Edition, John Wiley and Sons (1993).
- [80] C.F. Poole, *The Essence of Chromatography*, Elsevier, The Netherlands (2003).

- [81] L.R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development*, John Wiley and Sons, Inc., New York (1997).
- [82] M.C. McMaster, *HPLC A practical User's Guide*, John Wiley and Sons, Inc., (2007).
- [83] T. Hanai, *A Practical Guide*, The Royal Society of Chemistry, UK (1999).
- [84] D.A. Wellings, *A Practical Handbook of Preparative HPLC*, Elsevier, The Netherlands (2006).
- [85] N. Grinberg, R. LoBrutto, *Efficiency in Chromatography*; Encyclopedia of Chromatography; Marcel Dekker, INC, New York (2001).
- [86] M. Hedhammar, A.E. Karlström, S. Hober, *Chromatographic methods for protein purification*, Royal Institute of Technology, AlbaNova University Center, Dept. of Biotechnology SE-106 91 Stockholm, Sweden.
- [87] J. C. Janson, L. Rydén, *Protein purification, Principles, high resolution methods and applications*, Wiley-Liss, New York (1998).
- [88] A. Jungbauer, C. Machold, R. Hahn, *J. Chromatogr. A*, 221 (2005) 1079.
- [89] W.C. Lee, K.H. Lee, *Anal Biochem*, 1 (2004) 324.
- [90] C. Machold, K. Deinhofer, R. Hahn, A. Jungbauer, *J. Chromatogr. A*, 3 (2002) 972.
- [91] U.D. Neue, *HPLC Columns, Theory, Technology, and Practice*, Wiley New York (1997).
- [92] K.M. Gooding, *Hydrophobic Interaction Chromatography*; Encyclopedia of Chromatography; Marcel Dekker, INC, New York (2001).
- [93] P.R.B Weston, *HPLC and CE: fundamentals and applications*, (1997).
- [94] S. Kromidas, *HPLC Made to Measure*, Wiley VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2006).
- [95] T. Maryutina; B.Y. Spivakov, J. Cazes, CCC Solvent Systems; Encyclopedia of Chromatography; Marcel Dekker, INC, New York (2001).
- [96] J.E. Haky, *Resolution in HPLC: Selectivity, Efficiency, and Capacity*; Encyclopedia of Chromatography; Marcel Dekker, INC, New York (2001).
- [97] R. P. William, Raymond, P. W. Scott. Chromatographic detectors: design, function, and operation, Marcel Dekker, INC, New York (1996).
- [98] Charles H. Lochmüller, *Analytical Chemistry*, CRC Press New York (2000).

- [99] S. Kromidas, *More Practical Problem Solving in HPLC*, Vch Verlagsgesellschaft Mbh, Germany (2005).
- [100] V.R. Meyer, *Practical High-Performance Liquid Chromatography*, John Wiley and Sons (2004).
- [101] P.C. Sadek, *Troubleshooting HPLC Systems, A Bench Manual*, John Wiley and Sons (2000).
- [102] DryLab 200 Plus, LC Resources Inc. (2002).
- [103] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, 107 (1985) 3902.
- [104] J.J.P. Stewart, *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, 4 (1990) 1.
- [105] M.C. Stević, Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, S.M. Stanišić, D.M. Stanković, J. Zima, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6, (2011) 2509.
- [106] M.C. Stević, Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, B. Marjanović, J. Barek, J. Zima, *J. Electroanal. Chem.*, 677-680 (2012) 69.
- [107] L. Y. Dávila, M.J. Caldas, *J. Comput. Chem.*, 23 (2002) 1135.
- [108] G. Ćirić-Marjanović, M. Trchová, J. Stejskal, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 71, (2006) 1407.
- [109] G. Ćirić-Marjanović, M. Trchová, E. N. Konyushenko, J. Stejskal, *Synth. Met.*, 158, (2008) 200.
- [110] G. Ćirić-Marjanović, M. Trchová, E.N. Konyushenko, P. Holler, J. Stejskal, *J. Phys. Chem. B*, 112 (2008) 6976.
- [111] B. Marjanović, I. Juranić, G. Ćirić-Marjanović, I. Pašti, M. Trchová, P. Holler, *React. Funct. Polym.*, 71 (2011) 704.
- [112] B. Marjanović, I. Juranić, G. Ćirić-Marjanović, *J. Phys. Chem. A*, 115 (2011) 3536.
- [113] G.B. Rocha, R.O. Freire, A.M. Simas, J.J.P. Stewart, *J. Comp. Chem.*, 27, (2006) 1101.
- [114] A. Klamt, G. Schüürmann, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, 2 (1993) 799.
- [115] U. Burkert, N.L. Allinger, *Molecular Mechanics*, ACS Monograph 177, Washington DC (1982).
- [116] J. Baker, *J. Comp. Chem.*, 7 (1986) 385.
- [117] H. Benadikova, R. Kalvoda, *Anal. Lett.*, 17 (1984) 1519.

- [118] J. N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Pearson Education Limited, England (2005).
- [119] W.L.F. Armarego, C.L.L. Chai, *Purification of Laboratory Chemicals*, 6th Ed., Butterworth- Heinemann, Elsevier Inc., (2009) 361.
- [120] E. Bardez, I. Devol, B. Larrey, B. Valeur, *J. Phys. Chem. B*, 101 (1997) 7786.
- [121] H.A. Mottola, H. Freiser, *Talanta*, 13 (1966).
- [122] Z. Rappoport, *The chemistry of anilines: Part 1*, p. 886, John Wiley & Sons, (2007).
- [123] G.S. Hammond, *J. Am. Chem. Soc.*, 77 , (1955) 334.
- [124] T.N. Das, *J. Phys. Chem. A*, 109 (2005) 3344.
- [125] <http://www.phenomenex.com/Application>
- [126] My Personal Handbook, HPLC in Laboratory Practice,
<http://www.specanalitica.pt/sites/default/files/articlefile32.pdf>
- [127] www.chemexper.com

BIOGRAFIJA AUTORA

Milica C. Stević je rođena 18.03.1981. godine u Zvorniku (BiH). Srednju Medicinsku školu završila je u Beogradu (Zvezdara). Fakultet za fizičku hemiju, Univerziteta u Beogradu, upisala je školske 2000/2001. godine, a završila ga 2006. godine sa prosečnom ocenom 9,17 (devet i 17/100) i ocenom 10 na Diplomskom radu. Doktorske studije je upisala školske 2006/2007 godine.

Od 20.04.2007. godine je zaposlena na Fakultetu za fizičku hemiju kao asistent. Učestvovala je u izvođenju nastave na sledećim predmetima: Fizička hemija 1 i 2 (za studente Hemijskog fakulteta, smer Hemičar za životnu sredinu), Fizička hemija (za studente Hemijskog fakulteta, smer Biohemičar), Fizičko-hemijski procesi u životnoj sredini, (za studente Geografskog fakulteta), Kontrola stanja životne sredine (za studente Fakulteta za fizičku hemiju), Uvod u fizičku hemiju životne sredine (za studente Fakulteta za fizičku hemiju).

Kandidatkinja je do sada učestvovala na dva projekta Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije: 142047B, pod rukovodstvom profesora Slavka Mentusa (u periodu 2007–2010. god.), 172030, pod rukovodstvom profesora Dragana Manojlovića (od 2011. god. – danas).

Oblasti interesovanja kandidatkinje su elektrohemija, hromatografija i fizička hemija životne sredine.

Autor je šest naučnih radova i deset saopštenja. Tri rada i dva saopštenja proizašla su iz materijala Doktorske disertacije.

OBJAVLJENI NAUČNI RADOVI I SAOPŠTENJA
PROISTEKLI IZ DOKTORSKE DISERTACIJE

Radovi objavljeni u vrhunskim međunarodnim časopisima (M₂₁)

1. M.C. Stević, G. Ćirić-Marjanović, B. Marjanović, Lj.M. Ignjatović, D. Manojlović; The electrochemical oxidation of 6-aminoquinoline: Computational and voltammetric study; *Journal of The Electrochemical Society*, 159 (2012) 151–159.
2. M.C. Stević, Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, B. Marjanović, J. Barek, J. Zima; Electrochemical oxidation of 6-hydroxyquinoline on a glassy carbon paste electrode: Voltammetric and computational study; *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 677–680 (2012) 69–77.

Rad objavljen u istaknutom međunarodnom časopisu (M₂₂)

3. M.C. Stević, Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, S.M. Stanišić, D.M. Stanković, J. Zima; Voltammetric Behaviour and Determination of 8-Hydroxyquinoline Using a Glassy Carbon Paste Electrode and the Theoretical Study of its Electrochemical Oxidation Mechanism; *International Journal of Electrochemical Science*, 6 (2011) 2509–2525.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M₃₃)

1. Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, J. Barek, J. Zima, M.C. Stević; Electrochemical Oxidation of 6-Aminoquinoline on a Glassy Carbon Paste Electrode: Voltammetric and Computational study; The 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, August 19–24, 2012, Prague, Czech Republic, Abstracts, s11-001.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M₃₄)

2. M.C. Stević, Lj.M. Ignjatović, G. Ćirić-Marjanović, D.M. Stanković, J. Zima; Voltammetric behaviour and determination of 8-hydroxyquinoline using glassy carbon paste electrode and the theoretical study of its oxidation mechanism; Euroanalysis 16, September 11–15, 2011, Belgrade, Abstracts, p. 17.

OSTALI OBJAVLJENI NAUČNI RADOVI I SAOPŠTENJA

Radovi objavljeni u međunarodnim časopisima (M₂₃)

4. S.M. Stanišić, Lj.M. Ignjatović, I. Anđelković, M.C. Stević, A.M. Tasić, M. Savić-Biserčić; Ultrasound-assisted extraction of matrix elements and heavy metal fractions associated with Fe, Al and Mn oxyhydroxides from soil; *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77 (2012) 1287–1300.
5. S.M. Stanišić, Lj.M. Ignjatović, M.C. Stević, A.R. Đordjević; A comparison of sample extraction procedures for the determination of inorganic anions in soil by ion chromatography; *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76 (2011) 2509–2525.
6. Lj.M. Ignjatović, J. Barek, J. Zima, M.C. Stević; Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of 1,1-Dimethyl-3-phenyltriazene; *Collection Czechoslovak Chemical Communication*, 73 (2008) 97–106.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M₃₃)

3. Lj. Ignjatović, J. Barek, J. Zima, I. Sredović, M.C. Stević; Voltammetric Behavior and Determination of 1-(4'-iodophenyl)-3,3-dimethyltriazene; The 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, August 19–24, 2012, Prague, Czech Republic, Abstracts, s11-016.
4. M.C. Stević, J. Barek, J. Zima, Lj.M. Ignjatović; The electrode reduction mechanism of 1-phenyl-3,3-dimethyltriazene and its 4'-halogeno derivatives; 9th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry "Physical Chemistry 2008", Belgrade, September 24–26, Proceedings, Vol. I, 270–272.
5. S.D. Zarić, M. Milčić, M.C. Stević, I. Holclajtner-Antunović, M.B. Hall; Fenske-Hall Calculations on Polyoxometalate Anion; International Conference of Computational Methods in Sciences and Engineering 2006 (ICCMSE 2006), Chania, Crete, Greece, 27 October – 1 November 2006, Lecture Series on Computer and Computational Sciences Volume 6, 2006, p. 13.

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M₃₄)

6. M. C. Stević, Lj. M. Ignjatović, J. Barek, J. Zima, A.M. Tasić; The investigation of the electrochemical reduction pathway of 1-(4'-iodophenyl)-3,3-dimethyltriazene and its voltammetric determination; Euroanalysis 16, September 11–15, 2011, Belgrade, Abstracts, p. 230.
7. S.M. Stanišić, Lj.M. Ignjatović, M.C. Stević, I.D. Sredović, A.R. Đorđević; Ultrasound-assisted extraction for determination of major and trace elements in soil sample; Euroanalysis 16, September 11–15, 2011, Belgrade, Abstracts, p. 548.

Saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampana u celini (M₆₃)

8. M.C. Stević, J. Barek, J. Zima, Lj. Ignjatović; Polarografsko i voltametrijsko određivanje 1-(4'-jodofenil)-3,3-dimetiltriazena; 5. simpozijum „Hemija i zaštita životne sredine“ sa međunarodnim učešćem, 27.–30. maj 2008, Tara, Knjiga radova, str. 78–79.
9. M. Gigov, Lj. Ignjatović, M.C. Stević; Nuklearna energija u budućnosti: dobrobit i opasnosti po životnu sredinu; Simpozijum sa međunarodnim učešćem „Zaštita vazduha 2011“, 7.–9. novembar 2011, Zrenjanin, Zbornik radova, str. 176–186.
10. Lj. Ignjatović, M. Gigov, M.C. Stević; Jon-hromatografska određivanja anjona, katjona i organskih kiselina u biogorivima; Simpozijum sa međunarodnim učešćem „Zaštita vazduha 2011“, 7.–9. novembar 2011, Zrenjanin, Zbornik radova, str. 187–193.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Милица Стевић

број индекса 302/06

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Волтаметријско и хроматографско понашање и одређивање

6- и 8-супституисаних хинолина

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Београду, 19.11.2012. год.

Потпис докторанда



Милица Стевић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора	Милица Стевић
Број индекса	302/06
Студијски програм	Докторске академске студије
Наслов рада	Волтаметријско и хроматографско понашање и одређивање 6- и 8-супституисаних хинолина
Ментор	др Љубиша М. Игњатовић, ван. проф.
Потписани/а	Милица Стевић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 19.11.2012. год.

Потпис докторанда

Милица Стевић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Волтаметријско и хроматографско понашање и одређивање 6- и 8-супституисаних хинолина

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

У Београду, 19.11.2012. год.

Потпис докторанда

Милица Стевић

1. Ауторство - Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.