

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Polskie Towarzystwo Chemiczne

Postępy w technologii i inżynierii chemicznej

MONOGRAFIA

Praca zbiorowa pod redakcją Zofii Lendzion-Bieluń oraz Dariusza Moszyńskiego



Szczecin 2017

Recenzenci:

ZOFIA LENDZION-BIELUŃ
ANNA BŁOŃSKA-TABERO
ELŻBIETA GABRUŚ
JOANNA GRZECHULSKA
EWA JANUS
AGNIESZKA KOWALCZYK
AGATA MARKOWSKA-SZCZUPAK
DARIUSZ MOSZYŃSKI
URSZULA NARKIEWICZ
PAULA OSSOWICZ
ROBERT PEŁECH
BEATA SCHMIDT
JACEK SOROKA
JACEK SOŚNICKI
PIOTR TABERO
ELŻBIETA TOMASZEWICZ
BEATA TRYBA
AGNIESZKA WRÓBLEWSKA
ELWIRA WRÓBLEWSKA

WYDANO ZA ZGODĄ REKTORA ZACHODNIOPOMORSKIEGO UNIwersYTETU TECHNOLOGICZ-
NEGO W SZCZECINIE

ISBN 978-83-7663-241-4

Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego
w Szczecinie, al. Piastów 48, 70-311 Szczecin, tel. 91 449 47 60,
e-mail: wydawnictwo@zut.edu.pl

Spis treści

Michalina Adaszyńska-Skwirzyńska

Analiza porównawcza zawartości wybranych biopierwiastków w lawendzie lekarskiej (<i>Lavandula angustifolia</i>)	5
---	---

Aleksandra Antoniewicz

Zastosowanie olfaktometrii do oceny skuteczności oczyszczania powietrza metodami adsorpcyjnymi	14
--	----

Adrian Krzysztof Antosik, Agnieszka Kowalczyk, Zbigniew Czech

Skurcz silikonowych klejów samoprzylepnych	24
--	----

Agnieszka Biedziak, Kamil Czerniak, Damian Kaczmarek, Michał Niemczak

Protonowe sole difenokonazolu jako nowe fungicydy	33
---	----

Kamil Czerniak, Agnieszka Biedziak, Damian Kaczmarek, Michał Niemczak

Herbicydowe ciecze jonowe zawierające grupę estrową lub amidową	44
---	----

Agnieszka Fiszka-Borzyszkowska, Patrycja Wilczewska, Aleksandra Pieczyńska, Ewa Maria Siedlecka

Wpływ sposobu syntezy MWCNTs-TiO ₂ na aktywność fotokatalityczną otrzymanych nanokompozytów	55
--	----

Alicja Gawarecka, Agnieszka Wróblewska

Utlenianie limonenu na katalizatorach tytanowo-silikatowych bez udziału rozpuszczalnika	65
---	----

Monika Gawrońska, Alicja Wodnicka

Synteza nowych pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego o potencjalnej aktywności biologicznej	72
---	----

Damian Kaczmarek, Kamil Czerniak, Agnieszka Biedziak, Michał Niemczak

Hydroksyalkilowe bisamoniowe ciecze jonowe z herbicydowymi anionami	81
---	----

Łukasz Kucharski, Anna Nowak, Magdalena Tkacz, Danuta Pechaiko, Joanna Zielonka-Brzezicka, Adam Klimowicz

Porównanie właściwości antyoksydacyjnych miodów drahimskich z innymi miodami dostępnymi na rynku	90
--	----

Joanna Lechowska, Rafał Rakoczy

Analiza wpływu wirującego pola magnetycznego na hydrodynamikę reaktora air-lift	99
---	----

Edyta Makuch, Agnieszka Wróblewska, Monika Retajczyk

Wpływ czasu prowadzenia ekstrakcji nierozwiniętych pąków kwiatowych drzewa goździkowca wonnego na zawartość substancji biologicznie aktywnych w ekstraktach etanolowych	110
---	-----

Mariusz Władysław Malko, Agnieszka Wróblewska, Adrian Krzysztof Antosik, Katarzyna Wilpiszewska, Beata Michalkiewicz

Wpływ hydrofilowego montmorylonitu użytego w roli katalizatora na proces utleniania R-(+)-limonenu nadtlaniem wodoru	119
--	-----

Piotr Miądlicki, Agnieszka Wróblewska, Beata Michalkiewicz

Materiał Ti-SBA-16 – właściwości, synteza oraz charakterystyka	128
--	-----

Paula Ossowicz

Aminokwasowe ciecze jonowe, jako nowe media reakcyjne 131

Krzysztof Pawelec, Hanna Siwek

Przegląd wybranych metod rekultywacji akwenów w Polsce 145

Monika Retajczyk, Agnieszka Wróblewska, Edyta Makuch

Wybrane metody otrzymywania olejku eterycznego ze skórek pomarańczy 153

**Anna Rzuchowska, Anna Szady-Chelmieńska,
Agata Markowska-Szczupak, Zbigniew Rozwadowski**

Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwgrzybicza zasad Schiffa, pochodnych produktów pochodzenia naturalnego, wobec wybranych szczepów mikroorganizmów 163

Marika Walasek, Agnieszka Wróblewska

Wpływ ilości katalizatora TI-MWW na proces epoksydacji eteru diallilowego w izopropanolu jako rozpuszczalniku 175

**Patrycja Wilczewska, Agnieszka Fiszka-Borzyszkowska, Aleksandra Pieczyńska,
Ewa Maria Siedlecka**Identyfikacja chemicznych indywiduów utleniających biorących udział w rozkładzie cytostatyków w obecności Bi-TiO₂ modyfikowanych MWCNTs 185

Michalina ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA

ANALIZA PORÓWNAWCZA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH BIOPIERWIASTKÓW W LAWENDZIE LEKARSKIEJ (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA*)

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CONTENT OF SELECTED BIOELEMENTS LAVENDER (*LAVANDULA ANGUSTIFOLIA*)

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli
Zwierząt, Zakład Hodowli Ptaków Użytkowych i Ozdobnych

Streszczenie. Oznaczono zawartość Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe, K i Na w kwiatach i ulistnionych łodygach dwóch odmian lawendy lekarskiej pochodzących z uprawy doświadczalnej Katedry. Ogrodnictwa ZUT oraz kwiatów lawendy handlowej, nieokreślonej odmiany. Analizowany materiał zmineralizowano, a następnie oznaczono wybrane pierwiastki metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe) oraz fotometrii płomieniowej (K, Na). Na podstawie uzyskanych wyników wskazano surowce roślinne bogate w badane pierwiastki oraz określone różnice pomiędzy odmianami i częściami morfologicznymi lawendy.

Słowa kluczowe: lawenda, biopierwiastki, roślinne surowce lecznicze.

Keywords: lavender, bioelements, herbal crude drugs.

LAWENDA – SUROWIEC ZIELARSKI O WŁAŚCIWOŚCIACH LECZNICZYCH

Do popularnych ziół zawierających w swoim składzie substancje biologicznie aktywne należy lawenda. Jest ona rośliną pochodzącą z terenów śródziemnomorskich, która poprzez północną i wschodnią Afrykę, dotarła aż po Indie. Cały rodzaj *Lavandula* obejmuje ponad 40 różnych gatunków oraz setki odmian i hybryd. Trzy gatunki: *L. angustifolia* Mill. (lawenda wąskolistna), *L. stoechas* (lawenda francuska), *L. latifolia* oraz ich hybrydy to najczęściej uprawiane rośliny [1]. Lawenda wąskolistna *Lavandula angustifolia* Mill. (dawniej synonim *L. officinalis* Chaix lub *L. vera*), nazywana zwyczajowo lawendą lekarską to gatunek o największym znaczeniu przemysłowym. Lawenda lekarska należy do najczęściej uprawianych, przede wszystkim ze względu na olejek eteryczny, który zaliczany jest do najbardziej rozpowszechnionego produktu metabolizmu wtórnego tej rośliny [2]. Według Kohlmünzera „za olejkowe gatunki roślin, uważa się zwykle takie, które zawierają powyżej 0,01% mas. olejku” [3]. W lecznictwie z *L. angustifolia* pozyskiwany jest tylko jeden surowiec olejkowy. Jest nim kwiat lawendy (*Flos Lavandulae*). Olejek w lawendzie znajduje się w kulistych gruczołach tworzących kutner, pokrywający prawie całą roślinę, jednakże największe jego ilości znajdują się właśnie w kwiatach, dlatego są one głównym surowcem do produkcji. Jako surowiec zielarski do sporządzania przetworów używane jest także kwitnące ziele (*Herba Lavandulae*), jednakże Farmakopea Polska i Europejska jako surowiec leczniczy wymieniają jedynie kwiat lawendy (świeże lub suszone wierzchołki) [1, 4, 5]. Wchodzące w skład olejku związki mają charakter węglowodorów, alkoholi, aldehydów, ketonów, estrów i eterów. Olejek z lawendy lekarskiej może zawierać około 300 składników [1, 2]. Oprócz wymienionych związków

w olejku spotyka się również kumaryny i kwasy organiczne [1, 3]. Główną klasą związków olejku pozyskiwanego z kwiatów lawendy są składniki o charakterze monoterpenów (o ogólnym wzorze $C_{10}H_{16}$), głównie ich tlenowe pochodne (monoterpenoidy) [1, 2]. Są to substancje ciekłe lub stałe o charakterystycznym zapachu. Charakteryzuje je bardzo często występująca izomeria geometryczna i optyczna. Ze względu na strukturę monoterpeny i monoterpenoidy można podzielić na cztery grupy: acykliczne, monocykliczne, dicykliczne i tricykliczne [3]. Olejek z lawendy charakteryzuje się występowaniem związków z trzech pierwszych grup. Kwiaty lawendy zawierają do 3% mas. olejku, którego skład jakościowy i ilościowy jest zmienny i zależy od genotypu, warunków klimatycznych, sposobu rozmnażania czy cech morfologicznych. Oprócz związków terpenoidowych lawenda jest także cennym źródłem związków fenolowych. W lawendzie zidentyfikowano następujące grupy polifenoli: fenolokwasy, flawonoidy, garbniki, kumarynę i jej pochodne [1, 6, 7]. Całkowita zawartość polifenoli mieści się w przedziale od 4,5 do 15,0% mas. [7, 8, 9]. W ekstrakcie heksanowym z liści lawendy oznaczono także fitosterole (kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol) oraz kwasy tłuszczowe. Wśród nasyconych kwasów tłuszczowych w ekstrakcie oznaczono następujące kwasy: laurynowy, mirystynowy, palmitynowy, archaidowy, behenowy, lingocerynowy oraz stearynowy. Zidentyfikowano także kwasy nienasycone: linolowy i linolenowy [10]. W lawendzie stwierdzono także zawartość związków mineralnych [1, 2].

Roślina dorasta do 60 cm wysokości i 70 cm szerokości. Korzeń jest wiązkowy, silnie rozgałęziony, sięgający do głębokości ponad 4 m. Liście są lancetowate, o szaro-zielonym zabarwieniu i podwiniętych brzegach. Łodyga kwiatonośna jest przeważnie nierozgałęziona o długości 10–25 cm, w dolnej części zdrewniała, natomiast w górnej zielona, zakończona zwartym kłosem kwiatowym o długości 4–8 cm. Kwiaty składające się z pięciodziałowego kielicha oraz korony o charakterystycznym zabarwieniu, są małe, barwy fioletowo-niebieskiej, fioletowej, różowej a nawet białej w zależności od odmiany [1]. Do najpopularniejszych odmian lawendy wąskolistnej *Lavandula angustifolia* Mill. zaliczamy: *Munstead*, *Munstead Strain*, *Hidcote Blue*, *Hidcote Pink*, *Dwarf Blue*, *Nana Alba*, *Rosea*, *Lavender Lady* [1, 2]. Surowiec zielarski zaczyna kwitnąć w czerwcu, a zbiór zióła następuje w pełnym okresie kwitnienia, na przełomie lipca i sierpnia. Przeznaczenie kwiatostanów jest uwarunkowane od stopnia kwitnienia. Prusinowska i Śmigielski opisują sześciostopniową skalę dojrzałości kwiatów [1]. Jeżeli mają one być przeznaczone na bukiety idealnym terminem zbioru jest pierwsza i druga faza kwitnienia, gdyż po tym okresie lawenda jest bardziej podatna na łamanie. Najlepszym okresem na zebranie kwiatów przeznaczonych na susz jest trzeci okres kwitnienia, ponieważ odrywanie kwiatostanów od łodygi jest ułatwione. Natomiast piąta (połowa pączków, połowa kwiatków, niektóre otwarte) i szósta (kilka pączków i kilka kwiatków, większość przekwitnięta) faza kwitnienia charakteryzuje się największą zawartością olejków eterycznych. Dlatego zbioru kwiatów do produkcji olejku eterycznego dokonuje się, gdy średnio połowa kwiatów uległa rozkwitnięciu (piąty stopień dojrzałości). Zbiór surowca następuje przeważnie w pogodne i suche dni [1].

Współczesna nauka potwierdza wiele korzystnych właściwości lawendy lekarskiej analizując jej składniki chemiczne oraz próbując definiować mechanizmy ich działania [11, 12]. Z literatury wynika, że lawenda i jej metabolity wtórne charakteryzują się działaniem:

przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybicznym, przeciwutleniającym, immunostymulującym oraz spazmolitycznym [1, 13, 14, 15]. Obecnie dzięki rozwojowi metod analitycznych oraz tendencji do wykorzystywania roślin leczniczych w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym, roślina ta cieszy się zainteresowaniem wielu badaczy. Zawartość biopierwiastków w roślinie decyduje często o wartości biologicznej materiału roślinnego, a więc o przeznaczeniu do celów przemysłowych. Obecność wybranych metali ma również znaczenie z punktu widzenia suplementacji diety, dlatego celem badań było określenie zawartości wybranych mikro- i makroelementów w różnych odmianach lawendy lekarskiej (*Lavandula angustifolia*).

OZNACZENIE SKŁADU MINERALNEGO LAWENDY – MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał roślinny zastosowany do badań został pozyskany z uprawy doświadczalnej Katedry Ogrodnictwa ZUT. Do zbioru i dalszych badań kwalifikowano tylko rośliny kwitnące, nie wykazujące cech wyschnięcia. Zbiór lawendy dokonywano w lipcu w latach 2012–2014. Zebrany surowiec został oczyszczony i wysuszony w temperaturze pokojowej, po czym umieszczany był w papierowych torbach. Do momentu rozpoczęcia badań surowiec był przechowywany bez dostępu światła, w suchym i przewiewnym miejscu. Następnie przeznaczony do badań materiał rozdzielano na dwie grupy: kwiaty oraz ulistnione łodygi, które w kolejnym etapie były rozdrabniane w moździerzach lub mielone w młynku laboratoryjnym. W eksperymentach wykorzystano następujące surowce zielarskie:

- kwiaty oraz ulistniona łodyga lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* L.) odmiany Blue River (rys. 1),
- kwiaty oraz ulistniona łodyga lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* L.) odmiany Ellagance Purple (rys. 1),
- kwiaty lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* L.) pochodzenia handlowego Zakłady Zielarskie KAWON nieznanej odmiany.



Rys. 1. Zdjęcia badanych odmian lawendy lekarskiej z uprawy doświadczalnej ZUT
Źródło: opracowanie własne.

W tabeli 1 zestawiono warunki atmosferyczne panujące w okresie prowadzenia badań.

Tabela 1. Zestawienie warunków meteorologicznych w czasie uprawy lawendy w latach 2012–2014

Rok	Miesiąc											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Temperatura powietrza [°C]												
2012	1,8	–2,4	6,2	8,8	14,5	15,8	18,3	17,9	14,6	8,8	5,5	–0,2
2013	–0,3	0,4	–1,0	8,4	14,4	16,9	19,3	8,7	13,0	10,9	5,6	4,4
2014	–0,2	4,9	6,8	10,8	13,4	16,3	21,3	17,5	15,4	11,8	6,6	2,5
Temperatura minimalna przy gruncie [°C]												
2012	–11,4	–29,6	–7,7	–6,8	–2,0	2,1	5,1	2,7	1,0	–9,2	–6,7	–21,4
2013	–19,2	–9,2	–19,9	–10,9	–2,2	1,8	5,1	3,3	–2,0	–4,3	–7,3	–6,8
2014	–18,0	–6,6	–7,5	–3,9	–0,9	2,4	5,8	2,2	1,1	–1,8	–1,8	–11,1
Opady atmosferyczne [mm]												
2012	67,4	34,5	10,5	35,5	25,3	44,1	114,6	56,6	31,4	42,2	37,7	29,1
2013	54,6	31,6	25,5	20,8	88,1	112,5	50,4	35,9	43,9	45,8	37,8	37,7
2014	33,7	12,8	18,6	47,5	85,3	26,5	70,8	104,6	80,9	32,8	8,8	77,5
Usłonecznienie [suma godzin]												
2012	42,0	69,3	153,5	177,9	228,9	170,0	210,5	224,5	184,8	128,5	45,8	18,4
2013	15,1	26,2	140,3	163,6	225,2	263,5	301,8	249,2	129,4	105,6	34,6	28,1
2014	37,4	112,7	128,6	188,3	212,1	242,4	293,7	249,9	171,4	99,5	48,0	29,6

Przedstawione w tabeli 1 średnie miesięczne warunki meteorologiczne z poszczególnych lat trwania doświadczenia charakteryzują się zbliżonymi wartościami i wysoką wartością odchylenia standardowego. Przeprowadzona analiza wariancji (jednoczynnikowa ANOVA) dla całego roku wykazała brak istotnych różnic (na poziomie $\alpha = 0,05$) w temperaturach: powietrza i minimalnej przy gruncie; opadach atmosferycznych czy usłonecznieniu w latach 2012–2014. Powyższe stwierdzenie sformułowano na podstawie porównania danych uzyskanych z sześciu miesięcy (marzec–sierpień) dotyczących okresu wegetacji rośliny.

W pierwszym etapie badań oznaczono suchą masę lawendy zgodnie z metodyką opisaną w PN-88/R-04013 oraz PN-91/R-87019 [16, 17]. W celu oznaczenia zawartości składników mineralnych w materiale roślinnym próbki lawendy poddano mineralizacji. Do oznaczenia zawartości Ca, Na, Mg oraz K zastosowano metodykę opisaną przez Kamińską i in. [18]. Do kolby Kjeldahla o pojemności 250 ml odważano 2,0 g powietrznie suchego materiału roślinnego, a następnie dodawano 17,0 ml stężonego roztworu kwasu siarkowego(VI) ($d = 1,84 \text{ g/cm}^3$) i całość ogrzewano na palniku gazowym, początkowo słabo – do ukazania się białych dymów, a następnie energicznie do momentu uzyskania jednolitej, oleistej cieczy. Podczas mineralizacji często mieszano kolbą, aby nie dopuścić do spiekania i przywierania części materiału roślinnego do ścianek lub szyjki kolby. Po lekkim ochłodzeniu dodawano małymi porcjami 30% roztwór nadtlenu wodoru w ilości około 10,0 ml w celu całkowitego rozłożenia materii organicznej i uzyskania klarownego, bezbarwnego roztworu. Po ostudzeniu zawartość kolby rozcieńczano wodą destylowaną i przenoszono ilościowo do kolbki miarowej o pojemności 250,0 ml przemywając kilkakrotnie kolbę Kjeldahla małymi porcjami wody. Po uzupełnieniu kolbki miarowej do kreski wodą destylowaną roztwór przesączało. W celu oznaczenia zawartości Zn, Mn, Fe oraz Cu, do kolby Kjeldahla o pojemności 250,0 ml odważano 2,0 g powietrznie suchego materiału roślinnego, następnie dodawano 20,0 ml mieszaniny kwasów: stężonego roztworu kwasu azotowego(V) i stężonego roztworu kwasu

chlorowego(VII), które były zmieszane w stosunku objętościowym 1 : 4. Całość lekko mieszano i pozostawiano do następnego dnia pod wyciągiem. W następnym kroku próbki mineralizowano na elektrycznym urządzeniu grzejnym początkowo ostrożnie, a po odpędzeniu dymów tlenków azotu, intensywnie, do uzyskania lekko wilgotnej białej masy. Jeśli zawartość kolby nie odbarwiła się, ponownie dodawano mieszaninę kwasów w ilości 5–10 ml i ogrzewano do całkowitego odbarwienia masy. Po ostygnięciu wsypywano do kolby kilka kulek szklanych i dodawano 20,0 ml wody destylowanej, utrzymując roztwór w stanie wrzenia do momentu ponownego uzyskania białej masy. Po zakończeniu mineralizacji zawartość kolby Kjeldahla przenoszono ilościowo do kolby miarowej o pojemności 50,0 ml, a następnie roztwór uzupełniano do kreski wodą destylowaną. Po dokładnym wymieszaniu zawartość kolby przesączało uzyskując właściwy roztwór do oznaczenia [18]. Zawartość pierwiastków oznaczano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe) za pomocą spektrofotometru AAS-30 oraz fotometrii płomieniowej (K, Na) z wykorzystaniem fotometru płomieniowego AFP-100. Analizę poprzedzało wyznaczenie krzywych wzorcowych na podstawie pomiarów absorbancji dla roztworów wzorcowych. Do przygotowania wzorców używano roztwory firmy Merck o stężeniu 1,0 g/L. Oznaczenia poszczególnych pierwiastków były poprzedzane rozcieńczeniem wyjściowego roztworu za pomocą wody destylowanej [18, 19]. Warunki pomiarowe oznaczeń poszczególnych pierwiastków zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Oznaczenia poszczególnych biopierwiastków

L.p.	Rodzaj oznaczenia	Długość fali [nm]	Równanie krzywej kalibracyjnej
1.	Mg	285,2	$y = 0,0144x + 0,0031$ $r = 0,9995$
2.	Ca	422,7	$y = 0,0134x + 0,0323$ $r = 0,9994$
3.	Zn	213,9	$y = 0,0047x + 0,0427$ $r = 0,9991$
4.	Mn	279,5	$y = 0,0032x + 0,0103$ $r = 0,9997$
5.	Cu	324,8	$y = 0,0036x + 0,0105$ $r = 0,9994$
6.	Fe	248,3	$y = 0,0008x + 0,0328$ $r = 0,9990$
7.	K	–	$y = 0,993x + 0,0174$ $r = 0,9999$
8.	Na	–	$y = 0,9947x + 0,0784$ $r = 0,9999$

Zawartość pierwiastków obliczano według wzoru:

$$C_i = \frac{(C_R - C_0) \cdot V}{m_p}$$

gdzie:

C_i – stężenie pierwiastka w próbce (mg/kg),

C_R – odczyt z krzywej kalibracyjnej w mineralizacji (mg/ml),

C_0 – odczyt z krzywej kalibracyjnej dla próby odczynnikowej (mg/ml),

V – objętość roztworu próbki (ml),

m_p – masa próbki pobrana do mineralizacji (kg).

WYNIKI I ICH DYSKUSJA

Informacje o rodzaju i zawartości pierwiastków w surowcu leczniczym są istotne, ze względu na ich rolę, jaką pełnią w organizmie człowieka. Natomiast działanie pierwiastków na organizm zależy od ich stężenia, dlatego też istotnym zagadnieniem jest oszacowanie poziomu zawartości pierwiastków w powszechnie używanych ziołach. W badaniach składu mineralnego wykazano, iż ilości poszczególnych pierwiastków są zróżnicowane, co może być spowodowane różną zdolnością sorpcyjną odmian lawendy. Arceusz i Wesołowski [20] wskazują, że na stężenia pierwiastków w roślinie wpływ mają gleba, wilgotność powietrza czy stopień zanieczyszczenia terenu. Lawenda może być cennym źródłem mikroelementów (Fe, Mn, Cu, Zn), a forma w jakiej występują jest z reguły łatwo przyswajalna dla organizmu człowieka [21]. Wyniki oznaczeń zawartości pierwiastków w próbkach kwiatów i ulistnionych łodyg lawendy zostały zebrane w tabeli 3.

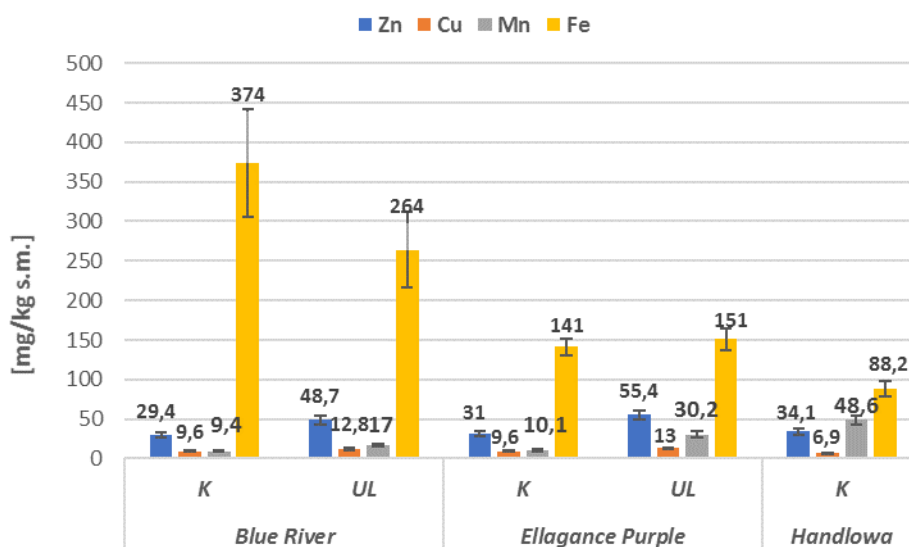
Tabela 3. Wyznaczona zawartość biopierwiastków w kwiatach i ulistnionej łodydze lawendy

Zawartość makro- i mikroelementów [mg/kg s.m. ± SD]	Blue River		Ellagance Purple		Handlowa
	K	UL	K	UL	K
K	7,27±1,88	12,26±3,16	8,53±2,39	13,30±2,15	8,78±2,46
Ca	17,8±4,43	22,95±5,71	16,8±4,20	24,58±6,15	23,5±5,90
Mg	4,68±1,16	5,80±1,44	4,82±1,20	7,29±1,60	7,47±1,85
Na	0,6±0,12	0,6±0,12	0,26±0,05	0,30±0,07	0,28±0,06
Zn	29,40±3,17	48,7±5,30	31,0±3,30	55,41±5,70	34,1±3,70
Cu	9,58±1,19	12,76±1,58	9,6±1,20	13,02±1,45	6,9±0,69
Mn	9,42±1,11	17,0±2,00	10,1±1,20	30,15±3,90	48,6±5,70
Fe	374,0±68,0	264,0±48,3	141,0±10,80	151,0±13,40	88,2±10,10

n = 9.

Badania mikroelementów wykazały, że zawartość cynku jest różna dla poszczególnych odmian i części rośliny. Najwyższą zawartość cynku stwierdzono w ulistnionej łodydze lawendy Ellagance Purple, średnio 55,41 mg/kg s.m. Najmniej cynku zawierały kwiaty Blue River – średnio 29,40 mg/kg. Inne badania wykazują, że zawartość cynku w ziele lawendy wąskolistnej kształtuje się w przedziale od 23,0 do 106,27 mg/kg [22, 23]. Badane surowce zawierały stosunkowo niewielkie ilości miedzi. Najwięcej miedzi zawierała ulistniona łodyga odmiany Ellagance Purple 13,02 mg/kg. Z kolei, najmniej miedzi znajdowało się w kwiatach lawendy handlowej 6,9 mgCu/kg. Kwiaty odmiany handlowej charakteryzowały się również najwyższym nagromadzeniem manganu – 48,6 mg/kg, najmniej manganu oznaczono w kwiatach odmiany Blue River – 9,42 mg/kg. Z kolei zawartość żelaza mieściła się w przedziale od 88,2 do 374,0 mg Fe/kg. Największą ilość żelaza stwierdzono w kwiatach odmiany Blue River – średnio 374,0 mg/kg najmniejszą – w kwiatach lawendy handlowej (88,2 mg/kg). Otrzymane wyniki wykazały znaczne zróżnicowanie zawartości żelaza w poszczególnych odmianach i częściach lawendy. W kwiatach lawendy pochodzenia pakietańskiego oznaczono średnio 480 mg Fe/kg [24]. Oznaczone zawartości żelaza i cynku

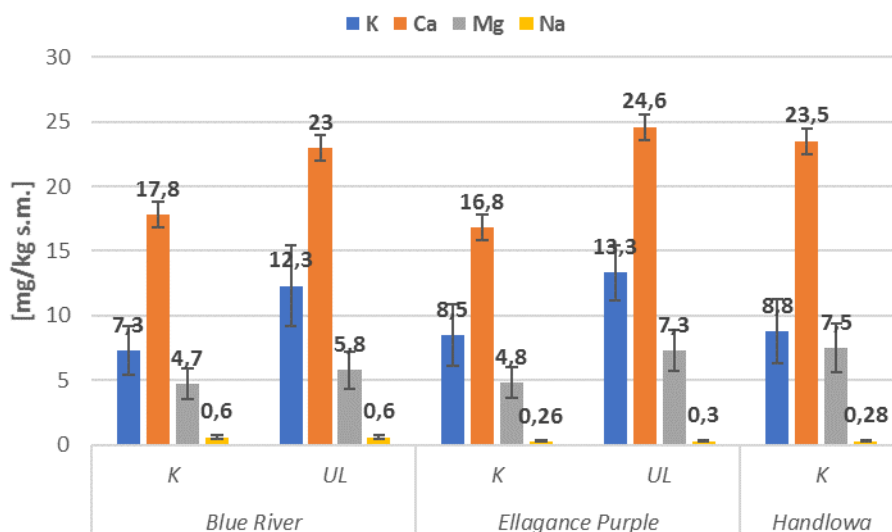
w kwiatach lawendy handlowej były wyższe niż zawartości tych pierwiastków opublikowane przez Arceusz i Wesołowskiego [20]. Z informacji literaturowych wiadomo, że kwiaty lawendy pochodzącej z firmy Kawon zawierają: 27,26–27,64 mg Zn/kg oraz 35,5–41,60 mg Fe/kg [20]. W badaniach własnych kwiaty tego samego producenta charakteryzowały się zawartością tych pierwiastków w stężeniach: 34,1 mg Zn/kg oraz 88,2 mg Fe/kg. Wyniki oznaczeń zawartości wybranych mikroelementów wraz z odchyleniem standardowym w badanych surowcach przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Porównanie zawartości mikroelementów w lawendzie lekarskiej

Wyniki badań pokazały, że zawartości makroelementów były następujące: 7,27–13,30 mg K/kg, 16,8–24,58 mg Ca/kg, 4,68–7,47 mg Mg/kg oraz 0,26–0,6 mg Na/kg. Zawartości sodu w różnych odmianach i częściach lawendy wąskolistnej były zbliżone i mieściły się w przedziale, średnio od 0,26 g/kg w kwiatach Ellagance Purple do 0,60 mg/kg dla kwiatów i ulistnionych łodyg Blue River. Wcześniejsze badania wykazały, że zawartość tego pierwiastka w roślinach, również w ziołach, nie jest duża w porównaniu z ilością innych makroelementów. W lawendzie wąskolistnej pochodzącej z Pakistanu oznaczono około 0,37 mg Na/kg [23]. Badania pokazały także, że zawartości potasu były znacznie większe od zawartości sodu. Zawartość potasu w ziołach wahała się, średnio od 7,27 mg/kg w kwiatach Blue River do 13,30 mg/kg w ulistnionych łodygach Ellagance Purple. Z informacji literaturowych wiadomo, że zawartość potasu w roślinach zielarskich pochodzących z terenu Pakistanu była większa niż 11,99 mg K/kg. Zawartość wapnia w badanych odmianach lawendy wahała się średnio od 8,10 mg/kg do 13,80 g/kg. Najniższą zawartość wapnia stwierdzono w kwiatach Blue River – 17,8 mg/kg s.m. W pozostałych odmianach zawartość tego pierwiastka była wyższa, a największe ilości wapnia zawierały ulistnione łodygi Ellagance Purple – 24,58 mg/kg. Stwierdzono także, że zawartość wapnia w lawendzie wąskolistnej pochodzącej z Rumunii wynosiła 2,13 mg/kg [22], a w lawendzie wąskolistnej pochodzącej z Pakistanu – 10,5 mg/kg [23]. Badane odmiany lawendy charakteryzowały się niską zawartością magnezu. Ilość magnezu w badanych próbkach nie wykazywała większego zróżnicowania i mieściła się w prze-

dziale od 4,68 do 7,47 g/kg. Największe stężenie magnezu stwierdzono w kwiatach lawendy handlowej – 7,47 mg/kg. Inni autorzy podają, że zawartość magnezu w ziele lawendy wąskolistnej kształtuje się od 2,19 do 4,25 g/kg [22, 23]. Wyniki oznaczeń wybranych makroelementów w badanych surowcach przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Porównanie zawartości makroelementów w lawendzie lekarskiej

PODSUMOWANIE

W badanym materiale roślinnym oznaczono metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) oraz fotometrii płomieniowej (FP) zawartość ośmiu pierwiastków, których koncentracja różniła się w zależności od odmiany rośliny oraz jej części morfologicznej.

LITERATURA

- [1] Prusinowska R., Śmigielski K. Composition, biological properties and therapeutic effects of lavender (*Lavandula angustifolia* L.). A review. *Herba Polon.* 60 (2014), 56–66.
- [2] Adaszyńska M., Swarczewicz M., Dzięcioł M., Dobrowolska A. Comparison of chemical composition and anti-bacterial activity of lavender varieties from Poland. *Nat. Prod. Res.* 16 (2013), 1497–1501.
- [3] Kohlmünzer S. Farmakognozja. Podręcznik dla studentów farmacji. (2003) Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- [4] Farmakopea Polska IX, 2011, Warszawa.
- [5] European Pharmacopoeia 7, 2010. Council of Europe, Strasbourg.
- [6] Komes A., Belscak-Cvitaović D., Horzić G., Rusak S., Likić M., Berendika M. Phenolic composition and antioxidant properties of some traditionally used medicinal plants affected by the extraction time and hydrolysis. *Phytochem. Anal.* 22 (2011), 177–180.
- [7] Kumar S., Pandey A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Sci. World J.* (2013), 1–16.
- [8] Blazeković B., Vladimir-Knezević S., Brantner A., Stefan M.B. Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules* 15 (2010), 5971–5987.
- [9] Adaszyńska-Skwirzyńska M., Dzięcioł M. Comparison of phenolic acids and flavonoids contents in various cultivars and parts of common lavender (*Lavandula angustifolia*) derived from Poland. *Nat Prod. Res.* (2017), 1–6.

- [10] Shafaghat A., Salimi F., Amani-Hooshyar V. Phytochemical and antimicrobial activities of *Lavandula officinalis* leaves and steams against some pathogenic microorganism. *J. Med. Plants Res.* 6 (2012), 455–460.
- [11] De Rapper S., Viljonen A., van Vuren S. The in vitro antimicrobial effects of *Lavandula angustifolia* essential oil in combination with conventional antimicrobial agents. *Evidence-Based Compl. Alter. Med.* (2016), 2752739.
- [12] Kirimer N., Mokhtarzadeh S., Demirci B., Goger F., Khawar K.M., & Demirci, F. Phytochemical profiling of volatile components of *Lavandula angustifolia* Miller propagated under in vitro conditions. *Ind. Crops Prod.* 96 (2017), 120–125.
- [13] Thosar N., Basak S., Bahadure R.N., Rajurkar M. Antimicrobial efficacy of five essential oils against oral pathogens: An *in vitro* study. *Europ. J. Dent.* 7 (2013), 71–77.
- [14] Yang S.A., Jeon S.K., Lee E.J., Shim Ch.H., Lee I. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Nat. Prod. Res.* 24 (2010), 140–151.
- [15] D'Auria F.D., Tecca M., Strippoli V., Salvatore G., Battinelli L., Mazzanti G. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med. Mycol.* 43 (2005), 391–396.
- [16] PN-88/R-04013. Analiza chemiczno-rolnicza roślin. Oznaczanie powietrznie suchej i suchej masy.
- [17] PN-91/R-87019. Surowce zielarskie. Pobieranie próbek i metody badań.
- [18] Kamińska W., Kardasz T., Strahl A., Bałuka T., Walczak H. 1972. Metody badań laboratoryjnych w Stacjach Chemiczno-Rolniczych. Cz. II. Badanie materiału roślinnego. IUNG, Puławy.
- [19] PN-EN ISO 6869:2002. Oznaczanie zawartości wapnia, miedzi, żelaza, magnezu, manganu, potasu, sodu i cynku. Metoda absorpcyjnej spektrometrii atomowej.
- [20] Arceusz A., Wesołowski M. Wybrane kwasy fenolowe i biopierwiastki w roślinnych surowcach leczniczych. *Ann. Acad. Med. Siles.* 64 (2011), 7–13.
- [21] Ozcan M. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chem.* 84 (2004), 437–440.
- [22] Colceru-Mihul S., Armatu A., Draghici E., Nita S. Studies concerning the relationship between essential elements content and myorelaxant effect of three vegetal selective fractions. *Rom. Biotech. Lett.* 14 (2009), 4792-4797.
- [23] Adnan M., Hussain J., Tahir M., Shinwari Z. Proximate and nutrient composition of medicinal plants of humid and sub-humid regions in North-west Pakistan. *J. Med. Plants Res.* 4 (2010), 339–345.

ZASTOSOWANIE OLFAKTOMETRII DO OCENY SKUTECZNOŚCI OCZYSZCZANIA POWIETRZA METODAMI ADSORPCYJNYMI

APPLICATION OF OLFACTOMETRY FOR EVALUATION OF AIR PURIFICATION EFFICIENCY BY ADSORPTION METHODS

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Instytut Inżynierii Chemicznej
i Procesów Ochrony Środowiska, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej

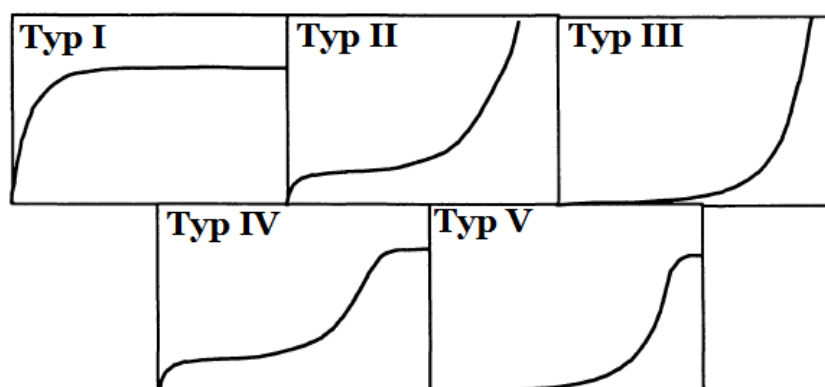
Streszczenie. Adsorpcja jest jedną z dostępnych technik wykorzystywanych do dezodoryzacji zanieczyszczonego powietrza emitowanego do atmosfery z obiektów przemysłowych. Najczęściej spotykaną metodą weryfikacji skuteczności działania adsorbentów jest ocena usuwania z powietrza zanieczyszczonego konkretnych związków chemicznych. W przypadku dezodoryzacji jest to metoda niepoprawna, która w konsekwencji nie rozwiązuje problemu uciążliwości zapachowej. Emitowane gazy stanowią mieszaninę nawet kilkudziesięciu związków chemicznych. W takiej sytuacji uzyskanie wysokiej skuteczności usuwania pojedynczych związków może nie być jednoznaczne z osiągnięciem satysfakcjonującego poziomu skuteczności dezodoryzacji, który rozwiązałby problem uciążliwości zapachowej. Dlatego też w ramach niniejszej pracy przedstawiono trzy techniki olfaktometryczne służące do oceny skuteczności działania adsorbentów w procesach dezodoryzacji: oznaczenie stężenia zapachowego w oczyszczanym strumieniu, ocena intensywności i jakości hedonicznej zapachu.

Słowa kluczowe: olfaktometria dynamiczna, techniki olfaktometryczne, odory, dezodoryzacja, skuteczność dezodoryzacji, adsorpcja gazów, adsorbenty.

Keywords: dynamic olfactometry, olfactometric techniques, odours, deodorization, odour abatement efficiency, gas adsorption, adsorbents.

WPROWADZENIE

Adsorpcja jest to zjawisko powierzchniowe występujące na granicy zetknięcia się dwóch faz płyn–ciało stałe. Dla adsorpcji pojedynczego składnika gazowego w momencie jego zetknięcia z powierzchnią adsorbentu dochodzi do zaadsorbowania części cząstek [1]. Po pewnym czasie trwania adsorpcji ustala się dynamiczna równowaga adsorpcyjna, co oznacza, że w tej samej jednostce czasu tyle samo cząstek adsorbatu ulega adsorpcji, co desorpcji [2]. Równowagi adsorpcyjne najczęściej są opisywane równaniami izoterm. Na ich podstawie można określić pojemność adsorbentu w zależności od prężności par gazów. Najkorzystniejszym kształtem izotermy jest typ I (izoterma Langmuira), gdy już przy niskich wartościach stężenia wielkość adsorpcji jest duża (rys. 1). Ma to uzasadnienie w praktyce, gdzie proces adsorpcji stosowany jest zazwyczaj do usuwania śladowych ilości adsorptywu. Przy wysokim stopniu nasycenia powierzchni sytuacja jest bardziej skomplikowana [3].



Rys. 1. Podstawowe typy izoterm [2]

W praktyce oczyszczane powietrze zawiera również parę wodną. W przypadku adsorpcji na węglach aktywnych wpływa ona istotnie na chłonność węgla względem pozostałych związków, zwłaszcza w zakresie niskich stężeń adsorptywu w fazie gazowej. Zachodzi wówczas adsorpcja wymienna, przykładem są procesy pochłaniania węglowodorów i innych związków o małej polarności na powierzchni węgla aktywnego, które zachodzą w obecności pary wodnej. Przykładem mogą być filtry masek gazowych, w których względna wilgotność powietrza przekraczająca 65% może znacząco skrócić czas działania ochronnego. Oprócz wpływu wilgotności powietrza należy również wziąć pod uwagę możliwość zachodzenia reakcji chemicznych w zaadsorbowanych warstwach. Prowadzić to może do uwalniania produktów, które nie były wprowadzane do adsorbentu [4].

Dla adsorpcji wieloskładnikowej sytuacja jest o wiele bardziej złożona. Przedstawiane w literaturze opisy tego procesu dotyczą zazwyczaj jednego związku chemicznego, czystego lub występującego w parze z gazem, który nie ulega adsorpcji. W przypadku układów rzeczywistych, zanieczyszczone powietrze zawiera mieszaninę wielu zanieczyszczeń o zmiennych stężeniach. Zanieczyszczenia te stanowią związki chemiczne charakteryzujące się różnymi prężnościami par, różną lotnością i powinowactwem do powierzchni adsorbentu. Ponadto procesy przemysłowe są prowadzone w bardzo złożonych warunkach termodynamicznych, w których często występuje wysokie ciśnienie oraz temperatura [5]. Dlatego też efekt adsorpcji mieszaniny rzeczywistej jest trudny do przewidzenia, a tym samym dobór adsorbentu nie powinien odbywać się bez prób eksploatacyjnych. Mimo złożoności procesów adsorpcji dla mieszanin wieloskładnikowych adsorpcja z powodzeniem jest stosowana w wielu gałęziach przemysłu, m.in. do oczyszczania rozpuszczalników organicznych, wody, usuwania par rozpuszczalników z powietrza czy w filtrach masek gazowych. Coraz częściej techniki adsorpcyjne są wykorzystywane też do dezodoryzacji gazów emitowanych ze źródeł uciążliwych zapachowo [6].

Standardowo dobór metody dezodoryzacji gazów opiera się na skuteczności usuwania konkretnych związków chemicznych, co jest błędem i nie rozwiązuje problemu uciążliwości zapachowej. Wynika to z braku korelacji pomiędzy składem gazów a stężeniem zapachowym. W mieszaninie rzeczywistej bardzo często zachodzą interakcje pomiędzy poszczególnymi związkami chemicznymi, takie jak efekt synergii, maskowanie czy wzmacnianie. Istnieją licznie udokumentowane przypadki, w których skuteczność usuwania związków chemicznych

powszechnie uznawanych za uciążliwe (np. H_2S , NH_3 , tiosiarczany) była bardzo wysoka, co nie przekładało się na skuteczność dezodoryzacji, a co za tym idzie – rozwiązanie problemu uciążliwości zapachowej [7].

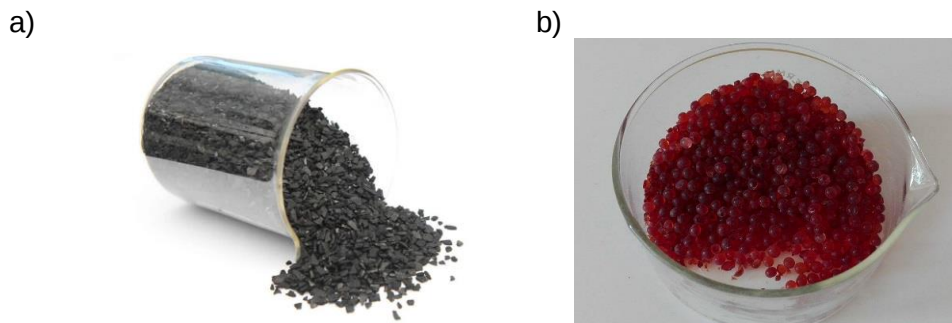
W związku z powyższym skuteczność dezodoryzacji należy oceniać z użyciem technik olfaktometrycznych. W niniejszej pracy przedstawiono wybrane techniki oceny cech zapachu, które mają bezpośredni wpływ na odczuwalną uciążliwość zapachową. Należą do nich ocena stężenia zapachowego metodą olfaktometrii dynamicznej, ocena jakości hedonicznej oraz intensywności zapachu.

ADSORBENTY

W praktyce do adsorpcji stosowane są ciała stałe o bardzo rozwiniętej powierzchni zewnętrznej zwane adsorbentami. W celu scharakteryzowania i szczegółowej oceny właściwości materiałów porowatych określa się dla nich powierzchnię właściwą, objętość całkowitą porów, średni promień porów oraz rozkład objętości porów względem promieni [3]. Powyższe właściwości fizyczne adsorbentów określa się na podstawie wyznaczonych metodami statycznymi i dynamicznymi izoterm adsorpcji. Metody statyczne, dzielące się na objętościowe i grawimetryczne, polegają na oznaczeniu ilości zaadsorbowanej masy adsorbentu. Określa się ją na podstawie pomiarów masy próbki adsorbentu przed i po doświadczeniu, ciśnienia, temperatury i objętości. Metody dynamiczne polegają na przepuszczeniu obojętnego gazu przez warstwę adsorbentu. Gaz obojętny zawiera pary badanego związku chemicznego. Przez cały czas trwania pomiaru próbkę adsorbentu z zaadsorbowanym na nim adsorbentem waży się. Pomiar prowadzi się do czasu ustalenia się masy zaadsorbowanego związku na adsorbencie [1].

Do najczęściej wykorzystywanych adsorbentów należą: węgiel aktywny i jego modyfikacje, silikażele, aluminożele, zeolity, adsorbenty polimerowe oraz struktury metaloorganiczne. Węgla aktywne (rys. 2a) powstają w wyniku pirolizy materiałów organicznych, która jest prowadzona bez dostępu powietrza. Węgla aktywne otrzymuje się zarówno z surowców naturalnych, takich jak węgle kopalne, materiały pochodzenia drzewnego, jak i również z surowców syntetycznych, np. żywicy syntetycznych, polimerów i kopolimerów chlorku winylu czy akrylonitrylu lub włókien wiskozowych. Uzyskane w wyniku pirolizy materiały nie wykazują dużej porowatości, dlatego też, aby polepszyć ich właściwości, węgle aktywne poddaje się aktywacji CO_2 lub parą wodną w temperaturach 700–1100°C. W zależności od warunków, w jakich prowadzi się aktywację, można uzyskać materiały mikro-, mezo- i makroporowate. Właściwości adsorpcyjne węgli aktywnych wynikają z bardzo dobrze rozwiniętej powierzchni właściwej wynoszącej od 400 do 1400 m²/g, dzięki czemu znajdują zastosowanie w pochłanianiu gazów i cząsteczek rozpuszczonych z roztworów wodnych [8].

Silikażele, zwane również żelami krzemionkowymi (rys. 2b) są zbudowane z tetraedrów SiO_4 ułożonych w postaci nieuporządkowanej, przestrzennej sieci. Wykazują silne powinowactwo z wodą oraz dużą pojemność adsorpcyjną, stąd znalazły zastosowanie głównie w osuszaniu gazów i cieczy organicznych.



Rys. 2. Przykłady adsorbentów: a) węgiel aktywny b) silikażel
Źródło: a) <http://www.filttry-do-wody.info>; b) źródło własne].

Aluminozele otrzymywane są poprzez dehydratację wodorotlenku glinu, zatem ich główny składnik (ponad 90%) stanowią różne typy tlenku glinu. Podobnie jak silikażele, znalazły zastosowanie w osuszaniu gazów, co z powodzeniem stosowane jest do usuwania z gazów lotnych związków fluoru [9].

W ostatnich latach duże znaczenie przemysłowe zyskały zeolity, zaliczające się do tzw. sit molekularnych. Zeolity są krystalicznymi glinokrzemianami metali przejściowych oraz metali dwuwartościowych, których strukturę stanowią głównie tetraedryczne ugrupowania SiO_4 i AlO_4 połączone ze sobą atomami tlenu. Wykazują odporność na wysokie temperatury, stosunkowo łatwo można je zregenerować. Stosowane są do oczyszczania oraz osuszania gazów, rozdzielu gazów i cieczy w procesach przeróbki ropy naftowej. Część zeolitów to minerały występujące w przyrodzie, jednak znacznie większą grupę stanowią te wytwarzane syntetycznie.

Wykorzystanie w oczyszczaniu gazów znajdują również adsorbenty polimerowe. Otrzymywane w wyniku polimeryzacji uzyskują właściwości sorpcyjne w zależności od wykorzystywanych przy produkcji monomerów. Znajdują zastosowanie do adsorbowania związków organicznych [10].

Metałoorganiczne struktury, tzw. MOFy [11] składają się z dwóch kluczowych elementów: jonu metalu lub grup jonów metali oraz cząsteczki organicznej, określanej jako łącznik [12]. Potencjał tych adsorbentów wynika z możliwości łączenia różnych łączników organicznych wraz z metalicznymi grupami w celu uzyskania struktur o charakterystycznych właściwościach chemicznych i strukturalnych [13].

DEZODORYZACJA

Dezodoryzacja gazów jest procesem umożliwiającym usunięcie niepożądanego, uciążliwego zapachu [14]. Metody dezodoryzacji stosowane w przemyśle można podzielić na trzy główne grupy:

- fizyczne, w których następuje usunięcie najbardziej uciążliwych zanieczyszczeń, niekiedy występujących jedynie w ilościach śladowych, np. adsorpcja (rys. 3a), absorpcja, separacja gazowa;

- chemiczne, w których w wyniku reakcji chemicznych następuje przekształcenie związków zapachowo uciążliwych w bezwonne lub takie, które charakteryzują się wysokimi progami wyczuwalności, np. spalanie termiczne i katalityczne;
- biologiczne, w których do usuwania odorów wykorzystuje się mikroorganizmy, np. biofiltracja (rys. 3b), dezodoryzacja z użyciem biopłuczek [15].

Rodzaj stosowanej metody dezodoryzacji zależy przede wszystkim od technologii prowadzonego procesu, wielkości emisji zapachowej, charakteru emitowanych gazów oraz parametrów takich jak temperatura, wilgotność, skład. Wybór metody powinien opierać się na przeglądzie metod stosowanych w zakładach o podobnym profilu działalności lub na przeprowadzeniu bezpośrednich pomiarów.

W wyniku prawidłowo prowadzonego procesu dezodoryzacji zmiane ulega stężenie zapachowe emitowanego strumienia gazu (wyrażone w jednostkach zapachowych w metrze sześciennym [ou/m^3]) oraz powiązana z tym intensywność wrażenia, a niekiedy nawet jakość hedoniczna. Zgodnie z normą PN-EN 13725 [16] skuteczność dezodoryzacji ocenia się metodą olfaktometrii dynamicznej i jest wyrażona wzorem:

$$\eta_{od} = \frac{q_{od, \text{nieoczyszczony}} - q_{od, \text{oczyszczony}}}{q_{od, \text{nieoczyszczony}}} \times 100\%$$

gdzie:

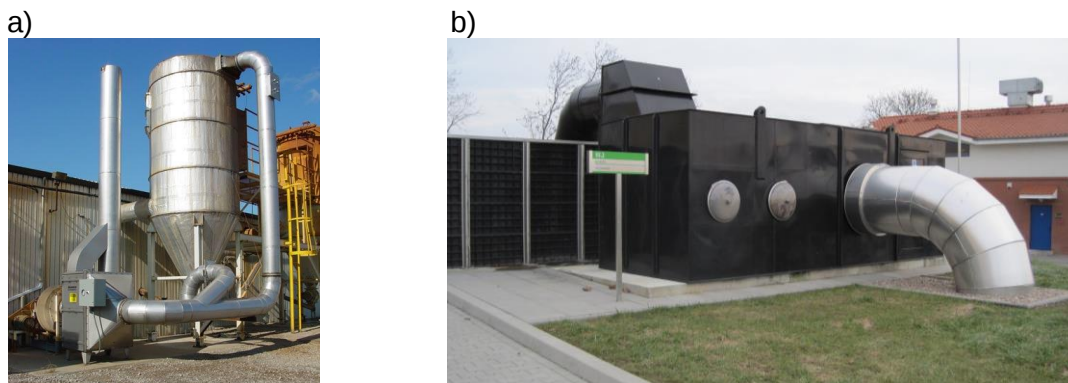
η_{od} – skuteczność dezodoryzacji [%],

$q_{od, \text{nieoczyszczony}}$ – strumień zapachowy gazu nieoczyszczonego [ou/s],

$q_{od, \text{oczyszczony}}$ – strumień zapachowy gazu oczyszczonego [ou/s].

Skuteczność dezodoryzacji wyraża stopień zmniejszenia strumienia zapachowego w wyniku zastosowania technik dezodoryzacji. Strumień zapachowy (q_{od}) jest iloczynem stężenia zapachowego (c_{od}) i strumienia objętościowego oznaczonego w warunkach standardowych dla olfaktometrii (20°C i 101,3 kPa, wilgotne powietrze).

Należy podkreślić, że skuteczność dezodoryzacji oceniona z użyciem metody olfaktometrii dynamicznej jest jedynie skutecznością techniczną, nieobejmującą zmian intensywności zapachu oraz jego jakości hedonicznej. Dlatego też zaleca się, aby kompleksowa ocena skuteczności adsorbentów przy dezodoryzacji gazów była poszerzona o dwie techniki olfaktometryczne: ocenę intensywności i jakości hedonicznej zapachu. Zapewni to rzeczywistą ocenę uciążliwości zapachowej, uwzględniającą zmianę rodzaju i charakteru zapachu.



Rys. 3. Przykłady instalacji do dezodoryzacji gazów: a) adsorber węglowy [źródło: <https://www.monroeenvironmental.com>], b) biofiltr [źródło: <http://www.aquanet.pl>].

Oznaczenie stężenia zapachowego

Zmianę stężenia zapachowego oznacza się metodą olfaktometrii dynamicznej, zgodnie z normą europejską PN-EN 13725:2007 *Jakość powietrza – oznaczanie stężenia zapachowego metodą olfaktometrii dynamicznej*. Wartość stężenia zapachowego mówi o tym, jak bardzo należy rozcieńczyć próbkę wonnego gazu, aby jej zapach był wyczuwalny przez populację standardową z prawdopodobieństwem 50%. Pomiary metodą olfaktometrii dynamicznej oparte są na progu wyczuwalności, co pozwala na wykluczenie subiektywności opinii osób oceniających zapach [16].

Podczas pomiaru stężenia zapachowego zespołowi oceniającemu zapach prezentowana jest malejąca seria dynamicznych rozcieńczeń, uzyskiwana za pomocą aparatu zwanego olfaktometrem (rys. 4). Tworząca szereg geometryczny sekwencja rozcieńczeń jest zakłócana losowymi ślepych próbkami. Zadaniem członków zespołu jest wskazanie, przy jakim rozcieńczeniu zapach jest przez nich wyczuwalny.



Rys. 4. Zespół olfaktometryczny

Członkami zespołu oceniającego zapach mogą być osoby, które ukończyły szesnasty rok życia oraz poddały się ocenie wrażliwości węchowej na odorant odniesienia, za jaki uznano *n*-butanol. Zespół olfaktometryczny musi składać się minimum z czterech osób reprezentujących populację standardową. W normie PN-EN 13725:2007 ujęte są dwa parametry charakteryzujące populację standardową: wrażliwość węchowa na *n*-butanol i zmienność. Wrażliwość węchowa członków zespołu na odorant odniesienia opisana jest za pomocą dwóch parametrów:

- ITE_{subst} , czyli średniej geometrycznej indywidualnych ocen progu wyczuwalności *n*-butanolu wyrażonej w jednostkach masowego stężenia gazu odniesienia, która musi mieścić się w przedziale od 20 do 80 ppb;
- 10^{SITE} , czyli antylogarytmu z odchylenia standardowego, który jest obliczony z logarytmów indywidualnych ocen progu indywidualnego wyrażonych w jednostkach masowego stężenia gazu odniesienia i musi mieć wartość mniejszą niż 2,3.

Dodatkowo podczas pomiarów olfaktometrycznych zespół musi przestrzegać kodeksu zachowania. W kodeksie ujęte są normy zachowania, które są wymagane od członków zespołu, aby pomiar był przeprowadzony prawidłowo. Do zasad tych należy m.in. odpowiednia motywacja, dyspozycyjność podczas trwania sesji pomiarowej, odpowiednie zachowanie niezaburzające percepcji zespołu. Członkowie zespołu są również zobowiązani do regularnych pomiarów wrażliwości węchowej na *n*-butanol w celu zgromadzenia i kontroli historii pomiarów.

Intensywność zapachu

Istotną cechą jakościową gazu, pod kątem uciążliwości zapachowej jest intensywność zapachu. W odróżnieniu od oznaczenia stężenia zapachowego ocena tego parametru nie jest metodą znormalizowaną. W celu zmniejszenia subiektywizmu ocen stosuje się metody skalowania. Jedną z nich, stosowaną w Pracowni Zapachowej Jakości Powietrza ZUT w Szczecinie jest metoda skalowania intensywności zapachu z wykorzystaniem wodnej roztworowej skali *n*-butanolowych wzorców intensywności zapachu. Metoda ta została opracowana przez Kośmider w latach 90. i bazuje na koncepcji skali OIRS stosowanej w USA [17].

Wzorce skali stanowią wodne roztwory *n*-butanolu o określonym stężeniu (rys. 5). Każdy ze wzorców ma przypisany numer w kolejności malejącego stężenia. Iloraz dwóch kolejnych stężeń jest stały i wynosi 20/7, a buteleczka z numerem 1 zawiera roztwór o największym stężeniu. Krok utworzonego szeregu geometrycznego stężeń *n*-butanolu został dobrany w ten sposób, żeby różnica wrażeń wywoływanych przez dwa kolejne wzorce była wyraźnie zauważalna nawet przez osobę o przeciętnym powonieniu [15].

Pomiar w tej metodzie polega na przypisaniu próbce gazowej odpowiedniego wzorca intensywności zapachu, przy czym prezentację wzorców rozpoczyna się od najmniejszego stężenia *n*-butanolu. Za wynik oceny uznaje się różnicę pomiędzy:

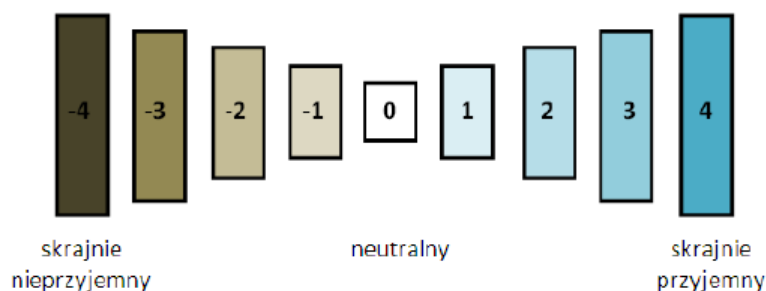
- wartością indywidualnego progu wyczuwalności, która jest określana jako średnia arytmetyczna z dwóch kolejnych numerów wzorców: ostatniego wzorca o zapachu niewyczuwalnym i pierwszego wzorca wyczuwalnego;
- numerem wzorca, który według oceniającego zapach pachnie tak samo intensywnie, jak oceniana próbka, lub środek przedziału między kolejnymi wzorcami.



Rys. 5. Skala *n*-butanolowa wzorców intensywności zapachu
Źródło własne.

Jakość hedoniczna

Jakość hedoniczna powietrza jest odczuciem subiektywnym, jednak ma bardzo duży wpływ na odczucia związane z odbiorem zapachu, komfortem przebywania w miejscach narażonych na uciążliwość zapachową. Przykładowa metoda oceny tej cechy zapachu została zaproponowana przez Zrzeszenie Inżynierów Niemieckich [18]. Osoba oceniająca ocenia zapach w dziewięciostopniowej skali od zapachu skrajnie nieprzyjemnego (−4) do skrajnie przyjemnego (4) (rys. 6).



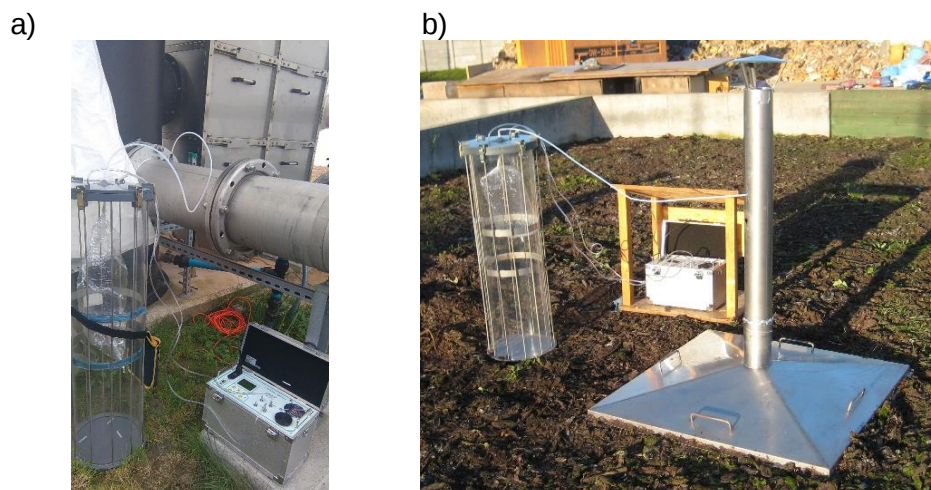
Rys. 6. Skala jakości hedonicznej zalecana przez Zrzeszenie Inżynierów Niemieckich [18]

Pobór próbek do analiz olfaktometrycznych

Sposób poboru jest uzależniony od rodzaju ocenianego obiektu, wilgotności, temperatury i stopnia zanieczyszczenia pobieranych gazów. Najczęściej stosowane są dwie metody: bezpośredniego pompowania oraz metoda płuca. W pierwszej metodzie wykorzystuje się pompkę, która zasysa gaz do worka, a pobierany gaz przechodzi przez pompkę. W metodzie płuca w sztywnym pojemniku umieszcza się worek połączony z sondą znajdującą się w króćcu pomiarowym. Następnie w pojemniku wytwarzane jest podciśnienie, powodując zasysanie próbki do worka. Worki powinny być wykonane z materiałów, które są inertne i nie reagują z pobranym gazem. Przykładem takich materiałów jest polifluorek winylu (PVF), politereftalan etylenu (PET) czy kopolimer tetrafluoroetyleny i heksafluoropropylenu (FEP).

W zależności od ocenianego obiektu źródła emisji zapachowej dzielimy na zorganizowane i niezorganizowane. Do źródeł zorganizowanych zaliczamy emisję z kominów, wentylatorów, rur wylotowych z instalacji (rys. 7a). W przypadku emisji niezorganizowanej, pochodzącej np. ze źródeł powierzchniowych takich jak otwarte biofiltry czy odkryte przyzmy kompostu stosuje się różnego rodzaju osłony, mające na celu organizację strumienia (rys. 7b).

Zaleca się, aby próbki do analizy olfaktometrycznej były oceniane najszybciej jak to możliwe. Umowną przerwą pomiędzy pobraniem próbki a pomiarem jest 30 godzin [16].



Rys. 7. Pobór próbki rzeczywistej metodą płuca – przykład dla emisji zorganizowanej (a) i niezorganizowanej (b)
Źródło własne.

PODSUMOWANIE

Ograniczenie emisji zapachowej może być osiągnięte przez cztery podstawowe działania: zmianę technologii produkcji na charakteryzującą się mniejszą emisją, optymalizację parametrów emitowanych gazów (prędkość przepływu, zmianę wysokości emitatorów), wybór racjonalnej lokalizacji oraz dezodoryzację [19].

Dobór adsorbentów stosowanych w procesach dezodoryzacji najczęściej jest dokonywany na podstawie ich właściwości fizykochemicznych, które wpływają na usuwanie konkretnych związków. Problem uciążliwości zapachowej jest jednak na tyle złożony, że jedynym skutecznym narzędziem, pozwalającym określić czy dany adsorbent będzie zapewniał wymagany stopień dezodoryzacji są techniki olfaktometryczne. Pozwalają one oznaczyć nie tylko zmianę stężenia zapachowego, ale również ocenić cechy jakościowe zapachu, które mają bezpośredni wpływ na wrażenie, jakie wywołuje zapach. Dobór adsorbentu oparty na weryfikacji za pomocą analizy sensorycznej pozwoli, aby działania ograniczające uciążliwość zapachową były skuteczne.

LITERATURA

- [1] Paderewski M.L. Procesy adsorpcyjne w inżynierii chemicznej. Warszawa, WNT. (1999).
- [2] Sarbak Z. Adsorpcja i adsorbenty: Teoria i Zastosowanie. Poznań, UWM. (2000).
- [3] Rudziński W., Everett D. H. Adsorption of gases on heterogeneous surfaces. New York: Academic Press, 1992.
- [4] Pietrowski P. Pochłaniacze BHP. Bezpieczeństwo pracy 4 (2006), 24–27.
- [5] Toth J. Adsorption- Theory, modeling and analysis. Surf. Sci. 107 (2001), 375–432.
- [6] Barbusinski K., Kalemba K., Kasperczyk D., Urbaniec K., Kozik V. Biological methods for odor treatment – A review. J. Clean. Prod. 152 (2017), 223–241.
- [7] Blazy V., de Guardia A., Benoist J.C., Daumoin M.F., Guiziou F., Lemasle M., Wolbert D., Barrington S. Correlation of chemical composition and odor concentration for emissions from pig slaughterhouse sludge composting and storage. Chem. Engin. J. 276 (2015), 398–409.

- [8] Nastaj J. Modelowanie wybranych procesów adsorpcyjnych i biosorpcyjnych w ochronie środowiska. Szczecin. BEL Studio (2013).
- [9] Duong D. Do. Adsorption analysis: equilibria and kinetics. Chem. Enginee. 2 (1998).
- [10] Trochimczuk A.W. Sorbenty polimerowe- synteza i właściwości. Prace Naukowe Instytutu Technologii Ogranicznej i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wrocławskiej 25 (2003), 119–122.
- [11] Martins V.F.D., Ribeiro A.M., Ferreira A., Lee U-H., Hwang Y.K., Chang J.S., Loureiro J. M., Rodrigues A.E. Ethane/ethylene separation on a copper benzene-1,3,5 tricarboxylate MOF. Separ. Purif. Technol. 149 (2015), 445–456.
- [12] Khan N.A., Jhung S. H. Adsorptive removal and separation of chemicals with metal-organic frameworks: Contribution of π -complexation. J. Hazard. Mater. 325 (2017), 198–213.
- [13] Horike S., Kitagawa S. Design of Porous Coordination Polymers/Metal–Organic Frameworks: Past, Present and Future, Metal-Organic Frameworks. Appl. Catal. Gas Storage (2011), 1–21.
- [14] Kośmider J., Mazur-Chrzanowska B., Wyszyński B. Odory. Warszawa: PWN. (2002).
- [15] Kennes Ch., Veiga M. Technologies for the abatement of odours and volatile organic and inorganic compounds. Chem. Enginee. Trans. 23 (2010), 1–6.
- [16] Polski Komitet Normalizacyjny. PN-EN 13725: 2007: Jakość powietrza – Oznaczanie stężenia zapachowego metodą olfaktometrii dynamicznej. Warszawa (2007).
- [17] ASTM E544-10. Standard Practices for Referencing Suprathreshold Odor Intensity. Am. Soc. Test. Mater., Philadelphia, 2010
- [18] VDI-Standard: VDI 3940 Part 3. Measurement of odour impact by field inspection. Determination of odour intensity and hedonic odour tone. Verein Deutscher Ingenieure. Düsseldorf. 2010.
- [19] Departament Ochrony Powietrza i Klimatu. Kodeks przeciwdziałania uciążliwości zapachowej. Warszawa (2016).

SKURCZ SILIKONOWYCH KLEJÓW SAMOPRZYLEPNYCH

SCHRINKAGE OF SILICONE PRESSURE-SENSITIVE ADHESIVES

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

Streszczenie. Pojęcie zjawiska skurczu jest szeroko opisywane w dostępnej literaturze. W odniesieniu do klejów samoprzylepnych (PSA) w ogólnym ujęciu, definicja skurczu jest rozumiana jako „staje się mniejszy niż jego pierwotny rozmiar” i jest ściśle związana z procesem sieciowania oraz wpływem związku sieciującego na badany klej. Skurcz obok właściwości klejących (adhezja, kleistość) i mechanicznych (kohezja) jest jedną z najważniejszych właściwości charakteryzujących klej samoprzylepny. Jest bardzo ważny pod względem produkcyjnym przy otrzymywaniu np. dekoracyjnych banerów oraz folii samoprzylepnych gdzie usieciowany klej samoprzylepny, a tym samym jego skurcz może oddziaływać na powierzchnię materiału samoprzylepnego i tworzyć deformacje. W przypadku PSA, akceptowalny skurcz kleju samoprzylepnego nie może być większy niż 0,5%. Skurcz jest ważnym kryterium oceny odporności na proces starzenia materiałów z PSA. W literaturze nie odnotowano badań nad skurczem silikonowych klejów samoprzylepnych, natomiast wiele jest odniesień do klejów opartych na polimerach węglowych.

Słowa kluczowe: skurcz, samoprzylepne kleje silikonowe, adhezja, kohezja, kleistość.

Keywords: shrinkage, silicone pressure-sensitive adhesives, adhesion, cohesion, tack.

WSTĘP

Pojęcie zjawiska skurczu jest szeroko opisywane w dostępnej literaturze, również w odniesieniu do materiałów samoprzylepnych, takich jak kleje samoprzylepne. W odniesieniu do klejów samoprzylepnych (PSA) w ogólnym ujęciu, definicja skurczu jest rozumiana jako „staje się mniejszy niż jego pierwotny rozmiar” i jest ściśle związana z procesem sieciowania oraz wpływem związku sieciującego na badany klej. Skurcz obok właściwości klejących (adhezja, kleistość) i mechanicznych (kohezja) jest jedną z najważniejszych właściwości charakteryzującą klej samoprzylepny. Jest bardzo ważny pod względem produkcyjnym przy otrzymywaniu np. dekoracyjnych banerów czy folii samoprzylepnych gdzie usieciowany klej samoprzylepny, a tym samym jego skurcz może oddziaływać na powierzchnię materiału samoprzylepnego i tworzyć deformacje. W przypadku PSA akceptowalny skurcz kleju samoprzylepnego nie może być większy niż 0,5%. Skurcz jest ważnym kryterium oceny odporności na starzenie materiałów z PSA. Jest on zjawiskiem zależnym od czasu oraz parametrem stabilności samoprzylepnych filmów klejowych [1–5].

Kleje samoprzylepne (PSA) są materiałami definiowanymi jako specjalna grupa klejów wykazująca znaczne siły adhezyjne oraz kleistość w wyniku kontaktu z podłożem w temperaturze pokojowej bez konieczności zajścia reakcji chemicznej [6–8]. Odgrywają one istotną

Adres do korespondencji: Adrian Krzysztof Antosik, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej, al. Piastów 42, 70-322 Szczecin, Polska, e-mail: adriankrzysztofantosik@gmail.com

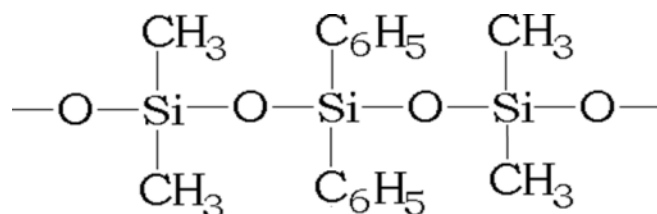
rolę w życiu codziennym i oczekuje się ich rozwoju w najbliższej przyszłości. PSA, naniesione jako warstwa polimeru na nośnik elastyczny (tkanina, folia, papier), wykazują bardzo długą żywotność klejenia. Są наносzone w ciekłej formie przez walce na podłoże i poddawane odparowaniu rozpuszczalnika w kanale suszącym. To doprowadza w ciągu kilku sekund do utwardzenia warstwy polimerowej. Samoprzylepne kleje są stosowane do wytwarzania różnorodnych materiałów, takich jak taśmy montażowe, etykiety, folie ochronne, taśmy maskujące, banery reklamowe, a także do produkcji szerokiego asortymentu samoprzylepnych produktów medycznych w postaci plastrów, bandaży, taśm operacyjnych oraz elektrod biomedycznych. Taśmy samoprzylepne są używane do łączenia ze sobą różnych materiałów, takich jak metal, papier, tworzywa sztuczne, szkło, drewno czy skóra. Charakteryzuje je stały poziom siły odrywania i przyklejania, a także doskonała odporność na starzenie, zarówno w temperaturze pokojowej jak i podwyższonej. Wysokiej jakości kleje samoprzylepne wykazują dużą odporność na działanie światła, tlenu oraz wilgoci [6, 9–12].

Pierwsze wzmianki o silikonach pojawiły się przed drugą wojną światową, podczas której były wykorzystywane, jako smary do mechanizmów pojazdów lotniczych. Silikony znalazły wiele zastosowań w przemyśle medycznym, elektrycznym, kosmetycznym, jako dodatki do środków czystości, środków pielęgnacyjnych, preparatów kondycjonujących do włosów, make-up, środków promieniochronnych, antyperspirantów oraz artykułów spożywczych. Związki krzemooorganiczne są produkowane w postaci: olejów, twardych żywic, pianek oraz kauczków. W polskim przemyśle farmaceutycznym silikonu zastosowano po raz pierwszy w latach 60. ubiegłego wieku jako środek pomocniczy hydrofobizacji ampułek do antybiotyków, co umożliwiło całkowite opróżnienie ampułek z leków. Modyfikowanie farmaceutyków poprzez sililowanie lub powlekanie środkami silikonowymi zmienia skuteczność działania leków, spowalniając ich rozpuszczanie, przedłużając czas absorpcji oraz zwiększając odporność na działanie kwasów i enzymów. Ponadto, silikonowane papiery oraz folie znalazły zastosowanie jako opakowania leków. Obecnie rozwija się intensywnie badania nad grupą farmaceutyków krzemooorganicznych. Pierwszymi preparatami z tej grupy były środki na zaburzenia trawienne u ludzi i zwierząt, zawierające w składzie aktywne składniki w postaci olejów metylosilikonowych o różnej lepkości [6, 13–15].

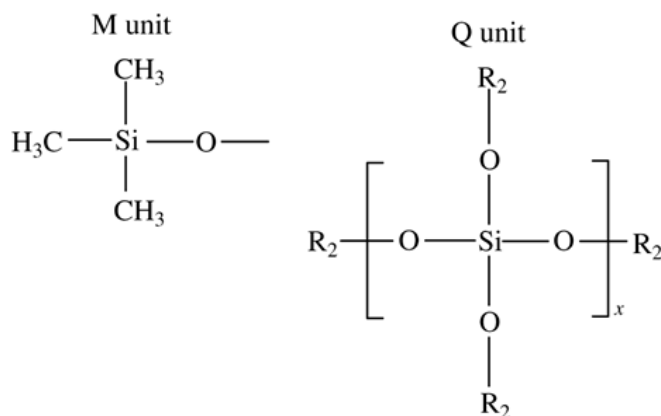
Kleje silikonowe (silikony) znajdują przede wszystkim zastosowanie w masach uszczelniających. Są to kleje jednoskładnikowe, które utwardzają się przez pobieranie wilgoci z otaczającego powietrza. W reakcji polikondensacji wydziela się kwas octowy, rozpoznawalny po charakterystycznym zapachu. Przy utwardzaniu powstaje stosunkowo szybko naskórek, a dalsze utwardzanie przebiega przez powolne pobieranie wilgoci. Silikony wykazują bardzo dużą elastyczność, nawet w niskich temperaturach, do -70°C , ale są czułe na działanie karbu. Są odporne na oddziaływanie czynników atmosferycznych. Są szeroko stosowane w budownictwie, przy uszczelnianiu obiektów sanitarnych oraz do klejenia szkła. Szczególną rolę odgrywają silikonu odporne na temperatury do 300°C , zwykle aplikowane w kolorze czerwonym lub szarym. Używane są do uszczelniania grzałek w czajnikach, w suszarniach, w budowie pieców oraz w przemyśle samochodowym. Silikony nie wykazują zdolności zwiłżania ich farbami i lakierami, stąd produkowane są w szerokiej gamie kolorów. Są powszechnie dostarczane w opakowaniach (tubach, kartuszach) lub w foliowych opakowaniach

elastycznych. Pozwala to na ich łatwe wyciskanie i dozowanie przy użyciu pistoletów ręcznych lub pneumatycznych [6, 9–10].

Silikonowe kleje samoprzylepne były początkowo opracowane na bazie klejów rozpuszczalnikowych. Patent Dextera z 1956 roku dotyczący klejów, opisuje je jako mieszaninę żywicy silikonowej i polimeru silikonowego otrzymaną w skutek usunięcia rozpuszczalnika. Kleje te znalazły zastosowanie przy produkcji taśm izolujących stosowanych w ekstremalnie wysokich temperaturach. Samoprzylepne kleje silikonowe (Si-PSA) charakteryzują się wysoką sprężystością, elastycznością oraz hydrofobowością (nie przepuszczają wody). Wykazują niską temperaturę zeszklenia, a w temperaturze pokojowej zachowują stabilną elastyczną konsystencję. Niskie napięcie powierzchniowe samoprzylepnych klejów silikonowych pozwala na ich łatwe rozprowadzanie na powierzchni różnorodnych materiałów. Znalazły one zastosowanie do produkcji plastrów i innych wyrobów medycznych (wykazują brak negatywnego oddziaływania na skórę ludzką). Si-PSA wykazują doskonałe właściwości barierowe dla jonów. Silikonowe kleje samoprzylepne (rys. 1) są wytwarzane przez kontrolowaną polikondensację. Monomery silikonowe polimeryzują, tworząc polimery silikonowe wykazujące właściwości adhezyjne i kohezyjne. Silikonowe kleje samoprzylepne zazwyczaj składają się ciężkich cząsteczek silano-funkcyjnych polimerów silikonowych oraz silano-funkcyjnych MQ żywic silikonowych (rys. 2), mogą również zawierać winylowo-funkcyjne polimery (choć winylowo-funkcyjne polimery są używane jako dodatek utwardzający PSA). Grupy dimetylowe wokół łączenia Si-O-Si polisiloksanów są odpowiedzialne za właściwości napięcia powierzchniowego i zdolność PSA silikonowych do nawilżania oraz wiązania do podłoża o niskiej energii powierzchniowej takich jak Teflon® i Kapton®. Silikonowa żywica MQ zapewnia przyczepność i lepszą stabilność w wysokiej temperaturze [7, 16–20].



Rys. 1. Ogólna struktura polimeru silikonowego



Rys. 2. Struktura MQ żywic silikonowych

Polimer nieusieczony lub usieczony wyłącznie poprzez wiązania wodorowe stosowany, jako klej samoprzylepny nie posiada odpowiednich właściwości termiczno-mechanicznych by mógł znaleźć zastosowanie w przemyśle. Właściwości fizykochemiczne i mechaniczne usieczonych klejów samoprzylepnych takie jak adhezja, kohezja czy kleistość są uzależnione od rodzaju oraz ilości stosowanego środka sieciującego. Proces sieciowania ma na celu zwiększenie kohezji kosztem adhezji i kleistości, co determinuje przeznaczenie produktu samoprzylepnego. W technologii klejów samoprzylepnych, jako związki sieciujące powszechnie stosowane są sole metali z kwasami organicznymi (np. sole tytanu, cyrkonu), chelaty metali, (acetyloacetonian żelaza, acetyloacetonian glinu), żywice aminowe, wielofunkcyjne monomery (akrylan 1,4-butanodiolu, eter allilowo-winyłowy), wielofunkcyjne izocyjaniany, (diizocyjanianheksametyleny), wielofunkcyjne propylenoiminy, pochodne 2-metyloazyrydyny lub nadtlenki organiczne. Sieciowanie silikonowych klejów samoprzylepnych zawierających w składzie grupy metylowe i fenylowe w celu efektywnego procesu odbywa się w zakresie temperatur 120–150°C przy użyciu organicznych nadtlenków. Najczęściej stosowanym katalizatorami są nadtlenek benzoilu (BPO) lub 2,4-dichlorobenzoilu (DCIBPO). Sieciujący termicznie związek nadtlenkowy rozkłada się na rodnik benzyłowy, który odrywa atom wodoru z grupy metylowej silikonu, przez co powstaje rodnik silylometyłowy w łańcuchu polimeru. Następuje rekombinacja oraz sieciowanie, w wyniku czego powstaje usieczona struktura $-\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Si}-$ w matrycy polimerowej [6, 9, 21–25].

Z doświadczenia i badań autorów wynika, iż najlepsze właściwości użytkowe uzyskiwały kompozycje klejów silikonowych sieciowane termicznie za pomocą DCIBPO. Spośród publikowanych badań najlepszymi okazały się kleje Q2-7566 firmy Dow Corning oraz PSA 590 firmy Momentive (tab. 1–2). Spełniają one wymogi stawiane taśmom samoprzylepnym do specjalnych zastosowań i mogą znaleźć zastosowanie do łączenia elementów pracujących w podwyższonej temperaturze lub kosmonautyce do klejenia baterii słonecznych na pokładach satelitów i stacji kosmicznych [6, 9, 17, 19, 26].

Celem pracy było zbadanie skurczu najlepszych komercyjnych silikonowych klejów samoprzylepnych na różnych nośnikach (PVC i PET).

ZAGADNIENIE ADHEZJI I KOHEZJI

Adhezja jest zjawiskiem powierzchniowego wiązania się warstw wierzchnich dwóch ciał, zazwyczaj cieczy i ciała stałego. Wyodrębnia się podział adhezji na właściwą i mechaniczną. Istnieje wiele teorii próbujących wyjaśnić zjawisko adhezji właściwej, a także określenia warunków, w jakich można uzyskać dużą wytrzymałość złączy adhezyjnych [27–28].

Do teorii adhezji zaliczane są:

- teoria cząsteczkowa, zwana teorią fizyczno-chemiczną, uznającą adhezję jako rezultat oddziaływań sił międzycząsteczkowych;
- teoria elektrostatyczna – wiązania powstają w wyniku przepływu strumienia elektronów między dwoma ciałami w bezpośrednim kontakcie;
- teoria dyfuzyjna – zakłada wzajemną dyfuzję cząsteczek dwóch materiałów, wynikającą z różnicy potencjałów termodynamicznych;

- teoria chemiczna – zakłada występowanie, między klejem a materiałem łączonym, adsorpcji chemicznej dzięki grupom funkcyjnym zdolnym do tworzenia wiązań chemicznych;
- pozostałe teorie, to teorie słabej warstwy granicznej, termodynamiczna, utleniania i elektretów [10, 23, 28].

W wyniku złożoności problemu powstała koncepcja uogólnionej teorii adhezji oparta na elementach teorii fizykochemicznej, jednak obejmująca także główne treści zawarte w innych teoriach. Wskazuje ona na bezpośredni związek między siłami oddziaływań międzycząsteczkowych i odległością między cząsteczkami. Próba unifikacji istniejących teorii umożliwia dokonanie ilościowej oceny adhezji, jako siły wiązań przypadających na jednostkę powierzchni i formułuje warunek konieczny do powstawania złączy o dużej wytrzymałości adhezyjnej – zbliżenie cząstek dwóch ciał na odległość $< 0,9$ nm oraz wystarczające – duże siły przyciągania przy możliwie najniższej energii potencjalnej wiązania [28–29].

Kohezja definiowana jest jako stan ciał fizycznych, w którym oddziaływania międzycząsteczkowe przeciwstawiają się rozdzieleniu ich na części. Miarą kohezji jest praca potrzebna do rozdzielenia określonego ciała na części, podzielona przez powierzchnię powstałą wskutek tego rozdzielenia. Utwardzone lakiery są zazwyczaj wielkocząsteczkowymi polimerami, a ich kohezja zależy głównie od struktury (łańcuchowej, rozgałęzionej, usieciowanej o małej lub dużej gęstości) i budowy chemicznej. Oprócz wielkości oddziaływań między cząsteczkami zależy ona również od innych czynników, m.in. stanu skupienia lub mikrostruktury materiału. Im wyższy stopień zorganizowania cząsteczek w ciele, tym większe siły kohezyjne – największe w ciałach stałych (maksymalne wartości w kryształach), a prawie zupełny ich brak w gazach. Istotny wpływ mają również defekty struktury, takie jak mikropęknięcia, kawitacja czy przenoszenie naprężeń mechanicznych. W przypadku klejów bardzo istotnym czynnikiem jest temperatura, która po osiągnięciu właściwej dla konkretnego materiału właściwości krytycznej powoduje dekohezję, czyli zerwanie sił spójności i rozdzielenie ciała na części [10, 23, 28].

MATERIAŁ

W badaniu użyto komercyjnie dostępnych klejów silikonowych firmy Dow Corning (USA) oraz Momentive (USA) o symbolach odpowiednio Q2-7566 i PSA590. Dichloronadtlenek benzoilu (DCIBPO) produkcji Peroxid-Chemie (Niemcy) był stosowany w obydwu przypadkach jak związek sieciujący.

OTRZYMYWANIE SI-PSA

Mieszaninę nadtlenku dichlorobenzoilu z toluenem (użytym w celu obniżenia lepkości SI-PSA) wprowadzano do pojemnika z samoprzylepnym klejem silikonowym i mieszano do uzyskania homogenicznej mieszaniny. Następnie mieszaninę pozostawiano na 24 h w zamkniętym pojemniku w celu odpowietrzenia. Tak przygotowaną kompozycję klejową powlekano, za pomocą półautomatycznej powlekarki, skonstruowanej w Laboratorium Klejów i Materiałów Samoprzylepnych na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopo-

morskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, z prędkością 5 m/s, na folię poliestrową o grubości 50 μm . Folię z naniesioną warstwą kleju umieszczano w kanale suszącym w temperaturze 125°C na 10 minut w celu jej usieciowania. Następnie warstwę klejącą zabezpieczano folią poliestrową o grubości 36 μm . Analogiczny sposób przygotowania próbek zastosowano w odniesieniu do wszystkich innych badanych klejów oraz nośnika PVC. Gramatura warstwy badanych Si-PSA wynosiła 45 g/m².

METODY

Pomiary adhezji, kohezji, kleistości i skurczu przeprowadzono według międzynarodowych norm (Association des Fabricants Europeens de Rybans Auto-Adhesifs i Fédération Internationale des Fabricants et Transformateurs d'adhesifs et thermocollants sur papiers et autres support) odpowiednio AFERA 4001, FTM 8, AFERA 4015 oraz metody krzyżowej opracowanej w niemieckiej firmie BASF.

Adhezja silikonowych PSA była mierzona na maszynie wytrzymałościowej Zwick-Roell Z1 według międzynarodowych standardów Association des Fabricants Europeens de Rubans Auto-Adhesifs (AFERA) 4001. Próbkę taśmy samoprzylepnej o szerokości 1 cala (około 2,5 cm) i długości 5 cali (około 12,7 cm) przyklejono do płytki metalowej tak, by powierzchnia styku filmu klejowego wyniosła około 15 cm². Badaną taśmę samoprzylepną rolowano po nałożeniu na płytkę stalową specjalnym gumowanym wałkiem o masie 2 kg. Badaną płytkę stalową zaciśnięto w szczękach maszyny do badania wytrzymałości na rozciąganie. Swobodny koniec taśmy powleczonej zawijano z powrotem tak, by kąt usunięcia wynosił 180°. Wolny koniec był dołączany do skali testera przyczepności, który był zdolny do przemieszczania się płyty od skali, ze stałą szybkością 300 mm/min. Odczyt skali w Newtonach [N], rejestrowano jako taśmę oddzieraną z powierzchni płytki stalowej. Dane podano jako średnią z zakresu wyników obserwowanych podczas badań. Podany wynik był średnią arytmetyczną z trzech pomiarów [9, 17, 26].

Kleistość PSA była mierzona na maszynie Zwick-Roell Z1 według międzynarodowych standardów Association des Fabricants Europeens de Rubans Auto-Adhesifs (AFERA) 4015. Joint składa się z warstwy sztywnej (płytki stalowej) i elastycznej warstwy taśmy (PSA), która zostaje oderwana pod kątem 90° z prędkością 300 mm/min. Powierzchnia przylegania warstwy klejącej do podłoża wynosiła 5 cm² (2,5 cm × 2 cm) [6, 9, 19].

Badania kohezji zostały przeprowadzone zgodnie z międzynarodową normą Fédération Internationale des Fabricants et Transformateurs d'adhesifs et thermocollants sur papiers et autres support (FINAT) FTM 8. Taśmę PSA przyklejano do płytki stalowej i obciążano 1 kg. Powierzchnia kontaktu warstwy klejącej z podłożem wynosiła 6,25 cm² (2,5 cm × 2,5 cm). Próbkę były umieszczane w maszynie, zaprojektowanej w Laboratorium Klejów i Materiałów Samoprzylepnych Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, do mierzenia kohezji, która pozwala na automatyczny odczyt czasu pęknięcia kohezyjnego. Kohezja była badana w temperaturze 20 i 70°C [6, 17, 19, 26].

Badanie skurczu przeprowadzono zgodnie z metodą krzyżową opracowaną w niemieckiej firmie BASF. Folia PVC z samoprzylepnym filmem klejowym o wymiarach 10 cm × 10 cm

przyklejano na płytkę aluminiową. Na środku folii robiono nacięcie pionowe i poziome tworząc kształt krzyża (nacięcia o wymiarze 8 cm). Tak otrzymaną próbkę sezonowano w suszarce w temp. 70°C. Skurcz badano lupą odpowiednio po 10 i 30 min; 1, 3, 8 i 24 h; 2, 3, 4, 5, 6 oraz 7 dniach (szerokość powstałych z nacięć szczelin).

WYNIKI

Obydwie badane kompozycje charakteryzowały się doskonałą adhezją i kleistością (powyżej 10 N/2,5 cm oraz 10 N). Ponadto filmy klejowe posiadały bardzo wysoką kohezję zarówno w temperaturze pokojowej jak i podwyższonej (tab. 1).

Tabela 1. Wyniki adhezji, kohezji i kleistości dla najlepszych kompozycji silikonowych klejów samoprzylepnych Q2-7566 i PSA 590

Badanie	Kompozycje	
	Q2-7566	PSA 590
Adhezja do stali	10,6 N/25 mm	10,4 N/25 mm
Kohezja w temperaturze pokojowej	>72 h	>72 h
Kohezja w 70°C	>72 h	>72 h
Kleistość	10,2 N	10,3 N

Wykazywały również relatywnie doskonałą adhezją (tab. 2) i kleistość (tab. 3) do podłoża o różnych energiach powierzchniowych takich jak aluminium, szkło, miedź, teflonu czy PMMA.

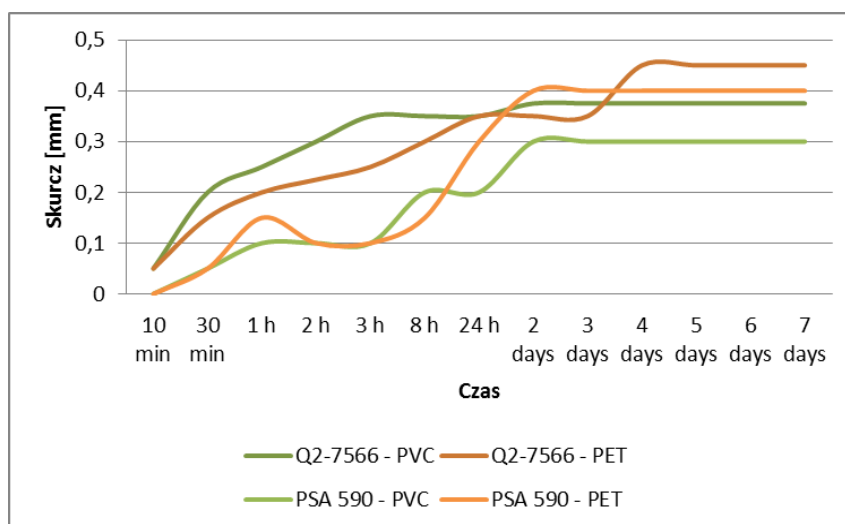
Tabela 2. Wyniki adhezji do podłoża o różnych energiach powierzchniowych dla najlepszych kompozycji silikonowych klejów samoprzylepnych Q2-7566 i PSA 590

Adhezja do	Kompozycje	
	Q2-7566	PSA 590
Aluminium	13,5 N/25 mm	6,7 N/25 mm
Szkło	11,6 N/25 mm	13,5 N/25 mm
Miedź	8,1 N/25 mm	6,7 N/25 mm
Teflon	13,8 N/25 mm	13,8 N/25 mm
PMMA	6,9 N/25 mm	4,9 N/25 mm

Tabela 3. Wyniki kleistości do podłoża o różnych energiach powierzchniowych dla najlepszych kompozycji silikonowych klejów samoprzylepnych Q2-7566 i PSA 590

Kleistość do	Kompozycje	
	Q2-7566	PSA 590
Aluminium	10,4 N	4,2 N
Szkło	6,2 N	8,3 N
Miedź	8,9 N	4,1 N
Teflon	10,6 N	8,4 N
PMMA	5,3 N	3,0 N

We wszystkich badanych przypadkach skurcz rósł do około 3 dnia po rozpoczęciu badania a następnie stabilizował się (rys. 3). Obydwie kompozycje wykazały skurcz poniżej 0,5%, czyli poniżej dopuszczalnej dla materiałów samoprzylepnych granicy, umożliwiając ich przemysłową aplikację.



Rys. 3. Skurcz najlepszych kompozycji silikonowych klejów samoprzylepnych Q2-7566 i PSA 590 na podłożu PET i PVC

PODSUMOWANIE

Badane kompozycje komercyjnych silikonowych klejów samoprzylepnych charakteryzowały się bardzo dobrą adhezją, kohezją i kleistością oraz wysoką kohezją w temperaturze pokojowej jak i podwyższonej.

Przeprowadzone badania wykazały również relatywnie dobrą adhezję oraz kleistość do materiałów o różnej energii powierzchniowej takich jak aluminium, szkło, miedź, teflon czy PMMA.

Wszystkie badane kompozycje (na różnych podłożach–PET i PVC) wykazały bardzo mały skurcz, poniżej 0,5%, który ulegał stabilizacji po około 3 dniach.

Przeprowadzone badania potwierdziły wysoką jakość komercyjnych silikonowych klejów samoprzylepnych.

LITERATURA

- [1] Czech Z. Synthesis of new solvent-borne acrylic pressure-sensitive adhesives. *Polimery* 50 (2005), 1–8.
- [2] Czech Z, Witczak M., Kowalczyk A., Kowalska J. The influence of residual monomers on selected properties of acrylic pressure-sensitive adhesives. *Drewno* 55 (2012), 59–70.
- [3] Czech Z., Martysz D. UV-crosslinkable solvent-based pressure-sensitive adhesives with very low shrinkage. *Int. J. Adhes. Adhes.* 24 (2004), 533–534.
- [4] Czech Z., Kowalczyk A., Gąsiorowska M., Soroka J., Kabatc J. Novel pyridinium derivatives as very efficient photoinitiators for UV-activated synthesis of acrylic pressure-sensitive adhesives. *Int. J. Adhes. Adhes.* 31 (2011), 634–638.

- [5] Czech Z., Kowalczyk A., Kabatc J., Świdarska J. Photoreactive UV-crosslinkable solvent-free acrylic pressure-sensitive adhesives containing copolymerizable photoinitiators based on benzophenones. *Eur. Polym. J.* 48 (2012), 1446–1154.
- [6] Antosik A.K. Wpływ organicznych środków sieciujących na właściwości fizyczne klejów samoprzylepnych na bazie silikonów, Monografia „Wybrane zagadnienia inżynierii produkcji w zastosowaniach medycznych” ISBN 978-83-65272-04-1 (2015), 117–128.
- [7] Lin S.B., Durfee L.D., Ekeland R.A., McVie J., Schallau G.K. Recent advances in silicone pressure-sensitive adhesives. *J. Adhes. Sci. Technol.* 21 (2007), 605–623.
- [8] Czech Z., Kowalczyk A., Świdarska J. Pressure sensitive adhesives for medical applications. *Wide Spectra of Quality Control*, 17 (2011), 310–332.
- [9] Antosik A. K., Ragańska P., Czech Z. Termiczne sieciowanie samoprzylepnych klejów silikonowych nadtlakami organicznymi, *Polimery* 18 (2014), 25–30.
- [10] Mirski Z., Piwowarczyk T. Podstawy klejenia, kleje i ich właściwości, *Przeg. Spaw.*, 8 (2008) 12-21
- [11] Czech Z. Development In the area of UV-crossinkable solvent-based pressure-sensitive adhesives with excellent shrinkage resistance. *Euro. Polym. J.* 40 (2004), 2221–2227.
- [12] Czech Z. Crosslinking of pressure-sensitive based on water-borne acrylate, *Polym. Inter.* 52 (2003), 347–357.
- [13] Tolia G., Li S.K. Silicone adhesive matrix of verapamil hydrochloride to provide PH-independent sustained release. *J. Am. Ass., Pharm. Sci.* 15 (2013), 1–10.
- [14] Chen X., Wang S., Chen M., Liu S. Phosphor setting induced mechanical degradation of silicone/phosphor composite in light emitting diode packages. *J. App. Polym. Sci.*, 10 (2015), 1–8.
- [15] Aliyar H., Huber R., Loubert G., Schallau G. II Efficient ibuprofen delivery from anhydrous semisolid formulation based on novel cross-linked silicone polymer network: an *in vitro* and *in vivo* study. *J. Pharm. Sci.* 103 (2014), 2005–2011.
- [16] Pang B., Ryu Ch.-M., Him H.-II. Improvement wettability of pressure-sensitive adhesive on silicon water using crosslinking agent with siloxane groups. *J. App. Polym. Sci.* 123 (2012), 276–281.
- [17] Antosik A.K. Influence of dichlorobenzoyl peroxide to physical properties of silicone pressure-sensitive adhesives. Konferencja „Mała Wielka Nauka” ISBN 978-83-7283-643-4 (2014), 41–43.
- [18] Sun F., Hu Y., Du H.-G. Synthesis and characterization of MQ silicone resins. *J. App. Polym. Sci.* 125 (2012), 3532–3536.
- [19] Antosik A.K., Czech Z. Wpływ ilości barwnika na fizyczne właściwości silikonowych klejów samoprzylepnych. *Dokowania Młodych Naukowców* 94 (2015), 41–42.
- [20] Naruse M., Ogawara K., Kimura T., Konishi R., Higaki K. Development of transdermal therapeutic formulation of CNS5161, a novel NMDA receptor antagonist, by utilizing pressure-sensitive adhesives II: Improved transdermal adsorption and evaluation of efficacy and safety. *Euro. J. Pharm. Sci.* 52 (2014), 86–94.
- [21] Kuo Ch.-F.J., Chen J.-B., Shih Ch.-Y., Huang Ch.Y. Silicone resin synthesized by tetraethoxysilane and chlorotrimethylsilane through hydrolysis-condensation reaction. *J. App. Polym. Sci.*, 131 (2014), 1–8.
- [22] Czech Z., Butwin A. Poliakrylanowe kleje samoprzylepne sieciowane dualnie. *Wiad. Chem.*, 63 (2009), 269–284.
- [23] Wilpiszewska K., Czech Z. Citric acid modified potato starch films containing microcrystalline cellulose reinforcement – properties and application. *Starch* 65 (2014), 1–8.
- [24] Pang B., Ryu Ch.-M., Kim H.-II. Effect of naphthyl curing agent having thermally stable structure on properties of UV-cured pressure sensitive adhesives. *J. Ind. Eng. Chem.* 20 (2015), 3195–3200.
- [25] Lu X., Cao G., Niu Z., Pan Q. Viscoelastic and adhesive properties of single-component thermo resistant acrylic pressure sensitive adhesives, *J. App. Polym. Sci.*, 131 (2014), 1–10.
- [26] Antosik A.K., Bednarczyk P., Czech Z. Jednostronnie klejące taśmy na bazie samoprzylepnych klejów silikonowych – dobór najlepszych kompozycji. *Chemic* 69 (2015), 95–97.
- [27] Brockmann W. Huther R. Adhesion mechanisms of pressure sensitive adhesives. *J. Adhes. Adhes.* 16 (1996), 81–86.
- [28] Antosik A.K., Ragańska P. Badanie adhezji utwardzonych promieniowaniem UV lakierów do paznokci za pomocą metody statycznej oraz statyczno-dynamicznej. Monografia „Metodologia badań wykorzystywana przez młodych naukowców” ISBN 978-83-63058-43-2 (2014), 244–251.
- [29] McBain J.W., Hopkins D.G. On adhesives and adhesive composition. *J. Phys. Chem.* 29 (1925), 188–204.
- [30] Bennett R.E., Bennett G.S., Carton M.A., Chou S.-H. Polycarbonate articles and adhesive composition therefor Patent US6815035 (2004).

PROTONOWE SOLE DIFENOKONAZOLU JAKO NOWE FUNGICYDY

PROTIC SALTS OF DIFENOCONAZOLE AS NEW FUNGICIDES

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej

Streszczenie. Przedmiotem niniejszych badań było przeprowadzenie syntez mających na celu otrzymanie nowych protonowych pochodnych difenokonazolu z anionami nieorganicznymi oraz organicznymi. Struktury otrzymanych soli potwierdzono za pomocą spektroskopii protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Przeprowadzono także badania rozpuszczalności otrzymanych związków w temperaturze 25°C w wodzie, jak i popularnych rozpuszczalnikach organicznych. Związki okazały się być rozpuszczalne w metanolu oraz DMSO, z kolei nie rozpuszczały się w toluenie, heksanie oraz w wodzie. Dla otrzymanych cieczy jonowych difenokonazolu z anionem organicznym zbadano również aktywność fungicydową na trzech gatunkach grzybów: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum* oraz *Microdochium nivale* (kolekcja IOR-PIB). Uzyskane wyniki pozwalają na zakwalifikowanie otrzymanych związków do grupy fungicydowych cieczy jonowych.

Słowa kluczowe: cieczy jonowe, difenokonazol, środki grzybobójcze.

Keywords: ionic liquids, difenoconazole, fungicides.

WSTĘP

Cieczy jonowe to związki organiczne zbudowane najczęściej z kationu organicznego oraz anionu organicznego lub nieorganicznego, o temperaturze topnienia poniżej 100°C [1]. Wśród cieczy jonowych wyróżniamy związki, które zachowują ciekły stan skupienia w temperaturze pokojowej, są to niskotemperaturowe cieczy jonowe ang. *room temperature ionic liquids* (RTILs). Interesującą cechą cieczy jonowych jest to, że właściwy dobór kationu oraz anionu umożliwia otrzymanie związków o pożądanych właściwościach fizycznych, chemicznych lub biologicznych [2]. Dlatego też cieczy jonowe można określić jako związki „projektowalne”. Możliwość kombinacji kation-anion szacuje się na 10^{18} . W związku z tak szeroką grupą substancji w 2007 roku zaproponowano ich podział na trzy generacje, które rozróżniają ich właściwości i zastosowanie [3]. Chcąc poznać zastosowanie cieczy jonowych, początkowo badano je pod kątem ich właściwości fizycznych, takich jak: temperatura topnienia, gęstość, lepkość, współczynnik załamania światła, stabilność termiczna, przewodnictwo czy powinowactwo do wody, które są warunkowane przez rodzaj kationu i anionu. Cechą charakterystyczną cieczy jonowych I generacji jest to, że znając właściwości, jakie dają zastosowany kation i anion, możliwe staje się przewidzenie ich właściwości fizycznych. Znając już właściwości fizyczne cieczy jonowych, zwrócono uwagę na właściwości chemiczne. Zauważono, iż dzięki odpowiednim właściwościom chemicznym cieczy jonowych, można stosować je jako rozpuszczalniki, elektrolity, czy też katalizatory w reakcjach chemicznych. „Projektowalne” właściwości chemiczne to między innymi zdolność do solwatacji, palność, chiralność, bloko-

wanie promieni UV. Zatem do cieczy jonowych II generacji możemy zaliczyć związki o znanych właściwościach chemicznych, do których można dodać określone właściwości fizyczne. Trzecia generacja cieczy jonowych została wyodrębniona na podstawie przeprowadzonych badań dotyczących właściwości biologicznych lub toksyczności zsyntezowanych cieczy jonowych. Związki te charakteryzują się odpowiednimi, pożądanymi właściwościami biologicznymi, które sprzężone są z odpowiednimi właściwościami fizycznymi oraz chemicznymi. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa, znieczulająca czy deterentna to tylko przykłady właściwości biologicznych, którymi charakteryzują się ciecze jonowe. Do trzeciej generacji cieczy jonowych zaliczyć można również herbicydowe ciecze jonowe, a także związki posiadające właściwość grzybobójczą [4–7]. Intensywne badania prowadzone nad cieczami jonowymi pozwalają stwierdzić, że są to związki wielofunkcyjne, o różnorodnych potencjalnych zastosowaniach, między innymi jako środki powierzchniowo czynne, rozpuszczalniki, elektrolity, ekstrahenty czy środki ochrony roślin.

Zapewnienie plonów o odpowiedniej wysokości i jakości to jedno z najważniejszych zadań w udanej uprawie zbóż. Rolnicy zmagają się z wieloma problemami podczas uprawy roślin jakimi są między innymi wyleganie zbóż, zachwaszczenie pól czy choroby zbóż powodowane przez grzyby [8]. Nierozpoznane zagrożenia mogą spowodować ogromne straty w plonach. Choroby grzybowe obniżają bezpośrednio powierzchnię asymilacyjną liści i kłosów, przez co następuje rozdrobnienie ziarna, a także spadek ilości ziaren w kłosach. Choroby mogą także powodować wczesne zamieranie pędów zbóż. Obecność chwastów na polu uprawnym prowadzi z kolei do konkurencji obu roślin o wodę, światło oraz mikro- i makroelementy zawarte w glebie. Występowanie chwastów powoduje dłuższy i trudniejszy zbiór plonów. Bardzo ważnym elementem skutecznej ochrony zbóż przed chorobami i chwastami jest prawidłowy dobór preparatu, jego dawki, a także terminu wykonania zabiegu.

Fungicydy zbudowane są z substancji biologicznie czynnej, nośnika, aktywatora, stabilizatora i zwilzacza. Część z nich jedynie pozostaje na powierzchni w miejscu, w którym zostały naniesione, część rozprzestrzenia się po tej powierzchni, a są i takie, które wnikają do tkanek i w nich się rozprzeczają. Do tych ostatnich, zwanych układowymi, należą fungicydy triazolowe, takie jak cyprokonazol, propikonazol, tebukonazol i difenokonazol. Propikonazol i cyprokonazol są składnikami preparatu Artea 330 EC, który zwalcza choroby pszenicy spowodowane grzybami takimi jak *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium nivale* [9]. Pierwszymi związkami zastosowanymi jako fungicydy były sole miedzi. Dalsze lata przyniosły badania nad związkami rtęci, cyny i w ostateczności organicznymi [10]. Do organicznych związków grzybobójczych należą między innymi: fenole, chinony, chloronitrobenzeny i triazyny. Najnowsze badania skupiają się na związkach posiadających w swojej strukturze pierścień z atomem azotu, który odpowiada za aktywność grzybobójczą. Do związków tych zalicza się między innymi: piperazynę, morfolinę, imidazol oraz triazole [11]. Najnowocześniejsze fungicydy nie doprowadzają do śmierci grzybów. Powodują one jedynie spowolnienie lub zatrzymanie ich rozwoju [12].

Triazole są obecnie najbardziej rozpowszechnionymi fungicydami ze względu na ich wysoką skuteczność. Są także bardziej przyjazne dla środowiska naturalnego dzięki niższej akumulacji w glebie. Propikonazol oraz tebukonazol zostały wykorzystane jako substraty

w syntezie czwartorzędowych soli amoniowych z anionami bromkowymi i jodkowymi. Aktywność biologiczną otrzymanych związków przebadano na grzybach z rodzaju *B. cinerea*, *F. culmorum* oraz *M. nivale*. Przeprowadzone testy dowiodły, że sole te cechują się niską akumulacją w glebie. Wszystkie zsyntezowane czwartorzędowe sole organiczne wykazywały aktywność fungistatyczną. Zatrzymywanie rozwoju grzybni było zależne od rodzaju soli, jej stężenia oraz gatunku grzyba [13].

Nowe fungicydowe ciecze jonowe zsyntezowano ze związków triazoliowych jakimi były propikonazol oraz tebukonazol. Jako aniony soli zastosowano szereg kwasów organicznych oraz nieorganicznych. Aktywność fungistatyczną otrzymanych cieczy jonowych zbadano na organizmach z rodzaju *F. Culmorum*, *M. nivale*, *S. sclerotiorum* oraz *B. cinerea*. Wszystkie otrzymane sole organiczne wykazywały wysoką aktywność grzybobójczą. Ponadto, stwierdzono, że ciecze jonowe uzyskane na bazie propikonazolu charakteryzują się wyższą skutecznością w hamowaniu wzrostu grzybni w porównaniu ze związkami zawierającymi tebukonazol [14]. W toku badań zsyntezowano szereg czwartorzędowych soli amoniowych o wielofunkcyjnym działaniu. W grupie otrzymanych związków znalazły się sole z kationem domifenowym, benzalkoniowym, heksadecylotrimetyloamoniowym oraz anionem 1,2,4-triazoliowym. Na podstawie przeprowadzonych testów dowiedziono, że związki te charakteryzują się wysoką aktywnością grzybobójczą wobec *S. pityophila*, *C. puteana* i *T. versicolor*. i bakteriobójczą w przypadku *F. culmorum*, *S. sclerotiorum*. Dodatkowo dowiedziono ich niskiej fitotoksyczności szczególnie dla domifenu benzotriazolowego [15].

Nowatorskim pomysłem okazały się również dwufunkcyjne ciecze jonowe, gdzie źródłem kationu był tebukonazol lub propikonazol jako związki o właściwościach grzybobójczych, natomiast źródłem anionu były popularne herbicydy takie jak kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA), kwas 2-(4-chloro-2-metylofenoksy)propionianowy (MCP), kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) oraz kwas 3,6-dichloro-2-metoksybenzoesowy (Dikamba) [16].

Pomimo tak obszernej grupy fungicydów nie ma uniwersalnego środka, który hamowałby oraz zabezpieczał przed wszystkimi rodzajami grzybów. Jednocześnie trzeba mieć na uwadze, że powstające metabolity degradacji mogą stanowić potencjalne zagrożenie dla ekosystemu. Przy planowaniu syntezy nowych fungicydów, należy brać pod uwagę selektywne działanie grzybobójcze dla wybranych szczepów grzybów, a także możliwość nabywania przez nie odporności na środki ochrony roślin.

Jedyną substancją aktywną w Difo 250 EC, środku grzybobójczym powszechnie używanym w Polsce, jest difenokonazol. Jest to żółto-brązowe ciało stałe, które topi się w temperaturze 78–79°C. Prowadzono badania, które miały na celu porównanie działania difenokonazolu i innego znanego fungicydu – iprodinu, na wzrost grzyba *Lecanicillium fungicola*. Silniejszym inhibitorem okazał się difenokonazol, który w 76% zwalczył patogenicznego grzyba [17]. Prowadzone były także badania przeciwko patogenicznym gatunkom grzybów, takim jak *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*. Mieszanina difenokonazolu i karbendazymu okazała się skuteczna, jednakże porównywalna z naturalnymi ekstraktami o charakterze przeciugrzybicznym, z rośliny warkocznicy jesiennej (*Eucomis autumnalis*), [18].

METODOLOGIA BADAŃ

Synteza

Jako źródło kationu wybrano difenokonazol (1-[[2-[2-chloro-4-(4-chlorofenoksy)fenylo]-4-metylo-1,3-diokso-2-ylo]metylo]-1,2,4-triazol). Synteza nowych protonowych soli difenokonazolu przebiegała jednoetapowo. Reakcja polegała na protonowaniu difenokonazolu wybranymi kwasami organicznymi oraz nieorganicznymi. Aniony wchodzące w strukturę otrzymanych związków pochodziły od kwasów organicznych i nieorganicznych takich jak: kwas chlorowodorowy, kwas siarkowy(VI), kwas azotowy(V), kwas tetrafluoroborowy, kwas cytrynowy, salicylowy, winowy, szczawiowy oraz dichlorooctowy.

Syntezy prowadzono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 cm³, w której umieszczano 0,01 mola difenokonazolu o czystości 98% oraz metanol, który posłużył jako rozpuszczalnik reakcji. Następnie małymi porcjami przy ciągłym mieszaniu wkraplano metanolowy roztwór odpowiedniego kwasu. W trakcie reakcji kontrolowano pH przy pomocy pH-metru, aż do zobojętnienia mieszaniny reakcyjnej, po czym odparowywano rozpuszczalnik. Otrzymane produkty przemywano trzykrotnie heksanem w celu usunięcia nieprzereagowanych substratów. Następnie otrzymany produkt suszono w suszarce pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 50°C przez 24 godziny.

Analiza spektroskopowa

Widma protonowego ¹H NMR i węglowego ¹³C NMR magnetycznego rezonansu jądrowego wykonane zostały w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Naukowej przy Uniwersytecie im. Adama Mickiewicza w Poznaniu przy użyciu spektrometru Mercury Gemini 300 o częstotliwości 400 MHz dla widm protonowych i 100 MHz dla widm węglowych. Zastosowany rozpuszczalnik to deuterowany dimetylosulfotlenek, a odnośnik stanowił tetrametylosilan. Widma wykonano w temperaturze 25°C.

Badanie rozpuszczalności

Analizując rozpuszczalność otrzymanych związków, w fiolce umieszczano 0,1 g badanego związku. Następnie dodawano po 1 cm³ rozpuszczalnika. Badanie prowadzono w temperaturze otoczenia, mieszając do całkowitego rozpuszczenia produktu. Za koniec badania przyjęto rozpuszczenie się związku w 1 lub 3 cm³ rozpuszczalnika lub przyjmowano, iż związek jest nierozpuszczalny powyżej 3 cm³. Związek rozpuszczalny w 1 cm³ – bardzo dobrze rozpuszczalny, w 3 cm³ – słabo rozpuszczalny. Metoda interpretacji rozpuszczalności została opracowana przez A. Vogel'a [19]. Do wykonania analizy wykorzystano popularne rozpuszczalniki takie jak: DMSO, acetonitryl, aceton, woda, octan etylu, izopropanol, metanol, chloroform, toluen oraz heksan.

Aktywność grzybobójcza

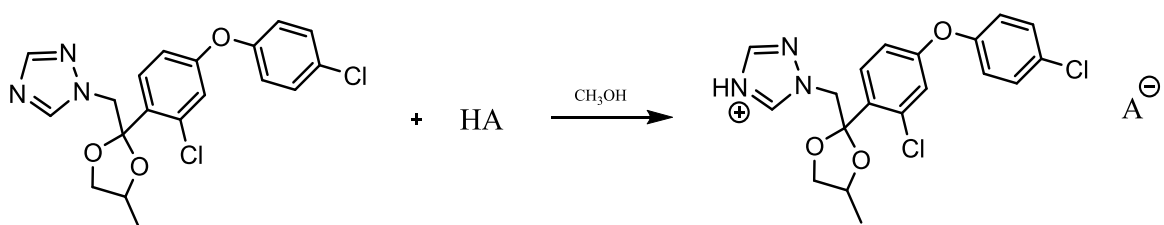
Badania aktywności grzybobójczej zostały wykonane w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu. Badane związki rozpuszczano w 4 cm³ 96%

alkoholu etylowego, a następnie dodawano do sterylnego podłoża (PDA – Potato Dextrose Agar, Difco™), podgrzanego do 50°C. Stężenie preparatów w podłożu ustalono na 10, 100 i 1000 ppm (kationu – odpowiedzialnego za działanie fungistatyczne oraz substancji aktywnej zawartej w środku porównawczym Tebu 250 EW). Płynne podłoże zawierające pochodne difenkonazolu wylano na płytki Petriego (Ø 50 mm). Krążki badanego grzyba o średnicy 4 mm wykładano na środek płytki. Na płytkach kontrolnych, grzyby rosły na pożywce z dodatkiem alkoholu etylowego. Badane preparaty porównywano do fungicydu Tebu 250 EW zawierającego tebukonazol jako substancję aktywną. Płytki inkubowano w temperaturze pokojowej około 21°C, aż grzybnia w kontroli osiągnęła brzeg płytki. Następnie mierzono średnicę grzybni odejmując od pomiaru początkową średnicę krążka z grzybem 4 mm. Dla każdego obiektu wykonano 3 powtórzenia. Rezultaty poddano analizie Student-Newman-Keuls wyznaczając istotną różnicę pomiędzy kontrolą, a próbami z dodatkiem preparatów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Synteza

Synteza polegała na reakcji protonowania atomu azotu w pierścieniu triazolowym difenkonazolu przy użyciu wybranych kwasów nieorganicznych i organicznych, takich jak kwas chlorowodorowy, kwas siarkowy(VI), kwas azotowy(V), kwas tetrafluoroborowy, kwas cytrynowy, salicylowy, winowy, szczawiowy oraz dichlorooctowy. Reakcje prowadzono w metanolu w temperaturze otoczenia. W żadnej z przeprowadzonych reakcji nie powstawał produkt uboczny, co znacznie ułatwiło proces wydzielania otrzymanych związków ze środowiska reakcji. Schemat syntezy zaprezentowano na rysunku 1.

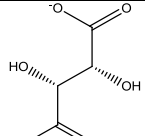
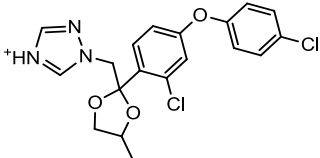
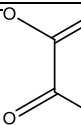
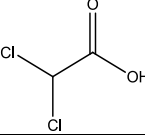
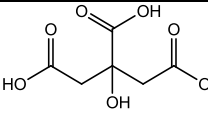


A: NO₃; Cl; HSO₄; H₂PO₄; BF₄; wodorowinian; salicylan; wodoroszczawian; dichlorooctan; diwodorocytrynian

Rys.1. Schemat syntezy soli difenkonazolu

W celu oczyszczenia produktów zawartość kolby po odparowaniu rozpuszczalnika prze-mywano trzykrotnie heksanem, a następnie otrzymane produkty suszono w suszarce pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 70°C przez 48 godzin. Otrzymane sole zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Protonowe sole difenokonazolu.

Lp	Sól	Kation	Anion	Wydajność reakcji	Temperatura topnienia [°]
1	[DFC][Cl]		Cl ⁻	92	127–130
2	[DFC][NO ₃]		NO ₃ ⁻	93	180–182
3	[DFC][HSO ₄]		HSO ₄ ⁻	90	157–159
4	[DFC][BF ₄]		BF ₄ ⁻	92	61–62
5	[DFC][WIN]			97	47–48
6	[DFC][SAL]			95	*
7	[DFC][SZCZ]			94	122–125
8	[DFC][DCA]			96	104–106
9	[DFC][CYT]			94	51–52

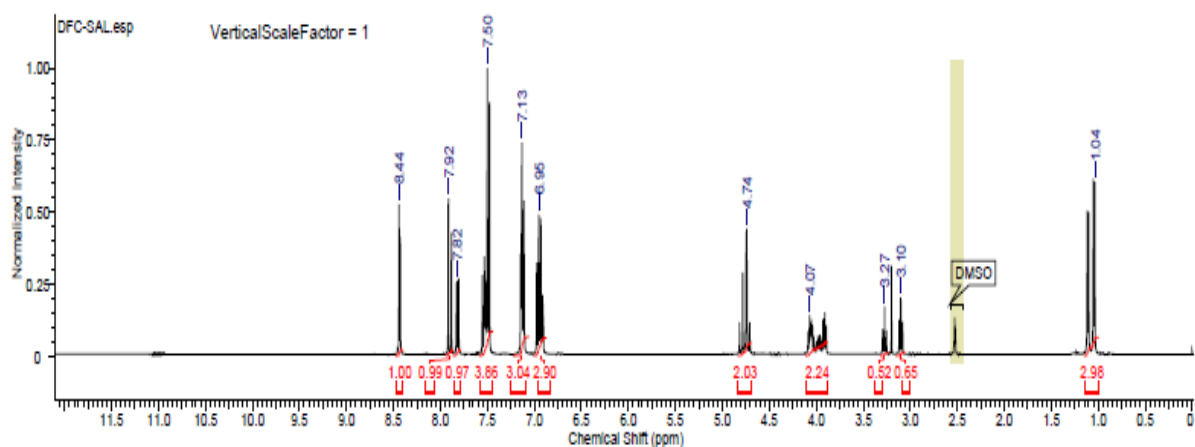
*ciecz w temperaturze pokojowej.

W wyniku przeprowadzonych reakcji otrzymano dziewięć nieopisanych dotąd w literaturze protonowych soli difenokonazolu z wybranymi anionami nieorganicznymi oraz organicznymi. Wydajności reakcji otrzymanych soli były wysokie i przekraczały 90% zatem zaproponowana metoda reakcji protonowania difenokonazolu w metanolu może być uznana za efektywną. Spośród dziewięciu otrzymanych związków cztery z nich można zaliczyć do cieczy jonowych, ponieważ charakteryzują się temperaturą topnienia poniżej 100°C. Są to: tetrafluoroboran difenokonazolu (4), winian difenokonazolu (5), salicylan difenokonazolu (6) oraz cytrynian difenokonazolu (9). Dodatkowo salicylan (6) można zaliczyć do niskotemperaturowych cieczy jonowych, ponieważ w temperaturze pokojowej jako jedyny jest cieczą.

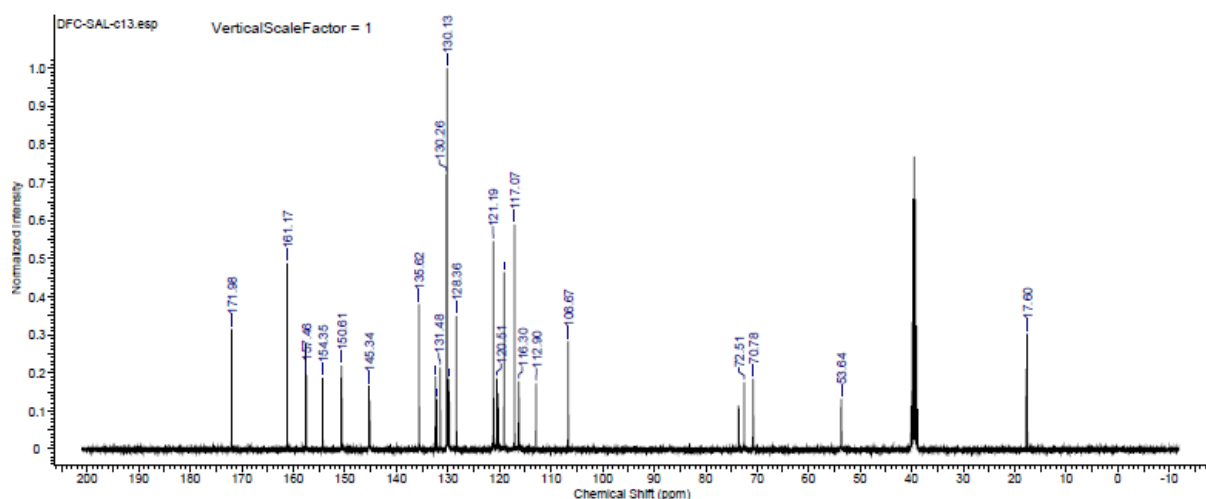
Analiza spektroskopowa

W celu potwierdzenia struktur otrzymanych związków przeprowadzono analizę widma protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego ¹H NMR oraz ¹³C NMR. Zaobserwowano przesunięcia chemiczne na widmach dla atomów wodoru i węgla znajdujących się w ugrupowaniu triazolowym, które powstały na skutek odsłaniania protonów i atomów węgla przez elektronowe chmury innych grup. Na przesunięcia wpływ ma gęstość krążących elektronów oraz indukcyjny efekt innych grup połączonych z danym atomem. Na rysunku 2 przedstawiono widmo ¹H NMR dla salicylanu difenokonazolu, które potwierdza

strukturę otrzymanego związku, natomiast rysunek 3 przedstawia widmo ^{13}C NMR tego związku.



Rys. 2. Widmo protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego salicylanu difenokonazolu



Rys. 3. Widmo węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego salicylanu difenokonazolu

Analogicznie wykonano widma ^1H NMR oraz ^{13}C NMR dla każdego związku, a zaobserwowane piki przyporządkowano poszczególnym atomom wodoru lub węgla.

[DFC][Cl] ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ [ppm] = 1,05 (dd, J = 5,98; 30,71Hz, 3H); 3,14 (dt, J = 7,52; 7,92Hz, 1H); 4,07 (m, 2H); 4,81 (m, 2H); 6,94 (m, 1H); 7,14 (m, 3H); 7,49 (m, 3H); 8,32 (d, J = 10,02Hz, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ [ppm] = 157,72; 154,31; 148,14; 144,63; 132,42; 131,80; 131,13; 130,19; 129,93; 128,40; 121,27; 120,55; 116,38; 106,39; 72,60; 70,80; 54,18; 17,69.

[DFC][NO $_3$]: ^1H NMR (400 MHz DMSO- d_6) δ [ppm] = 1,05 (dd, J = 6,02; 24,54Hz, 3H); 3,16 (dt, J = 7,53; 7,91Hz, 1H); 4,07 (m, 2H); 4,90 (m, 2H); 6,95 (td, 2,56; 5,56; 2,56Hz, 1H); 7,15 (m, 3H); 7,48 (m, 3H); 8,52 (m, 1H); 9,26 (m, 1H). ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ [ppm] =

157,86; 154,35; 147,25; 144,53; 132,51; 131,02; 130,24; 128,51; 121,35; 120,61; 116,45; 106,35; 72,69; 70,88; 54,45; 17,73.

[DFC][HSO₄]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,05 (dd, *J* = 6,04; 31,92Hz, 3H); 3,16 (m, 1H); 4,07 (m, 2H); 4,86 (m, 2H); 6,96 (m, 1H); 7,15 (m, 3H); 7,49 (m, 3H); 8,49 (d, *J* = 13,50Hz, 1H); 9,23 (s, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 157,75; 154,31; 147,20; 144,52; 132,51; 131,71; 131,02; 130,28; 130,06; 128,52; 121,39; 120,59; 116,46; 106,35; 72,72; 70,90; 54,46; 17,95

[DFC][BF₄]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,05 (dd, *J* = 6,02; 32,88Hz, 3H); 2,20 (s, 3H); 3,20 (m, 1H) 4,07 (m, 2H); 4,73 (m, 4H); 6,86 (m, 2H); 7,13 (m, 5H); 7,47 (m, 3H); 7,92 (d, *J* = 13,55Hz, 1H); 8,44 (d, *J* = 5,10 Hz, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 157,88; 154,34; 147,07; 144,41; 132,50; 131,69; 130,97; 130,24; 130,04; 128,52; 121,35; 120,36; 116,30; 106,33; 72,70; 70,88; 54,48; 17,74

[DFC][WIN]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,05 (dd, *J* = 6,02; 20,63Hz, 3H); 3,27 (m, 1H) 4,05 (m, 2H) 4,37 (s, 2H); 4,74 (m, 2H); 6,93 (td; *J* = 2,56; 2,56; 2,56Hz, 1H); 7,14 (m, 3H); 7,47 (m, 3H); 7,91 (d, *J* = 10,39Hz, 1H); 8,44 (d, *J* = 3,91 Hz, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 173,26; 172,16; 157,58; 154,43; 150,70; 145,44; 132,52; 131,57; 130,24; 129,94; 128,49; 121,30; 120,58; 116,23; 106,72; 73,69; 72,30; 70,89; 53,75; 17,71.

[DFC][SZCZ]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,03 (dd, *J* = 5,94; 20,41Hz, 3H); 3,27 (m, 1H) 4,06 (m, 2H) 4,74 (m, 2H); 6,93 (m, 1H); 7,14 (m, 3H); 7,47 (m, 3H); 7,91 (d, *J* = 10,13Hz, 1H); 8,44 (d, *J* = 4,05Hz, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 161,00; 157,62; 154,39; 150,62; 145,35; 132,44; 132,18; 131,52; 130,16; 129,87; 128,40; 121,22; 120,54; 116,17; 106,66; 72,54; 70,78; 53,69; 17,64

[DFC][DCA]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,05 (dd, *J* = 6,06; 26,85Hz, 3H); 3,27 (m, 1H) 4,05 (m, 2H) 4,73 (m, 2H); 6,69 (s, 1H); 6,90 (m, 1H); 7,13 (m, 3H); 7,47 (m, 3H); 7,90 (d, *J* = 13,34Hz, 1H); 8,43 (d, *J* = 5,32Hz, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 165,78; 157,47; 154,34; 150,58; 145,33; 132,42; 132,14; 131,48; 130,13; 129,84; 128,37; 121,21; 120,51; 116,31; 106,67; 72,57; 70,79; 65,82; 53,65; 17,81.

[DFC][CYT]: ¹H NMR (400 MHz DMSO-d₆) δ [ppm] = 1,04 (dd, *J* = 6,04; 27,51Hz, 3H); 2,70 (d, *J* = 5,34Hz, 2H); 2,77 (d, *J* = 15,34Hz, 2H); 3,27 (m, 1H); 4,05 (m, 2H); 4,73 (m, 2H); 6,92 (m, 1H); 7,13 (m, 3H); 7,48 (m, 3H); 7,90 (d, *J* = 13,80Hz); 8,43 (d, *J* = 5,46Hz, 1H). ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ [ppm] = 176,65; 171,39; 157,54; 154,41; 150,66; 145,41; 132,48; 132,21; 131,55; 130,21; 129,91; 128,44; 121,28; 120,57; 116,38; 106,73; 72,54; 70,85; 53,71; 48,68; 42,80; 17,89.

Badanie rozpuszczalności

Testy rozpuszczalności otrzymanych związków przeprowadzono w temperaturze pokojowej wykorzystując szereg dziewięciu popularnych rozpuszczalników, które uszeregowano w kolejności malejącej polarności według skali Snydera. Wyniki przeprowadzonej analizy zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Rozpuszczalność soli difenokonazolu

Lp	Sól	Woda	Metanol	DMSO	Acetonitryl	Aceton	Octan etylu	Izopropanol	Chloroform	Toluen	Heksan
1	[DFC][Cl]	–	+	+	–	–	+	+	±	–	–
2	[DFC][NO ₃]	–	+	+	+	+	+	+	±	–	–
3	[DFC][HSO ₄]	–	+	+	–	–	+	+	±	–	–
4	[DFC][BF ₄]	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–
5	[DFC][WIN]	–	+	+	+	+	+	±	+	–	–
6	[DFC][SAL]	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–
7	[DFC][SZCZ]	–	+	+	+	+	+	±	±	–	–
8	[DFC][DCA]	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–
9	[DFC][CYT]	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–

Według metodyki zaproponowanej przez Vogel'a analizowane związki nie są rozpuszczalne w wodzie oraz, co jest charakterystyczne dla wielu cieczy jonowych, w toluenie oraz heksanie. Związki z anionem nieorganicznym oraz organicznym wykazują dobrą rozpuszczalność w metanolu, DMSO oraz octanie etylu oraz charakteryzują się ograniczoną rozpuszczalnością w chloroformie oraz izopropanolu.

Aktywność grzybobójcza

Do przeprowadzenia badań aktywności grzybobójczej wytypowane zostały związki difenokonazolu z anionami organicznymi, które są cieczami jonowymi: cytrynian difenokonazolu, winian difenokonazolu oraz salicylan difenokonazolu. Wykonane doświadczenie mające na celu potwierdzenie aktywności fungicydowej otrzymanych związków przeprowadzono na następujących patogenach grzybowych: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum* oraz *Microdochium nivale* (kolekcja IOR-PIB). Wszystkie przebadane gatunki grzybów należą do gromady grzybów workowych, które są rozprzestrzenione na całym świecie. *Sclerotinia sclerotiorum* zaliczana jest do rodzaju twardzie, natomiast *Botrytis cinerea* do rodziny gronowców. *Sclerotinia sclerotiorum* występuje zarówno na roślinach uprawnych jak i dziko rosnących. Wywołuje chorobę o nazwie zgnilizna twardzikowata. Z kolei *Botrytis cinerea* to gatunek, który w 2012 r. znalazł się na 2. miejscu gatunków grzybów o największym znaczeniu w gospodarce człowieka [20]. Atakuje bardzo wiele gatunków roślin wywołując chorobę zwaną szarą pleśnią. *Fusarium culmorum* należący do rodziny gruzełkowatych występuje głównie w glebie, ale także w kompoście lub oborniku. Do najgroźniejszych chorób, które wywołuje można zaliczyć fuzariozę zbóż. Natomiast *Microdochium nivale* należący do rodziny *Phlogicylindriaceae* potrafi rozwijać się w niskich temperaturach i również wywołuje fuzariozę zbóż oraz choroby podsuszkowe. W tabeli 3 zestawiono wyniki przedstawiające wpływ badanych cieczy jonowych na wzrost grzybów patogenicznych. Rezultaty poddano analizie Student-Newman-Keuls wyznaczając istotną różnicę pomiędzy kontrolą, a próbami z dodatkiem preparatów. Wartości średnie mające ze sobą taką samą literę istotnie nie różnią się.

Tabela 3. Hamowanie wzrostu grzybni na wybranych cieczach jonowych difenokonazolu

Lp	Nazwa obiektu	Wzrost <i>S. sclerotiorum</i>			Wzrost <i>B. cinerea</i>			Wzrost <i>F. culmorum</i>			Wzrost <i>M. nivale</i>		
		10 ppm	100 ppm	1000 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
1	Kontrola	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a	4,60 ^a
5	[DFC][WIN]	0,00 ^d	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,31 ^d	0,17 ^c	0,33 ^b	0,00 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b
6	[DFC][SAL]	0,00 ^d	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,63 ^c	0,60 ^b	0,00 ^b	0,00 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b
9	[DFC][CYT]	2,37 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	1,25 ^b	0,23 ^c	0,50 ^c	0,63 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
10	TEBU 250 EC	0,77 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^e	0,00 ^d	0,00 ^b	0,07 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b
	NIR (P = 0,05)	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,30	0,48	0,05	0,00	0,00

Stopień zahamowania wzrostu grzybni zależał od zastosowanego preparatu, jego stężenia, jak również od gatunku grzyba. Dla grzybów *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea* i *Microdochium nivale* wszystkie badane ciecze wykazały 100% aktywność fungistatyczną w stężeniu 100 i 1000 ppm. Najmniej wrażliwy na badane ciecze jonowe okazał się grzyb *Fusarium culmorum* gdzie stwierdzono (niewielki) wzrost grzybni w stężeniach 10 ppm, 100 ppm, a w przypadku winianu (5) oraz cytrynianu difenokonazolu (9) również przy 1000 ppm. Najbardziej wrażliwy na badane ciecze jonowe okazał się grzyb *B. cinerea* – stężenie 10 ppm badanych związków w podłożu powodowało całkowite zahamowanie wzrostu. [DFC][WIN] (5) oraz [DFC][SAL] (6) w przypadku wzrostu *Sclerotinia sclerotiorum* oraz *Microdochium nivale* zadziałały z większą skutecznością niż dostępny na rynku preparat handlowy TEBU 250 EC zawierającego tebukonazol jako substancję aktywną. Istotnym staje się fakt, że wprowadzenie w strukturę anionu organicznego nie spowodowało zahamowania aktywności biologicznej wyjściowego związku jakim jest difenokonazol.

PODSUMOWANIE

W wyniku przeprowadzonych reakcji protonowania difenokonazolu wybranymi kwasami nieorganicznymi z grupy: kwas chlorowodorowy, kwas siarkowy(VI), kwas azotowy(V), kwas tetrafluoroborowy oraz kwasami organicznymi z grupy: kwas cytrynowy, salicylowy, winowy, szczawiowy oraz dichlorooctowy otrzymano z wysokimi wydajnościami dziewięć nowych soli difenokonazolu. Cztery spośród zsyntezowanych związków charakteryzują się temperaturami topnienia poniżej 100°C, są więc cieczami jonowymi. Struktury otrzymanych związków potwierdzono za pomocą widm protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego, na których można zauważyć sygnały pochodzące od ugrupowania triazolowego w strukturze kationu. Wszystkie otrzymane sole difenokonazolu rozpuszczają się w rozpuszczalnikach polarnych takich jak metanol oraz DMSO, z kolei są słabo rozpuszczalne w rozpuszczalnikach niepolarnych takich jak heksan czy toluen. Dla trzech otrzymanych cieczy jonowych difenokonazolu z anionem organicznym określono aktywność grzybobójczą. Przeprowadzone badania potwierdziły, że wprowadzenie w strukturę difenokonazolu anionu organicznego nie powoduje utraty właściwości biologicznych. Najskuteczniejsze w działaniu na patogeny *Sclerotinia sclerotiorum* i *Botrytis cinerea* okazały się ciecze jonowe z anionem

winianowym oraz salicylanowym, które w 100% zahamowały wzrost grzybni. Jedynie grzyb *Fusarium culmorum* okazał się być odpornym na działanie zaaplikowanych cieczy jonowych, ponieważ zauważono niewielki wzrost grzybni dla każdej cieczy jonowej w stężeniu 100 ppm. Uzyskane wyniki pozwalają na zakwalifikowanie otrzymanych związków do cieczy jonowych o działaniu grzybobójczym.

LITERATURA

- [1] Wassercheid P., Keim W. Ionic Liquids-New "Solutions" for Transition Metal Catalysis. *Ange Chem.* 39 (2000), 3772–3789.
- [2] Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K. Ionic liquids "in a nutshell" (history, properties and development). *CHEMIK*, 9 (2016), 471–480.
- [3] Hough W.L., Śmiglak M., Rodriguez H., Swatloski R.P., Spear S.K., Daly D.T., Pernak J., Grisel J. E., Carliss R.D., Soutullo M.D., Davis J.H., Rogers R.D. The third evolution of ionic liquids: active pharmaceutical ingredients. *New J. Chem.* 31 (2007), 1429–1436.
- [4] Praczyk T., Pernak J., Herbicidal Ionic Liquids, *Przem. Chem.* 92 (2013), 1660–1662.
- [5] Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T. Ionic Liquids with herbicidal anions, *Tetrahedron* 67 (2011), 4838–4844.
- [6] Praczyk T., Kardasz P., Jakubiak E., Syguda A., Materna K., Pernak J. Herbicidal Ionic Liquids with 2,4-D. *Wood. Sci.* 60 (2012), 189–192.
- [7] Praczyk T., Zakrocka K., Wyrzykowska D., Niemczak M., Pernak J., Ionic liquids based on 2-chloroethyltrimethylammonium chloride (CCC) as plant growth regulators, *Cent. Eur. J. Chem.* 11 (2013), 1816–1821.
- [8] Praczyk T., Skrzypczak G., Herbicydy. Poznań: Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne (2004).
- [9] Walkowiak W., Krzyśko-Łupicka T. New solutions in grain protection against fusariosis, *Progress in Plant Protection* 54 (2014), 127–134.
- [10] Delaney H., (Thesis), "Synthesis of the fungicide propiconazole a systemic foliar fungicide", Masters, 5 (2000).
- [11] Markiewicz B., rozprawa doktorska, "Tetraalkiloamoniowe i azoliowe ciecze jonowe", Politechnika Poznańska, (2014).
- [12] Hutson D., Miyamoto J. Fungicidal Activity Chemical and Biological Approaches to Plant Protection, Wiley series in agrochemicals and plant protection, 15 (1999).
- [13] Markiewicz B., Łęgosz B., Kordala-Markiewicz R., Walkiewicz F., Gwiazdowski R., Kubiak K., Praczyk T. Tebuconazole and propiconazole salts, *Przem. Chem.* 92 (2013), 1636–1639.
- [14] Pernak J., Markiewicz B., Łęgosz B., Walkiewicz F., Gwiazdowski R., Praczyk T. Known triazole fungicides – a new trick, *RSC Adv.* 5 (2015), 9696–9702.
- [15] Walkiewicz F., Materna K., Kropacz A., Michalczyk A., Gwiazdowski R., Praczyk, T., Pernak J. Multifunctional long-alkyl-chain quaternary ammonium azolate based ionic liquids, *New J. Chem.* 34 (2010), 2281–2289.
- [16] Pernak J., Markiewicz B., Zgoła-Grześkowiak A., Chrzanowski Ł., Gwiazdowski R., Marcinkowska K., Praczyk T. Ionic liquids with dual pesticidal function. *RSC Adv.*, 4 (2014), 39751–39754
- [17] Cunha Zied D., Santana Nunes J., Nicolini V.F., Gimenez A.P., Lee Rinker D., Souza Dias E. Tolerance to *Lecanicillium fungola* and yield of *Agaricus bisporus* strains used in Brazil, *Scientia Horticulturae*, 190 (2015) 117–122.
- [18] Eksteen D., Pretorius J.C., Nieuwoudt T.D., Zietsman P.C. Mycelial growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of South African plant species. *Ann. Appl. Biol.* 139 (2005), 243–249.
- [19] Vogel A.I., Furniss B.S. Preparatyka organiczna, WNT, Warszawa, (2006).
- [20] Dean R., Van Kan J.A., Pretorius Z.A. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology, *Mol. Plant Pathol.* 13 (2012), 414–30.

HERBICYDOWE CIECZE JONOWE ZAWIERAJĄCE GRUPĘ ESTROWĄ LUB AMIDOWĄ

HERBICIDAL IONIC LIQUIDS CONTAINING AN ESTER OR AMIDE GROUP

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej

Streszczenie. W niniejszej pracy opracowano metodę syntezy dwóch prekursorów w postaci czwartorzędowych soli amoniowych oraz sześciu nowych, herbicydowych cieczy jonowych. Strukturę zsyntezowanych związków potwierdzono za pomocą widm protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego. Określono również rozpuszczalność badanych związków oraz przeprowadzono badania aktywności herbicydowej otrzymanych cieczy jonowych w warunkach szklarniowych. Roślinami testowymi były: rzepak ozimy oraz chaber bławatek. Dwie ciecze jonowe mające anion 2-chloro-4-metylofenoksyoctowy wielokrotnie przewyższyły działaniem dostępne komercyjnie środki w przypadku rzepaku ozimego. Wobec chabra bławatka pięć z otrzymanych cieczy jonowych działało skuteczniej od preparatu komercyjnego.

Słowa kluczowe: herbicydowe ciecze jonowe, środki ochrony roślin, herbicydy.

Keywords: herbicidal ionic liquids, plant protection agents, herbicides.

WSTĘP

Rozwój współczesnej chemii przynosi ludziom realne korzyści i ułatwia codzienne życie. Od leków, poprzez tkaniny a na elektronice skończywszy. Rozwój chemii oraz nauk pokrewnych przyczynił się również do polepszenia wyników w sektorze uprawy roślin. Nawozy jak i środki ochrony roślin, przyczyniły się do znaczącego wzrostu produkcji żywności, która musi sprostać stale zwiększającemu się zapotrzebowaniu na zboża, rośliny okopowe, czy owoce. Dzięki selektywnym herbicydom oraz fungicydom możemy ochraniać uprawy przed chwastami i grzybami. Natomiast środki owadobójcze pozwalają zmniejszyć straty spowodowane obecnością szkodników. Coraz bardziej zastrzegające się przepisy forsowane przez ekologów stale zmniejszają liczbę dostępnych środków ochrony roślin. Wkracza idea syntezy nowych, proekologicznych związków stosowanych jako preparaty herbicydowe. W ostatnich latach znacząco wzrosło zainteresowanie syntezą cieczy jonowych, ze względu na ich szeroki zakres właściwości i możliwości aplikacyjne niemal w każdej dziedzinie chemii. Nowatorskim pomysłem są syntezy cieczy jonowych na bazie związków, które są aktualnie używane. Przykładem tej idei są związki zawierające jony o działaniu chwastobójczym, nazywane w literaturze herbicydowymi cieczami jonowymi.

Ciecze jonowe (z ang. ionic liquids, ILs) to sole o temperaturze topnienia znajdującej się poniżej punktu 100°C w warunkach normalnych [1] oraz złożone wyłącznie z jonów. Cieszą się one dużym zainteresowaniem, a główną przyczyną ich dynamicznego rozwoju jest fakt,

iż nadal odkrywane są ich nowe właściwości [1]. Ciecze jonowe składają się zazwyczaj z organicznego kationu (czwartorzędowy kation amoniowy, fosfoniowy, imidazoliowy czy sulfoniowy) oraz ze słabo koordynującego anionu (np. octan, heksafluorofosforan, tetrafluoroboran) [2]. Podstawniki w strukturze kationu mogą być prostymi łańcuchami alkilowymi lub aromatycznymi, jak i zawierać określone grupy funkcyjne albo chiralne atomy węgla [3]. Kluczową cechą cieczy jonowych jest niezwykła łatwość w modyfikowaniu właściwościami fizycznymi poprzez różnorodną kombinację anionów, kationów oraz ich podstawników [4]. W wyniku wielu ciekawych oraz zróżnicowanych właściwości ciecze jonowe znajdują swoje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Z powodu olbrzymiego zapotrzebowania przemysłu chemicznego na rozpuszczalniki, stale poszukuje się nowych, a zarazem skuteczniejszych zamienników. Rozpuszczalniki mają przede wszystkim łatwo rozpuszczać substraty, zapewniać dobre rozprzowanie ciepła oraz być jak najmniej szkodliwe dla środowiska. Temu wyzwaniu mogą sprostać ciecze jonowe, które są projektowanymi oraz ekologicznymi rozpuszczalnikami. Ciecze jonowe ze względu na swoje właściwości są klasyfikowane jako zielone rozpuszczalniki (z ang. *green solvents*). Nazwa ta ma podkreślać ich przyjazny środowisku charakter oraz właściwości [3, 5, 6]. Ze względu na swoje specyficzne właściwości ciecze jonowe są rozpatrywane w użyciu w procesach ekstrakcji i separacji gazowej [7]. Ciecze jonowe są także intensywnie badane pod kątem wykorzystywania ich jako środków ochrony roślin, a dokładniej jako herbicydy (herbicydowe ciecze jonowe) [8]

ILs z kationami posiadającymi ugrupowanie estrowe w swojej strukturze odznaczają się wyższą biodegradowalnością oraz niższą temperaturą topnienia, niż analogi pozbawione tej grupy. Umieszczenie grupy estrowej w strukturze kationu powoduje wzrost lepkości cieczy jonowej [9], zmniejsza się cytotoksyczność oraz znacząco polepsza aktywność biologiczna [10]. Stosowane są jako dodatki do organicznego polimeru poli(L-laktydu). Poprawiają jego plastyczność oraz nie wpływają na zdolność do biodegradacji [11]. Ciecze jonowe z kationami posiadającymi grupę amidową wykazują wysoką stabilność termiczną. Swoje właściwości zawdzięczają wolnej parze elektronowej na atomie azotu, a grupa amidowa wpływa dodatnio na oddziaływania wodorowe pomiędzy cząsteczkami cieczy jonowej. Dodatkowo wykazują lepsze właściwości grzybobójcze od ich alkilowych analogów. Badania dowiodły, że związki te posiadają wysoką skuteczność w procesie ekstrakcji tryptofanu [12]. Ciecze jonowe wykazują aktywność powierzchniową i są zdolne do tworzenia miceli. Mogą być modyfikowane poprzez umieszczanie w strukturze kationu amidowych grup funkcyjnych.

Herbicydy stanowią rodzaj pestycydów, których zadaniem jest eliminowanie niepożądanych roślin (chwastów) z pól uprawnych [13], dzięki czemu możliwe jest zapewnienie monokultury upraw roślinnych [14]. Ciągły wzrost produkcji tych związków zapewnia wysoką produkcję żywności [15]. Najczęściej stosowanym na świecie herbicydem jest glifosat. Związek ten wchodzi w skład preparatu Roundup sprzedawanego przez koncern Monsanto [16]. Herbicydy są najczęściej stosowanymi na świecie środkami ochrony roślin i stanowią 48% wszystkich zużywanych pestycydów [17]. Produkowanie nowych, silnie ukierunkowanych i specyficznych herbicydów, stosowanych w niskiej dawce jest koniecznością. Jednocześnie, wiele herbicydów może zostać wykluczonych z użytku w wyniku nabywania przez chwasty

odporności. Istotnym problemem jest występowanie tolerancji krzyżowej [13]. Powoduje to że rynek ciągle potrzebuje nowych herbicydów [15]. Ze względu na ich słabą rozpuszczalność w wodzie, herbicydy stosuje się głównie postaci soli potasowych lub sodowych, pierwszo-, drugo- lub trzeciorzędowych soli amonowych i estrów. Spośród tych form estry należą do najbardziej aktywnych [14]. Największą wadą herbicydów jest ich wysoka toksyczność oraz szkodliwość dla środowiska naturalnego. Ponadto, używane komercyjnie dodatki do gotowych produktów mogą wykazywać nawet większą toksyczność, niż stosowany herbicyd [17]. Do popularnych herbicydów należą między innymi: kwas 3,6-dichloro-2-metoksybenzoesowy (Dikamba), kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA) oraz kwas 3,6-dichloro-2-pirydynokarboksylowy (chloropyralid).

Herbicydowe ciecze jonowe (ang. herbicidal ionic liquids, HILs), definiowane są jako sole organiczne, w których skład wchodzi anion o działaniu herbicydowym. Sól charakteryzuje się temperaturą topnienia poniżej 100°C [18]. HILs należą do cieczy jonowych trzeciej generacji, czyli cieczy jonowych syntetyzowanych pod kątem właściwości biologicznych, o określonych właściwościach fizycznych oraz chemicznych [18]. Po raz pierwszy opublikowane zostały w 2011 roku [18]. Herbicydowe ciecze jonowe mogą być jednym z rozwiązań w przypadku problemów związanych z zanieczyszczaniem środowiska toksycznymi, komercyjnie dostępnymi herbicydami. HILs są znane również jako dwufunkcyjne związki, które oprócz właściwości herbicydowych, czy fungicydowych, mogą również działać jako regulatory wzrostu [19, 20]. Właściwości herbicydowe HILs zawdzięczają anionom zawartym w swojej strukturze. Jedną z ważniejszych cech herbicydowych cieczy jonowych jest ich niska prężność par w warunkach środowiska naturalnego. Ogranicza ona problem przemieszczania się herbicydu drogą powietrzną. Dotychczas syntetyzowane herbicydowe ciecze jonowe są stabilne termicznie, wykazują temperaturę rozpadu powyżej 200°C oraz pozwalają regulować ich rozpuszczalność w wodzie przez dobór odpowiedniego kationu. Mogą cechować się wysoką hydrofilowością, bądź też hydrofobowością jeśli w ich strukturze występują odpowiednio kationy o krótkich lub długich łańcuchach alkilowych [18].

METODOLOGIA BADAŃ

Synteza 2-chloro-N-dodecyloacetamidu oraz chlorooctanu dodecyłu

Do układu reakcyjnego składającego się z wkraplacza, mieszadła magnetycznego, łaźni wodnej z lodem oraz kolby okrągłodennej o pojemności 500 cm³ wprowadzano odpowiednią ilość dodecyloaminy lub dodekanolu rozpuszczonego w 200 cm³ dichlorometanu. Następnie dodawano za pomocą wkraplacza stechiometryczną ilość chlorku kwasu chlorooctowego rozpuszczonego w 50 cm³ dichlorometanu. Reakcję prowadzono przez 24 godziny w temperaturze otoczenia. Następnie mieszaninę reakcyjną zobojętniano przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 2 mol/dm³ oraz odparowano rozpuszczalnik. Powstały produkt przemywano mieszaniną metanolu i wody (w stosunku 1 : 9 V/V). Produkt suszono przez 24 godziny w suszarce próżniowej w temperaturze 60°C.

Synteza czwartorzędowych soli amoniowych

W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 cm³ umieszczano obliczoną ilość 2-chloro-N-dodecyloacetamidu lub chlorooctanu dodecyłu oraz 50 cm³ acetonitrylu. Następnie dodawano dimetylo(2-hydroksyetylo)aminę. Reakcję czwartorzędowania prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 80°C przez 72 godziny. Następnie rozpuszczalnik odparowywano na wyparce próżniowej, a otrzymane produkty oczyszczano poprzez krystalizację z acetonu. Otrzymane czwartorzędowe chlorki amoniowe suszono przez 24 godziny w suszarce próżniowej w temperaturze 60°C.

Otrzymywanie herbicydowych cieczy jonowych

W kolbie o pojemności 100 cm³ umieszczono odpowiednią ilość wyjściowego czwartorzędowego chlorku amoniowego i rozpuszczono go w 20 cm³ metanolu. Następnie dodano wcześniej otrzymany, odpowiedni roztwór soli potasowej pochodzącej od wybranego kwasu herbicydowego. Reakcję wymiany anionu prowadzono przez 30 minut w temperaturze otoczenia. Następnie całość przesączano w celu usunięcia osadu nieorganicznego, a rozpuszczalnik odparowywano na wyparce próżniowej. Produkty oczyszczano przez rozpuszczenie w acetonie w przypadku pochodnych z kationem zawierającym ugrupowanie amidowe lub w mieszaninie metanol-aceton w stosunku 1 : 9 (V/V) w przypadku związków z grupą estrową. Powstały osad usuwano, zaś rozpuszczalniki odparowywano na wyparce próżniowej. Produkty suszono w suszarce próżniowej przez 24 godziny w temperaturze 60°C.

Badanie rozpuszczalności

Badanie wykonano stosując metodę opisaną przez Vogel'a [21]. Do fiolek odważano 0,1 g każdego związku, a następnie dodano 1 cm³ odpowiedniego rozpuszczalnika. Jeśli po 1 minucie energicznego mieszania związek nie ulegał rozpuszczeniu, dodawano kolejne porcje rozpuszczalnika. Badanie prowadzono w temperaturze pokojowej. Użyto następujących rozpuszczalników: woda, metanol, DMSO, acetonitryl, aceton, alkohol izopropylowy, octan etylu, chloroform, toluen i heksan. Przyjęto następujące oznaczenia: **(+)** – dobrze rozpuszczalny, jeśli próbka uległa rozpuszczeniu po dodaniu 1 cm³ rozpuszczalnika, **(+/-)** – słabo rozpuszczalny, jeśli próbka uległa rozpuszczeniu po dodaniu 2 lub 3 cm³ rozpuszczalnika, **(-/-)** – nierozpuszczalny jeśli próbka nie uległa rozpuszczeniu po dodaniu 3 cm³.

Pomiar temperatury topnienia

Pomiaru dokonano przy użyciu urządzenia Büchi Melting Point B-540. Próbki ogrzewano z szybkością 10°C/min.

Aktywność chwastobójcza

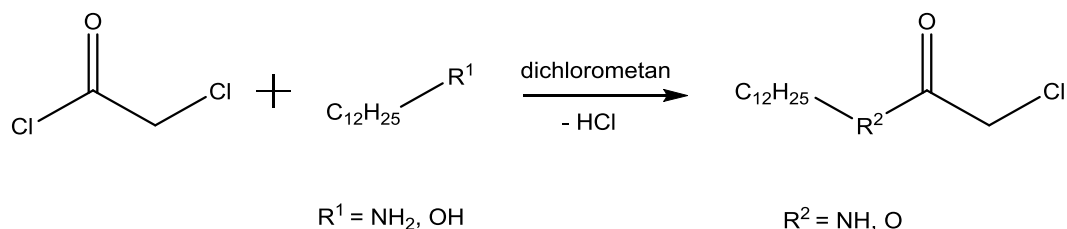
Aktywność biologiczna otrzymanych soli organicznych zawierających aniony herbicydowe została zbadana w Instytucie Ochrony Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym w Poznaniu. Roślinami testowymi były: rzepak ozimy oraz chaber bławatek. Nasiona wysia-

no w doniczkach wypełnionych glebą na taką samą głębokość – 1 cm. Po wzroście liści wykonano selekcję, pozostawiając w każdej doniczce po 4 rośliny. Opryski zostały zrobione nie wcześniej, niż po wytworzeniu przez rośliny 4 liści. Cieczami którymi dokonywano oprysków były roztwory badanych substancji w wodzie lub etanolu z wodą. Rozpylanie cieczy zostało przeprowadzone przy pomocy opryskiwacza kabinowego Tee Jet 1102, który poruszał się nad roślinami ze stałą prędkością 3,1 m/s. Odległość pomiędzy rozpylaczem, a roślinami wynosiła 40 cm, a ciśnienie oprysku cieczy wynosiło 0,2 MPa. Zużycie cieczy wynosiło 200 dm³ w przeliczeniu na 1 ha. Dawki otrzymanych soli organicznych przeliczono w odniesieniu do ilości herbicydu przypadającego na 1 ha. Dla kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA) dawka wynosiła 400 g, kwasu 3,6-dichloro-2-metoksybenzoowego (dikamba) 200 g, natomiast dla kwasu 3,6-dichloropikolinowego (chlorypyralid) wynosiła 100 g. Środkami porównawczymi, stosowanymi w czasie wykonywanego doświadczenia były zarejestrowane w Polsce preparaty komercyjne. Były to środki zawierające kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA) w postaci soli sodowo-potasowej (*Chwastox Extra 300 SL*), kwas 3,6-dichloro-2-metoksybenzoowy (dikamba) w postaci soli dimetyloaminowej (*Dikamba 700 SG*) oraz 3,6-dichloropikolinowy (chlorypyralid) w postaci soli monoetanoloaminowej (*Lontrel 300 SL*).

Po zakończonym oprysku, doniczki zostały umieszczone na 2 tygodnie w szklarni, w temperaturze 20°C (± 2°C) i wilgotności powietrza na poziomie 60%. Próbkę kontrolną stanowiły sadzonki z chabrem bławatkiem i rzepakiem ozimym, które nie były poddane zabiegowi oprysku, natomiast były opryskiwane jedynie mieszaniną wody i etanolu. Po upływie dwóch tygodni, rośliny ścięto przy gruncie, a następnie zważono. Masę określono z dokładnością do 0,1 g, dla każdej sadzonki roślin osobno. Test przeprowadzono czterokrotnie, w układzie losowym. Na podstawie zebranych pomiarów została obliczona redukcja świeżej masy chwastów (%) w odniesieniu do prób kontrolnych (tj. roślin niepryskanych roztworem badanej soli organicznej).

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Synteza



Rys.1. Schemat syntezy czynników czwartorzędowych

Syntezę 2-chloro-N-dodecyloacetamidu przedstawiono na rysunku 1. Jako rozpuszczalnik zastosowano dichlorometan, ponieważ dobrze rozpuszcza stosowane w reakcji substraty. W wyniku reakcji nastąpiło zmętnienie mieszaniny i wytrącenie się białej, gęstej zawiesiny.

Następnie mieszaninę poreakcyjną zobojętniono stosując wodny roztworu wodorotlenku sodu w celu usunięcia nadmiaru chlorku kwasu chlorooctowego oraz chlorowodoru powstałego w trakcie procesu. Roztwór dichlorometanu przemywano, aż do uzyskania odczynu obojętnego. Po wyodrębnieniu produktu, jego oczyszczeniu oraz wysuszeniu otrzymano związek w postaci żółtego ciała stałego.

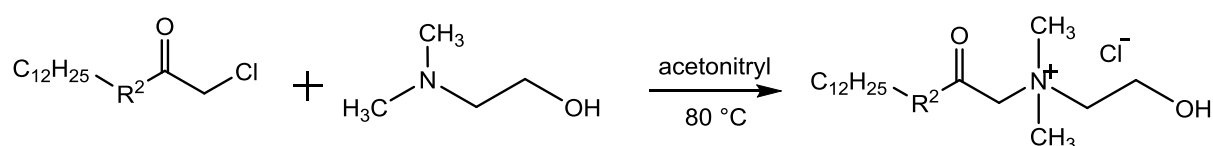
Syntezę chlorooctanu dodecyłu przeprowadzono w analogicznych warunkach jak syntezę 2-chloro-N-dodecyloacetamidu. Jednakże podczas reakcji nie zaobserwowano wytrącania się produktu z mieszaniny reakcyjnej. Ostatecznie otrzymano bezbarwną ciecz. Zestawienie otrzymanych czynników czwartorzędowych przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Zestawienie otrzymanych czynników czwartorzędowych

Lp	Związek	R ²	Wydajność reakcji [%]	Temperatura topnienia [°C]
1	2-chloro-N-dodecyloacetamid	NH	86	58–60
2	Chlorooctan dodecyłu	O	85	—*

*ciecz w temperaturze 25°C.

W celu otrzymania prekursorów cieczy jonowych zastosowano reakcję Menshutkina polegającą na czwartorzędowaniu dimetylo-(2-hydroksyetylo)aminy (deanol) odpowiednim czynnikiem czwartorzędowym. Ich rolę pełniły otrzymane wcześniej pochodne estrowe oraz amidowe kwasu chlorooctowego. Reakcję czwartorzędowania prowadzono pod chłodnicą zwrotną na mieszadle z możliwością kontrolowania temperatury procesu. Jako środowisko reakcji zastosowano acetonitryl, a proces czwartorzędowania prowadzono w temperaturze 80°C. Zastosowany 2-chloro-N-dodecyloacetamid ulegał stopniowemu rozpuszczaniu się w mieszaninie reakcyjnej wraz ze wzrostem temperatury. W czasie trwania reakcji roztwór miał formę klarownego roztworu o wyraźnej żółtej barwie. Po zakończeniu reakcji i ochłodzeniu układu nastąpiło wytrącenie się osadu. Produkt oczyszczano z nadmiaru trzeciorzędowej aminy oraz pozostałych zanieczyszczeń poprzez przemycie acetonem. Schemat reakcji przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Schemat otrzymywania prekursorów cieczy jonowych

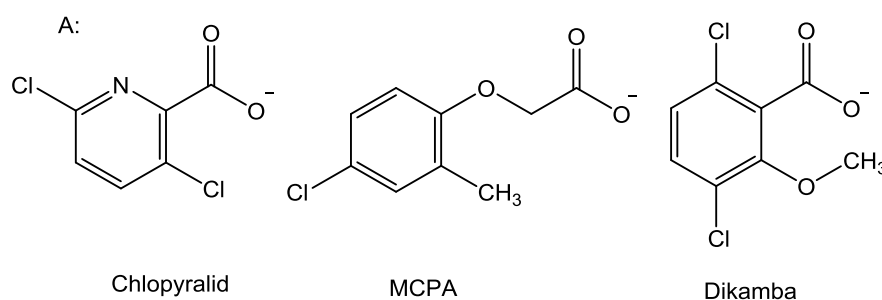
W przypadku syntezy czwartorzędowego chlorku amoniowego zawierającego w swojej strukturze grupę estrową zastosowano podobną procedurę, jak w reakcji otrzymywania pochodnej estrowej. Również zaobserwowano żółknięcie mieszaniny reakcyjnej wraz z przebiegiem procesu czwartorzędowania. Ponadto, już w czasie trwania syntezy wydzielał się osad produktu. Po oczyszczeniu acetonem otrzymano gotowy produkt.

Tabela 2. Zestawienie otrzymanych prekursorów herbicydowych cieczy jonowych

Lp	Związek	R ²	Wydajność reakcji [%]	Temperatura topnienia [°C]
1	Chlorek dodecylaminokarbonyloetylo-2-dimetylo-2-hydroksyetylo-amoniowy	NH	75	78–80
2	Chlorek dodecyloksykarbonyloetylo-2-dimetylo-2-hydroksyetylo-amoniowy	O	44	206–207*

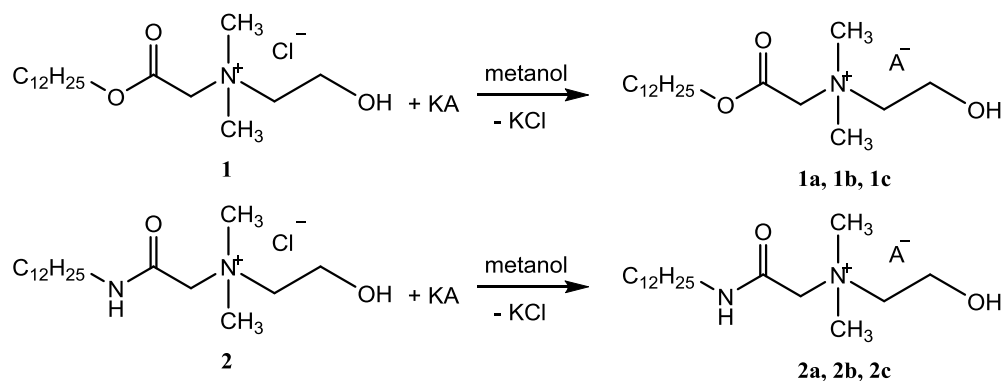
*temperatura rozkładu.

W celu otrzymania herbicydowych cieczy jonowych do syntezy wytypowano trzy herbicydy: chlopyralid, MCPA oraz dikambę, których struktury przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Wzory strukturalne zastosowanych anionów herbicydowych

W pierwszym etapie odpowiedni kwas rozpuszczony w metanolu zobojętniono przy pomocy równomolowej ilości wodorotlenku potasu rozpuszczonego w tym samym rozpuszczalniku. Następnie przeprowadzono reakcję wymiany pomiędzy solą potasową chlopyralidu (**a**), MCPA (**b**) oraz dikamby (**c**), a chlorkiem dodecyloksykarbonyloetylo-2-dimetylo-2-hydroksyetyloamoniowego (**1**) lub chlorkiem dodecylaminokarbonyloetylo-2-dimetylo-2-hydroksyetyloamoniowym (**2**). Schematy przedstawiono na rysunku 4.



Rys. 4. Schemat otrzymywania herbicydowych cieczy jonowych

Po zmieszaniu roztworu soli potasowej kwasu herbicydowego oraz czwartorzędowego chlorku amoniowego następowało szybkie wydzielanie się chlorku potasu, który odsączono. Po odparowaniu rozpuszczalnika związki oczyszczano z pozostałych ilości soli nieorganicznej poprzez rozpuszczenie w odpowiednim rozpuszczalniku. W przypadku soli **1a**, **1b**, **1c** zastosowano mieszaninę metanolu z acetonem (1:9 V/V), ze względu na niską rozpuszczal-

ność cieczy jonowych w czystym acetonie. Dla pozostałych związków (**2a**, **2b**, **2c**) stosowano czysty aceton.

W wyniku przeprowadzonych reakcji otrzymano trzy cieczy jonowe z grupą estrową, spośród których dwie były żółtymi (**1a**) lub bezbarwnymi (**1c**) cieczami o wysokiej gęstości oraz lepkości, a jedna żółtym ciałem stałym (**1b**). W przypadku soli z kationem o ugrupowaniu amidowym również otrzymano trzy związki. Były to cieczy o pomarańczowym zabarwieniu, które następnie uległy krystalizacji. W tabeli 3 zestawiono dane dotyczące otrzymanych soli.

Tabela 3. Zestawienie zsyntezowanych herbicydowych cieczy jonowych.

Związek	Anion	Wydajność reakcji [%]	Temperatura topnienia [°C]
1a	Chlopyralid	95	—*
1b	MCPA	94	94–96
1c	Dikamba	93	—*
2a	Chlopyralid	86	48–50
2b	MCPA	98	48–50
2c	Dikamba	94	59–61

*ciecz w temperaturze 25°C.

Wszystkie otrzymane związki okazały się być cieczami jonowymi, ponieważ charakteryzują się temperaturą topnienia poniżej 100°C. Związki otrzymano z wysoką wydajnością, która mieściła się w zakresie od 86% dla (**2a**) do 98% dla (**2b**).

Badanie rozpuszczalności

Testy rozpuszczalności otrzymanych związków przeprowadzono w temperaturze pokojowej wykorzystując szereg dziewięciu popularnych rozpuszczalników, które uszeregowano w kolejności malejącej polarności według wskaźnika Snydera. W tabeli 4 zestawiono rozpuszczalność zsyntezowanych cieczy jonowych.

Tabela 4. Rozpuszczalność herbicydowych cieczy jonowych

Związek	Woda	Metanol	DMSO	Acetonitryl	Aceton	Octan etylu	Izopropanol	Chloroform	Toluen	Heksan
1a	+/-	+	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
1b	-/-	+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
1c	+/-	+	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
2a	-/-	+	+/-	+/-	+	+/-	+	-/-	+	-/-
2b	+/-	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	-/-
2c	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+/-	-/-

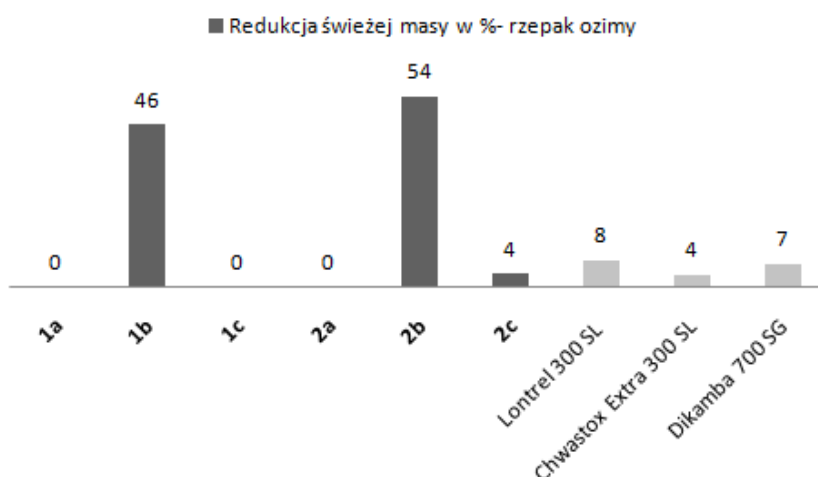
[+] – dobrze rozpuszczalny; [-/+] – słabo rozpuszczalny; [-/-] – nierozpuszczalny.

Wszystkie zsyntetyzowane ciecze jonowe cechowała dobra rozpuszczalność w metanolu oraz nierozpuszczalność w heksanie. Jedynie ciecz jonowa **1b** posiadająca ugrupowanie estrowe w strukturze była nierozpuszczalna w DMSO. Wśród otrzymanych związków zdecydowanie wyższa rozpuszczalność w większości rozpuszczalników, występowała dla cieczy jonowych zawierających ugrupowanie amidowe w strukturze kationu. Dodatkowo były rozpuszczalne nawet w silnie niepolarnym rozpuszczalniku jakim jest toluen. Spośród syntezowanych cieczy jonowych jedynie **1b** oraz **2a** były nierozpuszczalne w wodzie.

Aktywność chwastobójcza

Badania aktywności herbicydowej związków przeprowadzono zgodnie z metodyką zaproponowaną przez Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy w Poznaniu. Zbadano właściwości chwastobójcze otrzymanych cieczy jonowych w porównaniu do komercyjnie dostępnych środków zawierających kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (*Chwastox Extra 300 SL*), kwas 3,6-dichloro-2-metoksybenzoesowy (*Dikamba 700 SG*), oraz 3,6-dichloropikolinowy (*Lontrel 300 SL*). Roślinami testowymi był rzepak ozimy oraz chaber bławatek. Wszystkie związki zastosowano w postaci roztworów wodno-etanolowych. Określenie redukcji świeżej masy przeprowadzono po dwóch tygodniach od oprysku, poprzez różnicę masy roślin poddanych działaniu preparatów, a nieopryskanych prób kontrolnych.

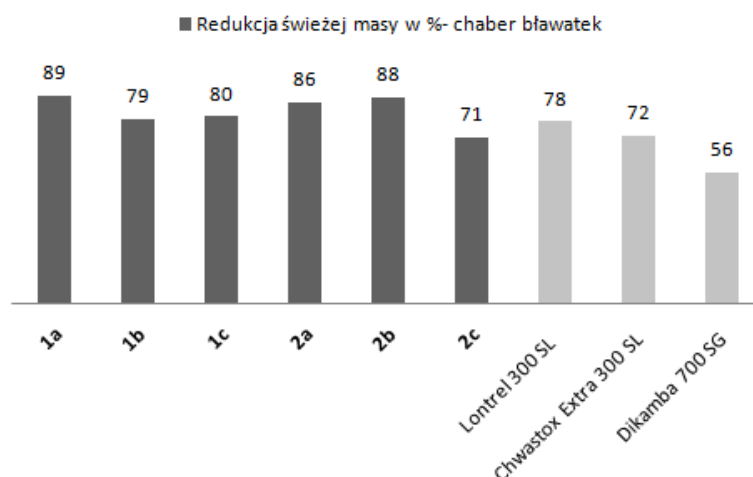
Aktywność chwastobójczą względem rzepaku ozimego wykazały 3 spośród zsyntezowanych związków **1b**, **2b** oraz **2c**. Brak właściwości chwastobójczych wykazały pozostałe ciecze jonowe tj. **1a**, **1c** i **2a**. Wyniki zaprezentowano na rysunku 7.



Rys. 7. Redukcja świeżej masy rzepaku ozimego

Zastosowane preparaty odniesienia nie spowodowały wysokiej redukcji masy, która wynosiła od 4 do 8%. Związki z anionem MCPA **1b** oraz **2b** odznaczały się skutecznością zdecydowanie wyższą do preparatu handlowego jakim jest *Chwastox Extra 300 SL*. Najsilniejsze działanie wykazał związek **2b**, którego skuteczność redukcji świeżej masy wyniosła 54%. Przeprowadzone badanie wskazuje, iż wprowadzenie anionu pochodzącego od kwasu her-

bicydowego do struktury cieczy jonowej może znacząco polepszyć aktywność chwastobójczą związku. Dodatkowo nieznacznie większą aktywnością herbicydową cechują się ciecze jonowe z kationem posiadającym ugrupowanie amidowe niż estrowe. Wysoką aktywność chwastobójczą względem chabra bławatka wykazały wszystkie zsyntezowane ciecze jonowe, co zaprezentowano na rysunku 8.



Rys. 8. Redukcja świeżej masy chabra bławatka

Ponadto otrzymane związki charakteryzowały się aktywnością herbicydową lepszą od komercyjnie dostępnych środków. Najskuteczniejszą herbicydową cieczą jonową był związek **1a**, który wykazał redukcję świeżej masy u chabra bławatka rzędu 89%. Najniższą aktywność posiadał związek **2c** zawierający anion dikamba oraz wykazujący dobrą rozpuszczalność w wodzie. Podobnie jak w przypadku badań przeprowadzonych na rzepaku ozimym, również ciecz jonowe z anionem MCPA i kationem zawierającym grupę amidową okazały się bardziej aktywne od cieczy jonowych z grupą estrową. Wysoka skuteczność działania w przypadku cieczy jonowych związana jest z ich aktywnością powierzchniową [22]. Parametry, takie jak niskie napięcie powierzchniowe oraz kąty zwilżania liścia przez roztwór cieczy jonowych wpływają bezpośrednio na właściwości biologiczne ze względu na lepsze wnikanie substancji aktywnej. Jednakże, wpływ aktywności powierzchniowej, a więc obecności długiego podstawnika alkilowego w strukturze kationu może być różny w zależności od zastosowanego anionu cieczy jonowej oraz badanej rośliny. Jest to szczególnie widoczne w przypadku związków **1b** oraz **2b**.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzono syntezę dwóch czynników czwartorzędowych, dwóch prekursorów cieczy jonowych oraz sześciu nowych czwartorzędowych soli amoniowych. Wydajności syntezy reakcji otrzymywania czwartorzędowych soli z anionem herbicydowym mieściła się w zakresie od 86 do 98%. Na podstawie stanu skupienia syntezowanych soli oraz wyznaczonej temperatury topnienia otrzymanych ciał stałych, związki można zakwalifikować do

cieczy jonowych. Wszystkie zsyntezowane ciecze jonowe były rozpuszczalne w metanolu, a żadna z nich nie rozpuszczała się w heksanie. Rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach uwarunkowana była rodzajem kationu. Aktywność chwastobójczą zsyntezowanych cieczy jonowych określono przeprowadzając badania szklarniowe, w których roślinami testowymi był rzepak ozimy oraz chaber bławatek. Ciecze jonowe zawierające anion MCPA skutecznie zwalczały samosiewy rzepaku ozimego. W przypadku chabra bławatka wszystkie zsyntezowane ciecze jonowe wykazywały porównywalną lub wyższą aktywność chwastobójczą, w porównaniu z preparatami handlowymi. Syntezowane ciecze jonowe stanowią nową grupę herbicydowych cieczy jonowych.

LITERATURA

- [1] Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K. Ionic liquids "in a nutshell" (history, properties and development). *CHEMIK*. 9 (2016), 471–480.
- [2] Dupont J. From Molten Salts to Ionic Liquids: A 'Nano' Journey, *Acc. Chem. Res.* 44 (2011) 1223–1231.
- [3] Cvjetko Bubalo M., Vidović S., Radojčić Redovniković I., Jokić S. Green solvents for green technologies, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 90 (2015), 1631–1639.
- [4] Brennecke J.F., Maginn E.J. Ionic liquids: Innovative fluids for chemical processing, *AIChE J.* 47 (2001), 2384–2389.
- [5] Rogers R.D., Seddon K.R. Ionic Liquids--Solvents of the Future?, *Science* 302 (2003).
- [6] Hallett J.P., Welton T. Room-Temperature Ionic Liquids: Solvents for Synthesis and Catalysis. *Chem. Rev.* 111 (2011), 3508–3576.
- [7] Zhao H., Innovative applications of ionic liquids as 'green' engineering liquids. *Chem. Eng. Commun.* (2006), 1660–1677.
- [8] Praczyk T., Pernak J. Herbicidal Ionic Liquids. *Przem. Chem.* 92 (2013), 1660–1662.
- [9] De Gaetano Y., Mohamadou A., Boudesocque S., Hubert J., Plantier-Royon R., Dupont L., Ionic liquids derived from esters of Glycine Betaine: Synthesis and characterization. *J. Mol. Liq.* 207 (2015), 60–66.
- [10] Chauhan V. Aggregation behavior of non-cytotoxic ester functionalized morpholinium based ionic liquids in aqueous media. *J. Colloid Interface Sci.* 446 (2015), 263–271.
- [11] Gui H., Li Y., Chen S., Xu P., Zheng B., Ding Y. Effects of biodegradable imidazolium-based ionic liquid with ester group on the structure and properties of PLLA. *Macromol. Res.* 22 (2014), 583–591.
- [12] Garcia M.T., Ribosa I., Perez L., Manresa A., Comelles F. Self-assembly and antimicrobial activity of long-chain amide-functionalized ionic liquids in aqueous solution. *Coll. Surf. B Bioint.* 123 (2014), 318–325.
- [13] Mahmood Q., Bilal M., Jan S. Chapter 17 – Herbicides, Pesticides, and Plant Tolerance: An Overview, *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance*, (2014), 423–448.
- [14] Piotrowska A., Syguda A., Chrzanowski Ł., Heipieper H.J. "Toxicity of synthetic herbicides containing 2,4-D and MCPA moieties towards *Pseudomonas putida* mt-2 and its response at the level of membrane fatty acid composition. *Chemosphere* 144 (2016), 107–112.
- [15] Dentzman K., Gunderson R., Jussaume R. Techno-optimism as a barrier to overcoming herbicide resistance: Comparing farmer perceptions of the future potential of herbicides. *J. Rural Stud.* 48 (2016), 22–32.
- [16] Gupta P.K. Chapter 24 – Herbicides and fungicides, *Biomarkers in Toxicology*, (2014), 409–431.
- [17] Pernak J. Herbicidal ionic liquids based on esterquats. *New J. Chem.* 39 (2015), 5715–5724.
- [18] Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T. Ionic Liquids with herbicidal anions. *Tetrahedron* 67 (2011), 4838–4844.
- [19] Praczyk T., Zakrocka K., Wyrzykowska D., Niemczak M., Pernak J., Ionic liquids based on 2-chloroethyltrimethylammonium chloride (CCC) as plant growth regulators. *Cent. Eur. J. Chem.* 11 (2013), 1816–1821.
- [20] Pernak J., Markiewicz B., Zgoła-Grześkowiak A., Chrzanowski Ł., Gwiazdowski R., Marcinkowska K., Praczyk T. Ionic liquids with dual pesticidal function. *RSC Adv.* 4 (2014), 39751–39754.
- [21] Vogel A.I., Furniss B.S. *Preparatyka organiczna*, WNT, Warszawa, (2006).
- [22] Kordala-Markiewicz R., Rodak H., Markiewicz B., Walkiewicz F., Sznajdrowska A., Materna K., Marcinkowska K., Praczyk T., Pernak J. Phenoxy herbicidal ammonium ionic liquids. *Tetrahedron* 70 (2014), 4784–4789.

Agnieszka FISZKA-BORZYSZKOWSKA, Patrycja WILCZEWSKA,
Aleksandra PIECZYŃSKA, Ewa Maria SIEDLECKA

WPŁYW SPOSOBU SYNTEZY MWCNTs-TiO₂ NA AKTYWNOŚĆ FOTOKATALITYCZNĄ OTRZYMANYCH NANOKOMPOZYTÓW

THE EFFECT OF MWCNTs-TiO₂ SYNTHESIS ON PHOTOCATALYTIC ACTIVITY RECEIVED NANOCOMPOSITES

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii

Streszczenie. W ramach badań otrzymano nowy rodzaj nanokompozytów ditlenku tytanu (TiO₂) modyfikowanego wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNTs) o wysokiej aktywności fotokatalitycznej: fenolu oraz cyklofosfamid (CF) z wód. Określono wpływ parametrów syntezy, takich jak: zawartość procentową MWCNTs w nanokompozycie, rozmiar MWCNTs i ilość grup funkcyjnych na ich powierzchni oraz rodzaj zastosowanego prekursora TiO₂, na ich efektywność w usuwaniu mikrozanieczyszczeń zawartych w fazie wodnej. Badania przeprowadzono przy użyciu średniociśnieniowej lampy rtęciowej o maksimum promieniowania elektromagnetycznego w zakresie nadfioletu A. Aktywność fotokatalityczną nanokompozytów oceniono na podstawie kinetyki rozkładu zanieczyszczenia modelowego – fenolu oraz przedstawiciela leków cytostatycznych – cyklofosfamid w fazie wodnej. Spreparowano katalizatory o zawartości domieszki w zakresie od 0 do 5% mas. Najlepszą efektywność degradacji zanieczyszczeń modelowych zaobserwowano dla kompozytu MWCNTs-TiO₂ o zawartości 2,5% MWCNTs. Następnie określono wpływ zastosowanego prekursora TiO₂ (*tert*-butanolan tytanu (IV) – TBOT oraz tetraizopropanolan tytanu (IV) – TTiP) oraz kwasu (HNO₃ i HCl) na właściwości fotokatalityczne MWCNTs-TiO₂. Wyższą aktywnością fotokatalityczną charakteryzowały się fotokatalizatory o 2,5% zawartości MWCNTs, gdy zastosowano do syntezy TBOT oraz kwas azotowy. W końcowym etapie badań określono wpływ rozmiaru i zawartości grup karboksylowych w MWCNTs na aktywność fotokatalityczną MWCNTs-TiO₂. Najlepszą aktywnością charakteryzowały się fotokatalizatory domieszkowane MWCNTs o małej średnicy zewnętrznej (8–15 nm) i większej długości (10–50 µm) oraz o zawartości grup karboksylowych 2,56%.

Słowa kluczowe: fotokataliza, ditlenek tytanu, wielościenne nanorurki węglowe, nanokompozyty.

Keywords: photocatalysis, titanium dioxide, multiwalled carbon nanotubes, nanocomposites.

WSTĘP

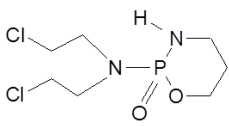
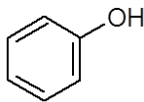
Fotokataliza jest zaawansowanym procesem utleniania wykorzystywanym do usuwania mikrozanieczyszczeń oraz drobnoustrojów chorobotwórczych [1]. Jest pomocna w obróbce końcowej wód zawierających niebezpieczne zanieczyszczenia w tym zanieczyszczenia trudno biodegradowalne i ma na celu zwiększenie ich podatności na rozkład biologiczny lub ich mineralizację [2]. Główną barierą dla szerokiego zastosowania fotokatalizy jest powolna kinetyka reakcji, która jest spowodowana niską aktywnością fotokatalityczną półprzewodników w obecności światła słonecznego. Jest to związane z absorpcją światła UV stanowiącego 3–5% światła słonecznego [3–5]. Aktualne badania koncentrują się na zwiększeniu kinetyki reakcji fotokatalitycznej oraz rozszerzeniu zakresu promieniowania, w którym półprzewodniki wykazują fotoaktywność w kierunku światła widzialnego [7]. Fotokatalizator powinien charak-

teryzować się wysoką wydajnością fotogenerowania par elektron-dziura (e^-/h^+) pod wpływem promieniowania słonecznego, fotostabilnością, zdolnością do adsorpcji zanieczyszczeń, niską ceną, a także niską toksycznością [8].

Najnowsze doniesienia literaturowe wskazują, że modyfikacja TiO_2 wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNTs) umożliwia spowolnienie procesu rekombinacji par e^-/h^+ oraz zwiększa ich aktywność w zakresie światła widzialnego [9–11]. Ponadto duża powierzchnia właściwa MWCNTs poprawia właściwości sorpcyjne takiego fotokatalizatora [12]. Efektywność degradacji zanieczyszczeń zależy od powierzchni, struktury i właściwości optycznych fotokatalizatorów [13]. Z tego powodu ważny jest wybór odpowiedniej metody syntezy nanokompozytu.

W przedstawionej pracy badanie aktywności fotokatalitycznej otrzymanych kompozytów MWCNTs- TiO_2 przeprowadzono w fazie wodnej pod wpływem promieniowania elektromagnetycznego o długości fal powyżej 350 nm wobec modelowych związków, którymi były fenol oraz cyklofosfamid (CF). Związki wybrane do badania aktywności fotokatalitycznej różnią się budową strukturalną oraz właściwościami fizykochemicznymi (tab. 1). Cyklofosfamid należy do związków heterocyklicznych, o niskiej wartości współczynnika podziału oktanol-woda ($lg-K_{ow}$) i absorpcji promieniowania poniżej 200 nm. Związek ten nie jest podatny na rozkład przez mikroorganizmy. Jest to lek cytostatyczny, powszechnie stosowanym w chemioterapii. W wyniku oporności na usuwanie w konwencjonalnych systemach oczyszczania wód i ścieków stanowi uciążliwe zanieczyszczenie. Wykrywa się go w różnych komponentach środowiska na poziomie stężeń sięgającym $\mu g/l$ [14–16]. Z kolei fenol to związek aromatyczny ulegający sorpcji na powierzchni katalizatora i absorbujący światło przy $\lambda_{max} = 272$ nm, czyli ulegający bezpośredniej fotolizie w zakresie UVB. Jest on powszechnie wykorzystywany do badania aktywności fotokatalizatorów.

Tabela 1. Właściwości fizykochemiczne wybranych związków

Związek chemiczny	Struktura	Masa molowa [g/mol]	Log Kow	UV max [nm]	pKa	Ref.
Cyklofosfamid (CF)		261	0,63	200	2,84	[14]
Fenol (PH)		94	1,46	272	9,95	[14]

MATERIAŁ I METODY

Odczynniki chemiczne

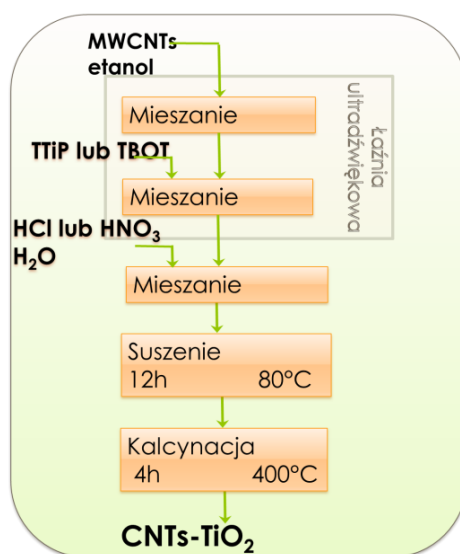
Do syntezy fotokatalizatorów wykorzystano: *tert*-butanolan tytanu(IV) –TBOT ($C_{16}H_{36}O_4Ti$) oraz tetraizopropanolan tytanu(IV) (TTIP) ($Ti[OCH(CH_3)_2]_4$) – Aldrich Chem.; kwas azotowy(V) (HNO_3) i kwas solny (HCl) o czystości analitycznej (POCh). Fenol był zakupiony w Chempur (Poland), a cyklofosfamid (CF) w Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Roz-

puszczalnik do analiz HPLC – acetonitryl – zakupiono w POCh. Woda dejonizowana użyta do eksperymentów posiadała przewodność poniżej 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Synteza fotokatalizatorów

Nanokompozyty MWCNTs-TiO₂ przygotowano metodą zol-żel w środowisku kwaśnym. Schemat otrzymywania nanokompozytu przedstawiono na rysunku 1. W pierwszym etapie syntezy określoną ilość nanorurek węglowych rozproszono w bezwodnym etanolu przy pomocy ultradźwięków. Następnie dodano prekursor TiO₂ i kwas w trakcie mieszania zawiesiny. Mieszanie poddano procesowi starzenia (pozostawiono w ciemności na kilka dni), wysuszono i kalcynowano tak jak to przedstawiono na rys. 1, aby uzyskać nanokompozyty MWCNTs-TiO₂. Syntezę prowadzono stosując następujące zmienne parametry:

- zawartość MWCNTs w otrzymywanych nanokompozytach wynosiła 0; 1; 2,5 i 5% wagowych,
- syntezyowano nanokompozyty z nanorurkami o różnej długości, średnicy zewnętrznej jak i zawartości grup karboksylowych na powierzchni materiału węglowego,
- jako prekursora TiO₂ stosowano TBOT lub TTPP,
- do syntezy stosowano kwas azotowy(V) lub solny.



Rys. 1. Schemat otrzymywania MWCNT-TiO₂

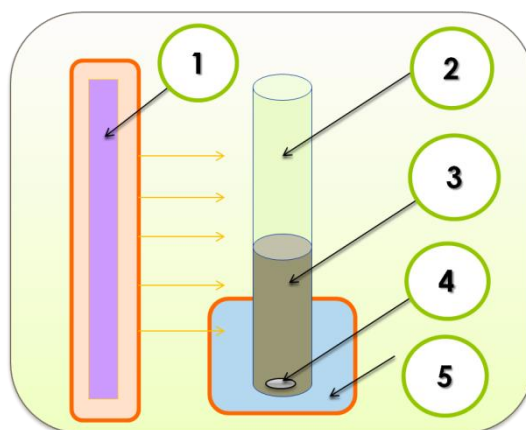
Badanie właściwości fizykochemicznych

Właściwości optyczne TiO₂ i nanokompozytów MWCNTs-TiO₂ określono za pomocą spektroskopii UV-Vis (spektrofotometr Shimadzu UV-2101PC). Jako odnośnik zastosowano siarczan(VI) baru. Rejestrowano widma w zakresie długości fali [λ] 250–750 nm.

Pomiar widm fotoluminescencji (PL) przeprowadzono na spektrofлуorymetrze (Perkin-Elmer Luminescence Spectrometer LS 50B). Próbkę wzbudzano światłem o długości fali $\lambda = 325$ nm. Pomiar widm zostały przeprowadzone w temperaturze pokojowej.

Badanie aktywności fotokatalitycznej

Eksperymenty fotokatalityczne przeprowadzono w reaktorze termostatowanym oraz wyposażonym w mieszadło magnetyczne (rys. 2). Źródło promieniowania stanowiła średniociśnieniowa lampa rtęciowa firmy Heraeus (150 W). Reaktor był wykonany ze szkła borokrzemowego odcinającego promieniowanie elektromagnetyczne o długości fali poniżej 350 nm. Aktywność fotokatalityczną otrzymanych materiałów (TiO_2 , MWCNTs- TiO_2) określono w reakcji fotokatalitycznego usuwania z wody modelowych związków organicznych. Dawka katalizatora we wszystkich eksperymentach wynosiła 0,5 g/l. Przed naświetlaniem mieszanina mikrozanieczyszczeń i katalizatora pozostawała w ciemności przez 0,5 h w celu ustalenia równowagi adsorpcyjno/desorpcyjnej. Następnie przygotowaną mieszaninę naświetlano przez 120 minut, pobierając w określonych odstępach czasowych próbki do analizy techniką HPLC (w przypadku CF) lub metodą kolorymetryczną (w przypadku fenolu). Przed oznaczeniem stężenia fenolu oraz CF próbkę pobranej mieszaniny poddano filtrowaniu przez filtry strzykawkowe firmy Chromafil o wielkości porów równej 0,20 μm .



Rys. 2. Układ do procesu fotokatalitycznego rozkładu zanieczyszczeń: 1 – źródło światła, średniociśnieniowa lampa rtęciowa 2 – fotoreaktor szkła borokrzemowego, 3 – badana mieszanina, 4 – mieszadło magnetyczne, 5 – system chłodzenia, $t = 10^\circ\text{C}$

Metody analityczne

Stężenie fenolu w roztworach oznaczano metodą kolorymetryczną w reakcji sprzęgania fenolu z dwuazową p-nitroaniliną. Dla otrzymanych barwnych kompleksów mierzono absorbancję na spektrofotometrze UV-Vis przy długości fali 480 nm. Stężenie CF oznaczono za pomocą HPLC z detektorem UV-Vis (Perkin Elmer Series 200) wyposażonego w kolumnę Phenomenex Kinetex C-18 (150 × 4.6 mm, 2.6 μm). Analizę wykonywano w następujących warunkach:

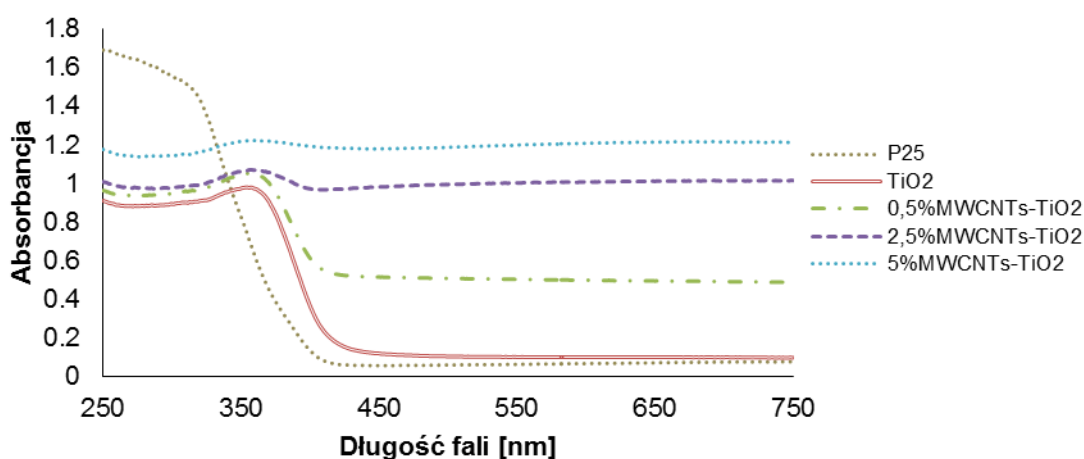
- stosunek ANC/ H_2O : 30/70,
- natężenie przepływu: 0,7 ml/min,
- objętość nastrzyku: 50 μL ,
- czas analizy: 10 minut,
- długość fali wykorzystywana do detekcji: 200 nm.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Wpływ ilości domieszki MWCNTs na aktywność optyczną MWCNTs/TiO₂

Kompozyty MWCNTs-TiO₂ o zawartości 0, 5, 2,5 i 5% mas. MWCNTs spreparowano metodą zol-żel używając do syntezy TBOT jako prekursora TiO₂. Do tych badań wykorzystano MWCNTs o następujących właściwościach: zawartość grup karboksylowych 2,56%, średnica wewnętrzna 8–15 nm i długość 10–50 μm .

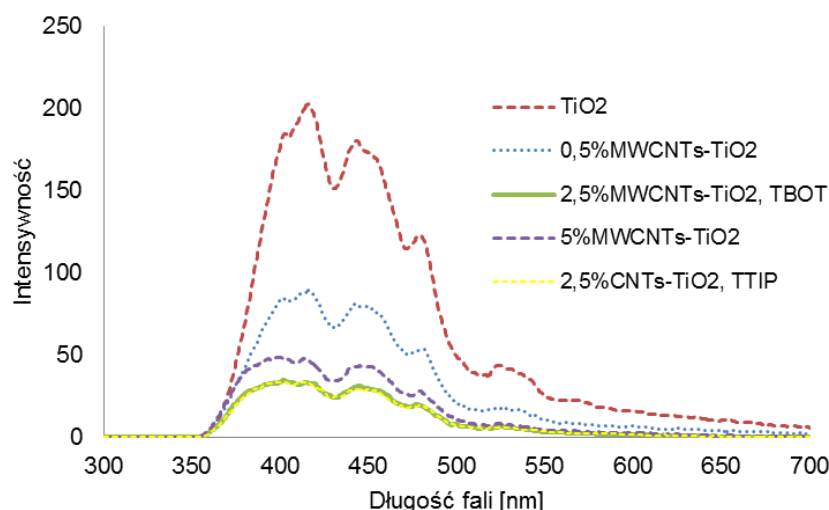
Na rysunku 3. przedstawiono wyniki badań absorpcji promieniowania UV-Vis otrzymanych katalizatorów oraz komercyjnego ditlenku tytanu Degussa P25. W zakresie fal o długości odpowiadającej promieniowaniu UV największą absorpcję wykazywał komercyjny fotokatalizator P25. Natomiast absorpcja promieniowania w zakresie fal elektromagnetycznych o długości powyżej 350 nm (UVB, UVA i Vis) przez spreparowane przez nas nanokompozyty MWCNTs-TiO₂, wraz ze wzrostem zawartości MWCNTs w kompozycie z 0,5 do 5% wzrastała.



Rys. 3. Widma absorpcyjne UV-Vis fotokatalizatorów MWCNTs-TiO₂ o różnej zawartości MWCNTs

W celu określenia zdolności separacji nośników ładunku e^-/h^+ w wyniku modyfikacji TiO₂ wielościennymi nanorurkami węglowymi wykonano pomiary fotoluminescencji (rys. 4). Intensywność fotoluminescencji była znacząco niższa dla wszystkich otrzymanych nanokompozytów MWCNTs-TiO₂ w porównaniu do niemodyfikowanego TiO₂. Najmniejsza intensywność fotoluminescencji została zaobserwowana dla kompozytu zawierającego 2,5% MWCNTs, których obecność zahamowała w najwyższym stopniu rekombinację nośników ładunku. Badania te potwierdzają, że modyfikacja TiO₂ MWCNTs daje dobre efekty w separacji fotowygenerowanych nośników ładunków, a tym samym wpływa na zdolność fotokatalityczną TiO₂.

Widma fotoluminescencji fotokatalizatorów 2,5% MWCNTs-TiO₂ z wykorzystaniem do syntezy różnych prekursorów TiO₂ (TBOT i TTIP) oraz kwasów nie różniły się intensywnością. Wskazuje to na brak zależności pomiędzy prekursorem TiO₂ użytym do syntezy, a właściwościami optycznymi otrzymanych nanokompozytów.

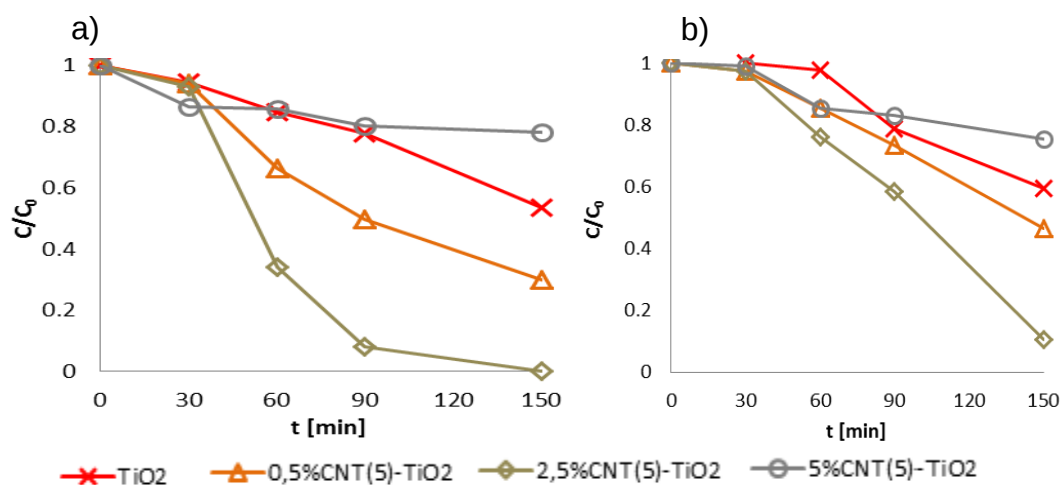


Rys. 4. Widma fotoluminescencyjne fotokatalizatorów MWCNTs-TiO₂ o różnej zawartości MWCNTs

Wpływ ilości domieszki MWCNTs na aktywność fotokatalityczną MWCNTs/TiO₂

Efektywność fotokatalitycznego utleniania fenolu i cyklofosfamidu w obecności spreparowanych nanokompozytów przedstawiono na rysunku 5. Tak jak wskazywały wyniki aktywności optycznej (rys. 4) wprowadzenie 0,5% MWCNTs do TiO₂ poprawiało znacząco aktywność fotokatalityczną. Najwyższą efektywność usuwania związków organicznych zaobserwowano w obecności nanokompozytu zawierającego w składzie 2,5% MWCNTs (rys. 5). Obecność 5% MWCNTs w nanokompozycie hamowała aktywność fotokatalizatora. Na podstawie uzyskanych wyników można wywnioskować, że aktywność kompozytów MWCNTs/TiO₂ jest większa z powodu wyższej zdolności do separacji fotogenerowanych ładunków e^-/h^+ od czystego ditlenku tytanu, w którym znacznie łatwiej zachodzi proces rekombinacji.

Zaobserwowano również, że wartość stałej szybkości rozkładu cyklofosfamidu k_{CF} dla 2,5% MWCNTs-TiO₂ katalizatora była ponad dwukrotnie wyższa niż wartość uzyskana dla związku modelowego, czyli fenolu (k wynosiły odpowiednio 0,0176 i 0,0082 min⁻¹ dla CF i PH).



Rys. 5. Wpływ zawartości MWCNTs na fotokatalityczną degradację a) CF; [CF] = 10 mg/L, b) fenolu; [PH] = 20 mg/L, w obecności kompozytów MWCNTs-TiO₂ [CNTs-TiO₂] = 0,5 g/L

Wpływ warunków syntezy zol-żel na aktywność fotokatalityczną MWCNTs/TiO₂

Badanie wpływu warunków syntezy nanokompozytu o najwyższej aktywności fotokatalitycznej przeprowadzono syntezując 2,5% MWCNTs-TiO₂ z zastosowaniem:

- dwóch najczęściej używanych prekursorów ditlenku tytanu w metodzie zol-żel: izopropanolanu tytanu (TTiP) oraz ortotytanianu tetrabutylu (TBOT);
- kwasu azotowego(V) lub kwasu solnego.

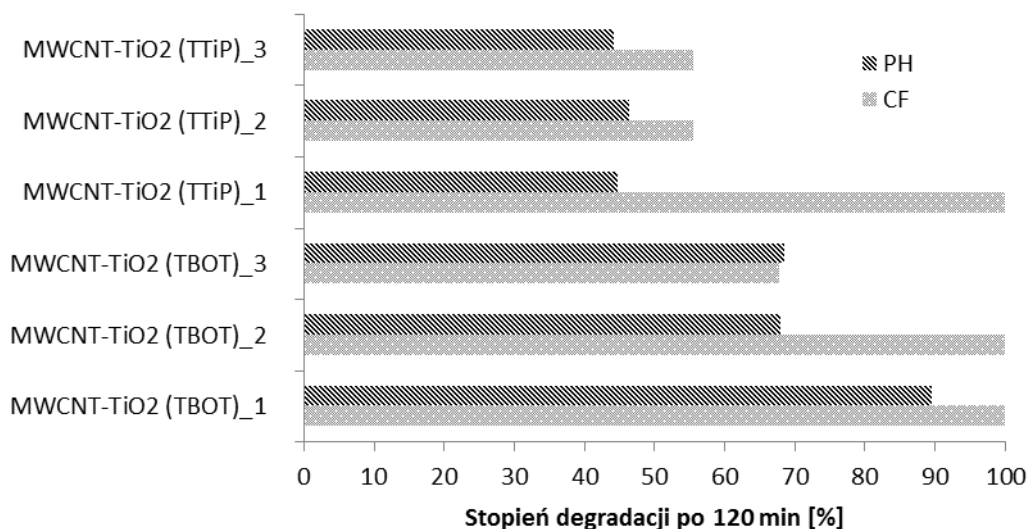
Określono stopień degradacji fenolu oraz CF po 2 godzinach fotokatalitycznego rozkładu w obecności tak otrzymanych nanokompozytów.

Zaobserwowano, że synteza 2,5%MWCNTs-TiO₂ wykorzystująca TBOT oraz kwas azotowy(V) pozwoliła na otrzymanie fotokatalizatorów o wyższej aktywności fotokatalitycznej w stosunku do obu związków modelowych niż synteza z zastosowaniem TTiP i HCl. Dodatkowo ustalono optymalną ilość kwasu azotowego(V), która powinna być używana do syntezy, aby tak otrzymany katalizator charakteryzował się najlepszymi właściwościami fotokatalitycznymi. Obecność kwasu wpływała na szybkość wytwarzania nanokompozytu w metodzie zol-żel. Optymalną dawką kwasu azotowego(V) okazało się 10% objętości mieszaniny reakcyjnej. Dla wszystkich otrzymanych fotokatalizatorów z wyjątkiem MWCNTs-TiO₂ (TBOT)₃ wyższą aktywność fotokatalityczną uzyskano w utlenianiu CF niż fenolu. W obecności MWCNTs-TiO₂ (TBOT)₃ efektywność usuwania obu związków była identyczna. Ponadto badania wykazały, że sposób przygotowania fotokatalizatora miał znacznie większy wpływ na efektywność utleniania fenolu niż leku. Fotokatalizatory MWCNTs-TiO₂ (TBOT)₁, MWCNTs-TiO₂ (TBOT)₂ i MWCNTs-TiO₂ (TTiP)₁ usunęły cyklofosfamid całkowicie w ciągu 120 min z roztworu, podczas gdy fenol był utleniany z różną skutecznością (rys 6).

Nasze wcześniejsze badania [5] wskazują na to, że obecność chlorków w katalizatorze jest niekorzystna, gdyż otrzymywany katalizator w obecności kwasu solnego może fotokorodować. Z tego powodu w przypadku syntez MWCNTs-TiO₂ w obecności kwasu solnego zastosowano dodatkowe płukania. W przypadku rozkładu fenolu dodatkowe płukania nie wpłynęły na aktywność fotokatalityczną, jednak podczas degradacji CF płukanie skutkowało spadkiem fotokatalitycznej aktywności katalizatora.

Tabela 2. Parametry otrzymywania fotokatalizatorów 2,5%MWCNTs-TiO₂

Fotokatalizator	Prekursor TiO ₂	Kwas	Inne czynniki	Objętość HNO ₃ Dodatkowe płukania
MWCNTs-TiO ₂ (TBOT) ₁	TBOT	HNO ₃	1 ml (10%)	
MWCNTs-TiO ₂ (TBOT) ₂			0,5 ml (5%)	
MWCNTs-TiO ₂ (TBOT) ₃			1,5 ml (15%)	
MWCNTs-TiO ₂ (TTiP) ₁	TTiP	HCl (1ml)	–	
MWCNTs-TiO ₂ (TTiP) ₂			Płukanie przed suszeniem	
MWCNTs-TiO ₂ (TTiP) ₃			Płukanie przed kalcynacją	



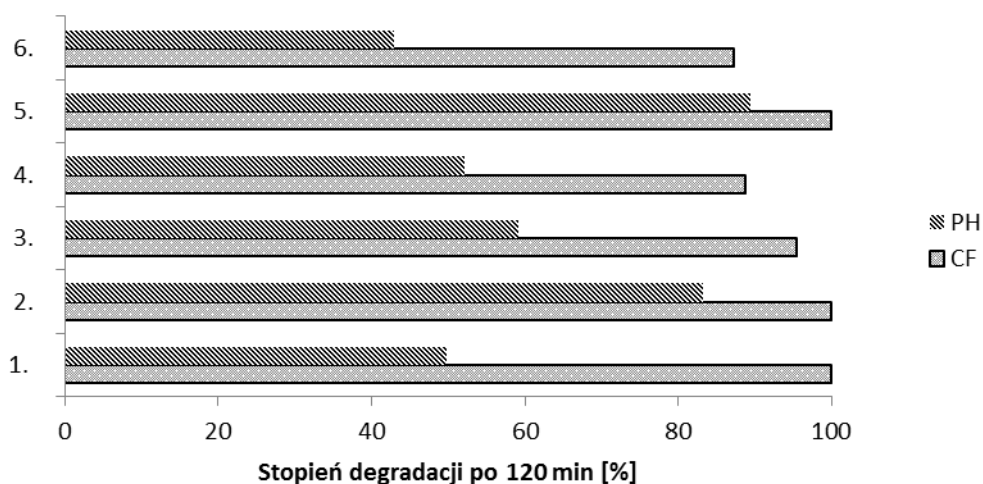
Rys. 6. Wpływ warunków syntezy na fotokatalityczną degradację mikrozanieczyszczeń [PH] = 20 mg/L, [CF] = 10 mg/L, [2,5%MWCNTs-TiO₂] = 0,5 g/L

Wpływ rodzaju nanorurek węglowych na aktywność fotokatalityczną MWCNTs/TiO₂

Fotokatalizatory 2,5%MWCNTs-TiO₂ otrzymano metodą zol-żel z wykorzystaniem różnego rodzaju nanorurek węglowych różniących się rozmiarem (średnica zewnętrzna: 8–15 lub >50 nm, długość: 10–20 lub 10–50 μm) oraz ilością grup karboksylowych (0–3,7 wt%) (tab. 3). Z przeprowadzonych badań wynika, że rodzaj MWCNTs wpływa na aktywność fotokatalityczną w większym stopniu podczas degradacji fenolu niż cyklofosfamidu. Efektywność rozkładu cyklofosfamidu w przeprowadzonych doświadczeniach wynosiła od 88 do 100%, natomiast efektywność rozkładu fenolu była niższa i kształtowała się na poziomie 43–90%. Najwyższą efektywność fotokatalitycznej degradacji zaobserwowano w obecności 2,5%MWCNTs(5)-TiO₂ (rys. 7), gdzie fotokatalizator zawierał względnie długie, o małej średnicy i zawierające 2,56% ilości grup karboksylowych MWCNTs.

Tabela 3. Parametry otrzymywania fotokatalizatorów 2,5%MWCNTs-TiO₂

Lp.	Średnica zewnętrzna [nm]	Długość [μm]	Zawartość grup funkcyjnych [wt%]
1.	8–15	10–50	–
2.	>50	10–20	–
3.	8–15	10–50	3,70
4.	>50	10–20	0,71
5.	8–15	10–50	2,56
6.	>50	10–20	0,49



Rys. 7. Wpływ rodzaju MWCNTs na efektywność fotokatalitycznej degradacji mikrozanieczyszczeń [PH] = 20 mg/L, [CF] = 10 mg/L, [2,5%MWCNTs-TiO₂] = 0,5 g/L

WNIOSKI

Modyfikacja ditlenku tytanu (TiO₂) wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNTs), pozwala na otrzymanie fotokatalizatorów o wyższej aktywności fotokatalitycznej od niemodyfikowanego TiO₂ w usuwaniu trudno biodegradowalnych mikrozanieczyszczeń takich jak cyklofosamid. Najlepsze rezultaty uzyskano w obecności nanokompozytu 2,5% MWCNTs-TiO₂. Aktywność tego fotokatalizatora zależała zarówno od średnicy zewnętrznej, długości, jak i ilości grup karboksylowych znajdujących się na powierzchni nanorurek węglowych. Najefektywniej CF usuwano w obecności fotokatalizatora modyfikowanego względnie długimi i o małej średnicy oraz względnie wysokiej zawartości (2,56%) grup karboksylowych na powierzchni MWCNTs. TBOT okazał się być lepszym prekursorem TiO₂ niż TTIP w syntezie w 10% kwasie azotowym(V) nanokompozytów MWCNTs/TiO₂.

LITERATURA

- [1] Di Paola A., García-López E., Marci G., Palmisano L. A survey of photocatalytic materials for environmental remediation. *J. Hazard. Mater.* 211–212 (2012), 3–29.
- [2] Serpone N., Emeline A.V. Semiconductor Photocatalysis – Past, Present, and Future Outlook. *J. Phys. Chem. Lett.* 3 (2012), 673–677.
- [3] Fujishima A., Zhang X. Titanium dioxide photocatalysis: present situation and future approach. *C. R. Chimie.* 9 (2006), 750–760.
- [4] Nakata K., Fujishima A. TiO₂ photocatalysis: Design and applications, *J. Photochem. Photobiol., C: Photochemistry Reviews*, 13 (2012), 169–189.
- [5] Fiszka Borzyszkowska A., Pieczyńska A., Ofiarska A., Nikiforow K., Stepnowski P., Siedlecka E.M. Bi-B-TiO₂-based photocatalytic decomposition of cytostatic drugs under simulated sunlight treatments. *Sep. Purif. Technol.* 169 (2016), 113–120.
- [6] Xiaolei Qu, Pedro Alvarez J.J., Qilin Li, Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. *Water Res.* 47 (2013), 3931–3946.
- [7] Chen J., Poon C. Photocatalytic construction and building materials: From fundamentals to applications. *Build. Environ.* 44 (2009), 1899–1906.
- [8] Mo J., Zhang Y., Xu Q., Lamson J., Zhao R. Photocatalytic purification of volatile organic compounds in indoor air: A literature review, *Atmos. Environ.* 43 (2009), 2229–2246.

- [9] Yen C.-Y., Lin Y.-F., Hung C.-H., Tseng Y.-H., Chi C., Chang M., Shao H., The effects of synthesis procedures on the morphology and photocatalytic activity of multi-walled carbon nanotubes/TiO₂ nanocomposites. *Nanotechnology* 19 (2008), 045604.
- [10] Lam S., Sin J., Zuhairi Abdullah A., Mohamed A. Photocatalytic TiO₂/Carbon Nanotube Nanocomposites for Environmental Applications: An Overview and Recent Developments. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures* 22 (2014), 471–509.
- [11] Guo M.Y., Liu F., Leung Y.H., Ching Ng A.M., Djuricic A.B., Chan W.K. TiO₂ carbon nanotube composites for visible photocatalysts - Influence of TiO₂ crystal structure. *Curr. App. Phys.* 13 (2013), 1280–1287.
- [12] Peng Z., Tang H., Yao K., Recyclable TiO₂/carbon nanotube sponge nanocomposites: Controllable synthesis, characterization and enhanced visible light photocatalytic property. *Ceram. Int.* 41 (2015), 363–368.
- [13] Jiang T., Zhang L., Ji M., Wang Q., Zhao Q., Fu X., Yin H. Carbon nanotubes/TiO₂ nanotubes composite photocatalysts for efficient degradation of methyl orange dye. *Particuology* 11 (2013), 737–742.
- [14] Zhang J., Chang V.C.W., Giannis A., Wang J.-Y. Removal of cytostatic drugs from aquatic environment: a review. *Sci. Total Environ.* 445–446 (2013), 281–298.
- [15] Ofiarska A., Pieczyńska A., Fiszka Borzyszkowska A., Stepnowski P., Siedlecka E.M. Pt–TiO₂-assisted photocatalytic degradation of the cytostatic drugs ifosfamide and cyclophosphamide under artificial sunlight, *Chem. Eng. J.* 285 (2016), 417–427.
- [16] Fabiańska A., Ofiarska A., Fiszka Borzyszkowska A., Stepnowski P., Siedlecka E.M. Electrodegradation of ifosfamide and cyclophosphamide at BDD electrode: Decomposition pathway and its kinetics, *Chem. Eng. J.* 276 (2015), 274–282.

UTLENIANIE LIMONENU NA KATALIZATORACH TYTANOWO-SILIKATOWYCH BEZ UDZIAŁU ROZPUSZCZALNIKA

LIMONENE OXIDATION OVER TITANIUM-SILICATE CATALYS WITHOUT SOLVENT PARTICIPATION

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

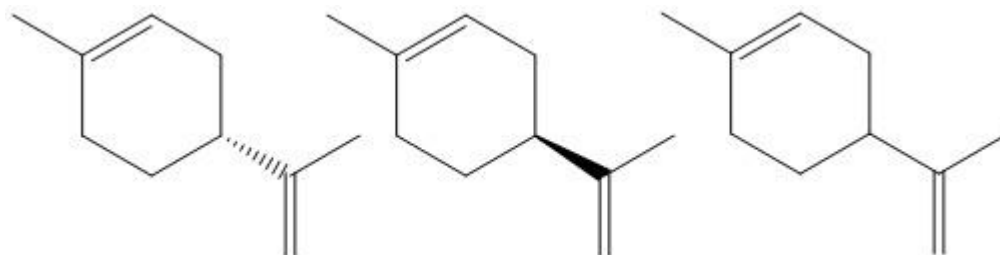
Streszczenie. W niniejszej pracy przedstawiono sposób utleniania limonenu na katalizatorach tytanowo-silikatowych bez udziału rozpuszczalnika. W procesie użyto katalizatorów takich jak TS-1, Ti-MCM-41, Ti-MWW, Ti-SBA-15. Jako utleniacz zastosowano wodorotlenek t-butyłu 5,5 M roztwór w dekanie. Limonen jest związkiem znajdującym szerokie zastosowania w różnych dziedzinach przemysłu. Stosuje się go w przemyśle kosmetycznym, używany jest jako przyjazny środowisku biodegradowalny rozpuszczalnik. Limonen ze względu na niską toksyczność w stosunku do ludzi oraz zwierząt, wykorzystywany jest jako insektycyd i repelent. Limonen stosowany jest także jako składnik kompozycji zapachowych stosowanych w kosmetykach, środkach czystości, napojach oraz w żywności. Podczas utleniania limonenu powstaje szereg substancji takich jak: alkohol perillowy, karwon, 1,2-epoksylimonen, karweol, które mają szereg zastosowań w medycynie jak i innych gałęziach przemysłu m.in. jako dodatki do żywności, komponenty zapachowe perfum oraz kosmetyków. Natomiast 1,2-epoksylimonen, który należy do oksiranów wykazuje bardzo wysoką reaktywność, dzięki czemu stosowany jest do syntezy bardziej złożonych struktur chemicznych leków.

Słowa kluczowe: limonen, TS-1, Ti-MCM-41, Ti-MWW, Ti-SBA-15, wodorotlenek t-butyłu.
Keywords: limonene, TS-1, Ti-MCM-41, Ti-MWW, Ti-SBA-15, tert butyl hydroperoxide.

WSTĘP

Limonen należy do monoterpenów. Monoterpenami nazywamy grupę związków organicznych posiadających właściwości zapachowe. Związki te w temperaturze pokojowej występują w postaci ciała stałego lub cieczy o intensywnym zapachu. Bardzo dobrze rozpuszczają się w wielu rozpuszczalnikach organicznych oraz tłuszczach, natomiast nie rozpuszczają się w wodzie. Są bardzo rozpowszechnione w świecie roślinnym, pozyskać je można z olejków eterycznych, żywic, soków, kłaczy, liści, łodyg, nasion lub owoców. Monoterpeny stosowane są jako rozpuszczalniki oraz substancje zapachowe. Limonen należy do cyklicznych monoterpenów (rys. 1). W związku z tym, że na 4. atomie węgla występuje centrum chiralności, limonen występuje w postaci dwóch enancjomerów R(+), S(–) oraz mieszaniny racemicznej – dipentenu. Citrus Aurantium Dulcis (Orange) Oil czyli olejek pomarańczowy pozyskiwany jest poprzez tłoczenie na zimno dojrzałej skórki słodkiej pomarańczy Citrus sinensis. Ma przyjemny aromat i łagodny smak. W głównej mierze składa się z R(+)-limonenu (97%), pozostałymi składnikami są cytral, aldehyd n-decyłowy, cytronelol, terpineol, ester metylowy

kwasy antranilowego i kumaryna. Olejek ten wykazuje działanie przeciwbakteryjne, działa również relaksująco i odprężająco na system nerwowy. Ze względu na dużą obecność monoterpenów, może również działać jako alergen kontaktowy [1]. Limonen jest bezbarwną oleistą cieczą o zapachu cytryny jego masa molowa wynosi 136,24 g/mol. Temperatura wrzenia limonenu wynosi 177–178°C, prężność par w temperaturze 50°C 300 hPa, a w temperaturze 20°C – 2,1 hPa, gęstość w temperaturze 20°C wynosi 0,84 g/cm³. Związek ten nie rozpuszcza się w wodzie.



Rys. 1. Enancjomery limnenu w kolejności R(+), S(-) oraz mieszanina racemiczna – dipenten

Na chwilę obecną głównym źródłem limonenu są pomarańcze. Limonen produkowany jest na skalę przemysłową w ilości około 73 000 ton rocznie jako produkt uboczny podczas procesu wyciskania soku z pomarańczy (podstawowe źródło to odpadowe skórki pomarańczy). Ilość olejku w samych owocach pomarańczy jest niewielka i wynosi od 0,25 do 0,5%. Zależy ona od odmiany, dojrzałości oraz od klimatu w jakim uprawiane były owoce. Podczas wyciskania soku z miąższu pomarańczy, powstaje również niewielka ilość olejku pomarańczowego. Olejek ten jest separowany od soku w celu poprawienia czystości soku.

Głównym surowcem do produkcji limonenu jest jednak olejek pomarańczowy pozyskiwany z odpadowych skórek pomarańczy w procesie destylacji prostej lub destylacji z parą wodną. Skórki, z których pozyskano olejek, następnie przetwarzane są na pasze dla zwierząt.

Do celów laboratoryjnych pozyskuje się olejki eteryczne, w tym olejek pomarańczowy, stosując destylację z parą wodną rozdrobnionych skórek pomarańczy, ekstrakcję rozpuszczalnikami lub tłuszczami. Najbardziej wydajnym i najprostszym sposobem jest jednak destylacja z parą wodną. Pierwszym etapem procesu destylacji z parą wodną jest oddzielenie skórki od jej białych części i następnie ich rozdrobnienie. Kolejnym etapem jest destylacja z parą wodną.

Po destylacji otrzymuje się dwie warstwy, warstwę wodną oraz lżejszą, nierozpuszczalną w wodzie, warstwę olejku. Metoda ta jest zasadna tylko wtedy, gdy substancja zapachowa otrzymywana nie jest wrażliwa na działanie wysokiej temperatury oraz działanie pary wodnej. Ponieważ zapach substancji w trakcie otrzymywania olejku przy użyciu tej metody może ulegać zmianie, dlatego jeśli zmiana zapachu jest niepożądana to metoda ta będzie nieodpowiednia.

Monoterpeny, a w szczególności limonen oraz alkohol perillowy, który jest jednym z produktów utleniania limonenu – spełniają funkcję zarówno czynników chroniących przed rozwojem raka, jak i substancji stosowanych podczas terapii antynowotworowej. Wykazano, że

limonen oraz alkohol perillowy znacznie zmniejszają rozwój wielu typów nowotworów, w tym raka skóry, sutka, płuc, wątroby, okrężnicy, trzustki oraz prostaty [2–5].

Katalizator tytanowo silikalitowy TS-1 ma strukturę oznaczaną w atlasach struktur krystalicznych jako MFI, charakteryzującą się trójwymiarowym układem kanałów (układ liniowo-zygzakowy) o średnicy $0,53 \times 0,56$ nm. Okna wejściowe ogranicza 10 krawędzi. Kryształy tego katalizatora mają wielkość $0,1\text{--}1,0$ μm w zależności od warunków krystalizacji, krystalizują w układzie ortorombowym. Badania wykazały, że kryształy mniejsze niż $0,3$ μm są najbardziej aktywne, a w przypadku większych kryształów występowały ograniczenia w dyfuzji cząsteczek organicznych do porów. Tytan wbudowany w strukturę krystaliczną krzemionki stanowi centrum aktywne katalizatora. Ilość tytanu włączonego do struktury jest ograniczona do około 2,5%. Powyżej tej wartości zależność aktywności katalizatora od zawartości tytanu wykazuje tendencję malejącą [6].

Materiały typu MCM-41 charakteryzują się dużą powierzchnią właściwą ($800\text{--}1600$ m^2/g) a od zeolitów różnią się tym, że ściany ich kanałów mają charakter amorficzny. Struktura MCM-41 przypomina plaster miodu i składa się z heksagonalnych jednowymiarowych kanałów (porów) o średnicy regulowanej przez dobór odpowiedniego templaty. Templatami mogą być chlorki lub bromki alkilotrimetyloamoniowe, których łańcuch alkilowy zawiera od 12 do 20 atomów węgla. Średnica tych porów może wynosić nawet 10 nm. Struktury ciekłokrystalicznych materiałów najczęściej syntezuje się stosując bromek lub chlorek heksadecylotrimetyloamoniowy [7].

W zależności od warunków syntezy i składu żelu otrzymuje się produkt o różnej wielkości i kształcie cząstek. Najnowsze metody syntezy MCM-41 pozwalają otrzymać produkt przez proste wytrącenie go z mieszaniny syntezowej [8]. Do struktury MCM-41 można wprowadzać inne pierwiastki, jak np. tytan. Katalizator Ti-MCM-41 stosowano m.in. do utleniania związków o długim rozgałęzionym lub cyklicznym łańcuchu, hydroksylacji związków aromatycznych o pierścieniach skondensowanych. Wykorzystywano go również jako nośnik innych metali, np. złota, platyny, palladu, tlenków metali czy związków metaloorganicznych [7].

Materiał typu SBA-15 należy do grupy uporządkowanych materiałów mezoporowatych. Otrzymano również tytanosilikat o tej strukturze – Ti-SBA-15. SBA-15 otrzymuje się przy użyciu biodegradowalnego polimeru jako templaty. Materiał ten ma większy rozmiar porów oraz grubsze ściany porów oraz większą stabilność termiczną w porównaniu do MCM-41. Dodatkowym atutem tego materiału jest to, że mezopory w tym materiale połączone są ze sobą za pomocą mikroporów, co sprawia, że występuje perspektywiczne zastosowanie tego materiału w reakcjach katalitycznych jak również w procesach epoksydacji [7].

Ti-MWW posiada unikalną strukturę porów, ponieważ ma dwa niezależne systemy porów: jeden składa się z 10-członowych pierścieni tworzących sinusoidalne kanały, drugi natomiast 12-członowe pierścienie ograniczające tzw. superklatki. Oba systemy są ograniczone porami o średnicy około $4,0 \times 5,5$ Å. Zewnętrzne zagłębienia oraz wewnątrzkrystaliczne superklatki tworzą unikalny system kanałów oraz dostarczają sporej przestrzeni reakcyjnej. [13] Ti-MWW ze względu na swoją wyjątkową budowę może znaleźć wiele zastosowań w syntezie petrochemikaliów, procesach hydroksylacji oraz w procesach utleniania a zwłaszcza w epoksydacji [8–9].

Epoksydacja limonenu do 1,2-epoksylimonenu nie jest procesem prostym, ponieważ wymaga doboru odpowiednich parametrów reakcji, jakimi są dobór katalizatora, temperatury, utleniacza aby ograniczyć ilość powstających produktów ubocznych. Oprócz produktu głównego, jakim jest 1,2-epoksylimonen, powstaje w tym procesie: diol 1,2-epoksylimonenu, 8,9-epoksylimonen i jego diol, diepoksyd, diol diepoksydu, karweol oraz karwon, alkohol perillowy. Jednym z kierunków rozwoju współczesnej technologii organicznej może być, zastąpienie ropy naftowej odnawialnym, tanim i ekologicznym źródłem związków organicznych którym może być biomasa.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA I WYNIKI

Synteza katalizatorów tytanowo-silikatowych

Syntezę katalizatora TS-1 przeprowadzono metodą Thangraja i współpracowników [11]. Mieszaninę o-krzemianu tetraetylu ($\text{Si}(\text{OEt})_4$), bezwodnego alkoholu izopropylowego i wody umieszczono w reaktorze szklanym. Podczas intensywnego mieszania wkraplano przez godzinę 20% roztwór wodny wodorotlenku tetrapropyloamoniowego (TPAOH). W tych warunkach w pokojowej temperaturze zachodziła częściowa hydroliza $\text{Si}(\text{OEt})_4$. Następnie bardzo wolno podczas intensywnego mieszania dodawano roztwór o-tytanianu tetrabutylu ($\text{Ti}(\text{OEt})_4$) w bezwodnym alkoholu izopropylowym. Otrzymaną klarowną ciecz mieszano przez godzinę po podwyższeniu temperatury do 57°C , następnie do roztworu dodano ponownie 20% roztwór wodny TPAOH w celu całkowitej hydrolizy $\text{Si}(\text{OEt})_4$. Mieszaninę ogrzewano do 80°C intensywnie mieszając, utrzymywano w tej temperaturze przez 6 h. Klarowny żel krystalizacyjny przenoszono do autoklawu firmy Berghof HR200 w celu hydrotermalnej obróbki, którą prowadzono w temperaturze 170°C , pod ciśnieniem autogenicznym 1,4–1,6 MPa, przez 10 dni. Otrzymane kryształy odfiltrowano, przemyto kilkakrotnie wodą dejonizowaną i suszono przez 8 h w temperaturze 120°C . Po wysuszeniu prowadzono kalcynację otrzymanego produktu przez 16 h w temperaturze 550°C . Zsyntezowany katalizator przemywano 10% roztworem wodnym octanu amonu przez 8 h w temperaturze $80\text{--}90^\circ\text{C}$ w celu aktywacji i ponownie kalcynowano przez 16 h w temperaturze 550°C [7].

Synteza katalizatora Ti-MCM-41. Katalizator Ti-MCM-41 otrzymano zmodyfikowaną metodą opublikowaną przez Gruna i współpracowników [10]. Metoda ta polega na rozpuszczeniu bromku heksadecylotrimetyloamoniowego w wodzie dejonizowanej z dodatkiem 25% wodnego roztworu amoniaku. Po dodaniu absolutnego etanolu roztwór mieszano 15 min i wprowadzano kolejno o-tytanian tetrabutylu $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ i o-krzemian tetra etylu $\text{Si}(\text{OEt})_4$. Po 2 h mieszania odsączano biały osad, przemywano wodą dejonizowaną i metanolem, suszono, a następnie kalcynowano w 550°C przez 5 h [7].

Katalizator Ti-SBA-15 syntezowano metodą Berube [10]. Pluronic rozpuszczano w wodzie dejonizowanej z dodatkiem 37% kwasu solnego w temperaturze 35°C , następnie dodawano TEOH (tetrahydroksilikalit) i TiPOT (tatraizopropyl ortotytanianu, nośnik tytanu) mieszano przez 24 h w danej temperaturze. Następnie mieszaninę reakcyjną przemywano wodą dejonizowaną przez 24 h w celu kondensacji. Gotowy katalizator uzyskano przez filtrację a na-

stępnie suszenie w 100°C przez 24 h. Aby usunąć templaty katalizator poddawano kalcynacji w temperaturze 550°C przez 3 h [13].

Sposób syntezy Ti-MWW został przedstawiony przez Tatsumiego i współpracowników. (19). Obejmuje on cztery etapy. Pierwszym z nich jest ogrzewanie mieszaniny templaty (piperidyny bądź heksametylenoiminy), źródła boru (kwas borowy), źródła krzemu (koloidalnej krzemionki), które są rozpuszczane w wodzie dejonizowanej o temperaturze 120–190°C przez 7 dni. Kolejnym etapem jest przemywanie żelu syntezowego kwasem azotowym celem usunięcia atomów boru. Trzecim etapem jest wprowadzanie źródła tytanu oraz źródła krzemionki. Tak powstały żel umieszcza się w autoklawie i następnie prowadzi krystalizację w temperaturze 120–190°C przez kolejne 7 dni. Czwartym i ostatnim etapem jest filtracja powstałego katalizatora, następnie należy przemyć go wodą dejonizowaną wysuszyć i kalcynować w temperaturze 550°C [15].

W niniejszej pracy przedstawiono sposób utleniania limonenu na katalizatorach tytanowo-silikatowych bez udziału rozpuszczalnika. W procesie użyto katalizatorów takich jak TS-1, Ti-MCM-41, Ti-MWW, Ti-SBA-15 otrzymane w zespole prof. Wróblewskiej. Jako utleniacz zastosowano wodorotlenek t-butylu 5,5 M roztwór w dekanie, firmy Sigma-Aldrich. Proces prowadzono następująco: do kolby o pojemności 50 ml naważano odpowiednią ilość katalizatora w ilości 3% wag. następnie wprowadzano odpowiednią ilość limonenu (czystość ok. 97% otrzymanego poprzez destylację prostą) oraz utleniacza w stosunku molowym 1 : 1. Reakcję prowadzono w łaźni wodnej w temperaturze 80°C pod chłodnicą zwrotną przez 3 godziny. Mieszaninę po reakcji odwirowywano, a następnie poddawano analizie jakościowej oraz ilościowej metodą chromatografii gazowej. Analizy jakościowe i ilościowe wykonywano metodą chromatografii gazowej na aparacie Thermo GC 8000, wyposażonym w komputerowy system zbierania i obróbki danych.

Warunki pracy chromatografu gazowego:

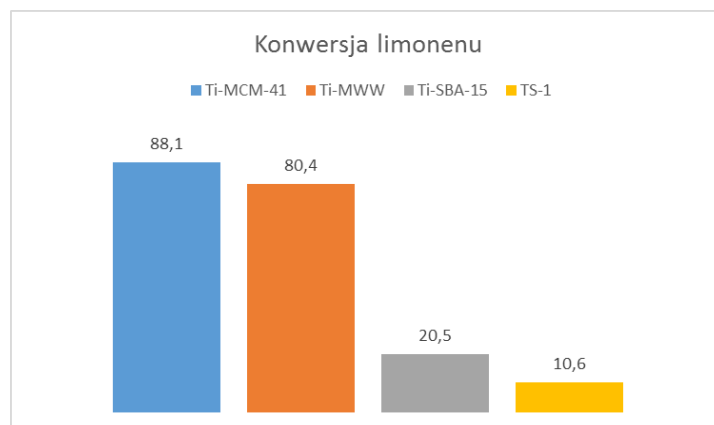
- kolumna – QUADREX 007WAX– 0,32 mm, 30 m, 0,5 µm film (glikol polietylenowy),
- detektor – płomieniowo-jonizacyjny 250°C,
- dozownik – 250°C,
- program temperaturowy – 60°C przez 3 min, 15°C – 1 min, 200°C – 5 min,
- przepływ wodoru – 50 kPa,
- przepływ helu – 45 kPa,
- przepływ powietrza – 70–80 kPa,
- wielkość nastrzyku – 0,1 µl.

Otrzymano następujące wyniki, które przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Selektywność produktów utleniania limonenu [% wag.]

Katalizator	$S_{1,2\text{-epoksy}limonen}$	$S_{limonen\ 1,2\text{-diol}}$	S_{karwon}	$S_{karweol}$	$S_{alkohol\ perillowy}$
Ti-MCM-41	58,4	0,0	9,0	9,4	23,1
Ti-MWW	82,2	0,3	5,4	2,8	9,3
Ti-SBA-15	77,9	0,0	7,5	13,9	0,7
TS-1	67,2	0,0	9,6	21,8	1,3

Produktem o najwyższej selektywności okazał się 1,2-epoksylimonen. Na katalizatorze Ti-MCM-41 udało się uzyskać również alkohol perillowy z selektywnością 23,1% wag. Natomiast na katalizatorze TS-1 otrzymano karweol z selektywnością 21,8% wag. Pozostałe produkty utleniania takie jak karwon i limonen 1,2-diol powstały z selektywnością poniżej 10% wag.



Rys. 2. Konwersja limonenu uzyskana podczas reakcji utleniania na katalizatorach tytanowo-silikatowych bez udziału rozpuszczalnika

Podczas utleniania limonenu powstaje szereg substancji takich jak: karwon, karweol, alkohol perillowy, 1,2-epoksylimonen, które mają wiele zastosowań zarówno w medycynie, jak i w różnych gałęziach przemysłu min. jako dodatki do żywności, komponenty perfum oraz kosmetyków. Natomiast 1,2-epoksylimonen jako oksiran jest bardzo reaktywnym związkiem, który stosowany jest do syntezy bardziej złożonych struktur leków.

Zadaniem nowoczesnej chemii jest działanie powodujące prowadzenie procesów technologicznych z użyciem jak najmniejszej ilości substratów toksycznych i powstawanie jak najmniejszej ilości odpadów. Co wiąże się z opracowywaniem metod jak najbardziej ekologicznych, ekonomicznych i prostych.

Dotyczy to również otrzymywania epoksyzwiązków. Naukowcy dążą do opracowania metody jak najprostszej, najbardziej ekonomicznej przy użyciu tanich produktów. Zależy im na tym by otrzymać epoksydy bez produktów ubocznych z jak największą wydajnością i selektywnością.

Wykorzystanie biomasy jako źródła odnawialnej energii, może nie tylko rozwiązać problem wyczerpywania się nieodnawialnych źródeł, ale również pozwala w pożyteczny sposób zagospodarować i zużytkować odpady powstające w procesach przemysłowych. Niekiedy związki stanowiące element materii organicznej mogą stanowić ważny substrat w produkcji innych, dużo bardziej cennych związków.

Na uwagę niewątpliwie zasługują naturalne szeroko rozpowszechnione, związki organiczne, które zaliczyć można do grupy terpenów, należy do nich limonen, występujący w przeważającej ilości w olejku pomarańczowym. Jego podstawowym źródłem są przede wszystkim odpadowe skórki pomarańczy, które pozostają do zagospodarowania po produkcji soków owocowych. Głównymi zaletami limonenu są jego szeroka dostępność, stosunkowo niska cena oraz możliwość uzyskania wielu użytecznych produktów w reakcji jego utleniania.

Proces utleniania można prowadzić w obecności różnych utleniaczy, takich jak np. wodoronadtlenek t-butyłu oraz nadtlenek wodoru, a także za pomocą wielu katalizatorów. Tlenowe pochodne limonenu, powstające podczas tego procesu, znajdują wiele zastosowań w przemyśle: kosmetycznym, perfumeryjnym, farmaceutycznym i spożywczym. Jednym z produktów utleniania limonenu jest alkohol perillowy, który jest przedmiotem licznych badań wielu zespołów naukowców, wykazuje bowiem działanie chemoprewencyjne w stosunku do raka m.in. sutka, płuc, wątroby i skóry. Podobne właściwości wykazują karweol i karwon.

LITERATURA

- [1] Karabela M. 2007, Pomarańcza. *Pancea* 1(18) 2007, 26–27.
- [2] Bellanger J.T. Perillyl alcohol: application in oncology. *Altern Med Rev.* 3(6) (1998), 48–57.
- [3] Lone J., Yun J.W. Monoterpene limonene induces brown fat –like phenotype in 3T3-L1 white adipocytes”. *Life Sci.* 153 (2016), 198–206
- [4] Sun J. D-limonene: safety and clinical applications. *Alter. Med. Rev.* 12 (2007), 259–264.
- [5] Crowell P.L., Gould M.N. Chemoprevention and therapy of cancer by d-limonene. *Critical Rev. Oncogen.* 5 (1994), 1–22.
- [6] Notari B. Titanium silicate: A new selective oxidation catalyst, structure-activity and selectivity relationship in heterogeneous catalysis. *Stud. Surf. Sci. Catal.* 60, 1990, 243–252
- [7] Wróblewska A. Epoksydacja związków alilowych nadtlenkiem wodoru w obecności katalizatorów tytanowo-silikatowych. Wydaw. Uczelniane Politechniki Szczecińskiej, Szczecin 2008.
- [8] Degan T.F. JR. The implications of the fundamentals of shape selectivity for development of catalysts for petroleum and petrochemical industries. *J. Catal.* 216, 2003, 32–46.
- [9] Wróblewska A., Fajdek A., Milchert E., Grzmil B. The Ti-MWW catalyst – its characteristic and catalytic properties in the epoxidation of allyl alcohol by hydrogen peroxide. *Pol. J. Technol.* 12(1), 2010, 29–34.
- [10] Grun M., Unger K., Matsumoto A., Tsutsumi K. Novel pathways for the preparation of mesoporous MCM-41 materials: control of porosity and morphology. *Micropor. Mesopor. Mat.* 27, 1999, 207–216.
- [11] Thangraj A., Kumar R., Ratnasamy P. Direct catalytic hydroxylation of benzene with hydrogen peroxide over titanium-silicate zeolites. *App. Catal.* 57, 1990, L1–L3.
- [12] Wróblewska A., Makuch E. The utilization of Ti-SBA-15 catalyst in the epoxidation of allylic alcohols. *Reaction Kinetics. Mech. Catal.* 105, 2012, 451–468.
- [13] Berube F., Kleitz F., Kaliaguine S. (2008). A comprehensive study of titanium – substituted SBA-15 mesoporous materials prepared by direct synthesis. *J Phys. Chem. C.* 112, 14403–14411.
- [14] Tatsumi T., Wu P., Tsuji K. Titanosilicate, process for its production, and its use in producing oxidized compound, US Patent US20050209091 A1.
- [15] Wu P., Tatsumi T., Komatsu T., Yashima T. A novel Titanosilicate with MWW Structure I. Hydrothermal Synthesis, Elimination of Extraframework titanium and characterizations. *J. Phys. Chem.* 105(15), 2001, 2897–2905.

SYNTEZA NOWYCH POCHODNYCH KWASU 3,5-DICHLOROSALICYLOWEGO O POTENCJALNEJ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ

SYNTHESIS OF NEW 3,5-DICHLOROSALICYLIC ACID DERIVATIVES WITH POTENTIAL BIOLOGICAL ACTIVITY

¹Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Studenckie Koło Naukowe Ligi Ochrony Przyrody, ²Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

Streszczenie. Pochodne kwasu salicylowego znane są z szerokiej aktywności biologicznej. Celem niniejszych badań było otrzymanie nowych pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego o potencjalnej aktywności biologicznej. Kwas 3,5-dichlorosalicylowy poddano reakcji z 2-bromoalkanami metylu. Reakcje prowadzono w obecności bezwodnego węglanu potasu w DMF w temperaturze 92–96°C. Zastosowano różne stosunki molowe reagentów i czas reakcji, otrzymując dwie grupy pochodnych. W przypadku, gdy stosunek molowy wyjściowego kwasu do bromoestrów i do węglanu potasu wynosił 1 : 1 : 0,55, a czas reakcji 1 godzinę, otrzymano estry 1-metoksy-1-okso-2-alkilowe kwasu 3,5-dichloro-salicylowego. Wydajność tych procesów wynosiła 43–91%. Estry 1-metoksy-1-okso-2-alkilowe kwasów 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-okso-2-alkiloksy)benzoesowych otrzymano w wyniku 4-godzinnej reakcji przy stosunku molowym kwasu do bromoestrów i węglanu potasu 1 : 2 : 2,5. Wydajność tych syntez była niższa i wynosiła 25–59%. Czystości otrzymanych produktów i ich struktury ustalano na podstawie analizy GC-MS.

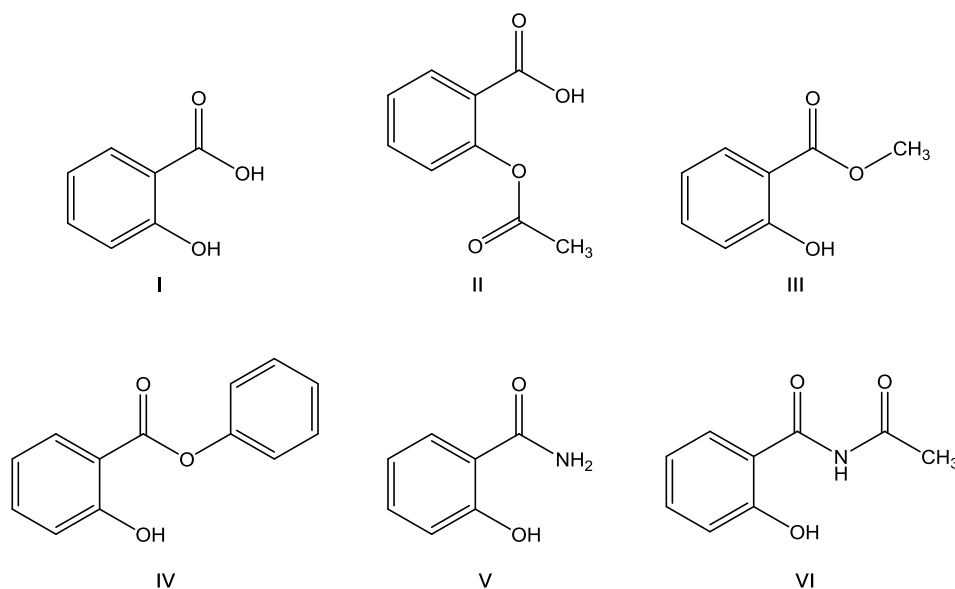
Słowa klucze: kwas 3,5-dichlorosalicylowy, aktywność biologiczna, fungicydy.

Keywords: 3,5-dichlorosalicylic acid, biological activity, fungicides.

WPROWADZENIE

Aktywność farmakologiczna kwasu salicylowego i jego pochodnych (rys. 1) jest szeroko opisywana w literaturze. Zastosowanie kwasu salicylowego (I) ze względu na działania uboczne (odpowiada za tworzenie wrzodów) ogranicza się zwykle do użycia zewnętrznego, głównie do leczenia infekcji skóry. Jednym z najszerzej stosowanych pochodnych kwasu salicylowego są pochodne estrowe, które niestety, podobnie jak kwas, podrażniają śluzówkę żołądka. Najpopularniejszą substancją aktywną w tej grupie jest niewątpliwie kwas acetylosalicylowy (II), powszechnie nazywany aspiryną. Udział w tworzeniu wiązania estrowego bierze grupa fenolowa kwasu salicylowego. Aspiryna działa przeciwgorączkowo, przeciwzapalnie, ale także jest stosowana w profilaktyce zawału mięśnia sercowego i jako lek przeciwzakrzepowy. Aktywność biologiczną wykazują także pochodne estrowe z udziałem grupy karboksylowej kwasu salicylowego. Wśród nich można wymienić salicylan metylu (III) i salicylan fenylu (IV). Salicylan metylu jest używany w leczeniu reumatyzmu oraz jako składnik

maści rozgrzewających stosowanych przy bólach mięśni, w gościecu. Salicylan fenylu (salol) ma działa odkażająco na drogi moczowe. Mniej agresywnie wobec śluzówki żołądka działają amidowe pochodne kwasu salicylowego takie jak salicylamid (V) czy salacetamid (VI). Substancje te wykazują działanie analgetyczne [1].



Rys.1. Struktura kwasu salicylowego i jego pochodnych stosowanych w medycynie

Właściwości farmakologiczne posiadają również halogenowe pochodne kwasu salicylowego, w tym także pochodne kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (rys. 2). Kwas ten (VII) jest silnym inhibitorem ludzkiego enzymu 20 α -hydroksysteroid dehydrogenazy (AKR1C1), który jest odpowiedzialny za rozwój nowotworów u ludzi i zwierząt, takich jak: rak płuca, śluzówki macicy, przelyku, jajników i piersi. Substancja ta może niestety wywoływać także przedwczesny poród [2]. Natomiast pochodne amidowe kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (VIII–X) wykazują aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli*, *Proteus morganii* oraz *Aspergillus fumigatus* [3].

Lee i współpracownicy [4] prowadzili badania nad aktywnością pochodnych kwasu salicylowego w leczeniu gruźlicy. Choroba ta nadal jest bardzo groźna i według doniesień literaturowych w roku 2010 spowodowała śmierć około 1,7 miliona ludzi. Bakterie szczepu *Mycobacterium Tuberculosis* (MTB) nabierają jednak odporności wobec wielu stosowanych leków przeciwgruźliczych. Badania prowadzone przez autorów dowiodły, że pochodna XI może być stosowana jako środek antybakteryjny przeciwko MTB.

Inna pochodna amidowa XII znajduje zastosowanie w leczeniu grypy. Substancja ta wykazuje aktywność przeciwwirusową wobec wirusa grypy typu A. W wyniku interakcji z hemaglutyniną tłumi niskie pH wywołane zmianą konformacyjną w białku, a zatem blokuje proces fuzji, który jest niezbędny do wejścia wirusa do komórki gospodarza [5].

W ostatnich latach wzrosło również zainteresowanie właściwościami pestycydowymi kwasu salicylowego i jego pochodnych. Kwas salicylowy jest naturalnym fenolowym hormonem wytwarzanym w roślinach. Związek ten odgrywa kluczową rolę w obronie roślin przeciwko wielu szczepom grzybów. Według doniesień literaturowych kwas salicylowy działa wobec

Chemical structures of the compounds are shown below:

Structure VII: 2,4-dichloro-3-hydroxybenzoic acid.

Structure VIII: 2,4-dichloro-3-hydroxy-N-(R)-2-hydroxy-2-oxoethylbenzamide. R = H, CH₃, CH₂C₆H₅.

Structure IX: 2,4-dichloro-3-hydroxy-N-(R)-2-amino-2-oxoethylbenzamide. R = H, CH₃, CH₂C₆H₅.

Structure X: 2,4-dichloro-3-hydroxy-N-(R)-2-methoxy-2-oxoethylbenzamide. R = H, CH₃, CH₂C₆H₅.

Structure XI: 2,4-dichloro-3-hydroxy-N-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)benzamide.

Structure XII: 2,4-dichloro-3-hydroxy-N-(1-methyl-2,3,4,5-tetrahydropyrido[1,2-b]pyridine-2-yl)benzamide.


R=C₂H₅, C₃H₇, C₄H₉
XIII

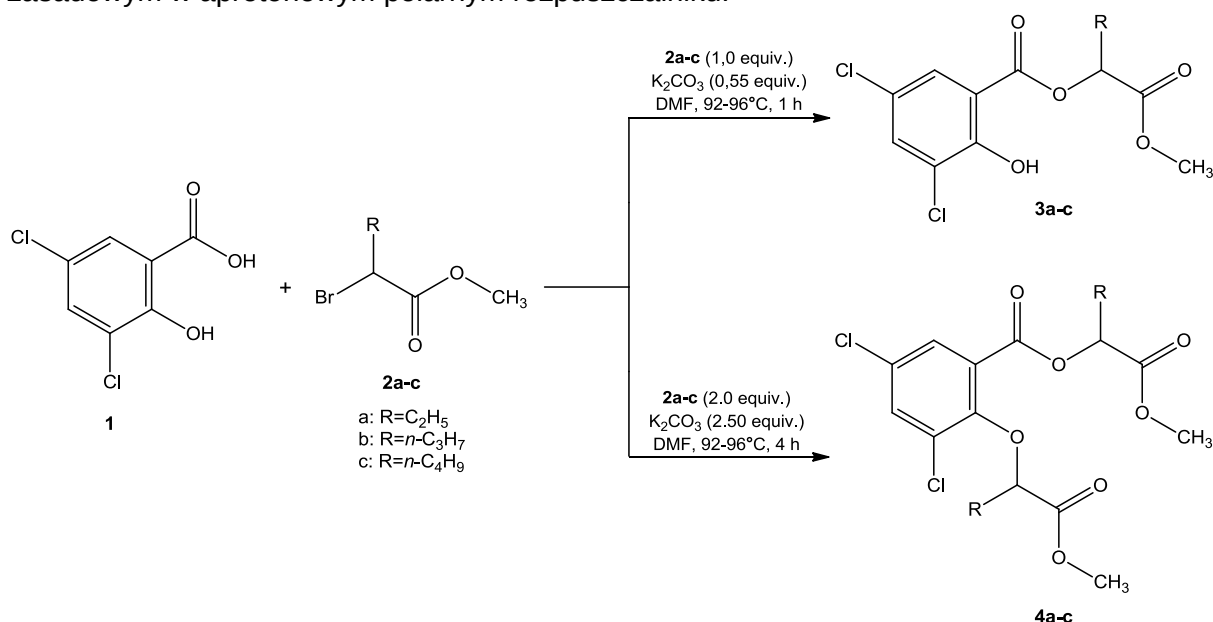
Podobnie jak kwas salicylowy, kwas 3,5-dichlorosalicylowy może odgrywać ważną rolę w nabywaniu odporności roślin na choroby (głównie grzybicze). Ze względu na swoje specy-

ficzne właściwości chemiczne związek ten może akumulować się w tkankach rośliny. W przypadku wielu chorób wywołanych grzybami zlokalizowanymi w sekwencjach tkanki drzewiastej niezwykle trudne jest przeprowadzanie zabiegów leczniczych. Udowodniono, że kwas 3,5-dichlorosalicylowy prawie całkowicie hamuje wzrost grzybn *Eutypa lata* wywołującej ciężkie choroby winorośli i wielu innych roślin drzewiastych np. moreli [11]. Silverman wraz z grupą naukowców badał aktywność kwasu salicylowego i jego pochodnych wobec wirusa mozaiki tytoniu (TMV). Najbardziej aktywnymi z szeregu badanych związków okazały się chlorowe pochodne, w których atom chloru występował w pozycji 3- i / lub 5 [12].

Biorąc pod uwagę właściwości biologiczne kwasu salicylowego i jego pochodnych, w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków ZUT w Szczecinie podjęto badania nad syntezą i aktywnością biologiczną pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego. Celem niniejszej pracy było opracowanie warunków syntezy w kierunku otrzymania pożądaných produktów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Kwas 3,5-dichlorosalicylowy w reakcji z 2-bromoalkanianami metylu może tworzyć dwa rodzaje produktów (schemat 1). Pierwszą grupę związków stanowią pochodne **3a-c**, w syntezie których udział bierze jedynie grupa karboksylowa kwasu 3,5-dichlorosalicylowego. Druga grupa związków **4a-c** powstaje przy udziale zarówno grupy karboksylowej, jak i hydroksylowej. Procesy te zachodzą według mechanizmu substytucji nukleofilowej dwucząsteczkowej (S_N2). W związku z tym korzystnym było prowadzenie reakcji w środowisku zasadowym w aprotowym polarnym rozpuszczalniku.



Schemat 1. Ogólny schemat otrzymywania pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego

Surowcami w reakcji z kwasem 3,5-dichlorosalicylowym były 2-bromoalkaniany metylu takie jak 2-bromomaślan metylu (**2a**), 2-bromopentanian metylu (**2b**) oraz 2-bromoheksanian metylu (**2c**). Reakcję, zarówno w kierunku otrzymania pochodnych **3a-c**, jak i **4a-c**, prowa-

dzono w obecności bezwodnego węgla potasu. Jako rozpuszczalnik zastosowano *N,N*-dimetyloformamid. Mieszaninę reakcyjną ogrzewano w temperaturze 92–96°C w określonym czasie. Mieszaninę poreakcyjną wlewano do wody z lodem, a następnie produkt odsączano lub ekstrahowano chlorkiem metylenu. Ekstrakty suszono nad środkiem suszącym, po czym usuwano rozpuszczalnik poprzez destylację pod zmniejszonym ciśnieniem. Stałe produkty reakcji suszono w temperaturze pokojowej. Przeprowadzono dziewięć prób syntez, w których zmieniano stosunek molowy reagentów i czas reakcji zgodnie z danymi przedstawionymi w tabeli 1. Dokładną procedurę syntez, w których osiągnięto najkorzystniejsze wyniki opisa-no w części doświadczalnej.

W celu określenia przebiegu reakcji przeprowadzono analizę GC-MS otrzymanych produktów reakcji. Analiza wykazała, że na przebieg reakcji w sposób istotny wpływał stosunek molowy reagentów i czas reakcji. Stwierdzono, że pochodne **3a-c** otrzymano selektywnie, gdy kwas 3,5-dichlorosalicylowy był użyty w ilościach równomolowych w stosunku do zastosowanych bromoestrów. W przypadku tych reakcji stosunek molowy kwasu do bezwodnego węgla potasu wynosił 0,55. Zmniejszenie tej wartości do 0,4 w drugiej próbie wpłynęło na poprawę selektywności reakcji przy równoczesnym obniżeniu wydajności reakcji. Ze względu na niezbyt wysoką wydajność w próbach 3 i 5, syntezę powtórzono wydłużono dwukrotnie czas reakcji (próby 4 i 6). Otrzymano produkty **3b** i **3c** z większą wydajnością, ale charakteryzowały się one niższą czystością. Wszystkie otrzymane produkty zawierały jako zanieczyszczenie pochodne **4a-c** oraz śladowe ilości odpowiednich pochodnych kwasu 5-chlorosalicylowego. Kwas ten stanowił zanieczyszczenie wyjściowego kwasu 3,5-dichlorosalicylowego.

Tabela 1. Warunki reakcji kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**1**) z 2-bromoalkanianami metylu (**2a-c**)

Próba	Bromoester	Stosunek molowy 1 : 2 a-c – K ₂ CO ₃	Czas reakcji [h]	Produkt	Postać produktu	Czystość [%]	Wydajność [%]
1	2a	1:1:0,55	1	3a	osad, t. top. 52°C	92,41	67,5
2	2a	1:1:0,40	1	3a	osad, t. top. 56–58°C	99,31	43,2
3	2b	1:1:0,55	1	3b	osad t. top. 46–48°C	94,60	65,8
4	2b	1:1:0,55	2	3b	osad, t. top. 40–46°C	87,50	90,7
5	2c	1:1:0,55	1	3c	ciecz	84,40	46,5
6	2c	1:1:0,55	2	3c	ciecz	82,80	56,4
7	2a	1:2:2,50	4	4a	ciecz	98,43	59,0
8	2b	1:2:2,50	4	4b	ciecz	96,42	24,9
9	2c	1:2:2,50	4	4c	ciecz	95,14	41,0

Pochodne **4a-c** powstają w wyniku podstawienia grupy karboksylowej i hydroksylowej kwasu 3,5-dichlorosalicylowego. W celu otrzymania tej grupy pochodnych kwas i bromoestry użyto w ilościach stechiometrycznych. Stosunek molowy tych substancji zwiększono zatem

do 1 : 2. Zastosowano 2,5-molowy nadmiar bezwodnego węglanu potasu w stosunku do wyjściowego kwasu. Reakcję przeprowadzano w temperaturze 92–96°C, stosując czterogodzinny czas ogrzewania. W trakcie ekstrakcji mieszaniny poreakcyjnej układ tworzył bardzo trwałe emulsje, co niestety miało niekorzystny wpływ na końcową wydajność procesu (25–59%). Uzyskane produkty charakteryzowały się wysoką czystością. W otrzymanych produktach stwierdzono niewielkie ilości analogicznych pochodnych kwasu 5-chlorosalicylowego.

Struktury otrzymanych nowych pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego będą potwierdzone metodami ^1H i ^{13}C NMR, po czym zostanie zbadana ich aktywność fungicydowa.

WNIOSKI

W ramach badań opracowano metodę syntezy nowych pochodnych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego o potencjalnej aktywności biologicznej. Estrы 1-metoksy-1-okso-2-alkilowe kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**3a-c**) uzyskuje się z dobrymi wydajnościami charakteryzujące się wysokim stopniem czystości. W przypadku syntezy estrów 1-metoksy-1-okso-2-alkilowych kwasu 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-1-okso-2-alkiloksy)benzoesowego (**4a-c**) należy opracować technikę wyodrębniania produktów z mieszaniny poreakcyjnej ze względu na powstawanie trwałych emulsji podczas ekstrakcji. Przedstawiona metoda syntezy jest prosta do przeprowadzenia, a zastosowane warunki reakcji pozwalają na jej selektywny przebieg. Łagodne warunki procesu mogą być wygodne do zastosowania w syntezie tych związków na większą skalę.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Odczynniki i stosowane metody analityczne

Kwas 3,5-dichlorosalicylowy (**1**), którego czystość wynosiła 99% był wyprodukowany przez firmę Alfa Aesar. Stosowane 2-bromoalkaniany metylu: 2-bromomaślan metylu (**2a**), 2-bromopentanian metylu (**2b**) oraz 2-bromoheksanian metylu (**2c**) otrzymano w wyniku kilkietapowej syntezy w Zakładzie Syntezy Organicznej i Technologii Leków ZUT. Bezwodny węglan potasu, bezwodny siarczan(VI) sodu oraz rozpuszczalniki (*N,N*-dimetyloformamid, chlorek metylenu, aceton) były wyprodukowane przez firmę Chempur. *N,N*-Dimetyloformamid był suszony nad sitami molekularnymi.

Otrzymane produkty analizowano w postaci roztworów w acetonie metodą chromatografii gazowej z detekcją mas (GC-MS). W tym celu zastosowano chromatograf gazowy Agilent Technologies 6890N z detektorem mas 5973 Network i automatycznym dozownikiem próbek 7683 Series Injector. Aparat był wyposażony w kolumnę kapilarną HP-5MSI o długości 30 m i średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Fazę stacjonarną w postaci filmu o grubości 0,25 μm stanowił dimetylopolisiloksan, zawierający 5% grup fenylowych. Jako gaz nośny stosowany był hel o przepływie 1,2 ml/min. Temperatura kolumny była programowana. Przez pierwsze 3 minuty analizy utrzymywano temperaturę 60°C, a następnie kolumna była ogrzewana z prędkością 10°C/min do osiągnięcia 300°C, w której była utrzymywana przez 13 minut.

Próbka o objętości 1 μl była dozowana w trybie *split* (30:1). Dozownik pracował w temperaturze 250°C. Cząsteczki były jonizowane metodą jonizacji strumienia elektronów (EI: 70 eV). Temperatura źródła jonów wynosiła 230°C. Detektor pracował w trybie skanowania widma w zakresie m/z od 50 do 500 u. Wyniki analiz chromatograficznych były opracowywane z wykorzystaniem oprogramowania ChemStation.

Temperaturę topnienia wszystkich otrzymanych związków w postaci stałej oznaczono na aparacie typu Boetius.

Synteza estrów 1-metoksy-1-okso-2-alkilowych kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**3a-c**)

*Ester 1-metoksy-1-okso-2-butyłowy kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**3a**)*

Kwas 3,5-dichlorosalicylowy (**1**) (12 mmol), 2-bromomaślan metylu (**2a**) (12 mmol), K_2CO_3 (6,6 mmol) oraz 50 ml DMF ogrzewano w temperaturze 92–96°C przez 1 godzinę. Całość zabezpieczano przed dostępem wilgoci. Następnie mieszaninę poreakcyjną wylano do zlewki z lodem i wodą. Wytrącony osad odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostawiono do wyschnięcia. Otrzymano 2,49 g (8,1 mmol) estru **3a** w postaci białego osadu. Wyd. 67,5%; t.t. 55–56°C; GC-MS (aceton): RT = 19,20 min.; MS: m/z (I%): 308 ($\text{M}^+ + 2,18$), 306 (M^+ , 26), 191 (15), 190 (44), 189 (82), 188 (67), 187 (100), 134 (20), 132 (31), 97 (27), 59 (39).

*Ester 1-metoksy-1-okso-2-pentylowy kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**3b**)*

Kwas 3,5-dichlorosalicylowy (**1**) (6 mmol), 2-bromopentanian metylu (**2b**) (6 mmol), K_2CO_3 (3,3 mmol) oraz 50 ml DMF ogrzewano w temperaturze 92–96°C przez 1 godzinę, chroniąc przed dostępem wilgoci. Następnie mieszaninę poreakcyjną przelano do zlewki z lodem i wodą. Produkt wyodrębiono poprzez ekstrakcję chlorkiem metylenu (3 $\times$ 30 ml). Połączone ekstrakty suszono nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu. Rozpuszczalnik usuwano w destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano 1,27 g (3,9 mmol) estru **3b** w postaci beżowego osadu. Wyd. 65,8%, t.t. 46–48°C; GC-MS (aceton): RT = 19,98 min.; MS: m/z (I%): 322 ($\text{M}^+ + 2,26$), 320 (M^+ , 40), 260 (11), 207 (14), 205 (21), 191 (21), 190 (66), 189 (100), 188 (97), 187 (100), 159 (12), 134 (28), 132 (44), 115 (25), 99 (11), 97 (33), 83 (19), 73 (23), 59 (34), 55 (32).

*Ester 1-metoksy-1-okso-2-heksylowy kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**3c**)*

W celu otrzymania pochodnej **3c** zastosowano procedurę opisaną dla syntezy związku **3b**. Wychodząc z 6 mmoli kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**1**), 6 mmoli 2-bromoheksanianu metylu (**2c**) i 3,3 mmol K_2CO_3 , otrzymano 0,94 g (2,8 mmol) produktu w postaci gęstej cieczy. Wyd. 46,5%; GC-MS (aceton): RT = 20,73 min.; MS: m/z (I%): 336 ($\text{M}^+ + 2,16$), 334 (M^+ , 27), 207 (12), 205 (18), 191 (13), 190 (45), 189 (71), 188 (70), 187 (100), 134 (18), 132 (28), 129 (18), 97 (34), 69 (21), 59 (14), 55 (11).

Synteza estrów 1-metoksy-1-okso-2-alkilowych kwasu 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-1-okso-2-alkiloksy)benzoesowego (4a-c)*Ester 1-metoksy-1-okso-2-butyłowy kwasu 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-1-okso-2-butyloksy)benzoesowego (4a)*

Kwas 3,5-dichlorosalicylowy (**1**) (6 mmol), 2-bromomaślan metylu (**2a**) (12 mmol), K_2CO_3 (15 mmol) oraz 50 ml DMF ogrzewano w temperaturze 92–96°C przez 4 godziny. Następnie mieszaninę poreakcyjną przelano do zlewki z lodem i wodą. Produkt wyodrębiono poprzez ekstrakcję chlorkiem metylenu (3 × 30 ml). Połączone ekstrakty suszono nad bezwodnym siarczanem(VI) sodu. Rozpuszczalnik usuwano w destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymano 1,44 g (3,9 mmol) estru **4a** w postaci lepkiej cieczy. Wyd. 59,0%; GC-MS (aceton): RT = 22,37 min.; MS: m/z (I%): 406 (M^+ , 5), 306 (7), 263 (10), 261 (16), 249 (5), 248 (8), 247 (22), 246 (13), 245 (30), 228 (5), 208 (7), 206 (12), 193 (5), 192 (12), 191 (27), 190 (66), 189 (42), 188 (100), 162 (10), 160 (11), 135 (6), 134 (5), 133 (8), 132 (7), 101 (23), 99 (5), 97 (12), 73 (18), 69 (15), 59 (69), 55 (8).

Ester 1-metoksy-1-okso-2-pentylowy kwasu 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-1-okso-2-pentyloksi)benzoesowego (4b)

W celu otrzymania pochodnej **4b** zastosowano procedurę opisaną dla syntezy związku **4a**. Wychodząc z 6 mmoli kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**1**), 12 mmoli 2-bromopentanianu metylu (**2b**) i 15 mmol K_2CO_3 , otrzymano 0,65 g (1,5 mmol) produktu w postaci gęstej cieczy. Wyd. 24,9%; GC-MS (aceton): RT = 23,24 min.; MS: m/z (I%): 434 (M^+ , 7), 320 (9), 277 (12), 275 (18), 262 (14), 261 (29), 260 (23), 259 (41), 207 (12), 205 (19), 192 (13), 191 (31), 190 (69), 189 (49), 188 (100), 162 (10), 115 (60), 97 (11), 87 (16), 83 (27), 73 (30), 59 (46), 55 (51).

Ester 1-metoksy-1-okso-2-heksylowy kwasu 3,5-dichloro-2-(1-metoksy-1-okso-2-heksyloksi)benzoesowego (4c)

W celu otrzymania pochodnej **4c** zastosowano procedurę opisaną dla syntezy związku **4a**. Wychodząc z 6 mmoli kwasu 3,5-dichlorosalicylowego (**1**), 12 mmoli 2-bromoheksanianu metylu (**2c**) i 15 mmol K_2CO_3 , otrzymano 1,14 g (2,5 mmol) produktu w postaci gęstej cieczy. Wyd. 41,0%; GC-MS (aceton): RT = 24,42 min.; MS: m/z (I%): 462 (M^+ , 7), 336 (8), 334 (12), 291 (13), 289 (20), 277 (8), 276 (12), 275 (36), 274 (18), 273 (53), 208 (16), 206 (25), 192 (13), 191 (35), 190 (69), 189 (55), 188 (100), 162(10), 160 (11), 133 (8), 132 (7), 129 (76), 101 (15), 97 (51), 87 (20), 73 (8), 69 (72), 59 (36), 55 (34).

LITERATURA

- [1] Chemia leków, (red.), Zejc A., Gorczyca M. Warszawa, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 1998.
- [2] Dhagat U., Endo S., Sumii R., Hara A., El-Kabbani O. Selectivity determinants of inhibitor binding to human 20R-hydroxysteroid dehydrogenase: Crystal structure of the enzyme in ternary complex with coenzyme and the potent inhibitor 3,5-dichlorosalicylic acid. J. Med. Chem. 51 (2008), 4844–4848.

-
- [3] El Sayed R.A., Khalaf N.S. Synthesis of some new 5-chloro- and 3,5-dichlorosalicylaminoacid, ester amidehydrazide and tripeptide derivatives with expected biological activities. *Proc. Indian natn. Sci. Acad.* 63 (1997), 259–268.
- [4] Lee I.Y., Gruber T.D., Samuels A., Yun M., Nam B., Kang M., Crowley K., Winterroth B., Boshoff H. I., Barry C.E. Structure–activity relationships of antitubercular salicylanilides consistent with disruption of the proton gradient via proton shuttling, *Bioorg. Med. Chem.* 21 (2013), 114–126.
- [5] Yu K.L., Ruediger E., Luo G., Cianci C., Danetz S., Tiley L., Trehan A.K., Monkovic I., Pearce B., Martel A., Krystal M., Meanwell N.A. Novel quinolizidine salicylamide influenza fusion inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9 (1999), 2177–2180.
- [6] Wodnicka A., Huzar E., Krawczyk M., Kwiecień H. Synthesis and antifungal activity of new salicylic acid derivatives. *Pol. J. Chem. Technol.* 19 (2017), 143–148.
- [7] Wang Y.Y., Li B.Q., Qin G.Z., Li L., Tiana S.P. Defense response of tomato fruit at different maturity stages to salicylic acid and ethephon. *Sci. Hortic.* 129 (2011), 183–188.
- [8] Mandal S., Mallick N., Mitra A. Salicylic acid-induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* in tomato. *Plant Physiol. Bioch.* 47 (2009), 642–649.
- [9] Yu T., Zheng X.D. Salicylic acid enhances biocontrol efficiency of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in apple fruit. *J. Plant Growth Regul.* 25 (2006), 166–174.
- [10] Panahirad S., Zaare-Nahandi F., Safaralizadeh R., Alizadeh-Salteh S. Postharvest control of *Rhizopus stolonifer* in peach (*Prunus persica* L. Batsch) fruits using salicylic acid. *J. Food Safety* 32 (2012), 502–507.
- [11] Amborabe B.E., Fleurat-Lessard P., Chollet J.F., Roblin G. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: Structure-activity relationship. *Plant Physiol. Biochem.* 40 (2002), 1051–1060.
- [12] Silverman F.P., Petracek P.D., Heiman D.F., Fledderman C.M., Warrior P. Salicylate activity. 3. Structure relationship to systemic acquired resistance, *J. Agric. Food Chem.* 53 (2005), 9775–9780.

Damian KACZMAREK, Kamil CZERNIAK, Agnieszka BIEDZIAK, Michał NIEMCZAK

HYDROKSYALKILOWE BISAMONIOWE CIECZE JONOWE Z HERBICYDOWYMI ANIONAMI

HYDROXYALKIL BISAMMONIUM IONIC LIQUIDS WITH HERBICIDAL ANIONS

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej

Streszczenie. W artykule została opisana dwuetapowa metoda otrzymywania herbicydowych cieczy jonowych. Czystość produktów głównych określono techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej, a także zbadano ich właściwości takie jak rozpuszczalność, temperatura topnienia czy współczynnik podziału oktanol-woda.

Słowa kluczowe: Bisammoniowe ciecze jonowe, herbicydowe ciecze jonowe, fizykochemia cieczy jonowych.

Keywords: Bisammonium ionic liquids, herbicidal ionic liquids, physicochemistry of ionic liquids.

WSTĘP TEORETYCZNY

Niesłabnące zainteresowanie cieczami jonowymi w ostatnich kilkunastu latach przełożyło się na znaczną, stale wzrastającą ilość prowadzonych badań naukowych oraz zainteresowanie przemysłu w celu komercyjnego wykorzystania tych związków. Powodem tego jest możliwość projektowania cieczy jonowych poprzez dobranie kationu lub anionu o odpowiednich, pożądanych właściwościach. Ich potencjał początkowo wykorzystywano w celu zastąpienia szkodliwych i lotnych rozpuszczalników jako medium reakcji chemicznych. W tym przypadku doceniono szereg korzyści wynikających z użycia związków o charakterze jonowym, takich jak praktyczny brak lotności, niska temperatura topnienia oraz zdolność rozpuszczania wielu polarnych jak i niepolarnych związków chemicznych [1, 2].

Ze względu na stale wzrastające zainteresowanie cieczami jonowymi oraz rosnącą ilość nowych związków z tej grupy, postanowiono je podzielić na kilka kategorii. Jednym z najprostszych kryteriów podziału cieczy jonowych jest ich stan skupienia w temperaturze pokojowej (wyróżnia się tu niskotemperaturowe ciecze jonowe – ciekłe w temperaturze pokojowej oraz ciecze jonowe będące ciałami stałymi, ale o temperaturze topnienia nie przekraczającej 100°C). Kolejnym kryterium podziału jest budowa kationu uwzględniająca lokalizację ładunku dodatniego, wyróżnia się ciecze: amoniowe, fosfoniowe, sulfoniowe, oraz oksoniowe [3].

Dodatkowo ciecze jonowe podzielono ze względu na funkcyjność na trzy generacje [4, 5]:

- pierwsza generacja, dotyczy soli mających unikatowe właściwości fizyczne, są to między innymi hydrofilowość i hydrofobowość, temperatura topnienia, lepkość, gęstość, stabilność termiczna oraz współczynnik załamania światła;
- druga generacja, dotyczy związków, w których można dobrać zarówno właściwości fizyczne jak i chemiczne, tj. reaktywność, szerokie okno elektrochemiczne, palność, chiralność, korzystny bilans tlenowy, czy blokowanie promieni UV;

- trzecia generacja, obejmuje sole, które łączą właściwości chemiczne, fizyczne i biologiczne. Zaliczyć do nich można np. ciecze jonowe, w których jeden z jonów jest farmaceutykiem lub herbicydem.

W kolejnych latach skupiono się na poszukiwaniu nowych możliwości aplikacyjnych. Jednym z takich rozwiązań była synteza cieczy jonowych wykazujących aktywność herbicydową. Pomysł na ten rodzaj związków zrodził się z potrzeby znalezienia nowych substancji ze względu na zjawisko uodporniania się chwastów na dotychczas stosowane formy aktywne. W tym celu zaprojektowano ciecze jonowe posiadające aktywny biologicznie anion oraz odpowiednio dobrany kation umożliwiający uzyskanie wyższej skuteczności chwastobójczej niż środki stosowane komercyjnie [6].

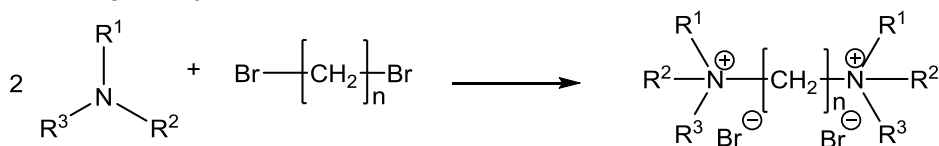
Do tej pory powstało wiele patentów oraz publikacji opisujących ciecze jonowe z jednym anionem chwastobójczym oraz kationem zwiększającym aktywność powierzchniową. Bazując na licznych doniesieniach na temat nowych kierunków zastosowania surfaktantów gemini stworzono koncepcję bisamoniowych herbicydowych cieczy jonowych. Opisane dotychczas bisamoniowe ciecze jonowe miały w swej strukturze kation będący kationowym surfaktantem typu gemini. Surfaktanty gemini należą do związków amfifilowych, składają się z dwóch amfipatycznych polarnych cząsteczek związanych ze sobą poprzez łącznik pomiędzy grupami hydrofilowymi. Połączenie może występować także pomiędzy łańcuchami w pobliżu grupy polarnej i jest bardzo ważnym elementem struktury surfaktantu, gdyż warunkuje jego unikalne właściwości [7]. Tego typu substancje wykazują najczęściej dużo wyższą aktywność powierzchniową niż zwykłe surfaktanty kationowe. Umożliwia to otrzymanie herbicydowych cieczy jonowych o aktywności przewyższającej skuteczność środków komercyjnych [8].

METODYKA BADAŃ

Synteza soli czwartorzędowych

0,22 mola odpowiedniej aminy i rozpuszczono w 50 ml acetonitrylu, a następnie dodano 0,1 mola dibromoalkanu o wybranej długości łańcucha, który pełnił rolę czynnika czwartorzędowego. Reakcję prowadzono pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika przez 24 godziny przy ciągłym mieszaniu.

Rozpuszczalnik z mieszaniny poreakcyjnej odparowano za pomocą wyparki próżniowej, a do otrzymanej mieszaniny poreakcyjnej dodano 50 ml octanu etylu w celu usunięcia nadmiaru nieprzereagowanej aminy. Osad dibromku bisamoniowego odsączono, a produkt suszono przez 24 godziny w temperaturze 70°C.



w którym:

$\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{CH}_3$, $\text{R}^3 = \text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$

$\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{C}_2\text{H}_5$, $\text{R}^3 = \text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$

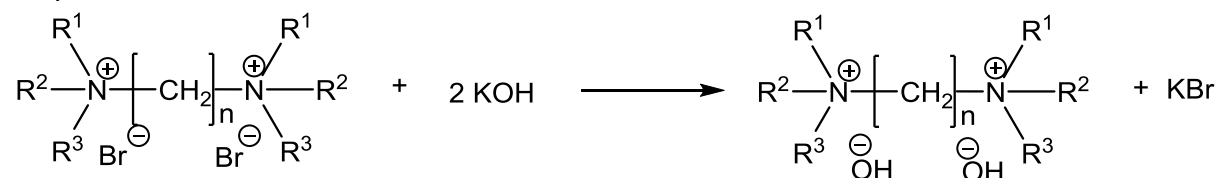
$\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$, $\text{R}^3 = \text{CH}_3$

$n = 4, 6, 8, 10$

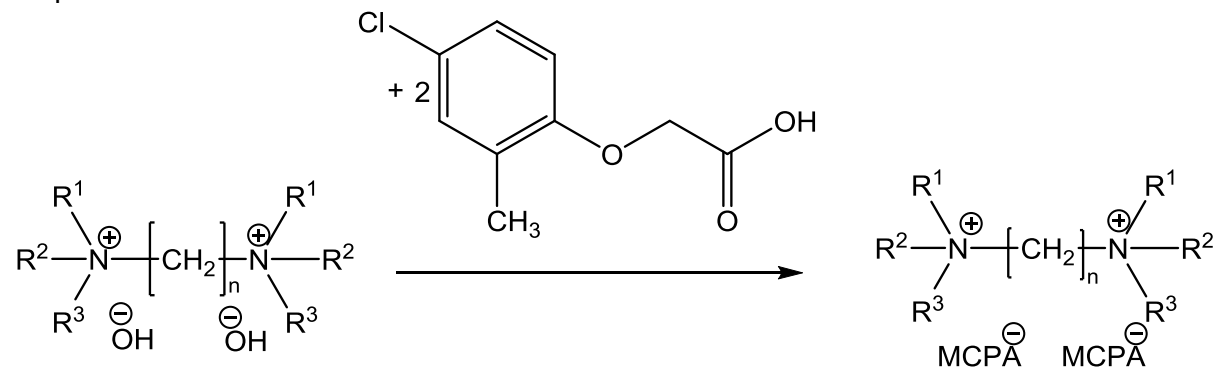
Synteza herbicydowych cieczy jonowych

0,1 mola odpowiedniego dibromku bisamoniowego rozpuszczono w metanolu i zmieszano z 0,22 mola metanolowego roztworu wodorotlenku potasu. Przygotowany roztwór mieszano w temperaturze pokojowej przez 15 minut, a następnie schłodzono do temperatury 5°C w celu wydzielenia produktu ubocznego – bromku potasu. Wytrącony osad odsączono, a przesącz zobojętniono metanolowym roztworem kwasu (4-chloro-2-metylofenoksy)-octowego. Całość mieszano przez 15 minut w temperaturze pokojowej. Po czym odparowano rozpuszczalnik za pomocą wyparki próżniowej i dodano gorący aceton lub mieszaninę aceton – izopropanol w stosunku objętościowym 1 : 1. Osad soli nieorganicznej oraz nieprze-reagowanych substratów odsączono. Z przesączu odparowano rozpuszczalnik, a otrzymany produkt suszono w temperaturze 70°C za pomocą suszarki próżniowej. Gotową herbicydową ciecz jonową umieszczono w eksykatorze próżniowym zaopatrzonym w środek suszący – pentatlenek difosforu.

Etap 1



Etap 2



Analiza protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego

Strukturę otrzymanych związków potwierdzono wykonując widma protonowego oraz węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego w Środowiskowym Laboratorium Unikalnej Aparatury Naukowej działającym przy Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Widma NMR wykonano na spektrometrze Varian model XL 300 przy częstotliwości 300 MHz z tetrametylosilanem, jako standardem wewnętrznym a widma węglowe przy 75 MHz. Jako rozpuszczalnik użyto deuterowany DMSO.

Rozpuszczalność

Badanie rozpuszczalności przeprowadzono według metodyki opracowanej przez Vogela [9]. Dokładną ilość próbki o masie 0,1 g wprowadzono do fiolki i następnie dodano rozpuszczalnik w ilości 1 cm³ przy jednoczesnym energicznym mieszaniu. Jeżeli w temperaturze otoczenia związek nie ulegał rozpuszczeniu w czasie 5 minut, wprowadzano kolejne porcje rozpuszczalnika i powtarzano całą procedurę badania. Proces kontynuowano, aż do momentu dodania 3 cm³ rozpuszczalnika do fiolki. Jako rozpuszczalniki zastosowano: wodę, metanol, izopropanol, toluen, aceton, DMSO, chloroform, acetonitryl, heksan oraz octan etylu. W zależności od ilości wprowadzonego rozpuszczalnika potrzebnego do całkowitego rozpuszczenia substancji określono rozpuszczalność otrzymanego związku, jako dobrze rozpuszczalnego (+) po wprowadzeniu 1 cm³ rozpuszczalnika lub jako średnio rozpuszczalnego (+/-), gdy dodano 3 cm³ rozpuszczalnika. Jeżeli po wprowadzeniu 3 cm³ rozpuszczalnika substancja nie ulegała rozpuszczeniu, związek określono, jako nierozpuszczalny (-).

Temperatura topnienia

Pomiaru temperatury topnienia dokonano za pomocą aparatu kapilarnego Büchi Melting Point B-540. Gradient temperatury, z jakim ogrzewano badane próbki wynosił 1°C/min, natomiast dokładność pomiaru wynosiła ±1°C.

Czystość

Pomiar czystości związku wykonano za pomocą UltiMate 3000 stosując technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej. W tym celu zastosowano kolumnę Hypersil GOLD (długość: 100 mm, średnica: 2,1 mm; rozmiar cząsteczek: 1,9 µm), a jako fazę nośną mieszaninę metanol : woda (w stosunku objętościowym 4 : 1). Zastosowanym detektorem był detektor UV-DAD.

Do określenia czystości wykorzystano metodę krzywej wzorcowej, którą przygotowano dla zakresu stężeń od 50 do 500 mg/dm³ MCPA. Następnie wykonano pomiar dla przygotowanych roztworów cieczy jonowych zawierających anion 4-chloro-2-metylofenoksy-octowym o stężeniu nieprzekraczającym 400 mg/dm³ MCPA. Na podstawie uzyskanych chromatogramów określono czystość badanych cieczy jonowych.

Współczynnik podziału oktanol-woda

0,01 mola badanej substancji o znanej czystości rozpuszczono w 10 cm³ wody destylowanej, następnie całość przelano do rozdzielacza i dodano 10 cm³ n-oktanolu. Tak przygotowaną mieszaninę wytrząsano i pozostawiono na okres 24 godzin w celu rozdzielenia faz i ustalenia równowagi podziału rozpuszczanej substancji. Następnie dla każdego badanego związku pobrano fazę wodną i przygotowano rozcieńczenia w taki sposób, aby stężenie mieściło się w zakresie 350–400 mg/dm³ MCPA, przy czym do obliczeń założono, iż całość rozpuszczonej substancji znajduje się w fazie wodnej. W ostatnim etapie za pomocą techniki HPLC (ang. high-performance liquid chromatography) dokonano pomiaru zawartości MCPA w każdej z przygotowanych próbek.

Współczynnik podziału ze względu na dużą rozpiętość możliwych wyników przedstawiono w postaci logarytmicznej i oblicza się go wg poniższego wzoru.

$$\log P = \log C_{oct} - \log C_w$$

w którym:

C_{okt} – stężenie substancji w fazie oktanolowej,

C_w – stężenie substancji w fazie wodnej.

WYNIKI

W wyniku reakcji czwartorzędowania otrzymano 12 prekursorów cieczy jonowych, które zostały zestawione w tabeli 1.

Tabela 1. Syntezowane dibromki bisamoniowe

Sól	Dibromek	Wydajność [%]	T _m [°C]
1	Dibromek butano-1,4-bis(etanolodimetyloamoniowy)	95	247–249
2	Dibromek heksano-1,6-bis(etanolodimetyloamoniowy)	93	180– 82
3	Dibromek oktano-1,8-bis(etanolodimetyloamoniowy)	93	16 –166
4	Dibromek dekano-1,10-bis(etanolodimetyloamoniowy)	91	207–210
5	Dibromek butano-1,4-bis(etanolodimetyloamoniowy)	95	227–229
6	Dibromek heksano-1,6- bis(etanolodimetyloamoniowy)	94	170–172
7	Dibromek oktano-1,8- bis(etanolodimetyloamoniowy)	95	118–120
8	Dibromek dekano-1,10- bis(etanolodimetyloamoniowy)	92	181–183
9	Dibromek butano-1,4-bis(dietanolodimetyloamoniowy)	96	173–175
10	Dibromek heksano-1,6- bis(dietanolodimetyloamoniowy)	94	155–157
11	Dibromek oktano-1,8- bis(dietanolodimetyloamoniowy)	95	127–129
12	Dibromek dekano-1,10- bis(dietanolodimetyloamoniowy)	91	96–98

T_m – temperatura topnienia.

Wszystkie otrzymane czwartorzędowe dibromki bisamoniowe okazały się białymi, krystalicznymi ciałami stałymi. Produkty reakcji czwartorzędowania otrzymano z wydajnością nie niższą niż 91%. Określono również temperatury topnienia otrzymanych czwartorzędowych dibromków bisamoniowych w celu określenia czystości soli. Wszystkie otrzymane dibromki bisamoniowe charakteryzowały się wysoką czystością, co potwierdzają ostre temperatury topnienia.

W wyniku reakcji wymiany aniony bromkowe zostały wymienione na aniony (4-chloro-2-metylofenoksy)octanowe, które zostały przedstawione w tabeli 2.

Tabela 2. Syntezowane herbicydowe ciecze jonowe

Sól	Nazwa	Symbol	Wydajność [%]	Czystość [%]
13	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) butano-1,4-bis(etanolodimetyloamoniowy)	[DMEA] ₂ [C4] [MCPA] ₂	95	95
14	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) heksano-1,6-bis(etanolodimetyloamoniowy)	[DMEA] ₂ [C6] [MCPA] ₂	94	94
15	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) oktano-1,8-bis(etanolodimetyloamoniowy)	[DMEA] ₂ [C8] [MCPA] ₂	92	95
16	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) dekano-1,10-bis(etanolodimetyloamoniowy)	[DMEA] ₂ [C10] [MCPA] ₂	95	96
17	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) butano-1,4-bis(etanolodietiloamoniowy)	[EDEA] ₂ [C4] [MCPA] ₂	93	94
18	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) heksano-1,6-bis(etanolodietiloamoniowy)	[EDEA] ₂ [C6] [MCPA] ₂	96	98
19	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) oktano-1,8-bis(etanolodietiloamoniowy)	[EDEA] ₂ [C8] [MCPA] ₂	94	94
20	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) dekano-1,10-bis(etanolodietiloamoniowy)	[EDEA] ₂ [C10] [MCPA] ₂	95	93
21	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) butano-1,4-bis(dietanolometyloamoniowy)	[MDEA] ₂ [C4] [MCPA] ₂	97	94
22	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) heksano-1,6-bis(dietanolometyloamoniowy)	[MDEA] ₂ [C6] [MCPA] ₂	94	96
23	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) oktano-1,8-bis(dietanolometyloamoniowy)	[MDEA] ₂ [C8] [MCPA] ₂	93	95
24	Di(4-chloro-2-metylofenoksyoctan) dekano-1,10-bis(dietanolometyloamoniowy)	[MDEA] ₂ [C10] [MCPA] ₂	94	93

Wszystkie otrzymane sole okazały się w temperaturze pokojowej woskami niewykazującymi tendencji do krystalizacji, co pozwoliło zakwalifikować je do cieczy jonowych. Wydajności reakcji były wysokie, każdorazowo przekraczające 90%, natomiast czystość syntezowanych związków z anionem MCPA przekraczała 93%. Dla otrzymanych cieczy jonowych wykonano analizę protonowego i węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego, która potwierdziła strukturę otrzymanych związków.

W tabeli 3 zestawiono wyniki analizy rozpuszczalności dla otrzymanych herbicydowych cieczy jonowych, gdzie „+” oznacza dobrą rozpuszczalność, „+/-” słabą rozpuszczalność, a „-” brak rozpuszczalności.

Według tabeli 3 można zauważyć, iż wszystkie otrzymane ciecze jonowe wykazują analogiczną rozpuszczalność – są dobrze rozpuszczalne w metanolu, DMSO oraz w wodzie, słabo rozpuszczalne w izopropanolu, natomiast nierozpuszczalne w chloroformie, heksanie, acetonitrylu, acetonie, octanie etylu oraz toluenie. Na rozpuszczalność otrzymanych cieczy nie miała wpływu długość łącznika w zastosowanych kationach.

W celu określenia hydrofilowości lub hydrofobowości wyznaczono współczynnik podziału oktanol–woda, którego wyniki badań zestawiono w tabeli 4 oraz na wykresach 1–3.

Tabela 3. Test rozpuszczalności

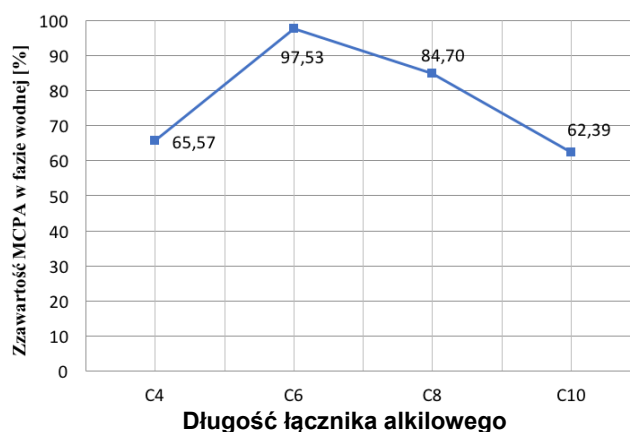
Sól	Metanol	Chloroform	DMSO	Heksan	Woda	Acetonitryl	Aceton	Izopropanol	Octan Etylu	Toluen
13	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
14	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
15	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
16	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
17	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
18	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
19	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
20	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
21	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
22	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
23	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–
24	+	–	+	–	+	–	–	+/-	–	–

Tabela 4. Współczynnik podziału oktanol-woda

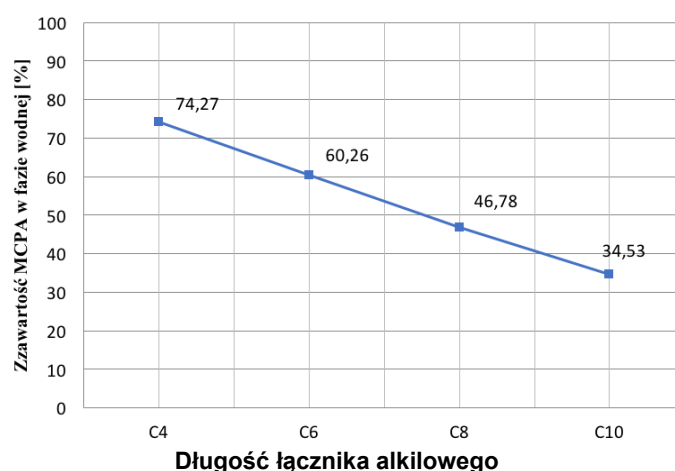
Sól	Całkowite stężenie [mol/dm ³]	Stężenie w fazie wodnej [mol/dm ³]	Stężenie w fazie oktanolowej [mol/dm ³]	Współczynnik podziału log P
13	0,01	0,00656	0,00344	–0,2797
14	0,01	0,00975	0,00025	–1,5967
15	0,01	0,00847	0,00153	–0,7432
16	0,01	0,00624	0,00376	–0,2197
17	0,01	0,00743	0,00257	–0,4603
18	0,01	0,00603	0,00397	–0,1807
19	0,01	0,00468	0,00532	0,0560
20	0,01	0,00345	0,00655	0,2778
21	0,01	0,00942	0,00058	–1,2098
22	0,01	0,00839	0,00161	–0,7154
23	0,01	0,00705	0,00295	–0,3793
24	0,01	0,00567	0,00433	–0,1171

Mniejsze od jedności wartości współczynnika podziału logP otrzymanych związków wyraźnie świadczą o ich hydrofilowym charakterze.

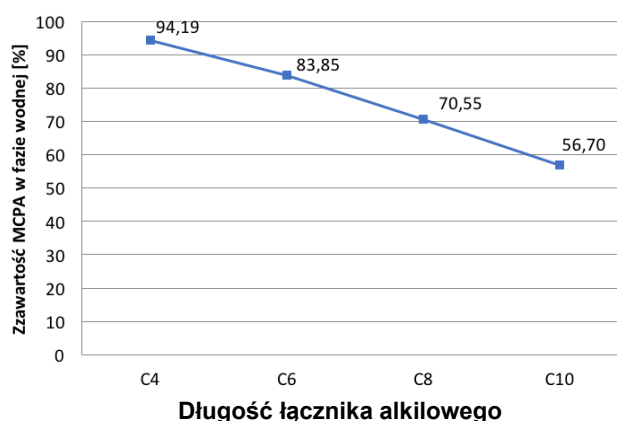
Wykresy 1–3 przedstawiają wpływ długości alkilowego łącznika na zawartość MCPA w fazie wodnej.



Rys. 1. Zależność zawartości MCPA w fazie wodnej dla cieczy jonowej z kationem etanolodimetyloamoniowym w zależności od długości łącznika (13–16)



Rys. 2. Zależność zawartości MCPA w fazie wodnej dla cieczy jonowej z kationem etanolodietylamoniowym od długości łącznika (17–20)



Rys. 3. Zależność zawartości MCPA w fazie wodnej dla cieczy jonowej z kationem dietanolometyloamoniowym w zależności od długości łącznika (21–24)

Dla cieczy jonowych z kationem bis(dietanolometyloamoniowym) oraz bis(dietanoloetyloamoniowym) obserwuje się liniowy spadek zawartości MCPA w fazie wodnej wraz ze wzrostem długości alkilowego łącznika. Natomiast w przypadku cieczy jonowej z kationem bis(etanolodimetyloamoniowym), maksymalną zawartość MCPA odnotowano dla długości łącznika o sześciu atomach węgla, wydłużenie oraz skrócenie łącznika spowodowało spadek zawartości MCPA w fazie wodnej.

WNIOSKI

1. W reakcji czwartorzędowania amin dibromkami otrzymano czwartorzędowe dibromki bisamoniowe o różnej długości łącznika alkilowego. Wydajność reakcji przekroczyła 90%. Otrzymane dibromki są krystalicznymi, białymi ciałami stałymi.
2. Reakcja wymiany anionu nieorganicznego na anion herbicydowy w dibromkach alkanol-1,X-bis(hydroksyalkilowych), przebiega w dwóch etapach z ponad 92% wydajnością.

Czystość soli oscylowała w granicach 93–98%, a wszystkie otrzymane sole okazały się cieczami jonowymi.

3. Otrzymane ciecze jonowe dobrze rozpuszczały się w metanolu, wodzie i DMSO, a w propan-2-olu były średnio rozpuszczalne. Co więcej w chloroformie, heksanie, acetonitrylu, acetonie, octanie etylu oraz toluenie były one nierozpuszczalne.
4. Uzyskane wyniki współczynnika podziału oktanol – woda potwierdzają hydrofilowy charakter otrzymanych cieczy jonowych i obrazują wpływ długości łącznika na ich powinowactwo do wody.

LITERATURA

- [1] Wasserscheid A.P., Welton T. *Ionic Liquids in Synthesis*, ed. 2, Wiley-VCH, Weinheim, (2006).
- [2] McCrary P.D., Rogers R.D. *Chem. Commun.* 48 (2013), 6011.
- [3] Pernak J., Rzemieniecki T., Materna K. *CHEMIK* 70 (2016), 471.
- [4] Hough W.L., Smiglak M., Rodriguez H., Swatloski R.P., Spear S.K., Daly D.T., Pernak J., Griesel J.E., Carliss R.D., Soutullo M.D., Davis Jr. J.H., Rogers R.D. *New J. Chem.*, 31 (2007), 1429.
- [5] Świerczyńska A., Adamska T., Jodynis-Liebert J., Mirska J. *Przem. Chem.*, 89 (2010), 1539.
- [6] Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T. *Tetrahedron* 67 (2011), 4838.
- [7] Menger F.M., Littau C.A. *J. Am. Chem. Soc.*, 115 (1993), 10083.
- [8] Niemczak M., Giszter R., Czerniak K., Marcikowska K., Walkiewicz F. *RSC Adv.* 5 (2015), 15487.
- [9] Vogel A.I., Furniss B.S. *Preparatyka organiczna*, WNT, Warszawa, 2006.

Łukasz KUCHARSKI¹, Anna NOWAK¹, Magdalena TKACZ², Danuta PECHAIKO²,
Joanna ZIELONKA-BRZEZICKA¹, Adam KLIMOWICZ¹

PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNYCH MIODÓW DRAHIMSKICH Z INNYMI MIODAMI DOSTĘPNYMI NA RYNKU

COMPARISON OF ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF DRAHIMSKI HONEYS AS OTHER COMMERCIALY AVAILABLE HONEYS

¹ Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Katedra i Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej, ² Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej PUM

Streszczenie. Miód jest wysoko cenionym produktem odżywczym, wytwarzanym przez pszczoły przede wszystkim z nektaru kwiatowego. Charakteryzuje się wysokimi właściwościami odżywczymi, antyseptycznymi, przeciwzapalnymi oraz immunostymulującymi. Ze względu na cenny skład, w tym zawartość kwasów fenolowych i flawonoidów, wykazuje właściwości antyoksydacyjne [1, 2]. Do badań wykorzystano różne miody wielokwiatowe oraz miód wrzosowy. Miody „Pszczelarz Kozacki”, „Miody Mazurskie” oraz „Miód Wielokwiatowy Dutkowiak” zostały zakupione w hipermarkecie w Szczecinie, natomiast miody: wielokwiatowy wczesnowiosenny, wielokwiatowy z gospodarstwa ekologicznego Juchowo, wielokwiatowy Juchowo Kądzienia oraz wrzosowy zostały dostarczone przez producenta Miody Drahimskie. Ekstrakty do analiz przygotowano rozpuszczając odpowiednią ilość surowca w wodzie destylowanej o temperaturze pokojowej, otrzymując tym samym roztwory miodów o stężeniu 40%. Bezpośrednio po przyrządzeniu próbek, badano ich aktywność antyoksydacyjną z wykorzystaniem metod: DPPH, FRAP, natomiast całkowitą zawartość polifenoli przy użyciu metody Folin-Ciocalteu'a. Aktywność antyoksydacyjna wodnych wyciągów z miodów mieściła się w granicach od $9,51 \pm 0,32\%$ do $43,34 \pm 1,71\%$. Istotnie największą zdolnością zmiatania wolnych rodników wyrażoną jako RSA (%) charakteryzował się miód wrzosowy, natomiast istotnie statystycznie najniższą – miód wielokwiatowy „Miody Mazurskie”. Miód wrzosowy posiadał również najwyższą zdolność całkowitej redukcji jonów żelaza Fe^{3+} ($8,58 \pm 0,15$ mg $FeSO_4$ /g surowca) oraz największą zawartość polifenoli ($3,43 \pm 0,12$ mg kwasu galusowego/g surowca). Wykazano także zależność pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną RSA a ogólną zawartością polifenoli, w przypadku której współczynnik korelacji Pearsona wynosił $r = 0,940$ ($p < 0,001$). Najbardziej cennym miodem, pod względem badanych właściwości, okazał się miód wrzosowy, który charakteryzował się najwyższą aktywnością przeciwutleniającą oraz najwyższą zawartością polifenoli.

Słowa kluczowe: miód, antyoksydanty, DPPH, FRAP, Folin-Ciocalteu'a.

Keywords: honey, antioxidants, DPPH, FRAP, Folin-Ciocalteu'a.

WSTĘP

Miód jest od dawnych czasów wysoko cenionym produktem spożywczym, wytwarzanym przez pszczoły miodne *Apis mellifera*, z nektaru, spadzi oraz soków roślinnych [1]. Oprócz bogatych walorów smakowych i właściwości odżywczych, miód ma działanie antyseptyczne, przeciwzapalne, antyoksydacyjne, przeciwzakrzepowe, stymuluje układ odpornościowy oraz jest łatwo przyswajalny przez organizm człowieka [2, 3]. Pod względem chemicznym, miód jest roztworem cukrów, zawierającym monosacharydy, takie jak glukoza i fruktoza, stanowią-

ce około 77% jego składu, a także oligosacharydy, w tym sacharozę i maltozę [4, 5]. Ze względu na obecność cennych kwasów fenolowych i flawonoidów, produkt ten wykazuje wysokie właściwości antyoksydacyjne, poprzez zdolność powyższych związków do zmiatania wolnych rodników, wiązania jonów metali oraz usuwania reaktywnych form tlenu [6].

Antyoksydanty dzielimy na enzymatyczne i nieenzymatyczne [5]. Wśród tych pierwszych wymienia się peroksydazę glutationową oraz katalazę, natomiast nieenzymatyczne to głównie flawonoidy (kwercetyna, kemferol, luteolina, pinocembryna), kwasy fenolowe (benzoesowy, galusowy, cynamonowy, ferulowy) i ich estry, wolne aminokwasy (głównie prolina), pochodne karotenoidów, a także witaminy E i C [7]. Ponadto przypisuje się im właściwości przeciwzapalne, bakteriobójcze, przeciwalergiczne i przeciwnowotworowe. Fenolokwasy chronią również przed rozwojem cukrzycy i choroby wieńcowej, a flawonoidy, poprzez hamowanie utleniania witaminy C, podwyższają skuteczność jej działania i podobnie jak ona, wzmacniają ściany naczyń krwionośnych [5]. Skład miodu oraz jego właściwości lecznicze zależą przede wszystkim od gatunku rośliny, z której został pobrany nektar, a także stanowiąca jej wzrostu, rodzaju gleby i klimatu. Istotny wpływ ma również sposób przechowywania miodu [4].

Celem badań była ocena właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów wodnych przyrządzonych z miodów wielokwiatowych oraz miodu wrzosowego, zakupionych w hipermarkecie w Szczecinie oraz dostarczonych przez „Stowarzyszenie Producentów Miody Drahimskie”.

METODYKA

2,2-Difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH), kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylchromano-2-karboksylowy (troloks), pochodzący z firmy Sigma Aldrich, USA; siarczan(VI) żelaza(II) heptahydrat i chlorek żelaza(III) heksahydrat, kwas galusowy i odczynnik Folina-Ciocalteu'a były produkcji Merck, Darmstadt, Niemcy; kwas octowy 99,5% węglan sodu bezwodny, octan sodu bezwodny, kwas solny 36%, wszystkie o czystości cz.d.a, pochodziły z firmy Chempur, Piekary Śląskie, Polska.

Miody „Pszczelarz Kozacki” (Tadeusz Kozak, Polska), „Miody Mazurskie” (Tomaszkowo, Polska) oraz „Miód Wielokwiatowy Dutkowiak” (Gospodarstwo Pszczelarskie DUTKOWIAK, Polska) są miodami ogólnodostępnymi na rynku i zostały zakupione w hipermarkecie w Szczecinie, natomiast miody: wielokwiatowy wczesnowiosenny, wielokwiatowy z gospodarstwa ekologicznego Juchowo (Juchowo, Polska), wielokwiatowy Juchowo Kądzelnia (Juchowo, Polska) oraz wrzosowy zostały dostarczone przez producenta Stowarzyszenie Producentów Miody Drahimskie.

Odpowiednią ilość surowca rozpuszczano w wodzie destylowanej o temperaturze pokojowej, w celu otrzymania ekstraktów o stężeniu 40%. Ich aktywności badano bezpośrednio po przyrządzeniu próbek, z wykorzystaniem trzech metod oceny właściwości przeciwutleniających: DPPH, FRAP i Folina-Ciocalteu'a (F-C).

Właściwości antyoksydacyjne oznaczono przy użyciu nieznacznie zmodyfikowanej metody DPPH [8–11]. Pomiaru absorbancji dokonano przy długości fali 517 nm. Jako wzorzec do oznaczeń użyty został etanolowy roztwór troloksu. Sporządzono krzywą wzorcową, na podstawie zawartości nie zredukowanego DPPH w badanej próbce, która jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia antyoksydantu. Dla poszczególnych prób obliczono równoważniki stę-

żeń troloksu jakim odpowiadają badane ekstrakty oraz zdolność do eliminacji wolnych rodników – RSA (radical scavenging activity [%]) korzystając z poniższego wzoru:

$$RSA[\%] = \left(1 - \frac{A_p}{A_0}\right) \cdot 100\%$$

gdzie:

A_p – średnia absorbancja próbki badanej,

A_0 – średnia absorbancję próbki kontrolnej.

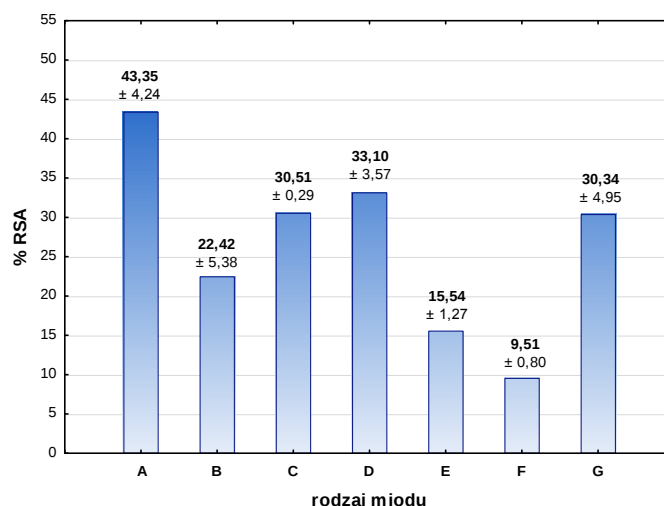
W przypadku metody FRAP analizowano zdolność badanych próbek do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} z kompleksu żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny (TPTZ). Jako materiał wzorcowy został użyty roztwór siarczanu(VI) żelaza(II). Sporządzono krzywą wzorcową przedstawiającą zależność absorbancji $FeSO_4$ od jego stężenia, na podstawie której wyznaczono aktywność jako stężenie $FeSO_4$ w mg/g surowca.

Całkowita zawartość polifenoli została oznaczona przy użyciu nieznacznie zmodyfikowanej metody Folina-Ciocalteu'a [12]. Technika ta wykorzystuje odwracalną reakcję redukcji molibdenu(VI) do molibdenu(V), pierwiastka wchodzącego w skład odczynnika Folina-Ciocalteu'a, który w środowisku zasadowym, w przypadku obecności polifenoli prowadzi do zmiany barwy na niebieską. Krzywą kalibracyjną, na podstawie absorbancji próbek wzorcowych przy długości fali 750 nm, sporządzono stosując jako wzorzec kwas galusowy.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono z zastosowaniem programu Statistica 12 wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Różnice międzygrupowe oceniano testem Tukeya, $n = 3$.

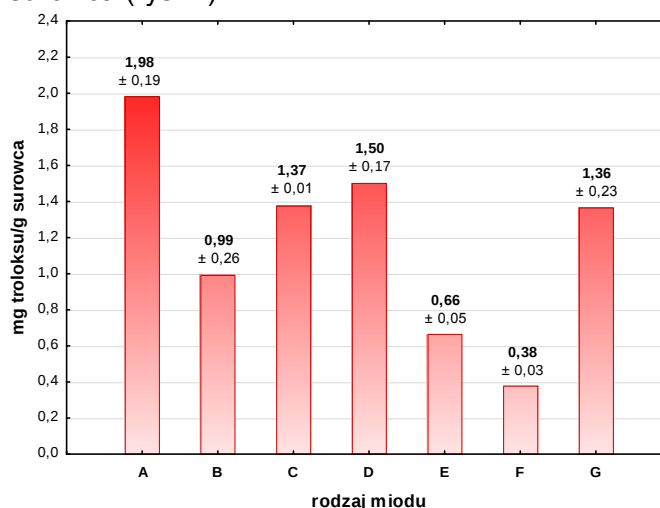
WYNIKI

Na rysunku 1 przedstawiono wyniki pomiarów aktywności antyoksydacyjnej różnych rodzajów miodu metodą DPPH stosując 40% roztwory wodne poszczególnych miodów. Wyniki przedstawiono w postaci wartości średnich $\pm$ odchylenie standardowe (SD). Właściwości przeciwwolnorodnikowe wodnych wyciągów z miodu mierzone metodą DPPH, wyrażone jako RSA %, mieściły się w zakresie od $9,51 \pm 0,32$ do $43,34 \pm 1,71\%$. Istotnie największą zdolnością zmiatania wolnych rodników charakteryzował się miód wrzosowy osiągając wartość $43,34 \pm 1,71\%$, nieco niższą natomiast posiadały miody wielokwiatowe Juchowo KądzIELna Dutkowiak, Juchowo z gospodarstwa ekologicznego – RSA wynosiło odpowiednio $33,10 \pm 1,44$; $30,51 \pm 0,12$ oraz $30,33 \pm 1,91$ RSA %. „Miód Mazurski wielokwiatowy” wykazywał najniższą istotnie statystycznie zdolność przeciwutleniającą, wynoszącą jedynie $9,51 \pm 0,32$ RSA % – rys. 1.



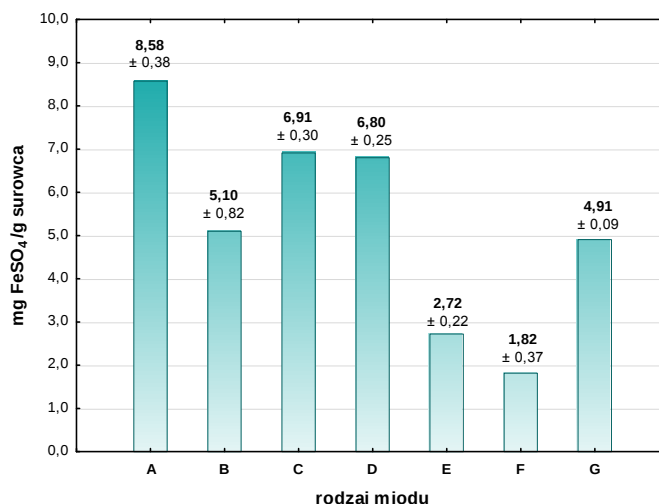
Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca różnych rodzajów miodu, oznaczona metodą DPPH; podane wartości liczbowe dotyczące RSA to średnia arytmetyczna ($\pm$ SD): A – miód wrzosowy, B – wielokwiatowy wczesnowiosenny, C – wielokwiatowy Juchowo Gospodarstwo Ekologiczne, D – wielokwiatowy Juchowo Kądzielnia, E – wielokwiatowy Pszczelarz Kozacki, F – wielokwiatowy Miody Mazurskie, G – wielokwiatowy Dutkowiak

Równoważniki troloksu dla badanych prób przedstawiono na rysunku 2, przy czym zaznaczyć należy, że wystąpiła tutaj podobna tendencja, jak w przypadku współczynnika RSA. Stężenia troloksu, jakim odpowiadają badane próby, mieściły się w granicach od $1,98 \pm 0,08$ do $0,37 \pm 0,02$ mg troloksu/g surowca, przy czym najwyższą istotnie wartość obliczono dla miodu wrzosowego ($1,98 \pm 0,08$ mg troloksu/g surowca), następnie Juchowo Kądzielnia ($1,50 \pm 0,07$ mg troloksu/g surowca), wielokwiatowego Juchowo Gospodarstwo Ekologiczne ($1,37 \pm 0,01$ mg troloksu/g surowca) oraz wielokwiatowego Dutkowiak ($1,36 \pm 0,09$ mg troloksu/g surowca). Najniższą wartość badanego parametru osiągnął miód wielokwiatowy „Miody Mazurskie”, w przypadku którego równoważnik troloksu wyniósł $0,37 \pm 0,02$ mg troloksu/g surowca (rys. 2).



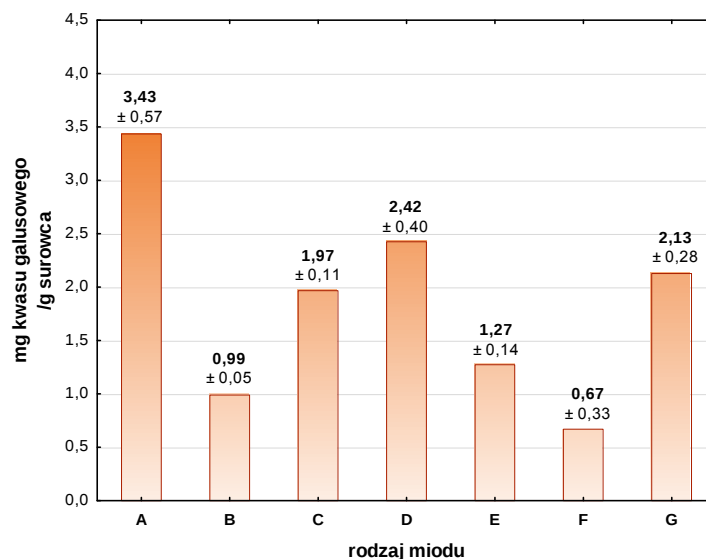
Rys. 2. Aktywność przeciwutleniająca różnych rodzajów miodu, oznaczona metodą DPPH; podane wartości liczbowe przedstawiają równoważniki troloksu (średnia $\pm$ SD): A – miód wrzosowy, B – wielokwiatowy wczesnowiosenny, C – wielokwiatowy Juchowo Gospodarstwo Ekologiczne, D – wielokwiatowy Juchowo Kądzielnia, E – wielokwiatowy Pszczelarz Kozacki, F – wielokwiatowy Miody Mazurskie, G – wielokwiatowy Dutkowiak

Rysunek 3 przedstawia zdolność całkowitej redukcji jonów żelaza Fe^{3+} wyznaczoną metodą FRAP. Miód wrzosowy charakteryzował się istotnie statystycznie najwyższą zdolnością całkowitej redukcji jonów żelaza Fe^{3+} , osiągając wartość $8,58 \pm 0,15$ mg FeSO_4/g surowca, nieco niższe, jednak różniące się istotnie wartości, charakteryzowały miody wielokwiatowe pochodzące z Juchowa Kądzieni (6,80 $\pm$ 0,10 mg FeSO_4/g surowca) oraz z Juchowa gospodarstwa ekologicznego (6,91 $\pm$ 0,12 mg FeSO_4/g surowca). W próbach zawierających miód mazurski wykazano istotnie najniższą zdolność redukcji jonów żelaza Fe^{3+} , jedynie 1,82 $\pm$ 0,14 mg FeSO_4/g surowca (rys. 3).



Rys. 3. Zdolność redukcji jonów żelaza przez różne rodzaje miodów, oznaczona metodą FRAP i wyrażona jako stężenia FeSO_4 (mg FeSO_4/g surowca): A – miód wrzosowy, B – wielokwiatowy wczesnowiosenny, C – wielokwiatowy Juchowo Gospodarstwo Ekologiczne, D – wielokwiatowy Juchowo Kądzienia, E – wielokwiatowy Pszczelarz Kozacki, F – wielokwiatowy Miody Mazurskie, G – wielokwiatowy Dutkowiak

Całkowitą zawartość polifenoli w poszczególnych miodach oznaczoną metodą Folina-Ciocalteu'a przedstawiono na rysunku 4. Podobnie jak w przypadku metody FRAP, istotnie największą ogólną zawartością polifenoli charakteryzował się miód wrzosowy (3,43 $\pm$ 0,12 mg kwasu galusowego/g surowca), następnie miody wielokwiatowe Juchowo Kądzienia, Juchowo gospodarstwo ekologiczne oraz Dutkowiak, w których zawartość polifenoli wynosiła odpowiednio 1,96 $\pm$ 0,04; 2,12 $\pm$ 0,11 oraz 2,42 $\pm$ 0,16 mg kwasu galusowego/g surowca. Miody wielokwiatowy mazurski oraz wielokwiatowy wczesnowiosenny charakteryzowały się istotnie statystycznie najniższą zawartością polifenoli wynoszącą odpowiednio 0,67 $\pm$ 0,13 oraz 0,99 $\pm$ 0,02 mg kwasu galusowego/g surowca (rys. 4).



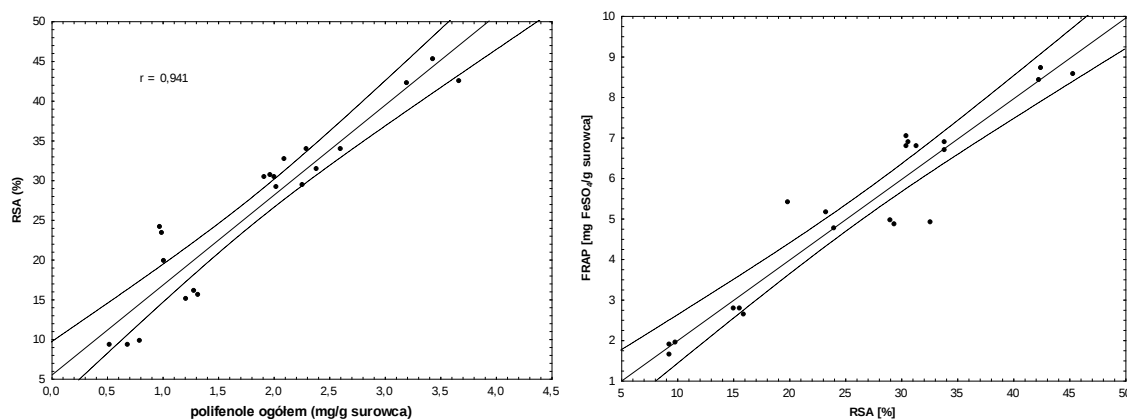
Rys. 4. Zawartości polifenoli w różnych rodzajach miodów, oznaczona przy użyciu metody Folina-Ciocalteu'a, przedstawione jako mg kwasu galusowego/g surowca (średnia $\pm$ SD): A – miód wrzoso-
wy, B – wielokwiatowy wczesnowiosenny, C – wielokwiatowy Juchowo Gospodarstwo Ekologiczne, D – wielokwiatowy Juchowo Kądzelnia, E – wielokwiatowy Pszczelarz Kozacki, F – wielokwiatowy Miody Mazurskie, G – wielokwiatowy Dutkowiak

Korelacja pomiędzy wynikami uzyskanymi badanymi metodami przedstawiono na rysunku 5. Dla ocenianych miodów wykazano liniową zależność pomiędzy całkowitą aktywnością antyoksydacyjną (RSA%) a zdolnością redukcji jonów żelaza Fe^{3+} (FRAP), współczynnik korelacji Pearsona wynosił $r = 0,952$ ($p < 0,001$). Wykazano również wysoce istotną liniową zależność pomiędzy ogólną zawartością polifenoli, mierzoną metodą Folina-Ciocalteu'a, a całkowitą zdolnością antyoksydacyjną (RSA%), w przypadku których współczynnik korelacji Pearsona wynosił $r = 0,941$ ($p < 0,001$) – rys. 5.

DYSKUSJA

Miód, jako cenny surowiec pochodzenia naturalnego, charakteryzuje się właściwościami odżywczymi, leczniczymi oraz profilaktycznymi mającymi znaczący wpływ na poprawę stanu zdrowia. Ze względu na bogaty skład, ma on właściwości antyoksydacyjne, przez co charakteryzuje się zdolnością zmiatania wolnych rodników, odpowiedzialnych między innymi za szereg chorób określanych jako cywilizacyjne [3, 4, 6, 13, 41]. Właściwości antyoksydacyjne miodów mogą być zróżnicowane w zależności od jego rodzaju, czasu zbiórki, a także stanowiska poboru nektaru przez pszczoły [6, 7]. W badaniach własnych podjęto próbę oceny właściwości przeciwutleniających oraz ogólnej zawartości polifenoli miodów różnego pochodzenia z wykorzystaniem metod DPPH, FRAP oraz Folina-Ciocalteu'a, sześciu miodów wielokwiatowych różnego pochodzenia oraz jednego miodu wrzosowego. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, iż najwyższą zdolnością zmiatania wolnych rodników charakteryzował się miód wrzosowy, którego wartość RSA wyrażona w % wynosiła 43,34 i różniła się istotnie statystycznie od miodów wielokwiatowych, gdzie RSA było różnicowane i mieściło się w granicach od 33,10 do 9,51% (rys. 1). Miód wrzosowy charakteryzował się również najwyższą zdolnością do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} mierzoną metodą FRAP, osiągając

wartość 8,58 mg FeSO_4/g surowca (rys. 2). Majewska i in. w przeprowadzonych badaniach informują o nieco niższych aktywnościach antyoksydacyjnych miodu wrzosowego pochodzącego z trzech stanowisk wynoszących średnio 25,01 RSA (%), natomiast w przypadku miodu wielokwiatowego pochodzącego z czterech miejsc na podobnym poziomie wynoszącym średnio 27,79%. Autorka podaje, iż najsilniejszą zdolnością zmiatania wolnych rodników, mierzoną metodą DPPH, charakteryzuje się miód gryczany [6]. Właściwości antyoksydacyjne poszczególnych miodów mogą się różnić, co uzależnione jest przede wszystkim od gatunku rośliny nektarowej, a także stanowiska na którym rośnie. Noor i in. badając właściwości antyoksydacyjne 58 miodów pakistańskich informują o dość wysokiej aktywności antyoksydacyjnej mierzonej metodą DPPH, mieszczącej się w granicach 31,36 do 77,92%. Natomiast Majewska i Trzanek oznaczyli tą samą metodą wodne ekstrakty miodów wielokwiatowych, osiągając wynik na poziomie 26,2 (RSA) [15].



Rys. 5. Korelacja pomiędzy całkowitą zawartością polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą oraz pomiędzy zdolnością do redukcji jonów żelaza a aktywnością przeciwutleniającą roztworów miodów

Związki fenolowe stanowią cenną grupę substancji występujących w miodach pszczelich. Ich ilość jest zmienna i zależy od wielu czynników [6]. Do najcenniejszych związków fenolowych występujących w miodach można zaliczyć polifenole, kwasy fenolowe, antocyjany i procyanidyny. Występują one w miodach w ilości od 0,1 do 100 mg/100 g. Warto zaznaczyć, że do miodu dostają się one z pyłku kwiatowego i nektaru, więc są substancjami pochodzenia roślinnego. Natomiast głównymi fenolokwasami występującymi w produktach pszczelich są kwasy: galusowy, chlorogenowy, abscysynowy, felurowy, kumarynowy, elagowy i kawowy, które mogą znajdować się w różnej proporcji, w zależności od pochodzenia i rodzaju miodu [7].

W badaniach własnych istotnie największą ogólną zawartością polifenoli charakteryzował się miód wrzosowy (3,43 mg/g kwasu galusowego), następnie miody wielokwiatowe (od 0,67 do 2,42 mg/g kwasu galusowego) (rys. 4). Pieszko i in. oraz Majewska podają, iż najwyższą zawartością kwasu galusowego charakteryzuje się miód gryczany, przy czym wskazują oni na istotną zależność pomiędzy zawartością polifenoli a zawartością mikroelementów w miodach. Za bardziej wartościowe miody uważa się ciemne, takie jak gryczane, spadziowe czy wrzosowe [6, 7, 16].

Wysokie właściwości antyoksydacyjne mogą być uzależnione od cennych składników znajdujących się w składzie miodu. W badaniach własnych wykazano wysoką korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną oznaczoną metodą DPPH, a ogólną zawartością polifenoli, współczynnik korelacji Pearsona wynosił $r = 0,941$. Podobne wyniki uzyskała Majewska, badając 12 różnych rodzajów miodów pszczelich, w przypadku których korelacja pomiędzy zdolnością zmiatania rodnika, a zawartością polifenoli wynosiła $r = 0,976$ [6].

WNIOSKI

1. Wodne roztwory badanych miodów charakteryzowały się zróżnicowaną zdolnością antyoksydacyjną, w zależności od rodzaju miodu.
2. Spośród analizowanych miodów, istotnie największą zdolnością zmiatania wolnych rodników, mierzoną metodą DPPH, charakteryzował się miód wrzosowy, który posiadał także najwyższą zdolność redukcji jonów żelaza Fe^{3+} , oznaczoną metodą FRAP.
3. Najbardziej wartościowym miodem, pod względem ogólnej zawartości polifenoli, w porównaniu z miodami wielokwiatowymi, okazał się miód wrzosowy („Stowarzyszenie Producentów Miody Drahimskie”).
4. We wszystkich badanych próbach wykazano istotną zależność pomiędzy ogólną zawartością polifenoli a aktywnością antyoksydacyjną wyrażoną w % RSA.

LITERATURA

- [1] Majewska E., Kowalska J., Jeżewska A. Charakterystyka jakości miodów wielokwiatowych z różnych regionów Polski. *Bromat. Chem. Toksykol.* 43 (2010), 391–397.
- [2] Garczyńska M., Kostecka J. Pszczoły ważne dla zdrowia ekosystemów i człowieka – wybrane argumenty. *Pol. J. Sustain. Develop.* 19 (2015), 21–30.
- [3] Noor N., Sarfraz RA., Ali S., Shahid M. Antitumour and antioxidant potential of some selected Pakistani honeys. *Food Chem.* 143 (2014), 362–366.
- [4] Koszowska A., Dittfeld A., Nowak J., Ziora K. Pszczoły i ich produkty dla zrównoważonego rozwoju roślin, zwierząt i ludzi. *Med. Środ. – Environ. Med.* 16 (2013), 79–84.
- [5] Wantusiak P., Piszcz P., Skwarek M., Głód B. Właściwości antyoksydacyjne miodów wyznaczone metodami chromatograficznymi. *Camera Separatoria* 3 (2) (2011) 297–317.
- [6] Majewska E., Kowalska J., Drużyńska B., Derewiaka D., Ciecierska M. Badanie korelacji pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a zdolnością do dezaktywacji rodników DPPH w wybranych miodach pszczelich. *ABiD* 42(2) (2014), 127–133.
- [7] Wilczyńska A., Przybyłowski P. Charakterystyka związków fenolowych zawartych w miodach. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni* 61 (2009), 33–38.
- [8] Regulska E., Samsonowicz M. Ekstrakty ziołowe w aspekcie zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej, [w:] *Właściwości produktów i surowców żywnościowych*, red. T. Tarko, A. Duda-Chodak, M. Witczak, D. Najgebauer-Lejko]. *Pol. Tow. Technol. Żywn.* 2014, 227–237.
- [9] Ma Z., Cui F., Gao X., Zhang J., Zheng L., Jia L. Purification, characterization, antioxidant activity and anti-aging of exopolysaccharides by *Flammulina velutipes* SF-06. *Antonie van Leeuwenhoek.* 107(1) (2015), 73–82.
- [10] Abderrahim F., Arribas S.M., Gonzalez M.C., Condezo-Hoyos L. Rapid high-throughput assay to assess scavenging capacity index using DPPH. *Food Chem.* 141(2) (2013), 788–794.
- [11] Molyneux P. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2) (2004), 211–219.
- [12] Tan Y-S., Baskaran A., Nallathamby N., Chua K-H., Kuppusamy U.R., Sabaratnam V. Influence of customized cooking methods on the phenolic contents and antioxidant activities of selected species of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *J. Food Sci. Technol.* 52(5) (2015), 3058–3064.

- [13] Kolayli S., Can Z., Yildiz O., Sahin H., Karaoglu S. A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physiological properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys. *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* 31 (2016), 96–104.
- [14] Gašić U., Kečkeš S., Dabić D., Trifković J., Milojković-Opsenica D., Natić M., Tešić Z. Phenolic profile and antioxidant activity of Serbian polyfloral honeys. *Food Chem.* 145 (2014), 599–607.
- [15] Majewska E., Trzanek J. Właściwości przeciwutleniające miodów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. *Bromat. Chem. Toksykol.* 42(4) (2009), 1089–1094.
- [16] Pieszko C., Grabowska J., Jurek N. Oznaczenie polifenoli wybranych pierwiastków w kawie, herbacie i miodach. *Bromat. Chem. Toksykol.* 48 (2015), 653–659.

Joanna LECHOWSKA, Rafał RAKOCZY

ANALIZA WPŁYWU WIRUJĄCEGO POLA MAGNETYCZNEGO NA HYDRODYNAMIKĘ REAKTORA AIR-LIFT

ANALYSIS OF INFLUENCE OF ROTATING MAGNETIC FIELD ON HYDRODYNAMICS IN AIR-LIFT REACTOR

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesów Ochrony Środowiska

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań wykazujących wpływ wirującego pola magnetycznego (WPM) na dwa parametry hydrodynamiczne (czas mieszania i prędkość cieczy) w reaktorze air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. Do zmiennych parametrów procesowych należała częstotliwość wirującego pola magnetycznego i prędkość pozorną gazu w strefie wznoszącej. W celu wyznaczenia wartości badanych parametrów zastosowano metodę typu bodziec-odpowiedź. Przeprowadzone badania wykazały efektywność oddziaływania wirującego pola magnetycznego na czas mieszania i prędkość cieczy. Zastosowanie wyższych częstotliwości WPM pozwoliło na osiągnięcie bardziej efektywnego procesu mieszania w reaktorze.

Słowa kluczowe: reaktor air-lift, wirujące pole magnetyczne (WPM), hydrodynamika.

Keywords: air-lift reactor, rotating magnetic field (RMF), hydrodynamics.

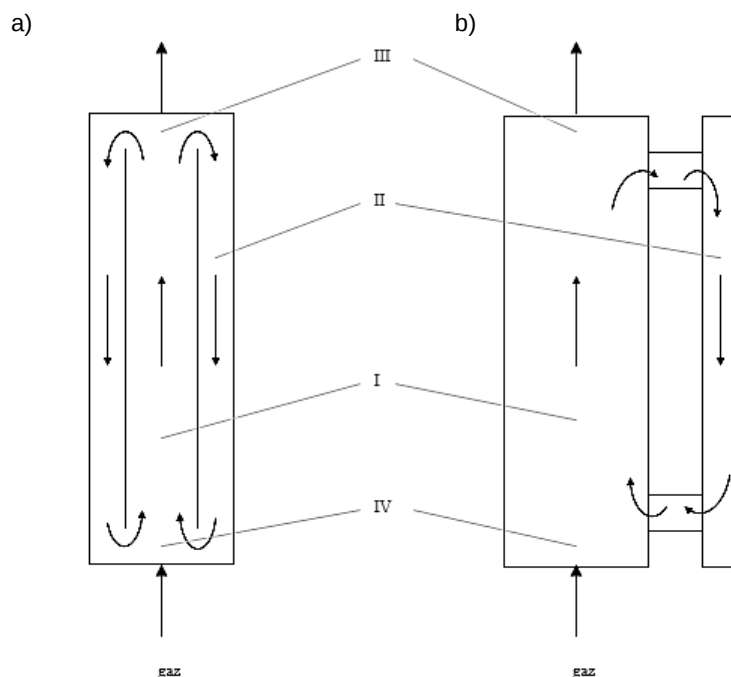
WSTĘP

Począwszy od lat 50. XX wieku, reaktory air-lift charakteryzują się szerokim zastosowaniem w wielu dziedzinach inżynierii procesowej. Aparaty te należą do grupy reaktorów barbotażowych, w których cyrkulacja płynów realizowana jest dzięki specyficznej budowie reaktora. W grupie reaktorów air-lift wyróżniono dwa podstawowe typy konstrukcyjne: reaktory z zewnętrzną i wewnętrzną cyrkulacją cieczy. Natomiast w obu typach aparatów wyróżniane są cztery podstawowe strefy hydrodynamiczne: wznosząca, opadająca, separacji oraz przydenna (rys. 1) [1].

Energia dostarczana jest do aparatu za pośrednictwem strumienia gazu, wprowadzanego poprzez dystrybutor znajdujący się w strefie wznoszącej. Faza ciekła, cechująca się wysokim stopniem zatrzymania gazu w strefie wznoszącej, jest transportowana do strefy separacji, gdzie następuje odgazowanie cieczy. Następnie częściowo bądź całkowicie odgazowana ciecz przepływa do strefy opadającej, gdzie ruch płynów skierowany jest w dół. Za pośrednictwem łącznika dolnego media procesowe recyrkulują do strefy wznoszącej. Siłą napędową procesu cyrkulacji w reaktorze air-lift jest różnica ciśnień hydrostatycznych (oraz różnica gęstości i wartości stopni zatrzymania gazu w cieczy – tzw. hold-up) w obu pionowych strefach reaktora [2].

Kolumny air-lift charakteryzują się szeregiem zalet do których należą przede wszystkim: brak części ruchomych, uzyskiwanie niższych wartości naprężeń ścinających w porównaniu

z mieszalnikami mechanicznymi oraz dobre rozwinięcie powierzchni międzyfazowej [2]. Przyczyniło się to do zastosowania reaktorów air-lift w typowych procesach inżynierii chemicznej oraz biotechnologii, takich jak produkcja celulozy bakteryjnej [3], procesy absorpcji [4], produkcja kwasu giberelinowego [5] i glukonowego [6], biodegradacja fenolu [7] oraz produkcja antybiotyków [8].



Rys. 1. Reaktor air-lift: a) z wewnętrzną cyrkulacją cieczy; b) z zewnętrzną cyrkulacją cieczy; I – strefa wznoszenia; II – strefa opadania; III – strefa separacji; IV – strefa przydenna

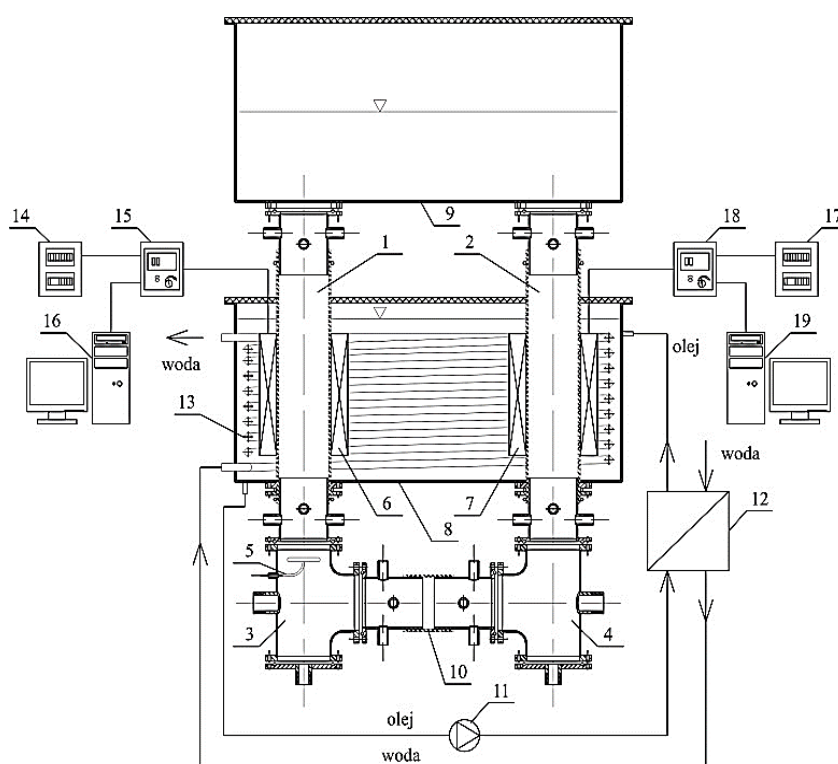
Prowadzenie procesów w obecności zewnętrznych pól siłowych (pole magnetyczne i elektryczne, ultradźwięki i mikrofały) stanowi interesującą i intensywnie rozwijającą się dziedzinę inżynierii chemicznej i procesowej. Do najczęściej stosowanych rodzajów pól magnetycznych należy pole stałe i zmienne [9]. Dotychczas prezentowano w literaturze zaledwie kilka prac związanych z zastosowaniem zewnętrznego pola magnetycznego w układach, których głównym elementem jest reaktor air-lift. Hristov [10] zaprezentował pracę w której opisano wpływ pola magnetycznego na hydrodynamikę trójfazowego reaktora air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. Al-Qodah i Al-Hassan [11] wskazali oddziaływanie poprzecznego pola magnetycznego na wartości hold-up i współczynnika wnikania masy w trójfazowym reaktorze air-lift. W dalszych pracach Al-Qodah i Lafi [8] zaprezentowali opracowanie modelu opisującego proces produkcji antybiotyków w reaktorze air-lift wspomaganym magnetycznie. Raja Rao i in. [12] w swojej pracy wykazali, że zastosowanie zewnętrznego pola magnetycznego wpływa na zwiększenie szybkości degradacji fenolu i wzrost mikroorganizmów w kolumnie barbotażowej i reaktorze air-lift z wewnętrzną cyrkulacją cieczy.

Poszukiwanie skutecznych metod intensyfikacji procesów wpłynęło na zastosowanie wirującego pola magnetycznego (WPM) w licznych procesach w dziedzinie chemii i biotechnologii [9]. Prace doświadczalne prezentowane w literaturze przedmiotu wskazują, że WPM może z powodzeniem stanowić alternatywę do mieszania mechanicznego [13].

W ramach pracy zaprezentowano badania pozwalające na określenie wpływu wirującego pola magnetycznego (częstotliwości i położenia generatorów) oraz pozornej prędkości liniowej gazu na prędkość cieczy i czas mieszania w reaktorze air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy.

BADANIA DOŚWIADCZALNE

Badania przedstawione w pracy zostały wykonane przy użyciu aparatury przedstawionej na rysunku 2.



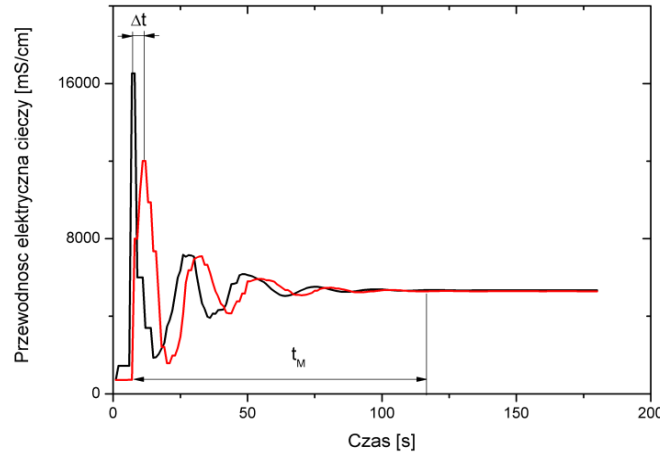
Rys. 2. Schemat aparatury badawczej: 1 – strefa wznoszenia, 2 – strefa opadania, 3, 4 – trójniki, 5 – dystrybutor gazu, 6, 7 – stojan WPM, 8 – komora, 9 – strefa separacji, 10 – łącznik dolny, 11 – pompa, 12 – wymiennik ciepła, 13 – węzownica, 14, 17 – skrzynka elektryczna, 15, 18 – przetwornik częstotliwości, 16, 19 – komputer

Głównym elementem układu pomiarowego jest reaktor air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. Badania eksperymentalne prowadzone były w układzie woda wodociągowa–powietrze. Średnica wewnętrzna strefy wznoszącej i opadającej wynosi 0,102 m, natomiast ich wysokość wynosi 0,94 m. Wysokość poziomu cieczy w komorze strefy separacji wynosiła 0,05 m. Natężenie przepływu strumienia powietrza zmieniane było w zakresie od 2 do 14 $\text{dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, co odpowiadało prędkości liniowej strumienia powietrza w strefie wznoszącej w zakresie od 0,004 do 0,0285 $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Charakterystyki hydrodynamiczne aparatu wyznaczone zostały za pomocą metody znacznikowej. Jako traser zastosowano 300 ml nasyconego roztworu chlorku sodu, który podawany był na powierzchnię strefy opadającej. Zmiany przewodnictwa elektrycznego cieczy były mierzone z użyciem sond konduktometrycznych i rejestrowane za pomocą mierni-

ków wielofunkcyjnych CX-701. Sondy umieszczone były w górnej i dolnej części strefy opadającej oraz znajdowały się w odległości wynoszącej 0,65 m.

Czas mieszania (t_M) i prędkość cieczy (U_{LD}) wyznaczano na podstawie krzywych odpowiedzi trasera (przykład na rys. 3), które opracowano wykorzystując uzyskane dane doświadczalne.



Rys. 3. Krzywa odpowiedzi trasera

Przyjęto, że czas mieszania to czas, po którym osiągnięto 99% homogeniczności w układzie. W celu wyznaczenia wartości czasu mieszania, w pierwszym kroku uzyskane wartości zmian przewodności elektrycznej cieczy zostały znormalizowane za pomocą zależności (1):

$$C_i = \frac{C(t) - C_0}{C_\infty - C_0} \quad (1)$$

gdzie:

$C(t)$ – przewodność elektryczna cieczy w chwili t ,

C_∞ – maksymalna wartość przewodności elektrycznej,

C_0 – początkowa wartość przewodności elektrycznej cieczy, $i = 1, 2$.

Uzyskane wartości można przedstawić w postaci zależności logarytmu wariancji zmian przewodności elektrycznej cieczy, zarejestrowanych przez sondy pomiarowe w funkcji czasu. W celu określenia zmienności homogeniczności w całym układzie pomiarowym, w którym zmiany przewodności rejestrowane były za pomocą dwóch sond konduktometrycznych, zdefiniowana została zależność (2):

$$\log \sigma^2 = \log \left\{ \frac{1}{2} [(C_1 - 1)^2 + (C_2 - 1)^2] \right\} \quad (2)$$

gdzie:

C_1 i C_2 – znormalizowane wartości przewodności elektrycznej cieczy zarejestrowane przez sondy pomiarowe.

Natomiast prędkość cieczy została wyznaczona jako stosunek odległości pomiędzy sondami pomiarowymi (0,65 m) oraz interwału czasu pomiędzy dwoma sąsiednimi pikami zare-

jestrowanymi przez dwie sondy w strefie opadającej i przedstawionymi na krzywej odpowiedzi trasera (rys. 3). Równanie opisujące prędkość cieczy ma następującą postać:

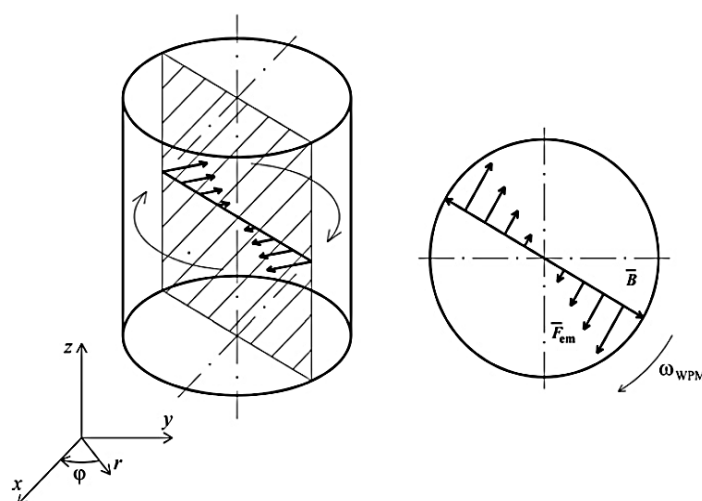
$$U_{LD} = \frac{\Delta S}{\Delta t} \quad (3)$$

gdzie:

Δs – odległość między sondami konduktometrycznymi,

Δt – interwał czasu pomiędzy sąsiednimi pikami na krzywej odpowiedzi trasera.

W ramach badań analizowano efekt oddziaływania wirującego pola magnetycznego (częstotliwości i położenia generatorów) na czas mieszania i prędkość cieczy w reaktorze air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. Wirujące pole magnetyczne może być generowane za pomocą wirującego elektromagnesu zasilanego prądem stałym bądź nieruchomego uzwojenia zasilanego prądem wielofazowym [9]. W przypadku prezentowanych badań, jako generatory WPM zostały zastosowane stojany trójfazowych asynchronicznych silników elektrycznych, które znajdowały się w otoczeniu strefy wznoszącej i opadającej reaktora. WPM należy do grupy poprzecznych pól magnetycznych, którego oddziaływanie na płyn przewodzący powoduje ruch w kierunku obwodowym. Linie pola magnetycznego $\vec{B}$ wirują z prędkością kątową ω_{WPM} w kierunku poziomym, natomiast prostopadle do wektora indukcji generowane jest pole elektryczne. Wynikiem wzajemnego oddziaływania pola magnetycznego i elektrycznego jest wytworzenie siły elektromagnetycznej $\vec{F}_{em}$. Sposób oddziaływania WPM na płyn został zobrazowany na rysunku 4 [9].



Rys. 4. Graficzna prezentacja oddziaływania WPM na płyn

Realizując badania eksperymentalne zmieniano częstotliwość generowanego wirującego pola magnetycznego f w zakresie 0–50 Hz. Częstotliwość ta była zależna od częstotliwości prądu zasilającego generator.

Zastosowane wirujące pole magnetyczne charakteryzowało się niejednorodnością rozkładu wartości indukcji magnetycznej w przestrzeni. Pomiary indukcji magnetycznej zostały wykonane za pomocą hallotronowych czujników pola magnetycznego, w punktach pomiaro-

wych rozmieszczonych wzdłuż wysokości i promienia generatora, dla zmiennych wartości częstotliwości WPM. Graficzny rozkład indukcji magnetycznej został przedstawiony w układzie współrzędnych bezwymiarowych, określających bezwymiarowy promień R^* (4) oraz wysokość żłobków generatora H^* (5):

$$R^* = \frac{r}{R} \quad (4)$$

$$H^* = \frac{h}{H} \quad (5)$$

gdzie:

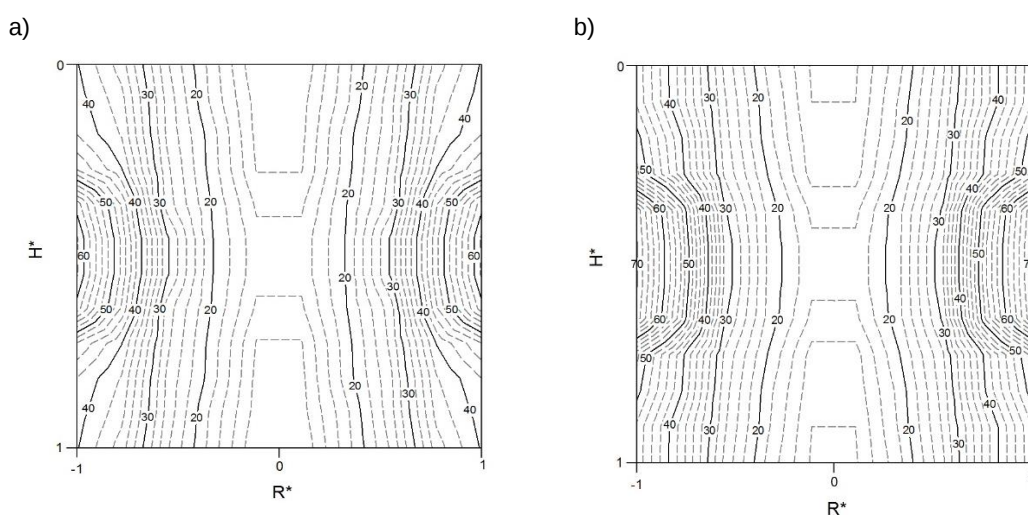
r – punkt pomiarowy wzdłuż promienia generatora,

R – promień generatora WPM,

h – punkt pomiarowy wzdłuż wysokości generatora,

H – wysokość generatora WPM.

Przykładowe wykresy przedstawiające uzyskane wartości indukcji pola magnetycznego w płaszczyźnie dwuwymiarowej zostały zaprezentowane na rysunku 5.



Rys. 5. Przestrzenny rozkład wartości indukcji wirującego pola magnetycznego wewnątrz generatora dla: a) $f = 10$ Hz, b) $f = 50$ Hz

WYNIKI BADAŃ

Jak wspomniano, cyrkulacja cieczy w reaktorze air-lift jest rezultatem różnicy wartości zatrzymania gazu w cieczy w poszczególnych strefach reaktora, specjalnej konstrukcji aparatu oraz dostarczenia energii ze strumieniem gazu wprowadzanego do strefy wznoszącej za pośrednictwem dystrybutora gazu.

Intensywność cyrkulacji cieczy ma istotny wpływ na współczynniki wymiany ciepła i masy, wielkość naprężeń ścinających (stanowiących jeden z kluczowych czynników w przypadku hodowli komórkowych realizowanych w bioreaktorach) oraz osiągnięcie wystarczającej homogeniczności mieszanki cieczowo-gazowej. Czas mieszania stanowi często stosowany parametr umożliwiający porównanie jakości procesu mieszania w różnych aparatach. Jak

podaje Chavez i in. [14], na proces mieszania w reaktorze air-lift składają się dwa rodzaje zjawisk: mieszanie wsteczne wynikające z recyrkulacji płynów oraz dyspersja osiowa w strefie wznoszącej i opadającej, będąca konsekwencją turbulencji przepływu wewnątrz reaktora oraz różnicy w prędkości przepływu poszczególnych faz.

Dane eksperymentalne uzyskane w prezentowanych badaniach zostały przedstawione w funkcji prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej U_{GR} , która została wyznaczona na podstawie znajomości natężenia przepływu strumienia gazu oraz pola przekroju poprzecznego przewodu stanowiącego strefę wznoszącą reaktora. Wartości czasu mieszania i prędkości cyrkulacji cieczy w reaktorze air-lift wspomaganym wirującym polem magnetycznym zostały opisane równaniami ogólnymi, często prezentowanymi w literaturze [2], postaci (6, 7):

$$t_m = p_1 U_{GR} p_2 \quad (6)$$

$$U_{LD} = p_2 U_{GR} p_4 \quad (7)$$

gdzie:

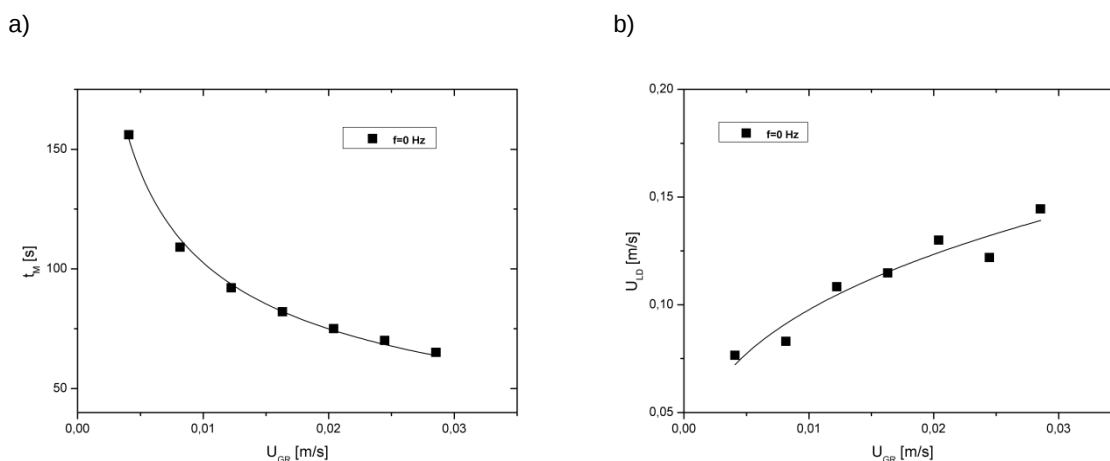
t_m – czas mieszania,

U_{GR} – prędkość pozorna gazu w strefie wznoszącej,

U_{LD} – prędkość cieczy,

p_1, p_4 – parametry.

Na rysunku 6 przedstawiono uzyskane wartości czasu mieszania i prędkości cieczy w reaktorze air-lift, w przypadku braku oddziaływania wirującego pola magnetycznego na procesy przebiegające w reaktorze.

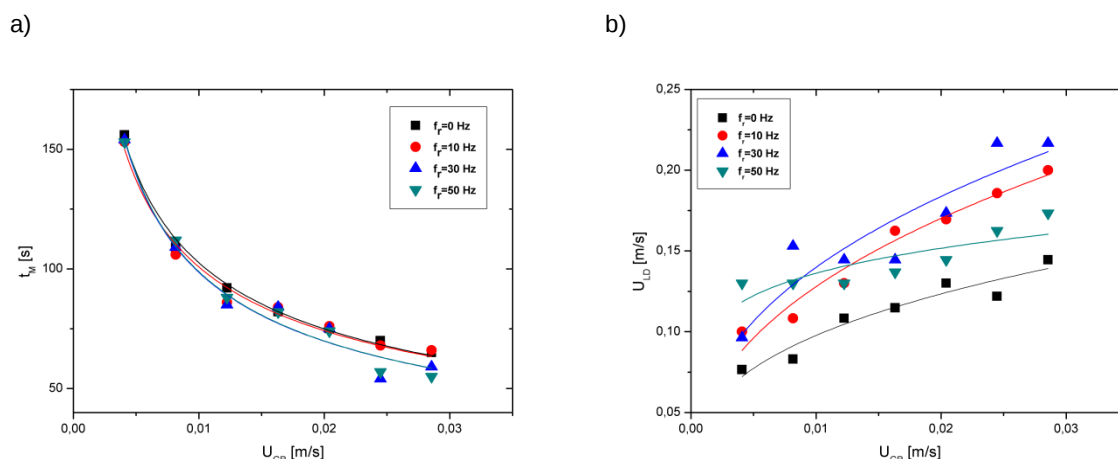


Rys. 6. Zależność: a) czasu mieszania, b) prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej, w sytuacji braku ekspozycji wirującego pola magnetycznego

Analizując powyższe wykresy wyraźnie widoczna jest silna zależność badanych parametrów hydrodynamicznych – czasu mieszania i prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej.

Głównym celem prezentowanych badań było rozpatrzenie wpływu częstotliwości i położenia generatorów WPM w badanym układzie na zjawiska hydrodynamiczne w reaktorze

air-lift. Na rysunku 7 przedstawiono wykresy zależności czasu mieszania i prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej w przypadku, gdy WPM było generowane oddziałując na procesy zachodzące w strefie wznoszącej. Na rysunku przedstawiono używane wartości parametrów dla zmiennej częstotliwości WPM w granicach 0–50 Hz.



Rys. 7. Zależność a) czasu mieszania, b) prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej, w przypadku ekspozycji WPM w strefie wznoszącej

Uzyskane dane doświadczalne wskazują na wpływ częstotliwości wirującego pola magnetycznego na czas mieszania i prędkość cieczy w reaktorze air-lift. Oddziaływanie wirującego pola magnetycznego na parametry hydrodynamiczne jest wyraźniej widoczne w przypadku wartości prędkości cieczy niż czasu mieszania. Analizując dane na rysunku 7b stwierdzono, że ekspozycja WPM w strefie wznoszącej powoduje znaczny wzrost prędkości cieczy w stosunku do wartości U_{LD} bez ekspozycji pola magnetycznego.

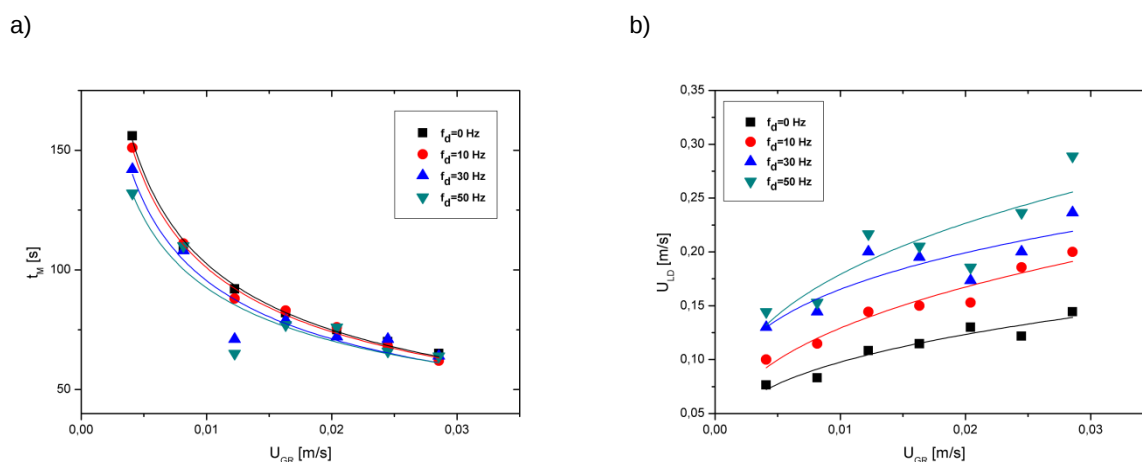
W tabeli 1 zestawiono wartości parametrów równań (6 i 7) opisujących wartości czasu mieszania i prędkości cieczy podczas ekspozycji WPM w strefie wznoszącej.

Tabela 1. Parametry równania opisującego zależność czasu mieszania i prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w przypadku ekspozycji WPM w strefie wznoszącej

Częstotliwość WPM	Czas mieszania		
	współczynnik p_1	współczynnik p_2	R^2
0 Hz	12,70	−0,45	0,955
10 Hz	13,12	−0,45	0,981
30 Hz	9,95	−0,49	0,969
50 Hz	9,89	−0,49	0,982
Częstotliwość WPM	Prędkość cieczy		
	współczynnik p_3	współczynnik p_4	R^2
0 Hz	0,46	0,34	0,911
10 Hz	0,85	0,41	0,953
30 Hz	0,86	0,39	0,813
50 Hz	0,28	0,16	0,600

R^2 – współczynnik determinacji.

Uzyskane wartości czasu mieszania i prędkości cieczy dla zmiennych wartości prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej, w przypadku ekspozycji wirującego pola magnetycznego w strefie opadającej, zostały przedstawione na rysunku 8. Podobnie częstotliwości WPM zmieniane były w zakresie 0–50 Hz.



Rys. 8. Zależność: a) czasu mieszania, b) prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej, w przypadku ekspozycji WPM w strefie opadającej

Analogicznie do danych przedstawionych na rysunkach 7a i 7b, w przypadku ekspozycji wirującego pola magnetycznego w strefie opadającej stwierdzono wpływ WPM na czas mieszania i prędkość cieczy. Oddziaływanie WPM powoduje spadek czasu mieszania oraz intensywny wzrost prędkości cieczy ze wzrostem częstotliwości WPM.

Współczynniki równań (6, 7) linii regresji prezentowanych na rysunku 8, opisujących zależność mierzonych charakterystyk hydrodynamicznych od prędkości pozornej gazu w strefie wznoszącej, dla zmiennych wartości częstotliwości WPM w strefie opadającej, zostały zestawione w tabeli 2.

Tabela 2. Parametry równania opisującego zależność czasu mieszania i prędkości cieczy od prędkości pozornej gazu w przypadku ekspozycji WPM w strefie opadającej

Częstotliwość WPM	Czas mieszania		
	współczynnik p_1	współczynnik p_2	R^2
0 Hz	12,70	–0,45	0,955
10 Hz	12,95	–0,45	0,994
30 Hz	13,48	–0,43	0,914
50 Hz	15,03	–0,43	0,839
Częstotliwość WPM	Prędkość cieczy		
	współczynnik p_3	współczynnik p_4	R^2
0 Hz	0,46	0,34	0,911
10 Hz	0,72	0,37	0,923
30 Hz	0,57	0,37	0,705
50 Hz	0,85	0,34	0,682

R^2 – współczynnik determinacji.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Na podstawie przedstawionych danych widoczny jest wyraźny wpływ prędkości podawania strumienia gazu do reaktora na badane parametry hydrodynamiczne. Jak podają Merchuk i in. [15], wzrost prędkości U_{GR} powoduje, że większa ilość pęcherzy gazowych jest porywana wraz ze strumieniem cieczy przepływającej przez strefę separacji. W takich warunkach wzrasta również prędkość cyrkulacji w reaktorze. Natomiast Zhang i in. [16] wykazali, że czas mieszania osiąga niższe wartości ze wzrostem prędkości strumienia gazu, ponieważ jednocześnie wzrasta siła napędowa procesu cyrkulacji, następuje zwiększenie burzliwości przepływu i homogeniczności mieszaniny gaz-ciecz w reaktorze. W prezentowanych danych doświadczalnych potwierdzono, że prędkość podawania gazu w strefie wznoszącej ma istotny wpływ na wartości badanych parametrów hydrodynamicznych i strukturę przepływu mieszaniny gaz-ciecz w poszczególnych strefach reaktora air-lift. Zarówno prędkość cieczy, jak i czas mieszania (stanowiący ilościowy opis procesu mieszania) stanowią zmienne zależne procesu zachodzącego w reaktorze air-lift, ponieważ silnie zależą od natężenia przepływu strumienia gazu.

Prezentowane wyniki badań doświadczalnych potwierdziły wpływ wirującego pola magnetycznego na procesy zachodzące w reaktorze air-lift z zewnętrzną cyrkulacją cieczy. Wykazano spadek czasu mieszania oraz wzrost prędkości cieczy ze wzrostem intensywności generowanego pola magnetycznego. Stwierdzono również, że ekspozycja WPM może stanowić nowoczesny, efektywny i bezinwazyjny sposób mieszania, zapewniający poprawę homogeniczności składników mieszaniny dwufazowej gaz-ciecz w reaktorze.

Analizując dane przedstawione na rysunkach 7b i 8b zauważono różnicę w sposobie wpływu częstotliwości WPM na wartości prędkości cieczy. Prawdopodobne, że przyczyną takich rezultatów jest różnica w strukturze przepływu płynów w strefie wznoszącej i opadającej. Strefa wznosząca charakteryzuje się tym, że znaczna część przekroju poprzecznego kolumny jest zajmowana przez strumień gazu podawany u dołu przewodu. Zatem przepływ w strefie wznoszącej cechuje się znaczną burzliwością wynikającą z dużej energii kinetycznej wprowadzanego strumienia gazu oraz obecnością pęcherzy gazowych. Mieszanina przepływająca w strefie opadającej, po częściowym bądź całkowitym odgazowaniu w strefie separacji, charakteryzuje się mniejszą zawartością fazy gazowej i łagodniejszym przepływem, zatem wpływ wirującego pola magnetycznego jest bardziej widoczny.

LITERATURA

- [1] Grzywacz R. Właściwości stacjonarne bioreaktorów barbotażowych typu air-lift. Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, Kraków 2012.
- [2] Chisti M.Y. Air-lift bioreactors. Elsevier Science Publishers LTD, 1989.
- [3] Chao Y., Ishida T., Sugano Y., Shoda M. Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L internal-loop air-lift reactor. *Biotechnol. Bioenginee.* 68(3) (2000), 345–352.
- [4] Bekassy-Molnar E., Marki E., Majeed J.G. Sulphur dioxide absorption in air-lift-tube absorbers by sodium citrate buffer solution. *Chem. Enginee. Process.* 44 (2005), 1039–1046.

- [5] Chavez-Parga M.C., Gonzalez-Ortega O., Negrete-Rodriguez M.I.X., Medina-Torres L., Silva E.M.E. Hydrodynamics, mass transfer and rheological studies of gibberellic acid production in an air-lift bioreactor. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23 (2007), 651–623.
- [6] Sikula I., Jurascik M., Markos J. Modeling of fermentation in an internal loop air-lift bioreactor. *Chem. Enginee. Sci.* 62 (2007), 5316–5221.
- [7] Jia X., Wen J., Jiang Y., Liu X., Feng W. Modeling of batch phenol biodegradation in internal loop air-lift bioreactor with gas recirculation by *Candida tropicalis*. *Chem. Enginee. Sci.* 61 (2006), 3463–3475.
- [8] Al-Qodah Z., Lafi W. Modeling of antibiotics production in magneto three-phase air-lift fermenter. *Biochem. Enginee. J.* 7 (2001), 7–16.
- [9] Rakoczy R. Analiza teoretyczno-doświadczalna wpływu wirującego pola magnetycznego na wybrane operacje i procesy inżynierii chemicznej. Wydaw. Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, Szczecin 2011.
- [10] Hristov J. External loop airlift with magnetically controlled liquid circulation. *Pow. Technol.* 129 (2005), 180–194.
- [11] Al-Qodah Z., Al-Hassan M. Phase holdup and gas-to-liquid mass transfer coefficient in magneto stabilized G-L-S airlift fermenter. *Chem. Enginee. J.* 79 (2000), 41–52.
- [12] Raja Rao T.B.M.L., Sonolikar R.L., Pentu Saheb S. Influence of magnetic field on the performance of bubble columns and airlift bioreactor with submersed microorganisms. *Chem. Enginee. Sci.* 52 (1997), 4155–4160.
- [13] Rakoczy R., Przybył A., Kordas M., Konopacki M., Drozd R., Fijałkowski K. The study of influence of a rotating magnetic field on mixing efficiency. *Chem. Enginee. Process.: Process Inten.* 112 (2016), 1–8.
- [14] Chavez-Parga M.C., Gonzalez-Ortega O., Negrete-Rodriguez M.I.X., Medina-Torres L., Silva E.M.E. Hydrodynamics, mass transfer and rheological studies of gibberellic acid production in an airlift bioreactor. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23 (2007), 651–623.
- [15] Merchuk J.C., Contreras A., Garcia F., Molina E. Studies of mixing in a concentric tube airlift bioreactor with different spargers. *Chem. Enginee. Sci.* 53 (1998), 709–719.
- [16] Zhang W., Yong Y., Zhang G., Yang Ch., Mao Z. Mixing characteristics and bubble behavior in an airlift internal loop reactor with low aspect ratio. *Fluid Dynam. Trans. Phenom.* 22 (2014), 611–621.

Edyta MAKUCH, Agnieszka WRÓBLEWSKA, Monika RETAJCZYK

WPŁYW CZASU PROWADZENIA EKSTRAKCJI NIEROZWINIĘTYCH PĄKÓW KWIATOWYCH DRZEWA GOŹDZIKOWCA WONNEGO NA ZAWARTOŚĆ SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH W EKSTRAKTACH ETANOLOWYCH

THE INFLUENCE OF THE EXTRACTION TIME OF NOT DEVELOPED FLOWER BUDS OF FRAGRANT CLOVE TREE ON THE CONTENT OF THE BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS IN ETHANOL EXTRACTS

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii
Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

Streszczenie. W ramach niniejszej pracy przeprowadzono ekstrakcję nierozwiniętych pąków kwiatowych goździkowca wonnego, metodą pod ciśnieniem atmosferycznym oraz w etanolu jako rozpuszczalniku. Proces prowadzono w aparaturze szklanej, składającej się z reaktora szklanego o pojemności 500 cm³ zaopatrzonego w termometr i w chłodnicę zwrotną, przez 3000 minut. W trakcie trwania procesu z reaktora szklanego pobierano próbki, które następnie identyfikowano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Do analiz zastosowano aparat TRACE GC series z detektorem masowym VOYAGER i kolumną kapilarną DB5. Uzyskane wyniki badań pokazały, że ekstrakcja nierozwiniętych pąków kwiatowych drzewa goździkowego umożliwia uzyskanie izolatów alkoholowych zawierających olejek goździkowy, w którego skład wchodzi takie związki, jak: węglowodór monoterpenowy (eugenol), węglowodory seskwiterpenowe (kopaen, beta-kariofilen, alfa-kariofilen, delta-kadinen oraz alfa-murolen), pochodna tlenowa węglowodórów monoterpenowych (octaneugenolu) oraz pochodna tlenowa węglowodórów seskwiterpenowych (tlenek beta-kariofilenu). Ponadto zawartość procentowa zidentyfikowanych związków mieściła się w zakresie: w przypadku eugenolu od 59,61 do 92,61% wag., w przypadku kopaenu od 0,28 do 0,98% wag., w przypadku beta-kariofilenu od 8,95 do 12,00% wag., w przypadku alfa-kariofilenu od 0,59 do 3,64% wag., w przypadku octanu eugenolu od 6,80 do 23,32% wag., w przypadku delta-kadinenu od 0,29 do 0,79% wag., w przypadku alfa-murolenu od 0,03 do 0,21% wag., a w przypadku tlenku beta-kariofilenu od 0,15 do 0,53% wag. Struktury związków znajdujących się we frakcjach uzyskanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego przedstawiono w tabeli 3.

Słowa kluczowe: ekstrakcja goździków, etanol, eugenol, kopaen, beta-kariofilen, alfa-kariofilen, octan eugenolu, delta-kadinen, alfa-murolen, tlenek beta-kariofilenu.

Keywords: extraction of cloves, ethanol, eugenol, copaen, beta- caryophyllene, alpha-caryophyllene, eugenol acetate, delta-cadinen, alpha-murolene, beta-caryophyllene-oxide.

WSTĘP

Do popularnych surowców roślinnych zawierających w swoim składzie substancje biologicznie aktywne zalicza się nierozwinięte pąki kwiatowe drzewa goździkowca wonnego (goździki). Współczesna nauka potwierdza cenne właściwości tego surowca analizując jego skład chemiczny oraz próbując definiować mechanizmy działania. Warto zwrócić uwagę, że sub-

stancje biologicznie aktywne zawarte w tym surowcu charakteryzują się działaniem przeciwdrobnoustrojowym (przeciwbakteryjnym, przeciwwirusowym oraz przeciwgrzybowym) [1, 2, 3].

Jednak najbardziej rozpowszechnionym metabolitem wtórnym o działaniu biologicznie aktywnym jest olejek goździkowy, którego skład chemiczny zależy przede wszystkim od użytego materiału roślinnego, z którego ten olejek jest pozyskiwany. Jak wynika z licznych doniesień literaturowych zastosowanie olejku goździkowego nie zmienia się od wieków. Dzięki swoim właściwościom olejek goździkowy znajduje liczne zastosowania, szczególnie w przemyśle farmaceutycznym (jako składnik maści rozgrzewających i przeciwbólowych) i stomatologicznym (jako składnik preparatów działających przeciwbólowo, wypełnień ubytków w zębach, płynów do płukania jamy ustnej i dziąseł oraz past do zębów) [3, 4, 5, 6, 7, 8].

Najbardziej rekomendowaną metodą otrzymywania olejku goździkowego jest destylacja z parą wodną, trwająca od 8 do 24 godzin. Wydajność tego procesu zwiększa kohabajca, czyli potrójna destylacja wody podestylacyjnej. W wyniku tego możliwe jest uzyskanie olejku eterycznego z wydajnością wynoszącą około 18%. Olejek goździkowy otrzymuje się także metodą hydrodestylacji w aparacie Clevengera. W ciągu 4 godzin prowadzenia procesu uzyskuje się olejek goździkowy z wydajnością wynoszącą około 5%. Olejek eteryczny może być także otrzymywany na drodze ekstrakcji z ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym. Superkrytyczna fluidalna ekstrakcja (SFE) prowadzi do uzyskania olejku eterycznego z wydajnością około 19,6% oraz zawierającego około 59% eugenolu – głównego składnika olejku goździkowego [1, 2, 3, 6, 8, 9].

Olejek goździkowy pozyskiwany jest także z pędów, liści oraz z gałązek drzewa goździkowego (*Eugenia caryophyllus*). W ciągu 24 godzin prowadzenia destylacji z parą wodną uzyskuje się od 1,5 do 3,0% olejku o ciemnobrązowej barwie i ziemistym zapachu [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Nasze wcześniejsze badania pokazały, że możliwe jest także otrzymanie olejków goździkowych następującymi metodami: metodą ekstrakcji w aparacie Soxhleta, metodą hydrodestylacji z użyciem chłodnicy Liebiga, metodą mieszania przy użyciu mieszadła magnetycznego oraz metodą wspomaganą ultradźwiękami. Przy czym proces prowadzono stosując znacznie krótszy czas ekstrakcji, bo 2 godziny oraz nierozdrobniony materiał roślinny (całe goździki). Uzyskane wyniki pokazały, że największą wydajność olejku goździkowego (0,72 g/10,00 g zastosowanego materiału roślinnego) uzyskano metodą hydrodestylacji z użyciem chłodnicy Liebiga [11].

W kolejnym etapie badań uzyskane różnymi metodami ekstrakcji olejki goździkowe poddano badaniom spektrofotometrycznym, w celu oznaczenia ich aktywności antyoksydacyjnej. Do badań zastosowano takie techniki, jak: metoda DPPH, metoda FRAP oraz metoda Foliina-Ciocalteu (F-C). W przypadku pierwszej z nich dokonano wyliczeń procentu zmiatania wolnego rodnika DPPH, FRAP – aktywność antyoksydacyjną wyrażono w postaci równoważnika Fe^{2+} , natomiast wyniki otrzymane metodą Foliina-Ciocalteu przeliczono na równoważniki troloksu [11].

Wyniki badań pomiaru aktywności antyoksydacyjnej olejków roślinnych wykazały, że największą zdolność antyoksydacyjną (87,33%) oraz najwyższą zawartość związków fenolowych (78,34 mg/100 cm³) wykazał olejek goździkowy otrzymany metodą ekstrakcji w aparacie Soxhleta, natomiast olejek otrzymany metodą wspomaganą ultradźwiękami cha-

rakteryzował się najwyższą siłą redukującą FRAP (532,77 mmol/dm³). Opracowanie nowych, skutecznych metod ekstrakcji olejku goździkowego (umożliwiających w krótkim czasie i przy zastosowaniu prostej aparatury laboratoryjnej uzyskanie olejków goździkowych, charakteryzujących się bardzo wysoką aktywnością antyoksydacyjną), stwarza potencjalną możliwość zastosowania ich w suplementach żywności i w preparatach farmaceutycznych – jako wygodnego i łatwo dostępnego źródła naturalnych antyoksydantów [11].

Olejek goździkowy wyodrębniony z wysuszonych pąków kwiatowych goździkowca korzennego (pochodzących z Madagaskaru oraz z Indonezji), metodą ekstrakcji w aparacie Soxhleta może również znaleźć zastosowanie w przemyśle kosmetycznym. Otrzymane preparaty kosmetyczne z dodatkiem różnych ilości olejków (a następnie poddane badaniom pomiaru potencjalnej zdolności przeciwutleniającej metodą DPPH), wykazały różną skuteczność do reagowania z rodnikiem DPPH. Analizowane próbki kremów zawierały od 0,033 do 0,833% wag. olejku goździkowego. Ponadto przeprowadzono również badania potencjalnej zdolności zmiatania rodnika DPPH próbki czystego kremu – nie zawierającego olejku goździkowego. Uzyskanie wyniku pokazały, że czysty krem (bez olejku goździkowego) charakteryzował się stopniem zmiatania rodnika DPPH równym 6,74%. Natomiast wraz ze zwiększaniem ilości olejku goździkowego od 0,033 do 0,666% w badanym kremie wzrastała jego zdolność do zmiatania rodnika DPPH od 30,62–30,63 do 95,91–95,92%. Tak wysoki procent inhibicji (95,91–95,92%) wskazuje na silne właściwości antyoksydacyjne badanych próbek kremów i oznacza jednocześnie małą pozostałość nieprzereagowanego rodnika DPPH w próbce. Natomiast dalsze zwiększanie ilości olejku goździkowego wprowadzanego do kremu (0,833% wag.) nie miało już wpływu na wartość stopnia zmiatania wolnego rodnika DPPH, który wynosił 95,71–95,73% [12,13,14].

Przeprowadzone badania nad wyodrębnianiem związków naturalnych z materiałów roślinnych pokazały, że skład wyodrębnionego olejku zależy także od pochodzenia surowca roślinnego [9]. Zastosowań otrzymanych produktów wyodrębniania upatruje się w produkcji kremów o silnych właściwościach odmładzających. Należy jednak pamiętać, że zastosowanie zbyt wysokiego stężenia olejku goździkowego w kremie może przyczynić się do wystąpienia podrażnienia skóry, alergii kontaktowej, czy reakcji fitotoksycznej. Dopuszczalne stężenie olejku goździkowego zawartego w produktach aplikowanych miejscowo, zarówno pozostających w kontakcie ze skórą jak i usuwanych z niej wynosi 0,50% [15,16,17,18].

Z literatury wynika, że olejek goździkowy uzyskiwany z nierozwiniętych pąków kwiatowych goździkowca charakteryzuje się zróżnicowanym działaniem przeciwdrobnoustrojowym. W opisanych w literaturze badaniach wykazano aktywność olejku goździkowego wobec następujących bakterii gram-ujemnych, takich, jak: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, *Salmonella dysenteriae*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* oraz *Capnocytophaga gingivalis* [5, 6, 8, 9,11,12,13,14,18,19, 20, 21].

Ponadto olejek goździkowy wykazuje również aktywność wobec takich bakterii gram-dodatnich, jak: *Bifidobacterium inopinatum*, *Bifidobacterium denticolens*, *Bifidobacterium dentium* oraz *Staphylococcus aureus* [11,12,18, 20, 21].

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie procesu ekstrakcji nierozwiniętych pąków kwiatowych goździkowca wonnego w etanolu jako rozpuszczalniku. Proces prowadzono w aparaturze szklanej, składającej się z reaktora szklanego o pojemności 500 cm³, zaopatrzonego w termometr i w chłodnicę zwrotną, przez 3000 minut, w celu zbadania wpływu czasu prowadzenia ekstrakcji na zawartość składników biologicznie aktywnych.

METODYKA

Identyfikacja próbek otrzymanych podczas prowadzenia procesów ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego metodą chromatografii gazowej, sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS)

Próbki pobierane w trakcie trwania procesu ekstrakcji nierozwiniętych pąków kwiatowych goździkowca wonnego w etanolu jako rozpuszczalniku identyfikowano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS). Do analiz zastosowano następujące parametry rozdziału:

- przepływ helu 0,7 ml/min,
- temperatura komory próbek 260°C,
- napięcie detektora 350 V,
- temperatura termostatu narastała według następującego programu: izotermicznie 50°C przez 1 minutę, wzrost temperatury z szybkością 8°C/min, izotermicznie 300°C przez 5 minut i chłodzenie do 50°C,
- współczynnik podziału próbki w dozowniku 20,
- objętość dozowanej próbki 0,1 µl,
- zakres masy jonów 32–350 m/z.

Analizy chromatograficzne wykonywano na aparacie TRACE GC series z detektorem masowym VOYAGER, przy zastosowaniu kolumny kapilarnej DB5 (30 m × 0,25 µm × 05 µm). Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Związki zawarte w próbkach otrzymanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji pąków kwiatowych goździkowca wonnego w etanolu jako rozpuszczalniku

Nazwa badanej próbki	Czas, po którym otrzymano próbkę zawierającą ekstrakt etanolowy [min]	Związki zidentyfikowane metodą GC-MS w badanych próbkach zawierających ekstrakt etanolowy
Próbka 0	bezpośrednio po wprowadzeniu do reaktora szklanego materiału roślinnego i rozpuszczalnika polarnego w temperaturze pokojowej	Eugenol alfa-Kariofilen
Próbka 1	bezpośrednio po wprowadzeniu do reaktora szklanego materiału roślinnego i rozpuszczalnika polarnego w temperaturze wrzenia zawartości kolby	Eugenol alfa-Kariofilen Octan eugenolu
Próbka 2	po 1 minucie prowadzenia procesu	Eugenol beta-Kariofilen alfa-Kariofilen Octan eugenolu delta-Kadinen

Tabela 1. Związki zawarte w próbkach otrzymanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji pąków kwiatowych goździkowca wonnego w etanolu jako rozpuszczalniku (cd.)

Nazwa badanej próbki	Czas, po którym otrzymano próbkę zawierającą ekstrakt etanolowy [min]	Związki zidentyfikowane metodą GC-MS w badanych próbkach zawierających ekstrakt etanolowy
Próbka 3	po 2 minutach prowadzenia procesu	Eugenol Kopaen beta-Kariofilen alfa-Kariofilen Octan eugenolu delta-Kadinen alfa-Murolen Tlenek beta-kariofilenu
Próbka 4	po 3 minutach prowadzenia procesu	Eugenol Kopaen beta-Kariofilen alfa-Kariofilen Octan eugenolu delta-Kadinen Tlenek beta-kariofilenu
Próbka 5	po 4 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 6	po 5 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 7	po 10 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 8	po 15 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 9	po 30 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 10	po 45 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 11	po 60 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 12	po 90 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 13	po 120 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 14	po 150 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 15	po 300 minutach prowadzenia procesu	Eugenol Kopaen beta-Kariofilen alfa-Kariofilen Octan eugenolu delta-Kadinen Tlenek beta-kariofilenu
Próbka 16	po 720 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 17	po 1140 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 18	po 1560 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 19	po 1980 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 20	po 2400 minutach prowadzenia procesu	
Próbka 21	po 3000 minutach prowadzenia procesu	

W tabeli 2 przedstawiono procentową zawartość związków znajdujących się w próbkach otrzymanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji surowca roślinnego.

Tabela 2. Zawartość procentowa związków znajdujących się w identyfikowanych metodą GC-MS próbkach, uzyskanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego

Nazwa badanej próbki	Nazwa związku i jego zawartość procentowa							
	eugenol	kopaen	beta-kariofilen	alfa-kariofilen	octan eugenolu	delta-kadinen	alfa-murolen	tlenek beta-kariofilenu
Próbka0	92,61	0,00	0,00	7,39	0,00	0,00	0,00	0,00
Próbka1	86,15	0,00	0,00	7,05	6,80	0,00	0,00	0,00
Próbka2	68,32	0,00	9,54	0,93	20,47	0,74	0,00	0,00
Próbka3	66,69	0,98	11,99	1,43	17,38	0,79	0,21	0,53
Próbka4	66,07	0,89	12,00	1,93	17,76	0,75	0,11	0,49
Próbka5	66,06	0,80	12,00	1,99	18,00	0,69	0,09	0,37
Próbka6	62,94	0,76	12,00	2,45	21,01	0,53	0,03	0,28
Próbka7	59,61	0,71	12,00	3,64	23,32	0,49	0,00	0,23
Próbka8	76,14	0,36	10,73	0,70	11,48	0,41	0,00	0,18
Próbka9	78,93	0,34	10,54	0,65	9,06	0,31	0,00	0,17
Próbka10	80,11	0,30	9,98	0,63	8,51	0,30	0,00	0,17
Próbka11	81,80	0,28	8,95	0,59	7,93	0,29	0,00	0,16

Tabela 2. Zawartość procentowa związków znajdujących się w identyfikowanych metodą GC-MS próbkach, uzyskanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego (cd.)

Nazwa badanej próbki	Nazwa związku i jego zawartość procentowa							
	eugenol	kopaen	beta-kariofilen	alfa-kariofilen	octan eugenolu	delta-kadinen	alfa-murolen	tlenek beta-kariofilenu
Próbka12	81,66	0,29	9,00	0,60	8,00	0,29	0,00	0,16
Próbka13	81,40	0,30	9,01	0,62	8,21	0,30	0,00	0,16
Próbka14	80,92	0,32	9,43	0,64	8,23	0,30	0,00	0,16
Próbka15	80,71	0,36	9,56	0,66	8,25	0,30	0,00	0,16
Próbka16	79,84	0,36	9,65	0,70	9,00	0,30	0,00	0,15
Próbka17	79,34	0,36	9,78	0,72	9,32	0,33	0,00	0,15
Próbka18	79,00	0,37	9,99	0,74	9,40	0,35	0,00	0,15
Próbka19	78,81	0,38	10,01	0,76	9,49	0,40	0,00	0,15
Próbka20	77,67	0,40	10,99	0,79	9,50	0,50	0,00	0,15
Próbka21	76,61	0,46	11,88	0,81	9,56	0,53	0,00	0,15

W tabeli 3 przedstawiono struktury związków znajdujących się we frakcjach uzyskanych podczas prowadzenia procesu ekstrakcji nierozwiniętych pąków kwiatowych drzewa goździkowego.

Tabela 3. Struktury związków znajdujących się we frakcjach uzyskanych podczas prowadzenia procesów ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego

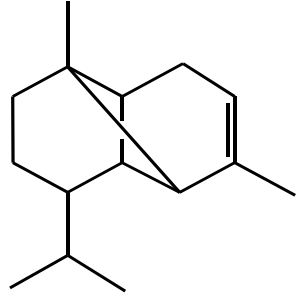
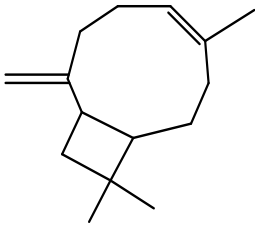
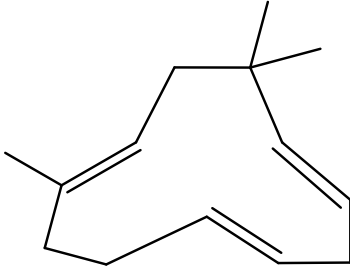
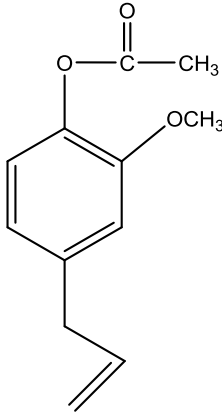
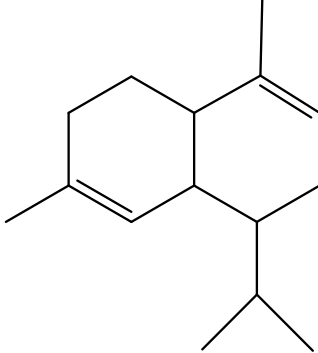
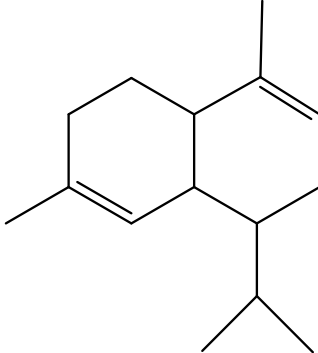
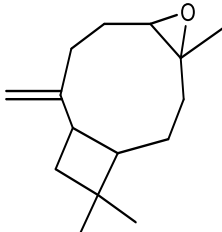
Nazwa związku	Struktura
Eugenol	
Kopaen	
Beta-kariofilen	
Alfa-kariofilen	

Tabela 3. Struktury związków znajdujących się we frakcjach uzyskanych podczas prowadzenia procesów ekstrakcji pąków kwiatowych drzewa goździkowego (cd.)

Nazwa związku	Struktura
Octan eugenolu	
Delta-kadinen	
alfa-murolen	
Tlenek beta-kariofilenu	

WYNIKI BADAŃ, WNIOSKI

Badania metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) pokazały, że głównymi składnikami ekstraktu etanolowego uzyskanego bezpośrednio po zmie-

szaniu ze sobą materiału roślinnego i rozpuszczalnika polarnego (próbka 0) były takie związki, jak: eugenol oraz alfa-kariofilen.

Natomiast w przypadku próbki 1 (pobranej bezpośrednio po wprowadzeniu do reaktora szklanego materiału roślinnego i rozpuszczalnika polarnego oraz po doprowadzeniu do wrzenia zawartości kolby) poza eugenolem i alfa-kariofilem zidentyfikowano w niej również octan eugenolu.

Prowadząc proces ekstrakcji przez 1 minutę (próbka 2) uzyskano frakcję zawierającą: eugenol, beta-kariofilen, alfa-kariofilen, octan eugenolu oraz delta-kadinen.

Natomiast wydłużenie czasu prowadzenia procesu ekstrakcji od 2 do 5 minut (próbka 3 – próbka 6) spowodowało, że ilość związków zawartych w badanych próbkach wzrosła do 8. W tych próbkach (poza eugenolem, beta-kariofilem, alfa-kariofilem, octanem eugenolu oraz delta-kadinenem) obecne były także takie związki, jak: kopaen, alfa-murolen oraz tlenek beta-kariofilenu.

W przypadku prowadzenia procesu ekstrakcji w czasie od 10 do 3000 minut (próbka 7 – próbka 21) w badanych próbkach zidentyfikowano wszystkie wyżej wymienione związki poza alfa-murolenem. Zatem ilość związków zawartych w tych próbkach zmniejszyła się do 7 (tab. 1).

Zawartość procentowa związków zidentyfikowanych we wszystkich badanych próbkach (próbka 0 – próbka 21) mieściła się w zakresie:

- w przypadku eugenolu od 59,61 do 92,61% wag.,
- w przypadku kopaenu od 0,28 do 0,98% wag.,
- w przypadku beta-kariofilenu od 8,95 do 12,00% wag.,
- w przypadku alfa-kariofilenu od 0,59 do 3,64% wag.,
- w przypadku octanu eugenolu od 6,80 do 23,32% wag.,
- w przypadku delta-kadinenu od 0,29 do 0,79% wag.,
- w przypadku alfa-muroleń od 0,03 do 0,21% wag.,
- w przypadku tlenu beta-kariofilenu od 0,15 do 0,53% wag. (tab. 2).

Ekstrakcja nierozwiniętych pąków kwiatowych drzewa goździkowego umożliwia uzyskanie izolatów alkoholowych zawierających olejek goździkowy, w którego skład wchodzi takie związki, jak: węglowodór monoterpenowy (eugenol), węglowodory seskwiterpenowe (kopaen, beta-kariofilen, alfa-kariofilen, delta-kadinen, alfa-murolen), pochodna tlenowa węglowodórów monoterpenowych (octan eugenolu) oraz pochodna tlenowa węglowodórów seskwiterpenowych (tlenek beta-kariofilenu). Jak podają liczne doniesienia literaturowe czysty olejek goździkowy wykazuje wysoką aktywność biologiczną [11,12,15, 16, 17, 19, 21]. Dlatego też przypuszcza się, że uzyskane wyciągi roślinne zawierające wyżej wymienione związki mogą wykazywać aktywność biologiczną. Potwierdzeniem takiego przypuszczenia są nasze wcześniejsze badania nad aktywnością biologiczną zarówno czystych olejków goździkowych, jak i preparatów kosmetycznych zawierających otrzymane olejki. Badania wykazały, że zarówno czyste olejki goździkowe (zawierające w swoim składzie węglowodór monoterpenowy – eugenol oraz węglowodór seskwiterpenowy – beta-kariofilen), jak i preparaty kosmetyczne zawierające otrzymane olejki charakteryzują się zdolnością do redukcji rodnika DPPH, wykazując wysoką aktywność antyoksydacyjną. Natomiast z przeprowadzonych badań czystości mikrobiologicznej dla próbek kremu zawierającego różne ilości olejku goździkowego, w pierwszym tygodniu po wytworzeniu, po 3 i po 12 miesiącach przechowywania nie stwier-

dzono wzrostu bakterii tlenowych, beztlenowych oraz grzybów na żadnym z badanych podłożu, co świadczy o dużej stabilności mikrobiologicznej uzyskanych preparatów [9, 11].

LITERATURA

- [1] Kovács J., Horváth G., Kerényi M. A modified bioautographic method for antibacterial component screening against anaerobic and microaerophilic bacteria, 2016. *J. Microbiol. Methods* 123, 13–17.
- [2] Vazquez B.I., Fente C., Franco C.M., Vazquez M.J., Cepeda A. Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese, 2001. *Inter. J. Food Microbiol.* 67, 157–163.
- [3] Soto C.G. Burhanuddin: Clove oil as fish anaesthetic for measuring length and weight rabbifish (*Siganus lineatus*), 1995. *Aquaculture* 136,149–152.
- [4] Makame Mbarawa P. Performance, emission and economic assessment of clove stem oil – diesel blended fuels as alternative fuels for diesel engines, 2008. *Renew. Energy* 33, 871–882.
- [5] Gulçin I., Gungor I., Beydemir S., Elnastaş M., Kufrevioglu O.I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.), 2004. *Food Chem.* 87, 394–400.
- [6] Cimanga K., Kambu K., Tona L., Apers S., De Bruyne S., Hermans N., Totte J., Pieters J., Vlietinck L. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic republic of Congo, 2002. *J. Ethnophar.*
- [7] Gulçin I., Gungor I., Beydemir S., Elnastaş M., Kufrevioglu O.I. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.), 2004. *Food Chem.* 87, 394–400, 79, 213–220.
- [8] Makuch E., Wróblewska A., Kucharski Ł., Klimowicz A. Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej olejku goździkowego metodą redukcji rodnika DPPH, Folina-Ciocalteu'a oraz FRAP, I Szczecińskie Sympozjum Młodych Chemików, 17.05.2016, Szczecin, 31–33.
- [9] Makuch E., Wróblewska A., Kucharski Ł., Klimowicz A. Monografia pt. Innowacje w polskiej nauce – przegląd aktualnej tematyki badawczej branży chemicznej, Wydawnictwo Naukowe Sophia, 2016, ISBN: 978-83-65357-28-1, Rozdział VI: Ocena aktywności antyoksydacyjnej próbek kremu zawierającego olejek goździkowy metodą redukcji rodnika DPPH, 67–75.
- [10] Janeczko Z., Tyka K. Działania niepożądane olejków eterycznych, dermatozy, Aromaterapia, 4, 2007.
- [11] Fabio A., Cermelli C., Fabio G. i in., Screening of the antibacterial effects of a variety of essentials oils on microorganisms responsible for respiratory infections, 2007, *Phytotherapy Research*, 21, 374–377.
- [12] Makuch E., Wróblewska A., Markowska-Szczupak A., Kucharski Ł., Klimowicz A. Monografia pt. Innowacje w polskiej nauce – przegląd aktualnej tematyki badawczej branży chemicznej, Wydawnictwo Naukowe Sophia, 2016, ISBN: 978-83-65357-28-1, Rozdział VII: Badania właściwości antymikrobiologicznych kremu z dodatkiem olejku goździkowego metodą krążkowo-dyfuzyjną, 77–84.
- [13] De M., De A.K., Banerjee A.B., Antimicrobial screening of some Indian species, 1999, *Phytotherapy Research*, 13, 616–618.
- [14] Kędzia A. Ocena działania przeciwbakteryjnego olejku goździkowego (*Oleum Caryophylli*), 2007. *Postępy Fitoterapii*, 2, 66–70.
- [15] Rusenova N., Parvanov P. Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance, 2009. *Trakia J. Sci.* 7(1), 37–43.
- [16] Mytle N., Anderson G.L., Doyle M.P. i in. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters, 2006. *Food Control* 17, 102–107.
- [17] Saeed S., Tariq P. In vitro antibacterial activity of clove against Gram-negative bacteria, 2008. *Pakistan J. Bot.* 40(5), 2157–2160.
- [18] Tulio V., Nostro A., Mandras N. i in. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods, 2006. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1544–1550.
- [19] Wenqiang G., Shufen L., Ruixiang T., Shaokun Y. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three extraction methods, 2007. *Food Chem.* 101, 1575–1581.
- [20] Góra J. Najcenniejsze olejki eteryczne, Wydaw. UMK, 2005, Toruń.
- [21] Majeed H., Liu F., Hategekimana J. Bactericidal action mechanism of negatively charged food grade clove oil nanoemulsions, 2016. *Food Chem.* 197, 75–83.
- [22] Nunez P.L., Aquino M. Microbicide activity of clove essential oil (*eugenia caryophyllata*), 2012. *Braz. J. Microbiol.* 5, 1255–1260.

Mariusz Władysław MALKO¹, Agnieszka WRÓBLEWSKA¹,
Adrian Krzysztof ANTOSIK¹, Katarzyna WILPISZEWSKA²,
Beata MICHALKIEWICZ³

WPŁYW HYDROFILOWEGO MONTMORYLONITU UŻYTEGO W ROLI KATALIZATORA NA PROCES UTLENIANIA R-(+)-LIMONENU NADTLENKIEM WODORU

INFLUENCE OF THE HYDROPHILIC MONTMORILLONITE USED AS THE CATALYST IN THE OXIDATION OF R-(+)-LIMONENE WITH HYDROGEN PEROXIDE

¹Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

²Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Polimerów

³Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska

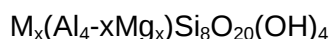
Streszczenie. Monoterpeny są związkami pochodzenia naturalnego, które są cennymi surowcami do otrzymywania wielu związków organicznych. Wśród terpenów największe znaczenie ma R-(+)-limonen, który charakteryzuje się świeżym cytrusowym zapachem oraz posiada wiele zastosowań aplikacyjnych, między innymi jako składnik kompozycji zapachowych, czy rozpuszczalnik do syntez. R-(+)-limonen jest głównym składnikiem olejku pomarańczowego pozyskiwanego z biomasy (odpadowe skórki pomarańczy). Poddawany jest on procesom utleniania w obecności różnych katalizatorów heterogenicznych, w celu otrzymywania cennych pochodnych tlenowych m.in. alkoholu perillowego i 1,2-epoksyimonenu, które posiadają liczne zastosowania, np. w medycynie, w kosmetyce, czy w produkcji polimerów. Praca prezentuje nowy sposób utleniania R-(+)-limonenu, polegający na prowadzeniu tego procesu w obecności taniego i łatwo dostępnego materiału pochodzenia naturalnego – montmorylonitu oraz wodnego roztworu nadtlenu wodoru.

Słowa kluczowe: montmorylonit, nadtlenek wodoru, utlenianie R-(+)-limonenu, kataliza heterogeniczna.

Keywords: montmorillonite, oxidation of R-(+)-limonene, hydrogen peroxide, heterogeneous catalysis.

MONTMORYLONIT- CHARAKTERYSTYKA I ZASTOSOWANIA

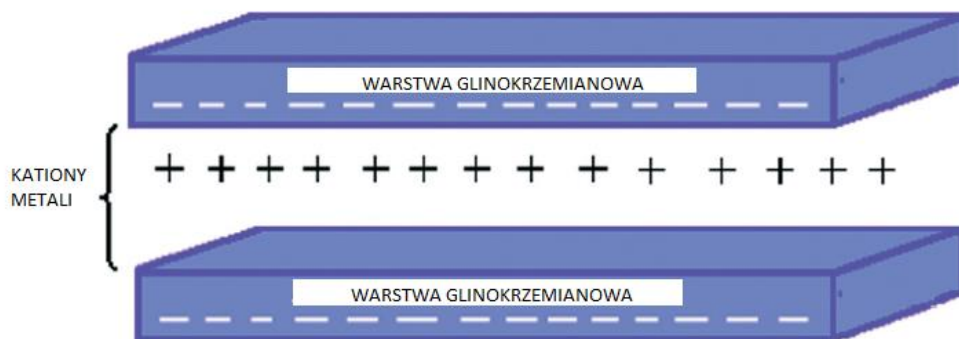
Montmorylonit jest materiałem ilastym, odkrytym w połowie XIX w. w miejscowości Montmorillon we Francji. Montmorylonit stanowi podstawowy składnik bentonitów (55–70%), kaolinitu (10–21%), skaleni (10–16%) i krzemionki (1–2%). Jest kopaliną pochodzenia wulkanicznego o gęstości 1,9–2,7 g/cm³ [1–3]. Ogólny wzór chemiczny montmorylonitu można zapisać następująco [1-2]:



gdzie: M – kation metalu; x – wynosi 0,5–1,3.

Montmorylonit jest glinokrzemianem warstwowym o strukturze płytkowej. Grubość płytki montmorylonitu wynosi 0,96 nm, pozostałe jej wymiary mieszczą się w granicach od 200 do 1000 nm, natomiast liczba pakietów przypadająca na jednostkową komórkę krystalograficzną waha się od kilku do kilku tysięcy. Zależy to od czynników zewnętrznych, wśród których wyróżniamy rodzaj minerału warstwowego, genezę jego powstania, środowisko geologiczne, w którym on powstał oraz siły mechaniczne działające na jego cząstki.

Montmorylonit składa się z trzech warstw: dwóch zewnętrznych tetraedrycznych (czworosćcian krzemowo-tlenowy), zawierających między sobą jedną warstwę oktaedryczną (ośmiościan powstający w wyniku otoczenia jonów glinu, żelaza czy magnezu atomami tlenu i grupami hydroksylowymi), przy czym warstwy te są ze sobą połączone poprzez uwspólnienie atomów tlenu, a odległość między nimi wynosi około 0,3 nm. Pięć do dziewięciu równoległych płytek tworzy cząstkę pierwotną montmorylonitu o grubości 7–12 nm. Pomiędzy warstwami znajdują się kationy metali, głównie sodu (Na^+) lub wapnia (Ca^{2+}) oraz cząsteczki wody. Ze względu na kationy międzywarstwowe, mające „luźny” charakter, wyróżnia się montmorylonity sodowe (MMT Na) oraz wapniowe (MMT Ca). Kationy te stosunkowo łatwo ulegają wymianie na inne kationy. Ponadto, korzystając ze stosunkowo łatwej możliwości wymiany kationów zaczęto wprowadzać różnego rodzaju aminy (np. NH_3R^+) do tego materiału. Następnie, w celu rozszerzenia płytek w przestrzenie między płytkowe w zamian za kationy zaczęto wprowadzać związki organiczne poprzez organofilizację, przez co otrzymano organo-montmorylonity [1–5]. Na rysunku 1 przedstawiono strukturę warstwową montmorylonitu.



Rys. 1. Struktura warstwową montmorylonitu

Montmorylonit jest minerałem silnie hydrofilowym, używanym jako nanonapełniacz (jest on wprowadzany do matrycy polimerowej w ilości ok. 5% wag.). Duża hydrofilowość tych minerałów wynika z ujemnego ładunku pakietów oraz z obecności międzywarstwowych kationów wymiennych. Niewielka ilość tego glinokrzemianu wprowadzonego do polimeru powoduje wzrost modułu i polepszenie właściwości mechanicznych, zmniejszenie przepuszczalności gazów, poprawę odporności termicznej oraz zmniejszenie palności. W przypadku dodania go do polimerów biodegradowalnych, poprawie ulega biodegradowalność całego kompozytu. Ze względu na strukturę powstające nanokompozyty można podzielić na dwie główne grupy: interkalowaną i nieuporządkowaną, mają one jedynie charakter poglądowy, ponieważ występują razem z wieloma innymi strukturami pośrednimi [5].

Ze względu na dostępność i niską cenę montmorylonit znalazł zastosowanie w przemyśle: spożywczym, ceramicznym, gumowym, papierniczym, farmaceutycznym, chemicznym oraz metalurgicznym. Jest on stosowany jako zagęstnik w emulsjach, do klarowania napojów, do produkcji nawozów mineralnych, płuczek wiertniczych, oraz przy rekultywacji terenów skażonych metalami ciężkimi. Ze względu na duże zdolności magazynowania wody oraz składników odżywczych, odgrywa również bardzo ważną rolę w rolnictwie. Montmorylonity są stosowane w różnorodnych dziedzinach przemysłu jako katalizatory lub nośniki katalizatorów. Surowe bentonity mogą też służyć jako adsorbenty, pełniąc np. funkcję dekoloryzatorów, systemów filtrujących (oczyszczających), wymienników jonowych lub też znajdują zastosowanie jako płuczki wiertnicze. W postaci zgranulowanego filtra montmorylonit jest stosowany do oczyszczania i dekoloryzacji wody do picia, olejów mineralnych i roślinnych, a także win i innych napoi. Ponadto bentonity są wykorzystywane jako tzw. geomembrany, służące jako uszczelnienia pod zbiornikami, w których przechowuje się substancje szkodliwe dla środowiska [4, 6–8].

Pierwsze prace nad zastosowaniem aktywnych materiałów ilastych w procesie izomeryzacji pinenów pochodzą z pierwszej połowy XX wieku, w badaniach tych otrzymano kamfen z wydajnością 50–55%. Inna, nowsza metoda izomeryzacji α -pinenu z użyciem jako katalizatora attapulgitu wykazała, że w procesie tym otrzymywane są dwa związki: kamfen i limonen.

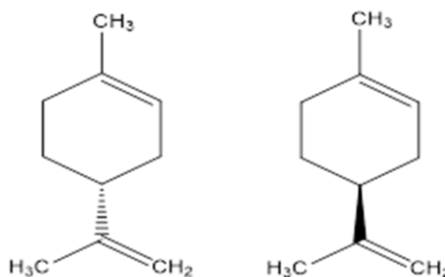
Najnowsze badania nad zastosowaniem katalizatorów heterogenicznych pochodzenia naturalnego w procesach izomeryzacji związków organicznych dotyczą głównie związków trapezoidowych. Szczególną uwagę zwraca się obecnie na materiały ilaste m.in. montmorylonit, np. wietnamski montmorylonit sodowy został użyty w procesie izomeryzacji 1,2-epoksyliemonenu [9]. Proces izomeryzacji epoksydu limonenu prowadzono w środowisku bezrozpuszczalnikowym, przy zastosowaniu dwóch metod:

- 1) z zastosowaniem klasycznego reaktora szklanego, wyposażonego w mieszadło magnetyczne oraz w chłodnicę zwrotną, w temperaturze 140°C przez 60 min.;
- 2) z zastosowaniem reaktora mikrofalowego, przy czym mieszanina reakcyjna była naświetlana przez 6 min (455 W), a montmorylonit użyto w ilości 0,08% wag. w stosunku do 1,2-epoksyliemonenu.

W wyniku reakcji otrzymano szereg izomerów: karwenon, izomery dihydrokarwonu, p-cymen i karwon. W obu metodach z największą wydajnością otrzymano karwenon (85–89%).

R-(+)-LIMONEN – CHARAKTERYSTYKA I PROCESY UTLENIANIA Z ZASTOSOWANIEM KATALIZATORÓW HETEROGENICZNYCH

Limonen (4-izopropenylo-1-metylocykloheksen) jest bezbarwną lub jasnożółtą cieczą o masie molowej 136,23 g/mol i o charakterystycznym przyjemnym zapachu cytrusowym (R-(+)-limonen) lub iglastym (S-(–)-limonen). Limonen dzięki obecności centrum chiralnego na czwartym atomie węgla w pierścieniu cyklicznym, występuje w przyrodzie w postaci dwóch izomerów, ponadto występuje często w przyrodzie w postaci mieszaniny racemicznej. Spośród dwóch izomerów limonenu, częściej spotykany jest R-(+)-limonen.



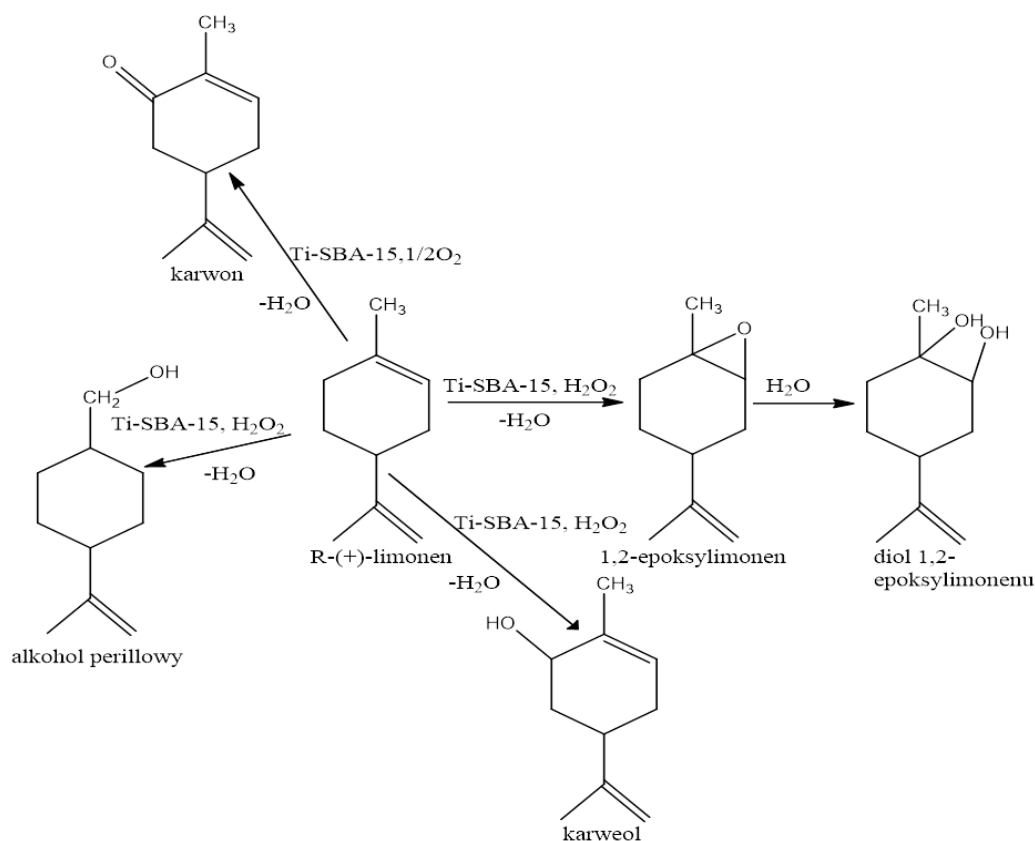
Rys. 2. Struktura R-(+)-limonenu

R-(+)-limonen występuje w skórkach owoców cytrusowych (pomarańcza słodka, mandarynka, cytryna oraz limonka) i charakteryzuje się następującymi właściwościami fizycznymi: temperatura wrzenia 176°C (pod ciśnieniem 760 mmHg), temperatura topnienia -74°C; gęstość 0,94 g/dm³, ponadto dobrze rozpuszcza się w alkoholach metylowym i etylowym oraz w acetonie i w benzenie. Stanowi główny składnik olejków pozyskiwanych z odpadów skórek owoców cytrusowych (biomasa). Można go otrzymywać metodami naturalnymi i syntetycznymi, stosując np. procesy pirolityczne. Metody naturalne (destylacja prosta, czy destylacja z parą wodną skórek owoców cytrusowych) pozwalają na zagospodarowanie odpadów skórek owoców cytrusowych z przemysłu spożywczego i równocześnie pozyskiwanie czystego limonenu, przy niewielkiej ilości odpadów, które mogą być zastosowane jako pasza dla zwierząt. Natomiast metody pirolityczne wymagają wysokich temperatur i generują znaczne ilości ścieków, które są bardzo szkodliwe dla środowiska naturalnego.

R-(+)-limonen znalazł głównie zastosowania w kosmetyce, w medycynie – w tym medycynie naturalnej do aromaterapii (właściwości uspokajające, harmonizujące i stabilizujące układ nerwowy), w przemyśle perfumeryjnym i w przemyśle spożywczym (dodatek smakowy i aromatyzujący do żywności). R-(+)-limonen obecny jest również w napojach gazowanych produkowanych przez duże koncerny (np. Coca Cola Company), w sokach owocowych, w lodach oraz w słodyczach, gdzie pełni rolę aromatu spożywczego oraz stabilizatora [9]. Limonen stosowany jest również w syntezach wielu użytecznych półproduktów dla przemysłu organicznego, a także jako alternatywny rozpuszczalnik do syntez organicznych, gdyż jest tani, biodegradowalny i mało toksyczny; jego wadą jest to, że łatwo się utlenia, więc nie może być rozpuszczalnikiem w reakcjach utleniania. Związek ten może być także stosowany jako środek czyszczący do sprzętu elektronicznego, ze względu na właściwości odtłuszczające. Limonen znalazł również zastosowania jako komponent zapachowy w produktach chemii gospodarczej (detergenty i odświeżacze powietrza) [10]. R-(+)-limonen stosowany jest również do walki z cellulitem. W przemyśle polimerowym stanowi cenny monomer do produkcji „pachnących” i biodegradowalnych polimerów [11].

Bardzo istotnymi procesami, dla których R-(+)-limonen stanowi surowiec są procesy jego utleniania. W wyniku utleniania R-(+)-limonenu otrzymuje się takie związki, jak: karwon, karweol, alkohol perillowy, 1,2-epoksylimonen oraz diol 1,2-epoksylimonenu. W literaturze opisane są metody utleniania limonenu za pomocą nadtlenu wodoru, wodoronadtlenku tert-butylu, tlenu cząsteczkowego [12] oraz ozonu [13] w obecności katalizatorów heterogenicznych, takich jak: katalizatory tytanowo-silikalitowe [14], sole rutenu [15] i molibdenu [16] oraz hydrotalcyty (syntetyczne odpowiedniki naturalnych ziem ilastych) [17].

Jedną z ważniejszych metod utleniania limonenu jest metoda wykorzystująca katalizatory tytanowo-silikalitowe. Zaletą tej metody jest duża trwałość stosowanych katalizatorów, łatwość ich regeneracji oraz niewielka ilość szkodliwych produktów ubocznych (głównie woda lub alkohole). W procesach utleniania R-(+)-limonenu w obecności katalizatorów silikalitowych jako utleniacze stosowane są nadtlenek wodoru oraz wodoronadtlenek tert-butyłu. W literaturze można znaleźć przykłady zastosowania w omawianym procesie, takich katalizatorów tytanowo-silikalitowych jak: TS-1 [18], Ti-MCM-41 [19], Ti-SBA-15 [20] oraz Ti-SBA-16 [21]. Na rysunku 3 przedstawiono reakcje utleniania R-(+)-limonenu zachodzące w obecności katalizatora Ti-SBA-15 oraz 60% wodnego roztworu nadtlenku wodoru, gdy reakcja jest prowadzona w metanolu jako rozpuszczalniku. W wyniku tych reakcji otrzymywane są takie związki, jak: 1,2-epoksylimonen, karwon, karweol, alkohol perillowy oraz diol 1,2-epoksyli-
monenu limonenu. Badania nad procesem utleniania R-(+)-limonenu były prowadzone w zakresie temperatur od 0 do 120°C przez 48 h, w reaktorze szklanym wyposażonym w chłodnicę zwrotną oraz w mieszadło magnetyczne. Stosunek molowy R-(+)-limonen/H₂O₂ wynosił 1 : 1. Badania nad tym procesem wykazały, że najkorzystniejszą temperaturą sprzyjającą syntezie 1,2-epoksyli-
monenu jest temperatura 80°C oraz czas reakcji 3 h (konwersja R-(+)-limonenu 60% mol, a selektywność 1,2-epoksyli-
monenu 50% mol).



Rys. 3. Reakcje zachodzące podczas utleniania R-(+)-limonenu nadtlenkiem wodoru w obecności katalizatorów tytanowo-silikalitowych

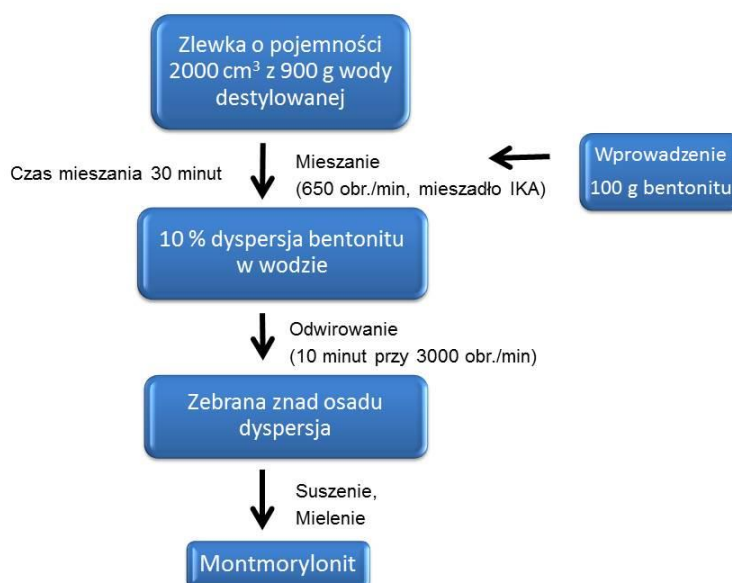
Dla porównania Chicker ze współpracownikami badał epoksydację R-(+)-limonenu na specjalnie przygotowanym katalizatorze Ti-SBA-15 [22]. Badania prowadzono w acetonitrylu

jako rozpuszczalniku i w temperaturze 70°C. Mieszaniny poreakcyjne poddawano analizie ilościowej po 24 godzinach. Jako utleniacze w reakcji zastosowano nadtlenek wodoru i wodoronadtlenek t-butylu. Badania tych autorów pokazały, że gorsze wyniki uzyskano dla nadtlenu wodoru, jako utleniacza, gdyż konwersja limonenu wynosiła 40% mol, a selektywność epoksydu 100% mol. W przypadku wodoronadtlenku t-butylu konwersja limonenu wynosiła 97% mol, a selektywność epoksydu 100% mol.

Berlini i współpracownicy [23] prowadzili badania nad procesem epoksydacji związków nienasyconych (w tym terpenów) na katalizatorze Ti-MCM-41. Epoksydację prowadzili w szklanym reaktorze, w temperaturze 85°C, a jako rozpuszczalniki stosowali acetonitryl i octan etylu, natomiast utleniaczem był wodoronadtlenek t-butylu. Stosunek molowy utleniacz/substrat organiczny wynosił 1 : 1, a ilość katalizatora w stosunku do organicznego substratu wynosiła 30% wag. W acetonitrylu konwersja limonenu osiągnęła 62% mol, a selektywność 1,2-epoksylimonenu wyniosła 79% mol, natomiast w octanie etylu wartości tych funkcji wynosiły odpowiednio: 68% mol i 62% mol.

W innych metodach epoksydację R-(+)-limonenu przeprowadzono stosując cynkowo-chromianowe oraz cynkofosforanowe sita molekularne [24], ciecze jonowe oraz kolumny jonowymienne [25]. Metoda epoksydacji limonenu z zastosowaniem sit molekularnych polegała na syntezie hydrotermalnej sit molekularnych, a następnie przeprowadzeniu epoksydacji za pomocą nadtlenu wodoru jako utleniacza i w butanolu, jako rozpuszczalniku. Prowadząc epoksydację w temperaturze 60°C, uzyskano wydajność 1,2-epoksylimonenu wynoszącą 70% mol. Inaczej zachodził proces epoksydacji R-(+)-limonenu z użyciem cieczy jonowej. Pierwszy taki proces epoksydowania przeprowadzono w obecności katalizatora Jacobsena (immobilizowany związek kompleksowy manganu), rozpuszczonego w tetrafluoroboranie 1-butylo-3-metyloimidazoliowym [26]. W epoksydacji użyto nadtlenu wodoru jako utleniacza. Podczas procesu epoksydacji limonenu prowadzonego przez 1 godzinę, osiągnięto konwersję limonenu 50–87%. Dużą zaletą tego procesu jest mniejszy wpływ cieczy jonowej na środowisko naturalne w porównaniu z rozpuszczalnikami organicznymi, takimi jak toluen lub benzen.

W przyszłości możliwe jest zastąpienie metod utleniania R-(+)-limonenu nadtlentkiem wodoru w obecności katalizatorów tytanowo-silikalitowych metodami z zastosowaniem modyfikowanych, naturalnych surowców, jakimi są materiały glinokrzemianowe. W naszych badaniach użyliśmy silnie hydrofilowego montmorylonitu. Zastosowany w procesie utleniania R-(+)-limonenu montmorylonit w pierwszym etapie został odpowiednio oczyszczony. Na rysunku 4 przedstawiono poszczególne etapy przygotowania katalizatora. Z tego powodu, iż katalizator jest pozyskiwany z surowca naturalnego (jego zawartość w oczyszczanym bentonicie to min. 75%, ponadto zawiera on max. 12% wody, max. 5% węglanów oraz max. 8% innych zanieczyszczeń, w tym związków nieorganicznych), który w kontakcie z wodą pęcznieje (17 cm³/2 g) zwiększając lepkość wodnej dyspersji, do jego uzyskania zastosowano oczyszczanie fizyczne (10% dyspersja wodna bentonitu). Etap oczyszczania jest istotny, gdyż wysoka czystość katalizatora z punktu widzenia reakcji chemicznej ułatwia jej przebieg.



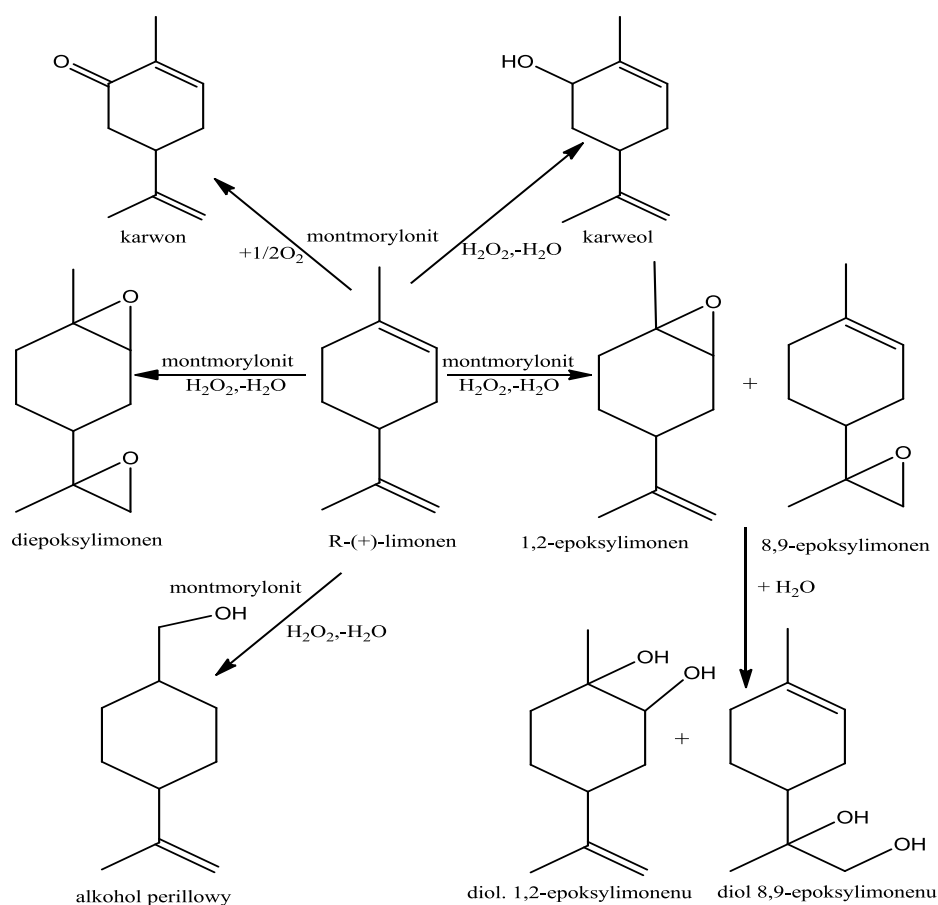
Rys. 4. Schemat przygotowania katalizatora do procesu utleniania R-(+)-limonenu

Następnie przeprowadzono proces utleniania R-(+)-limonenu z zastosowaniem katalizatora montmorylonitowego. Proces prowadzono w szklanym reaktorze, wyposażonym w mieszadło magnetyczne oraz chłodnicę zwrotną. Utlenianie R-(+)-limonenu w obecności montmorylonitu za pomocą 60-procentowego wodnego roztworu nadtlenu wodoru i w obecności 3% wag. katalizatora, prowadzono w temperaturze 120°C przez 3 h bez udziału rozpuszczalnika. Na rysunku 5 przedstawiono reakcje zachodzące podczas utleniania R-(+)-limonenu nadtlenkiem wodoru w obecności montmorylonitu.

Mieszaniny poreakcyjne poddawano analizie metodą chromatografii gazowej (GC) oraz jodometrycznej analizie nieprzereagowanego nadtlenu wodoru. Do analizy GC zastosowano aparat Focus wyposażony w kolumnę Restek RTX (folia 0,53 mm x 30 m x 1,0 µm (glikol polietylenowy 20 000 Da)). Gazem nośnym był hel (szybkość przepływu 1 ml/min). Temperatura kolumny wynosiła początkowo 60°C przez 2 minuty, a następnie stopniowo wzrastała do 240°C z szybkością 4°C/min. Do określenia składu mieszanin poreakcyjnych zastosowano metodę wzorca zewnętrznego.

Porównując produkty przedstawione na rysunkach 3 i 5, można zauważyć, że podczas utleniania R-(+)-limonenu w obecności sodowego montmorylonitu w mieszaninie poreakcyjnej pojawiają się nowe związki: 8,9-epoksyliimonen i jego diol oraz powstaje diepoksyd limonenu. Dalsze badania nad procesem utleniania R-(+)-limonenu nadtlenkiem wodoru w obecności glinokrzemianów warstwowych pozwolą na dokładniejszy dobór rodzaju tego katalizatora oraz jego ilości, a także pozwolą na określenie najkorzystniejszych warunków prowadzenia tego procesu. Utlenianie R-(+)-limonenu nadtlenkiem wodoru w obecności montmorylonitu jest procesem spełniającym zasady „zielonej chemii”. Surowce użyte w tym procesie są szeroko dostępne, naturalne, biodegradowalne oraz tanie. Zaletą tej metody utleniania limonenu jest brak szkodliwych dla środowiska naturalnego rozpuszczalników. Podczas procesu utleniania R-(+)-limonenu w obecności hydrofilowego montmorylonitu powstaje wiele

cennych związków, które mają ogromne znaczenie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.



Rys. 5. Reakcje zachodzące podczas procesu utleniania R-(+)-limonenu nadtlakiem wodoru w obecności montmorillonitu

LITERATURA

- [1] Królikowski W., Rosłaniec Z. Nanokompozyty polimerowe, Kompozyty 4 (2004), 3–15.
- [2] Gołębiewski J. Nanokompozyty polimerowe. Struktura, metody wytwarzania i właściwości. Prz. Chem. 83(2004), 15–21.
- [3] Olejnik M. Nanokompozyty polimerowe z udziałem montmorillonitu – otrzymywanie, metody oceny, właściwości i zastosowanie. Techniczne wyroby włókiennicze (2008), 67–74
- [4] Kacperski M. Nanokompozyty polimerowe. Kompozyty 3 (2003), 225–231.
- [5] Kacperski M. Nanokompozyty polimerowe. Polimery 47 (2002), 801–807.
- [6] Malesa M. Nanonapełniacze kompozytów polimerowych. Elastomery 3 (2004), 12–17.
- [7] Sikora M. Modyfikatory reologii istotny parametr wyrobów kosmetycznych. Prz. Kosm. 11 (2006), 26–31.
- [8] Kunert A., Zaborski M. Budowa, właściwości i zastosowania minerałów warstwowych. Prz. Chem. 1 (2010), 1510–1517.
- [9] Djordjevic D., Cercaci L., Alamed J., McClements D.J., Decker E.A. Chemical and Physical Stability of Protein and Gum Arabic-Stabilized Oil-in-Water Emulsions Containing Limonene. J. Food Sci. 73 (2008), 167–172.
- [10] Ciriminna R., Lomeli-Rodriguez M., Cara P.D., Lopez-Sanchez J.A., Pagliaro M. Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. Chem. Commun. 97 (2014), 15282–15296.
- [11] Arrieta M.P., López J., Ferrándiz S., Peltzer M.A. Characterization of PLA-limonene blends for food packaging applications. Polym. Test. 32 (2013), 760–768.

- [12] Karlberg A.T., Magnusson K., Nilsson U. Air oxidation of d-limonene (the citrus solvent) creates potent allergens Contact Dermatitis. 26 (1992), 332-340.
- [13] Clausen P.A., Wilkins C.K., Wolkoff P., Nielsen G.D. Chemical and biological evaluation of a reaction mixture of R-(+)-limonene/ozone: formation of strong airway irritants. Environ. Inter. 26 (2001), 511-516.
- [14] Trytek M., Fiedurek J., Radzki S. A Novel Porphyrin-Based Photocatalytic System for Terpenoids Production from (R)-(+)-Limonene. Biotechnol. Prog. 23 (2007), 131-137.
- [15] Feddouli A., Itto Y.A., Ali M.A. Hasnaoui A., Riahi A., Efficient Approach for the synthesis of novel functionalized isoxazolines from limonene, Synthetic Communications, 36 (2006), 3617-3624.
- [16] Abrantes M., Bruno S.M., Tomé C., Pillinger M., Gonçalves I.S., Valente A.A. Epoxidation of DL-limonene using an indenyl molybdenum (II) tricarbonyl complex as catalyst precursor. Catal. Commun. 15 (2011), 64-67.
- [17] Arizaga B., Leon de A., Burgueño N., López A., Paz D., Martínez N., Lorenzo E.D., Dellacassa J., Bussi A. Clean process for the production of oxygenated limonene derivatives starting from orange oil. J. Technol. Biotechnol. 82 (2007), 532-538.
- [18] Wroblewska A. The epoxidation of limonene over the TS-1 and Ti-SBA-15 catalysts. Molecules 19 (2014), 19907-19922.
- [19] Cagnoli M.V., Casuscelli S.G., Alvarez A.M., Bengoa J.F., Gallegos N.G., Samaniego N.M., Crivello M.E., Ghione G.E., Pérez C.F., Herrero E.R., Marchetti S.G. "Clean" limonene epoxidation using Ti-MCM-41 catalyst. Appl. Catal. A: General 287 (2005), 227-235.
- [20] Chicker F., Launay F., Nogier J.P., Bonardet J.L. Green and selective epoxidation of alkenes catalysed by new $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$ SBA mesoporous solids. Green Chemistry 5(2003), 318-322.
- [21] Charbonneau L., Kaliaguine S. Epoxidation of limonene over low coordination Ti in Ti-SBA-16. Appl. Catal. A: General 533 (2017), 1-8.
- [22] Malko M.W., Wroblewska A. Znaczenie R-(+)-limonenu, jako surowca do syntez w chemii organicznej i dla przemysłu organicznego. Chemik 70 (2016), 193-202.
- [23] Berlini Ch., Guidotti M., Moretti G., Psaro R., Ravasio N. Catalytic epoxidation of unsaturated alcohols on Ti-MCM-41. Catal. Today 60 (2000), 219-225
- [24] Santa M.A., Vergara G.C.J., Luz Amparo Palacio S., Echavarria A.I. Limonene epoxidation by molecular sieves zincophosphates and zincochromates. Catal. Today, 2008, 80-86.
- [25] Barrera Zapata R., Villa A.L., Montanes de Correa C. Limonene Epoxidation: Diffusion and Reaction over PW-Amberlite in a Triphasic System, 45 (2006), 4586-4596.
- [26] Pinto L.D., Dupont J., Souza de R.F., Bernardo-Gusmão K. Catalytic asymmetric epoxidation of limonene using manganese Schiff-base complexes immobilized in ionic liquids. Catal. Commun. 9 (2008), 135-139.

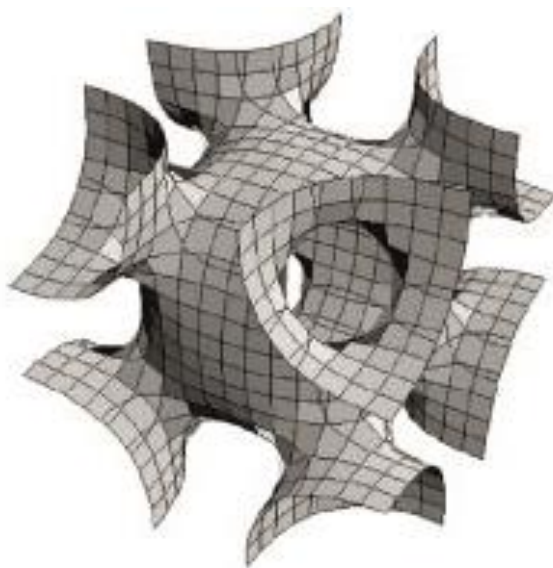
MATERIAŁ Ti-SBA-16 – WŁAŚCIWOŚCI, SYNTEZA ORAZ CHARAKTERYSTYKA

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej, ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin

WSTĘP

Uporządkowane materiały mezoporowate zaczęły przyciągać uwagę naukowców od momentu otrzymania rodziny materiałów M41S. Charakteryzują się one dobrą stabilnością hydrotermalną oraz otrzymywane są z niedrogich, komercyjnie dostępnych materiałów. Jednakże największą zaletą tych materiałów jest łatwość modyfikacji ich właściwości, takich jak: wielkość porów, powierzchnia właściwa, objętość porów i grubość ścianek. Powyższe cechy sprawiły, że uporządkowane materiały mezoporowate znalazły zastosowanie w: katalizie, technologiach separacji, adsorpcji i medycynie, jako nośniki leków. Duży rozmiar porów pozwolił na wykorzystanie tych materiałów w reakcjach z cząsteczkami o dużych rozmiarach [1].

Jednym z uporządkowanych materiałów mezoporowatych jest materiał SBA-16 o strukturze kubicznej (grupa $Im\bar{3}m$), gdzie każdy z mezoporów połączony jest z ośmioma sąsiednimi komórkami.



Rys. 1. Kubiczna struktura materiału SBA-16 [2]

Materiał ten może być modyfikowany poprzez wbudowanie jonów tytanu w strukturę krzemionki. Tak otrzymane katalizatory chętnie wykorzystywane są w reakcjach utleniania oraz izomeryzacji, ze względu na wysoką aktywność jonów tytanu, dużą powierzchnię właściwą, wysoką stabilność hydrotermalną, dużą objętość oraz uporządkowany rozkład porów [3]. Nie tylko atomy tytanu mogą być wbudowywane w strukturę krzemionki. Z powodzeniem

udało się zsyntezować katalizatory o strukturze SBA-16 zawierające w swojej strukturze takie metale jak molibden [4].

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Celem pracy było przygotowanie materiału Ti-SBA-16 metodą opisaną przez Gobina [4]. Podczas syntez wykorzystano następujące materiały: jako templat Pluronic F 127 (Sigma Aldrich), jako źródło krzemu o-krzemian tetraetylu (TEOS, 98% Aldrich), kwas solny (35-37% Chempur), jako źródło tytanu o-tytanian tetraizopropylu (TiPOT 97%, Aldrich), wodę dejonizowaną oraz 1-butanol (cz.d.a., POCH). W standardowej syntezie 3 g kopolimeru F127 rozpuszczono w roztworze 144g wody dejonizowanej oraz 6g stężonego kwasu solnego. Po około 20–30 minutach, do mieszaniny dodano 9 g 1-butanolu, który pełnił rolę kosurfaktanta. Następnie po godzinie intensywnego mieszania, mieszaninę 14,2 g TEOS oraz 1,3 g TiPOT dodano do wcześniej przygotowanego roztworu. Całość roztworu była następnie mieszana w temperaturze 45°C przez 24 godziny. Kolejnym krokiem było przeniesienie otrzymanego żelu do autoklawu, gdzie przebywał bez mieszania w temperaturze 100°C i w warunkach hydrotermalnych. Uzyskany osad odsączono, przemyto wodą dejonizowaną i metanolem na filtrze oraz suszono w temperaturze 100°C przez 24h, a następnie kalcynowano przez 5 h w temperaturze 550°C. W ten sposób otrzymano materiał Ti-SBA-16 w postaci białego proszku. Otrzymane materiał badano za pomocą następujących metod instrumentalnych:

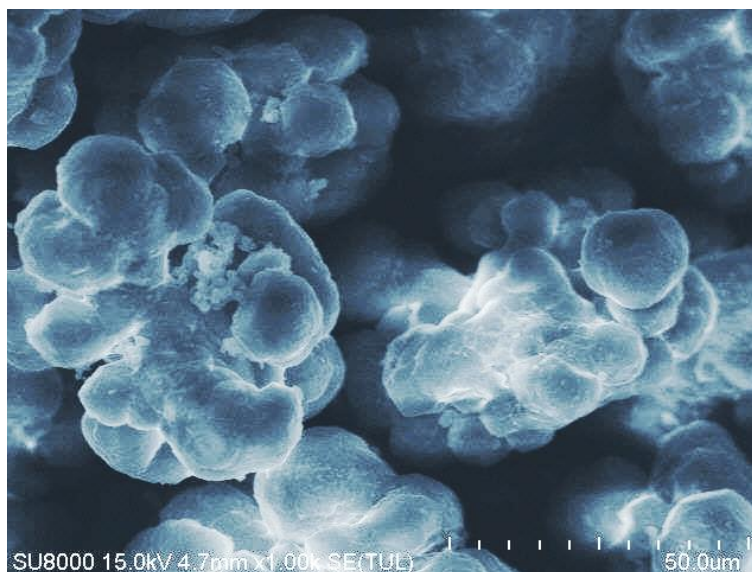
- XRD (dyfrakcyjna spektroskopia rentgenowska) – potwierdzenie struktury otrzymanego materiału. Badania wykonano na dyfraktometrze XPERT Pro w zakresie kąta 2 theta od 0 do 10° z użyciem lampy miedziowej o długości fali 154 nm;
- UV-Vis (spektroskopia w świetle widzialnym) – potwierdzenie włączenia tytanu do struktury SBA-15. Badania wykonano na spektrofotometrze SPECORD M40;
- FT-IR (spektroskopia w podczerwieni) – potwierdzenie struktury otrzymanego materiału oraz włączenia tytanu do struktury mezoporowatej krzemionki. Badania wykonano na spektrofotometrze Thermo Nicolet 380;
- SEM (skaningowa mikroskopia elektronowa) – określenie morfologii otrzymanych materiałów. Badania wykonano na aparacie JOEL JSM-6100 instrument;
- EDX (mikroanaliza rentgenowska) – określenie składu chemicznego otrzymanych materiałów. Badania wykonano na aparacie Oxford X-ray analyzer ISIS 300;
- Izotermi adsorpcji/desorpcji azotu – określenie właściwości powierzchni materiałów. Badania wykonano na aparacie Quantchrome Instruments.

Właściwości powierzchni oraz zawartość tytanu w otrzymanym materiale zostały przedstawione w Tabeli 1.

Tabela 1. Właściwości powierzchni materiału Ti-SBA-16

Powierzchnia właściwa BET	Objętość całkowita porów	Objętość mikroporów	Zawartość jonów Ti
[m ² /g]	[cm ³ /g]	[cm ³ /g]	[% wag.]
1037	0,89	0,14	0,4

Na zdjęciu SEM otrzymanego materiału można zauważyć dobrze wykształcone, owalne cząstki, które łączą się w większe struktury i jest to typowe dla mezoporowatej krzemionki.



Rys. 2. Zdjęcie SEM materiału SBA-16

Pozostałe metody instrumentalne (IR, XRD) pozwoliły na identyfikację utworzonej struktury, natomiast spektroskopia UV-Vis pozwoliła na określenie, w jaki sposób tytan został włączony w strukturę krzemionki.

LITERATURA

- [1] Rivera-Muniz E., Huirache-Acuna R. Sol Gel-Derived SBA-16 Mesoporous Material, *Int. J. Mol. Sci.* 11 (2010) 3069–3086.
- [2] Sakamoto Y., Kaneda M., Terasaki O., Zhao D., Kim J., Stucky G., Shin H., Ryoo R. Direct imaging of the pores and cages of three-dimensional mesoporous materials, *Nature*, 408 (2000) 449–453.
- [3] Shen S., Deng Y., Zhu G., Mao D., Wang Y., Wu G., Li J., Liu X., Lu G., Zhao D. Synthesis and characterization of Ti-SBA-16 ordered mesoporous silica composite, *J. Mater. Sci.* 42 (2007) 7057–7061.
- [4] Kong L., Li J., Zhao Z., Liu Q., Sun Q., Liu J., Wei Y. Oxidative dehydrogenation of ethane to ethylene over Mo-incorporated mesoporous SBA-16 catalysts: The effect of MoOx dispersion, *Appl. Catal. A Gen.* 510 (2016) 84–97.
- [5] Gobin O., Wan Y., Zhao D., Kleitz F., Kaliaguine S. Mesostructured Silica SBA-16 with Tailored Intrawall Porosity Part 1: Synthesis and Characterization. *J. Phys. Chem. C.* 111 (2007) 3053–3058.

AMINOKWASOWE CIECZE JONOWE, JAKO NOWE MEDIA REAKCYJNE

AMINO ACID IONIC LIQUIDS AS NEW REACTION MEDIUM

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

Streszczenie. W monografii przedstawiono możliwości zastosowania nowej generacji cieczy jonowych pochodzenia naturalnego, w których kation bądź anion pochodzą od aminokwasu. Główną uwagę poświęcono zastosowaniu aminokwasowych cieczy jonowych jako katalizatorów lub/i rozpuszczalników w syntezie asymetrycznej. Przegląd dotyczy zarówno badań własnych jak również danych literaturowych.

Słowa kluczowe: aminokwasowe ciecze jonowa, chiralne ciecze jonowe, kataliza homogeniczna, synteza asymetryczna.

Keywords: amino acid ionic liquids, chiral ionic liquids, homogeneous catalysis, asymmetric synthesis.

AMINOKWASOWE CIECZE JONOWE

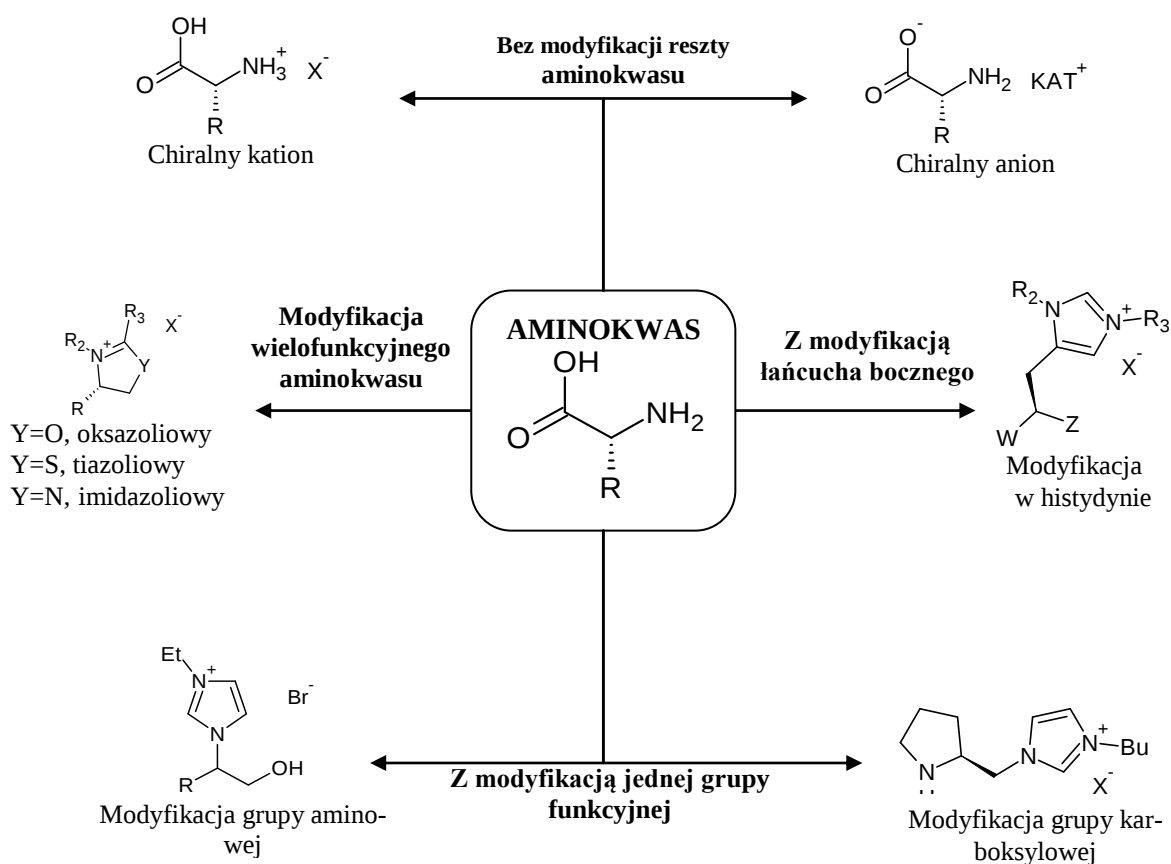
Aminokwasowe ciecze jonowe (AAILs – ang. *Amino Acid Ionic Liquids*) stanowią grupę cieczy jonowych w których kation lub/i anion pochodzi od aminokwasu. Uzyskanie aminokwasowego jonu jest możliwe dzięki obecności co najmniej dwóch grup funkcyjnych w cząsteczce aminokwasu, tj. grupy aminowej i grupy karboksylowej. Związki te są ponadto nietoksyczne, biodegradowalne i aktywne biologicznie, a otrzymane z nich ciecze jonowe zachowują te właściwości. Zatem o „przyjazności” aminokwasowych cieczy jonowych decydować będzie dobrany przeciwjon.

Właściwości aminokwasowych cieczy jonowych mogą być dostosowywane do konkretnego procesu, co czyni je związkami projektowalnymi [1]. Do otrzymywania tego typu związków wykorzystywane są zarówno aminokwasy naturalnie występujące w przyrodzie oraz syntetyczne, takie jak kwas 11-aminoundekanowy. Aminokwasy stanowią ważny surowiec w syntezie funkcjonalnych cieczy jonowych [2].

Podział i metody otrzymywania aminokwasowych cieczy jonowych

Aminokwasy mogą być bezpośrednio wykorzystane do otrzymania chiralnych anionów lub chiralnych kationów. Aminokwasowy kation otrzymuje się zwykle w wyniku reakcji protonowania grupy aminowej albo jej czwartorzędowania lub na drodze modyfikacji jednej grupy funkcyjnej lub łańcucha bocznego, a także na drodze modyfikacji wielofunkcyjnego aminokwasu. Główne kierunki otrzymywania aminokwasowych cieczy jonowych z kationem aminokwasowym przedstawiono na rysunku 1. Kation może być otrzymany z aminokwasów lub

estrów aminokwasów poprzez protonowanie grupy aminowej odpowiednim kwasem Brønsteda. Natomiast uzyskanie aminokwasowego anionu możliwe jest poprzez deprotonowanie grupy karboksylowej (rys. 1) przez odpowiednią zasadę Brønsteda. Projektowanie cieczy jonowych o określonych właściwościach jest możliwe dzięki zastosowaniu odpowiedniego organicznego lub nieorganicznego kwasu lub zasady [3]. Jeszcze większe możliwości otrzymujemy w wyniku modyfikacji w obrębie aminokwasu. Możliwe jest wówczas m.in. sterowanie hydrofobowością związku, poprzez wprowadzenie np. grupy trifluorometylosulfonylowej do anionu aminokwasowego [4]. Aminokwasowe ugrupowanie kationowe można otrzymać z chiralnych aminokwasów poprzez modyfikację jednocześnie grupy karboksylowej jak i aminowej. W wyniku wieloetapowych reakcji można uzyskać pierścień oksazoliowy, imidazoliowy lub tiazoliowy. [3].



Rys. 1. Główne drogi otrzymywania aminokwasowych cieczy jonowych

Zastosowanie aminokwasowych cieczy jonowych

Zgodnie z zasadami „zielonej chemii” dąży się obecnie do wyeliminowania z użycia lotnych rozpuszczalników. Ponadto niezmiernie istotne jest zastosowanie w reakcjach selektywnych katalizatorów, które będą zachowywać swoją aktywność w wielu cyklach reakcyjnych. Ciecze jonowe spełniają warunki stawiane „zielonym rozpuszczalnikom” i stanowią dogodne medium reakcyjne, często wykorzystując przy tym właściwości katalityczne. Obecnie główna uwaga naukowców skierowana jest na syntezie związków o możliwie szerokim

zakresie zastosowań, które otrzymywane są ze źródeł naturalnych, charakteryzujących się wysoką biodegradowalnością i biodostępnością. Chiralne ciecze jonowe stanowią alternatywę dla typowych rozpuszczalników organicznych, a także mających je zastąpić – typowych cieczy jonowych (bazujących wyłącznie na produktach petrochemicznych). Do syntezy chiralnych cieczy jonowych wykorzystuje się m.in. aminokwasy, a możliwości aplikacyjne tych związków stanowią temat niniejszej monografii.

Aminokwasy stanowią kluczowy surowiec w syntezie funkcjonalnych i prostych w modyfikacji cieczy jonowych o szerokim zastosowaniu. W monografii szczególną uwagę poświęcono zastosowaniu tych związków jako katalizatorów lub/i środowiska reakcji syntezy organicznej. Spośród innych, znane jest ich zastosowanie jako rozpuszczalników biomateriałów, takich jak celuloza, DNA czy węglowodory, rozpuszczalników oraz półproduktów w syntezie peptydów czy jako absorbentów kwaśnych gazów, a także jako funkcjonalnych materiałów [5]. Ponadto ze względu na wysoką stabilność hydrolityczną i właściwości antykorozyjne wykorzystywane są jako smary powierzchni metalowych [6]. Znane jest również ich użycie w ekstrakcji typu ciecz-ciecz, elektroforezie kapilarnej oraz, jako chiralnych selektorów w chromatografii cieczowej [7].

Chiralne ciecze jonowe otrzymane na bazie aminokwasów posiadają stabilne centra chiralności, dzięki czemu możliwe jest ich zastosowanie w syntezie asymetrycznej [8, 9].

Aminokwasowe ciecze jonowe znalazły zastosowanie, jako katalizatory reakcji, tj. Dielsa-Aldera, kondensacji aldolowej, asymetrycznej addycji Michaela, kondensacji Knoevenagla czy reakcji wieloskładnikowych MCR i innych.

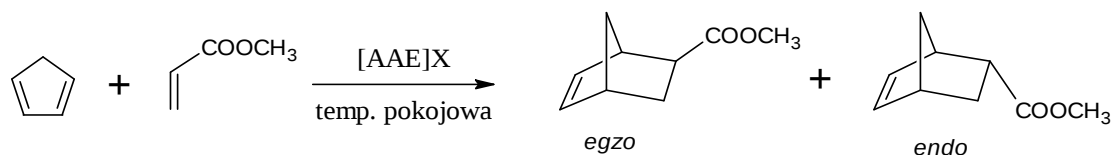
Synteza asymetryczna jest szczególnie istotna w chemii farmaceutycznej, gdzie otrzymanie jednego z enancjomerów lub diastereoizomerów może być krytyczne ze względu na różną aktywność biologiczną poszczególnych diastereoizomerów czy enancjomerów. Znane jest zastosowanie aminokwasowych cieczy jonowych na bazie soli amoniowych, imidazoliowych i pirydyniowych. Ograniczenia, jakie posiadają te chiralne ciecze jonowe, wynikać mogą z ich wysokiej lepkości i niskiej stabilności chemicznej.

Reakcja Dielsa-Aldera

Reakcja Dielsa-Aldera jest bardzo użyteczną w chemii organicznej metodą syntezy związków cyklicznych, które są niemożliwe lub trudne do otrzymania na innej drodze. Niejednokrotnie jest jednym z etapów wieloetapowych syntez substancji biologicznie aktywnych. Reakcja ta ma szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, w tym farmacji, przemyśle petrochemicznym, a nawet w budownictwie. W celu zwiększenia szybkości i wydajności tych reakcji, a także ich regio-, stereo- i enancjoselektywności stosowane są katalizatory takie jak aminokwasowe ciecze jonowe. Poniżej przedstawione zostały przykłady ich zastosowań w tej reakcji.

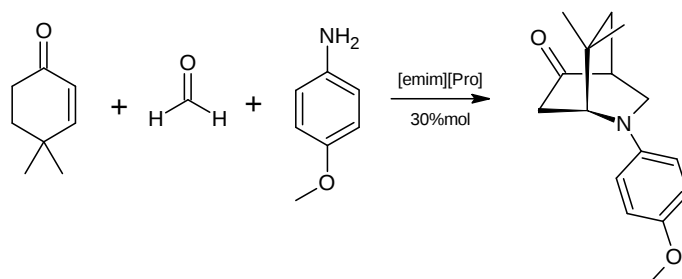
Azotany i sacharyniany estrów metylowych, etylowych, propylowych i butylowych aminokwasów ([AAE]X) zostały użyte jako katalizatory i środowisko reakcji Dielsa-Aldera pomiędzy cyklopentadienem i akrylanem metylu (rysunek 2). W wyniku reakcji prowadzonej przez 24 h w temperaturze pokojowej uzyskane wysokie (ponad 90%) wydajności oraz stereoselektyw-

ności *endo:egzo* porównywalne do tych uzyskanych przy użyciu tradycyjnych cieczy jonowych – np. tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego [bmim]BF₄ [10].



Rys. 2. Reakcja Dielsa-Aldera [10]

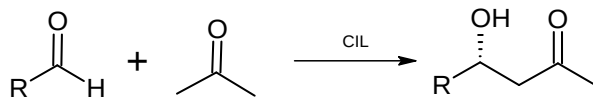
Prolinian 1-etylo-3-metyloimidazoliowy [emim][Pro] zastosowano jako katalizator asymetrycznej reakcji aza-Dielsa-Aldera pomiędzy 2-cykloheksen-1-onem, formaldehydem i p-anizydyną (rysunek 3). Dodatkowo możliwy był recykling katalizatora. Bez znaczących zmian aktywności zawrócono go 6-krotnie do reakcji. Produkt uzyskano z wysoką (do 93%) wydajnością produktu *endo* i wysoką enancjoselektywnością (do > 99%) [11].



Rys. 3. Asymetryczna reakcja aza-Dielsa-Aldera [11]

Kondensacja aldolowa

Kondensacja aldolowa to reakcja pomiędzy dwoma związkami karbonyłowymi w wyniku, której otrzymujemy związki β -hydroksykarbonylowe. Asymetryczna kondensacja aldolowa jest ważną reakcją w syntezie organicznej ze względu na możliwość utworzenia w wyniku reakcji centrum chiralności. Naturalnie występującymi katalizatorami tej reakcji są aldolazy. Opracowano nowe katalizatory, które posiadają właściwości aldolaz, można je natomiast stosować za równo w środowisku hydrofilowym jak i hydrofobowym [12,13]. Chiralne cieczy jonowe znane są jako rozpuszczalniki reakcji aldolowej, dzięki którym możliwe jest stereoselektywne prowadzenie tej reakcji.

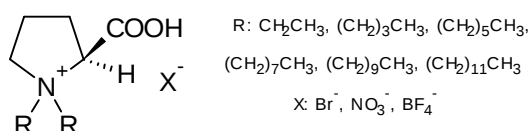


Rys. 4. Ogólny schemat kondensacji aldolowej pomiędzy aldehydami i ketonami

Znane są przykłady zastosowania pochodnych proliny, zawierających w swojej cząsteczce pierścieni imidazoliowy czy pirydyniowy i anion NTf₂⁻ lub BF₄⁻, w reakcji kondensacji aldolowej pomiędzy acetonem i różnymi aldehydami. Użyta w reakcji ciecz jonowa nie traciła znacząco aktywności nawet po sześciu cyklach reakcyjnych. Nawet przy zastosowaniu nie-

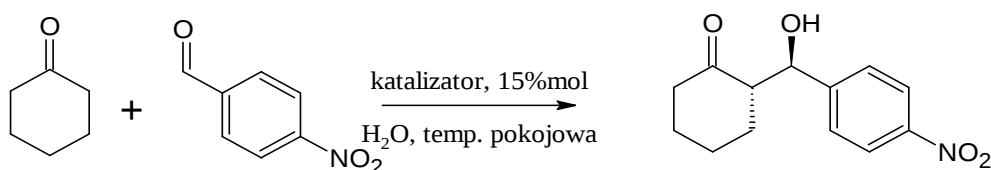
wielkiego udziału cieczy jonowej (0,1%_{mol}) produkt otrzymano z wysoką enancjoselektywnością (>99%_{ee}) [14].

N-alkilowe pochodne L-proliny (rys. 5) zostały użyte jako katalizatory w reakcji kondensacji aldolowej cykloheksanonu i 4-nitrobenzaldehydu. Reakcję prowadzono w obecności wody lub DMSO, a produkt otrzymano z wysoką wydajnością (powyżej 88%), stereoselektywnością (>99:1) i enancjoselektywnością (powyżej 98%) [15].

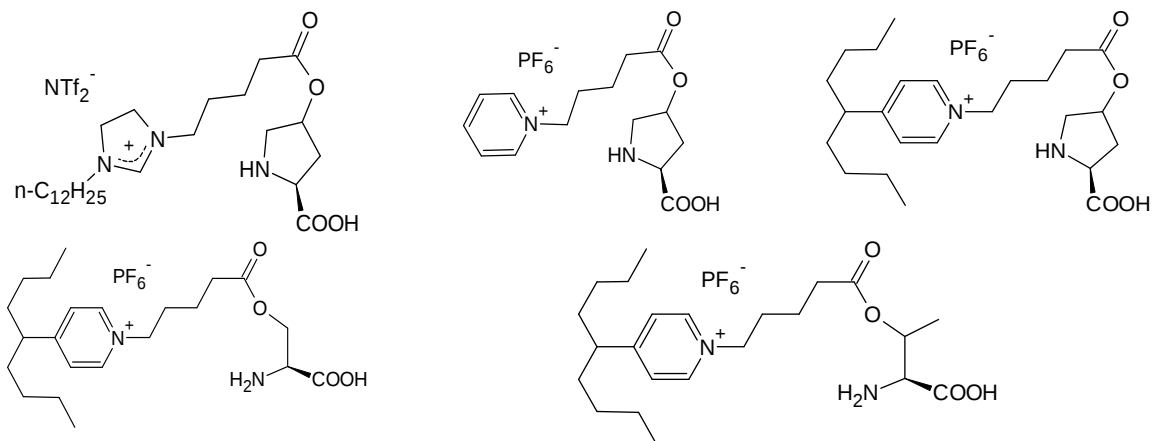


Rys. 5. Ciecz jonowa z kationem pochodzenia aminokwasowego

Przedstawione na rysunku 6, chiralne ciecze jonowe pochodne proliny, seryny lub treoniny zawierające kation imidazoliowy lub pirydyniowy i anion NTf₂⁻ lub PF₆⁻ okazały się skutecznymi katalizatorami asymetrycznej kondensacji aldolowej pomiędzy aldehydami i ketonami w obecności wody. W wyniku kondensacji otrzymano aldole z wysoką diastereoselektywnością (powyżej 98:2) i enancjoselektywnością (powyżej 99%_{ee}) [16].



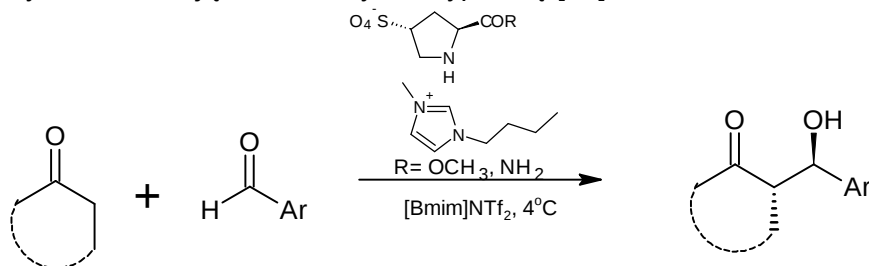
Katalizator:



Rys. 6. Kondensacja aldolowa katalizowana amfilifowymi cieczami jonowymi na bazie α-amino-kwasów [16]

Większość cieczy jonowych stosowanych w kondensacji aldolowej zawiera chiralny kation. Niewiele jest doniesień dotyczących chiralnych anionów. Znane jest zastosowanie soli (2-hydroksyetylo)trietyloamoniowej kwasu (S)-2-pirolidynokarboksylowego, jednak uzyskana enancjoselektywność reakcji wynosiła mniej niż 10% [17]. W tej samej reakcji zastosowany został również L-prolinian 1-etylo-3-metyloimidazoliowy [emim][Pro], dzięki któremu uzyska-

no dobrą wydajność oraz bardzo dobrą selektywność reakcji [18]. Najlepszą wydajność (powyżej 99%) uzyskano stosując *trans*-L-hydroksyprolinę [19].

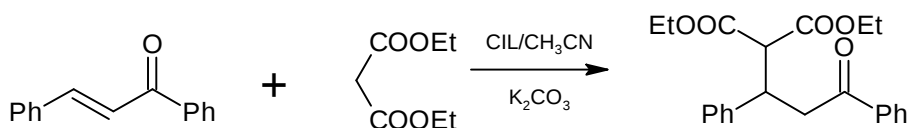


Rys. 7. Reakcja kondensacji aldolowej katalizowana przez chiralne ciecze jonowe na bazie aminokwasów [19]

Reakcja addycji Michaela

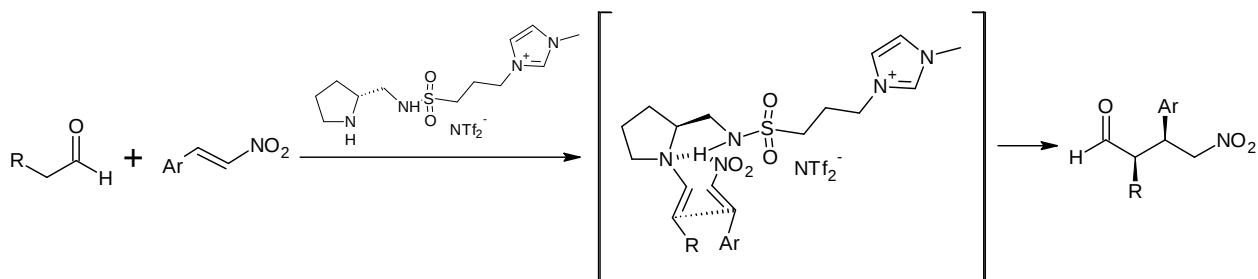
Kolejną reakcją tworzenia wiązania C–C, w której znalazły zastosowanie aminokwasowe ciecze jonowe jest asymetryczna addycja Michaela. Jej kluczowym etapem jest addycja nukleofilowa karboanionu do α,β -nienasyconych związków karbonylowych, przy użyciu katalizatorów zasadowych.

Addycję 1,3-difenyloprop-2-en-1-onu do malonianu dietylu przeprowadzono przy użyciu imidazoliowej cieczy jonowej pochodnej L-aminoalkoholu. W wyniku reakcji uzyskano niską (15%) enancjoselektywność [20].



Rys. 8. Reakcja addycji Michaela pomiędzy 1,3-difenyloprop-2-en-1-onem a malonianem dietylu w środowisku chiralnych cieczy jonowych [20]

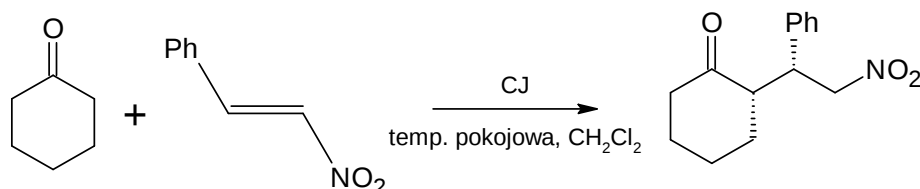
Kolejną pochodną L-proliny zastosowano w reakcji addycji Michaela (rys. 9). Ogromną zaletą zastosowanego organicznego katalizatora była jego zdolność do recyklingu bez straty aktywności. W wyniku reakcji otrzymano wydajności w zakresie 29–64%, dobre enancjoselektywności (64–82%) i wysokie stereoselektywności. Najlepsze wyniki uzyskano stosując jako rozpuszczalnik eter dietylowy [21].



Rys. 9. Mechanizm addycji Michaela katalizowanej przez chiralną ciecz jonową [21]

Ciecze jonowe na bazie proliny były także badane w asymetrycznej addycji cykloheksanonu do *trans*- β -nitrostyrenu (rys. 10). Jako katalizatora użyto L-prolinianu didecyldimetylo-

amoniowego ([DDA][Pro]) oraz kwasu benzoowego jako kokatalizatora. Uzyskano umiarkowaną wydajność produktu. Enancjoselektywność była natomiast wyższa w obecności [DDA][L-Pro], niż uzyskana w reakcji prowadzonej w środowisku cieczy jonowej [bmim]BF₄, w której zastosowano jako katalizator – L-prolinę [22].

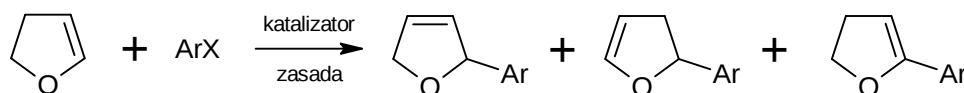


Rys. 10. Asymetryczna addycja Michaela cykloheksanonu do *trans*- β -nitrostyrenu [22]

Reakcja Hecka

Kolejną reakcją tworzenia wiązania C–C lub C–N, wykorzystującą aminokwasowe ciecze jonowe jest reakcja Hecka. Jest to reakcja substytucji polegająca na przyłączeniu nienasyconego związku organicznego do alkenu. Tradycyjnie reakcja ta zachodzi w silnie zasadowych warunkach przy użyciu katalizatorów metalicznych – kompleksów palladu lub rodru [23, 24].

Jednym z problemów reakcji Hecka jest odzyskanie katalizatora palladowego pod koniec reakcji. W tym celu, w reakcji sprzęgania krzyżowego Hecka 2,3-dihydrofuranu z jodobenzenem katalizowanej palladem Pd(OAc)₂, zastosowano L-prolinian tetrabutylamoniowy [TBA][Pro] (rys. 11). Zaobserwowano znaczny wzrost selektywności i enancjoselektywności reakcji (> 99%_{ee}) [25].

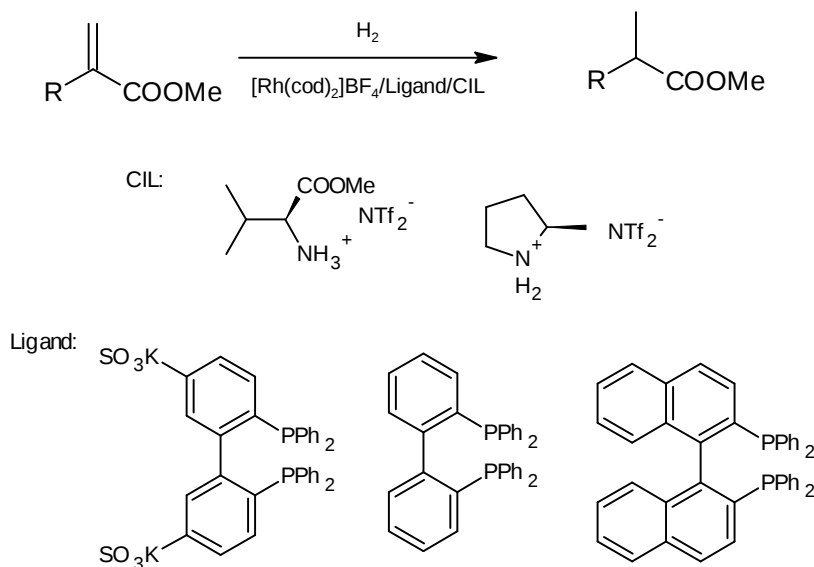


Rys. 11. Reakcja sprzęgania krzyżowego Hecka 2,3-dihydrofuranu z jodobenzenem [25]

Sprawdzono również zastosowanie L-prolininu didodecyldimetyloamoniowego oraz benzalkoniowego w tej reakcji, stosując następujące kompleksy palladu: Pd₂(dba)₃, Pd(acac)₂, PdCl₂(cod), [PdCl(allyl)]₂, PdCl₂(PhCN)₂ i PdCl₂(PPh₃)₂ [26].

Reakcja uwodornienia

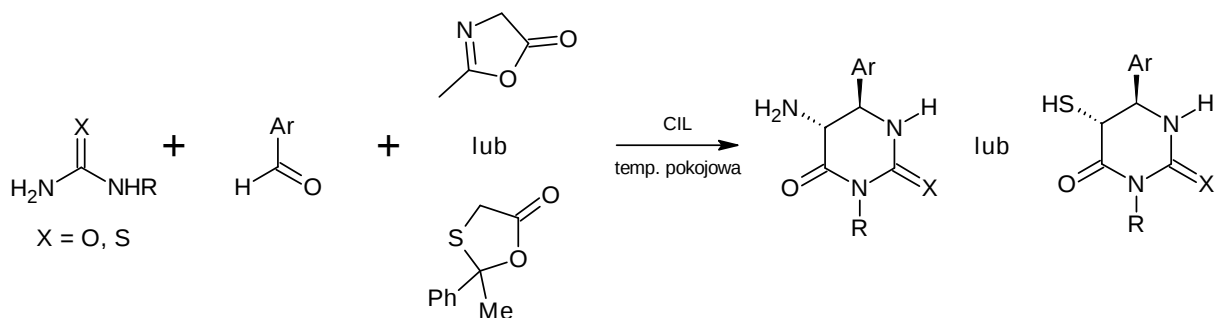
Kolejną możliwością zastosowania chiralnych cieczy jonowej na bazie aminokwasów jest asymetryczna reakcja uwodornienia olefin. Bis(trifluorosulfonyloimidki) estru metylowego proliny ([ProMe]NTf₂) i innych aminokwasów zostały zastosowane, jako środowisko reakcji uwodornienia 2-acetamidoakrylanu metylu i itakonianu dimetylu. W wyniku reakcji uzyskano wysokie stereoselektywności a układ ciecz jonowa–katalizator, po wydzieleniu produktów (przepłukując mieszaninę poreakcyjną nadkrytycznym CO₂), został użyty ponownie do reakcji [27, 28].



Rys. 12. Reakcja uwodornienia katalizowana przez ligandy tropowe [27, 28]

Reakcja Biginelliego

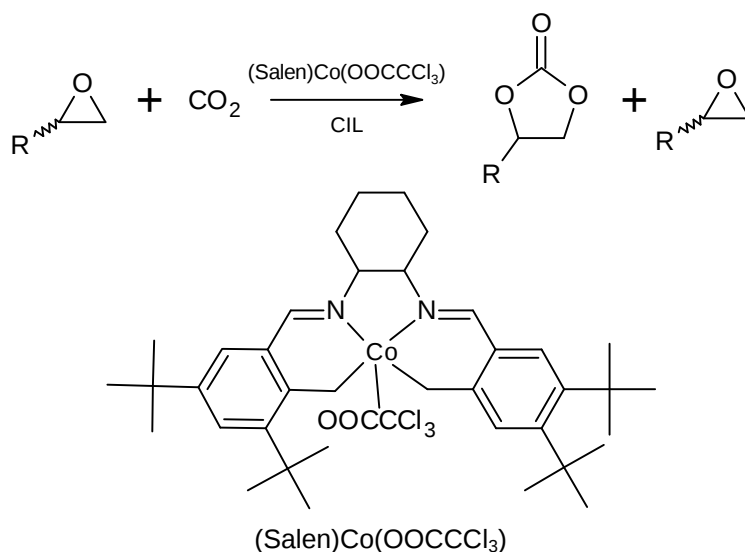
Chiralne ciecze jonowe posiadające aminokwas w części kationowej zostały zastosowane, jako katalizatory w reakcji wieloskładnikowej Biginelliego. W reakcji zostały zastosowane siarczan(VI) L-proliny (Pro_2SO_4), heksafluorofosforan L-alaniny ($AlaPF_6$) oraz azotan(V) L-treoniny ($ThrNO_3$). W wyniku reakcji przedstawionej na rysunku 13, otrzymano odpowiednie pochodne dihydropyrimidyny. Najwyższą wydajność (92%) otrzymano prowadząc reakcje przez 29 h [29, 30].



Rys. 13. Reakcja Biginelliego katalizowana chiralnymi cieczami jonowymi [29,30]

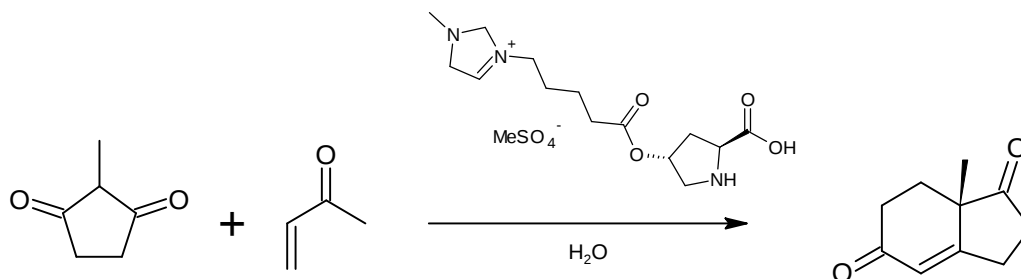
Cykloaddycja dwutlenku węgla do eposydów

Niektóre aminokwasowe ciecze jonowe mogą zostać użyte jako katalizatory reakcji cykloaddycji dwutlenku węgla do tlenku propylenu w wyniku której otrzymywany jest węglan propylenu (rys. 14). Produkt tej reakcji znalazł szerokie zastosowanie jako rozpuszczalnik polarny aprotowy stosowany w przemyśle farmaceutycznym, agrochemicznym i innych [31]. Tetrabutylamoniowe sole aminokwasów zostały użyte jako współkatalizatory w tej reakcji. Układ katalityczny ciecz jonowa–(Salen)Co(OOCCl₃) poddano trzykrotnie recyklingowi bez utraty jego aktywności [32].

Rys. 14. Cykloadycja CO₂ do epoksydów wobec pochodnej modyfikowanego salenu [32]

Otrzymywanie ketonu Wielanda-Mieschera

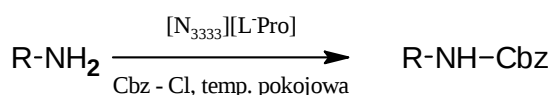
Keton Wielanda-Mieschera (Hajosa) jest bardzo ważnym produktem pośrednim syntezy witaminy D i innych surowców farmaceutycznych. Do reakcji 2-metylocyklopenta-1,3-dionu z ketonem metylo-winylowym użyto cieczy jonowej z kationem imidazoliowym (pochodną L-proliny). Reakcję prowadzono w temperaturze 80°C przez 13 h. W wyniku reakcji otrzymano pożądany produkt z wydajnością 84% [33]



Rys. 15. Synteza ketonu Wielanda-Mieschera katalizowana chiralną cieczą jonową [33]

Reakcja N-benzyloksykarbonylowania

Do reakcji N-benzyloksykarbonylowania amin odpowiednim chlorkiem został zastosowany L-prolinian tetrapropylamoniowy ([N₃₃₃₃][L-Pro]) (rys. 16). W wyniku reakcji uzyskano wysokie wydajności (90–96%) produktu w czasie 2–10 min, w temperaturze pokojowej [34].

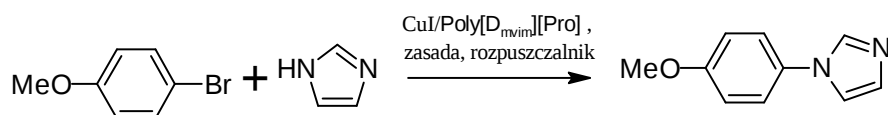


Cbz: grupa benzyloksykarbonylowa

Rys. 16. Schemat reakcji N-benzyloksykarbonylowania amin [34]

Reakcje N-arylowania

Znane są ciecze jonowe wspomagane polimerami nasycone jodkiem miedzi(I), które zostały wykorzystane do N-arylowania związków heterocyklicznych. Do reakcji przebiegającej z wydajnością do 97% użyto spolimeryzowanego prolinianu 1,2-dimetylo-3-(4-winylobenzylo)imidazoliowego (Poly[Dmvim][Pro]). Jest to najbardziej skuteczna metoda N-arylowania spośród dotychczas opisanych [35].



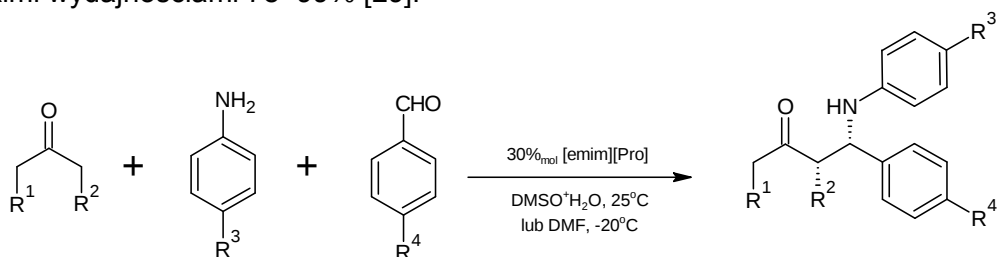
Rys. 17. Reakcja N-arylowania imidazolu z 4-bromoanizolem [35]

Otrzymywanie bezwodników aminokwasowo- węglanowych

Opracowano nowy sposób otrzymywania bezwodników przy użyciu węglanu difenyłu (DPC) i aminokwasowej cieczy jonowej (1-etylo-3-metyloimidazoliowej) [emim][AA] [36]. Metoda ta jest alternatywą dla tradycyjnej syntezy bezwodników aminokwasowo-węglanowych wykorzystywanych w syntezie polipeptydów. Tradycyjnie bezwodniki te są otrzymywane w reakcji aminokwasu z wysoko toksycznym fosgenem, dodatkowo w wyniku reakcji wydzielą się produkt uboczny HCl. Reakcja z użyciem aminokwasowej cieczy jonowej zachodzi w temperaturze pokojowej z wysoką wydajnością i w bezpieczny sposób, nie powodując korozji aparatury.

Reakcja Mannicha

Aminokwasowe ciecze jonowe zostały również użyte jako katalizator w trójskładnikowej asymetrycznej reakcji Mannicha. Do badań wykorzystano L-prolinian 1-etylo-3-metyloimidazoliowy. Reakcje prowadzono przez 3 h w temperaturze pokojowej w środowisku DMSO oraz w temperaturze 20°C z użyciem DMF jako rozpuszczalnika. Produkty otrzymywano z wysokimi wydajnościami 78–99% [29].



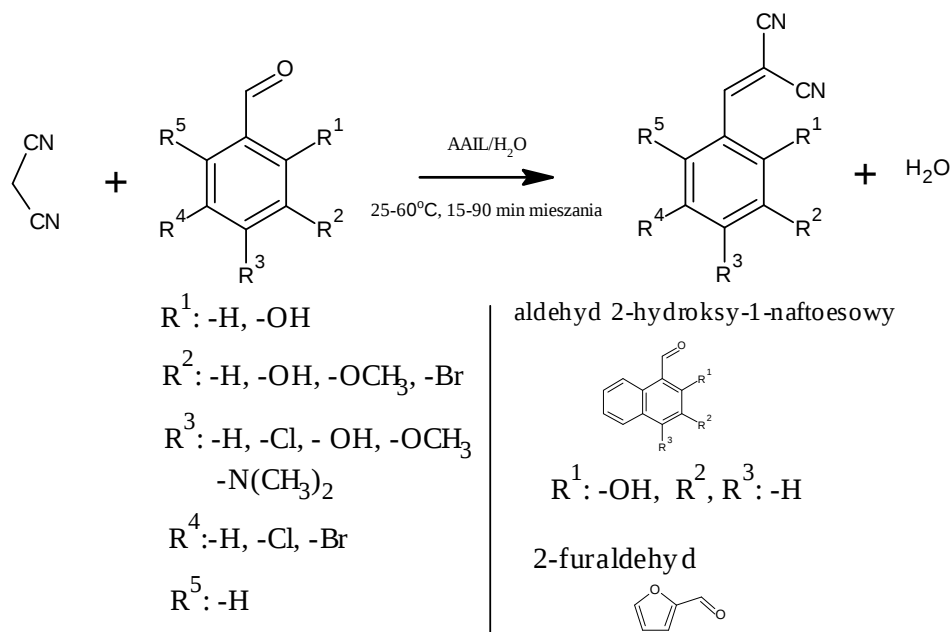
Rys. 18. Asymetryczna reakcja Mannicha w obecności aminokwasowej cieczy jonowej [emim][Pro] [29]

Reakcja Knoevenagla

Reakcja Knoevenagla to reakcja stosowana do tworzenia wiązania węgiel–węgiel pomiędzy związkami karbonyłowymi (aldehydami lub ketonami) a związkami z aktywną grupą metylenową [37–38]. Reakcja ta jest kluczowym etapem wieloetapowych syntez związków bio-

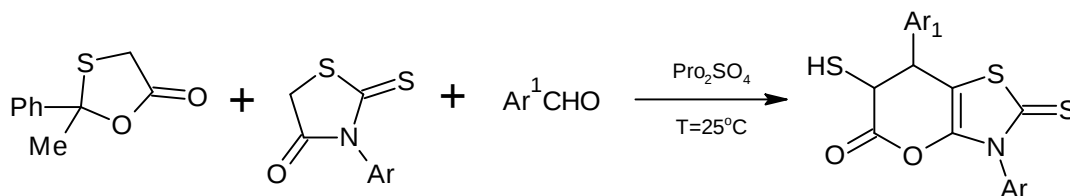
logicznie aktywnych, które znalazły zastosowanie w medycynie, a także zastosowana do otrzymania podstawionych alkenów, pochodnych kumaryn, perfum, środków farmaceutycznych i kosmetycznych [39–45].

Reakcję Knoevenagla pomiędzy malononitrylem i różnymi aldehydami prowadzono przy użyciu aminokwasowych cieczy jonowych, w których anion stanowi anion cieczy jonowej. Do badań zostały użyte sole tetrabutylamoniowe aminokwasów. Ciecz jonowa pełniła w tej reakcji za równo funkcję katalizatora, jak i współrozpuszczalnika reakcji. Utworzony układ katalizator–rozpuszczalnik (woda) posiadał możliwość wielokrotnego recyklingu [46].



Rys. 19. Kondensacja Knoevenagla aromatycznych aldehydów z malononitrylem w mieszaninie AA-ILs/woda [46]

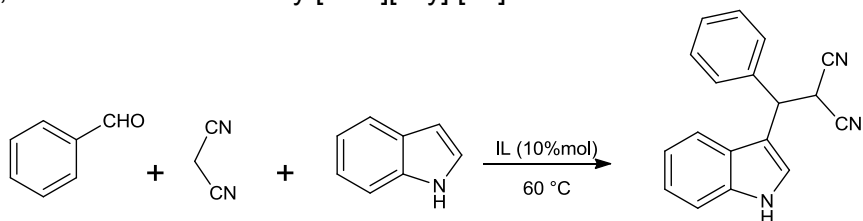
Siarczan(VI) proliny znalazł zastosowanie, jako katalizator i środowisko reakcji wieloskładnikowej otrzymywania merkaptopirantiozolu. Metoda ta okazała się szybka i skuteczna. Produkt otrzymano z wysoką enancjo- i diastereoselektywnością [47].



Rys. 20. Tandemowa reakcja – Knoevenagla – Michaela – transformacji pierścienia [47]

Sole tetrabutylamoniowe glicyny [TBA][Gly], alaniny [TBA][Ala], histydyny [TBA][His], seryny [TBA][Ser], waliny [TBA][Val] i proliny [TBA][Pro] zastosowano jako katalizatory w 3-składnikowej reakcji otrzymywania 3-podstawionej pochodnej indolu – [1*H*-indol-3-yl(fenyl)metylo]malononitrylu. Metoda ta zakłada zastąpienie dotychczas stosowanych katalizatorów zawierających metale, przyczyniających się do zanieczyszczenia pożądanego

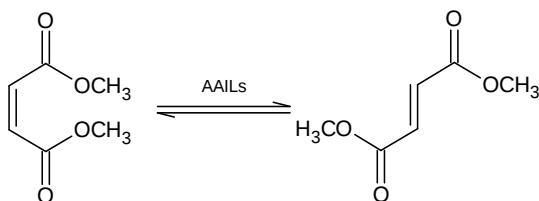
produktu, jak również możliwość prowadzenia syntezy bez konieczności użycia rozpuszczalników. Najwyższą wydajność reakcji (93%) uzyskano prowadząc reakcję w temperaturze 60°C przez 0,5 h w obecności cieczy [TBA][Gly] [48].



Rys. 21. Otrzymywanie 3-podstawionej pochodnej indolu z użyciem aminokwasowej cieczy jonowej jako katalizatora bez obecności rozpuszczalnika [48]

Reakcja izomeryzacji

Aminokwasowe ciecze jonowe zostały po raz pierwszy zastosowane w reakcji izomeryzacji maleinianu dimetylu do fumaranu dimetylu. A wyniki te nie były dotychczas publikowane. Do badań zastosowano różne kationy amoniowe: tetrabutylamoniowy, tributylometyloamoniowy, didecyldimetyloamoniowy, 2-hydroksyetyloamoniowy, benzalkoniowy dodecylotrimetyloamoniowy czy heksadecylotrimetyloamoniowy. Najwyższą wydajność izomeryzacji (58%) otrzymano stosując L-leucynian benzalkoniowy.



Rys. 22. Reakcja izomeryzacji maleinianu dimetylu do fumaranu dimetylu w środowisku aminokwasowych cieczy jonowych

WNIOSKI

Przegląd literatury oraz badania własne ukazały szerokie możliwości aplikacyjne aminokwasowych cieczy jonowych. W związku z tym, że są to chiralne związki istnieje wysokie prawdopodobieństwo przeniesienia chiralności na produkt w wyniku intermolekularnej indukcji asymetrycznej. W związku z tym znalazły zastosowanie jako katalizatory oraz środowisko wielu reakcji syntezy asymetrycznej. Aminokwasowe ciecze jonowe posiadają jeszcze jedną kluczową zaletę, układy, które je zawierają można używać w wielu cyklach reakcyjnych bez strat aktywności katalizatora.

LITERATURA

- [1] Armand M., Endres F., MacFarlane D.R., Ohno H., Scrosati B. Ionic-liquid materials for electrochemical challenges of the future. *Nat. Mater.* 8 (2009), 621–629.
- [2] Gao H., Zhang Y., Wang H.-J., Liu J. Chen J. Theoretical study on the structure and cation–anion interaction of amino acid cation based amino acid ionic liquids [Pro]⁺[NO₃]⁻. *J. Phys. Chem. A* 114 (2010), 975–985.

- [3] Plaquevent J.Ch., Levillain J., Guillen F., Malhiac C., Gaumont A. Ionic liquids: new targets and media for α -amino acid and peptide chemistry. *Chem. Rev.* 108 (2008), 5035–5060.
- [4] Ohno H., Fukumoto K. Amino acid ionic liquids. *Acc. Chem. Res.* 40 (2007), 1122–1129.
- [5] Jiang Y.-Y., Wang G.-N., Zhou Z., Wu Y.-T., Zhang Z.-B. Tetraalkylammonium amino acids as functionalized ionic liquids of low viscosity. *Chem. Commun.* (2008), 505–507.
- [6] Song Z., Liang Y., Fan M., Zhou F., Liu W. Ionic liquids from amino acids: fully green fluid lubricants for various surface contacts. *RSC Adv.* 4 (2014), 19396–19402.
- [7] Chen W., Zhang Y., Zhu L. A concept of supported amino acid liquids and their application in metal scavenging and heterogeneous catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007), 13879–13886.
- [8] Ohno H., Fukumoto K. Amino acid ionic liquids. *Acc. Chem. Res.* 40 (2007), 1122–1129.
- [9] Liu Q., Hou X., Li N., Zong M. Ionic liquids from renewable biomaterials: synthesis, characterization and application in the pretreatment of biomass. *Green Chem.* 14 (2012), 304–307.
- [10] Tao G., He L., Liu W., Xu L., Xiong W., Wang T., Kou Y. Preparation, characterization and application of amino acid-based green ionic liquids. *Green Chem.* 6 (2006), 639–646.
- [11] Zheng X., Qian Y., Wang Y. Direct asymmetric aza Diels–Alder reaction catalyzed by chiral 2-pyrrolidine-carboxylic acid ionic liquid. *Catal. Commun.* 11 (2010), 567–570.
- [12] Font D., Sayalero S., Bastero A., Jimeno C., Pericas M.A. Toward an Artificial Aldolase. *Org. Lett.* 10 (2008), 337–340.
- [13] Huang, J., Zhang, X., Armstrong, D.W. Highly efficient asymmetric direct stoichiometric aldol reactions on/in water. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 9073–9077.
- [14] Lombardo M., Easwar S., Pasi F., Trombini C. The ion tag strategy as a route to highly efficient organocatalysts for the direct asymmetric Aldol reaction. *Adv. Synth. Catal.* 351 (2009), 276–282.
- [15] Zhang L., Zhang H., Luo H., Zhou X., Cheng G.J. Novel chiral ionic liquid (CIL) assisted selectivity enhancement to (L)-Proline catalyzed asymmetric Aldol reactions. *Braz. Chem. Soc.* 22 (2011), 1736–1741.
- [16] Siyutkin D., Kucherenko A., Zlotin S. Hydroxy- α -amino acids modified by ionic liquid moieties: recoverable organocatalysts for asymmetric aldol reactions in the presence of water. *Tetrahedron* 65 (2009), 1366–1372.
- [17] Hu S., Jiang T., Zhang Z., Zhu A., Han B., Song J., Xie Y., Li W. Functional ionic liquid from biorenewable materials: synthesis and application as a catalyst in direct aldol reactions. *Tetrahedron Lett.* 48 (2007), 5613–5617.
- [18] Qian Y., Zheng X., Wang Y.J. A green and efficient asymmetric aldol reaction catalyzed by a chiral anion modified ionic liquid. *Eur. J. Org. Chem.* 19 (2010), 3672–3677.
- [19] Gauchot V., Schmitzer A.R. Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid. *J. Org. Chem.* 77 (2012), 4917–4923.
- [20] Ou W.H., Huang Z.Z. An efficient and practical synthesis of chiral imidazolium ionic liquids and their application in an enantioselective Michael reaction. *Green Chem.* 8 (2006), 731–734.
- [21] Ni B., Zhang Q., Headley A.D. Functionalized chiral ionic liquid as recyclable organocatalyst for asymmetric Michael addition to nitrostyrenes. *Green Chem.* 9 (2007), 737.
- [22] Cybulski J., Wiśniewska A., Kulig-Adamiak A., Dąbrowski Z., Praczyk T., Michalczyk A., Walkiewicz F., Materna K., Pernak J. Mandelate and proline ionic liquids: synthesis, characterization, catalytic and biological activity. *Tetrahedron Lett.* 52 (2011), 1325–1328.
- [23] Heck R.F., Nolley J.P. Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides. *J. Org. Chem.* 37 (1972), 2320–2322.
- [24] Mizoroki T., Mori K., Ozaki A. Arylation of olefin with aryl iodide catalyzed by palladium. *Bull. Chem. Org. Jap.* 44 (1971), 581.
- [25] Morel A., Silarska E., Trzeciak A.M., Pernak J. Palladium-catalyzed asymmetric Heck arylation of 2,3-dihydrofuran – effect of proline salts. *Dalton Trans.* 42 (2013), 1215–1222.
- [26] Morel A., Trzeciak A.M., Pernak J. Palladium catalyzed heck arylation of 2,3-dihydrofuran – effect of the palladium precursor. *Molecules* 19 (2014), 8402–8413.
- [27] Schmitkamp M., Chen D., Leitner W., Klankermayer J., Francio G. Enantioselective catalysis with tropos ligands in chiral ionic liquids. *Chem. Commun.* (2007), 4012–4014.
- [28] Chen D., Schmitkamp M., Francio G., Klankermayer J., Leitner W. Enantioselective hydrogenation with racemic and enantiopure binap in the presence of a chiral ionic liquid. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2008, 47, 7339–7341.
- [29] Shirini F., Rad-Moghadam K., Akbari-Dadamahaleh S. Application of ionic liquids in multicomponent reactions w: *Green Solvents II: Properties and Applications od Ionic Liquids*, ed. Mohammad A., Inamuddin 12 (2012), 289–334.
- [30] Yadav L.D.S., Rai A., Rai V.K., Awasthi C. Chiral ionic liquid-catalyzed Biginelli reaction: stereoselective synthesis of polyfunctionalized perhydropyrimidines. *Tetrahedron* 64 (2008), 1420–1429.

- [31] Freemantle M. An introduction to ionic liquids. Royal Soc. Chem. (2010).
- [32] Zhang S., Huang Y., Jing H., Yao W., Yan P. Chiral ionic liquids improved the asymmetric cycloaddition of CO₂ to epoxides. *Green Chem.* 11 (2009), 935–938.
- [33] Yagamare F.D., Generosa G.P., Emilia T.S., Lamine G.M., Ousmane D., Massene S., Alioune F.E.H. Preparation of an imidazolium chiral ionic liquid derived from proline and its use as catalyst in the one-pot synthesis of the (S)-Hajos dione. 2012.
- [34] Suryakiran N., Mahesh K.C., Ramesh D., Selvam J.J.P., Venkateswarlu Y. N-benzyloxycarbonylation of amines in the ionic liquid [TPA][L-Pro] as an efficient reaction medium. *Tetrahedron Lett.* 49 (2008), 2607–2610.
- [35] Chen W., Zhang Y.Y., Zhu L.B., Lan J.B., Xie R.G., You J.S. A concept of supported amino acid ionic liquids and their application in metal scavenging and heterogeneous catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007), 13879–13886.
- [36] Endo T., Koga T., Sudo A. Method for production of N-carboxy amino acid anhydride and amino acid carbamate compound. US Patent US 8,748,650 B2 (2014).
- [37] Mase N., Horibe T. Organocatalytic Knoevenagel condensation by means of carbamic acid ammonium salts. *Org. Lett.* 15 (2013), 1854–1857.
- [38] Gouda M.A. LiOH·H₂O as a catalyst for Knoevenagel and Gewald reactions. *Pol. J. Chem. Technol.* 12 (2010), 31–35.
- [39] Jung J.-Ch, Lim E., Lee Y., Min D., Ricci J., Park O.- S., Jung M. Total synthesis of floccoumafen via Knoevenagel condensation and intramolecular ring cyclization: General access to natural products. *Molecules* 17 (2012), 2091–2102.
- [40] Zhao S., Wang X., Zhang L. Rapid and efficient Knoevenagel condensation catalyzed by a novel protic ionic liquid under ultrasonic irradiation. *RCS Adv.* 3 (2013), 11691–11696.
- [41] Song A., Wang X., Lam K.S. A convenient synthesis of coumarin-3-carboxylic acids via Knoevenagel condensation of Meldrum's acid with ortho-hydroxyaryl aldehydes or ketones. *Tetrahedron Lett.* 44 (2003), 1755–1758.
- [42] Bigi F., Chesini L., Maggi R., Sartori G.J. Montmorillonite KSF as an inorganic, water stable, and reusable catalyst for the Knoevenagel synthesis of coumarin-3-carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* 64 (1999), 1033–1035.
- [43] Zhang Y., Dou Q., Dai L., Wang X., Chen Y. Knoevenagel condensations of 1,3-dicarbonyl compounds with aldehydes catalyzed by heterogeneous Ps-AlCl₃ without solvents. *RCS Adv.* 2 (2012), 8979–8984.
- [44] Lai S.M., Martin-Aranda R., Yeung K.L. Knoevenagel condensation reaction in a membrane microreactor. *Chem. Comm.* 2 (2003), 218–219.
- [45] Tietze L.F. Domino reactions in the synthesis of heterocyclic natural products and analogs. *Pure Appl. Chem.* 76 (2004), 1967–1983.
- [46] Ossowicz P., Rozwadowski Z., Gano M., Janus E. Efficient method for Knoevenagel condensation in aqueous solution of amino acid ionic liquids (AAILs). *Pol. J. Chem. Technol.* 18 (2016), 90–95.
- [47] Yadav L.D.S., Yadav B.S., Rai V.K. Multicomponent reactions in chiral ionic liquids: A stereocontrolled route to mercaptopyranothiazoles. *J. Heterocyclic Chem.* 45 (2008), 1315–1319.
- [48] Chinna Rajesh U., Kholiya R., Thakur A., Rawat D. [TBA][Gly] ionic liquid promoted multi-component synthesis of 3-substituted indoles and indolyl-4H-chromenes. *Tetrahedron Lett.* 56 (2015), 1790–1793.

PRZEGŁĄD WYBRANYCH METOD REKULTYWACJI AKWENÓW W POLSCE

OVERVIEW OF SELECTED METHODS OF RECLAMATION OF WATERS IN POLAND

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Zakład Chemii, Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska

Streszczenie. Wzrost liczebności populacji ludzkiej powoduje zmniejszenie dostępności czystej wody. Jest to spowodowane nadmiernym zanieczyszczeniem środowiska naturalnego. Jednym z ciągle nierozwiązanych problemów jest nadmierne użyźnianie jezior, prowadzące do ich przyspieszonej eutrofizacji. Wybór metody rekultywacji jest trudny, ponieważ na jej skuteczność wpływa wiele czynników. Stąd celem niniejszej pracy jest analiza statystyczna metod, które zostały wykorzystane do rekultywacji jezior w latach 1956–2017. Stosowane metody w przeciągu 60 lat zmieniały się. Najpopularniejszymi z nich były napowietrzanie oraz napowietrzanie połączone z inaktywacją fosforu. Stanowiły one odpowiednio 41% i 21%. Metody chemiczne, czyli m.in. inaktywacja fosforu, stanowiły zaledwie 7% przeprowadzonych prac rekultywacyjnych. Pomyślność oczyszczania jezior zależy od wyboru określonej metody. Prawidłowo przeprowadzona rekultywacja umożliwia oczyszczenie wielu akwenów do stanu II klasy czystości. Mamy duże doświadczenie i wiedzę w zakresie rekultywacji zbiorników wodnych, które w przyszłości mogą pozwolić nam na trafny dobór działań rekultywacyjnych oraz na osiągnięcie dobrego stanu jakości wód.

Słowa kluczowe: eutrofizacja, zbiornik wodny, jezioro, statystyka, napowietrzanie, inaktywacja fosforu, biomanipulacja, usuwanie wód hipolimnionu.

Keywords: eutrophication, reservoir, lake, statistics, aeration, inactivation of phosphorus, biomanipulation, removal of hypolimnion waters.

WSTĘP

Utrzymanie zbiornika w odpowiednim stanie czystości w czasach urbanizacji i ograniczenia zasobów wodnych wymaga użycia wysokorozwiniętych technik oczyszczania. Wybór metody rekultywacji jest trudny, ponieważ trzeba wziąć pod uwagę szereg czynników pośrednich, wpływających na jej skuteczność [1].

Pierwsze działania rekultywacyjne jezior w Polsce przeprowadzono w 1956 r. w jeziorze Kortowskim, usuwając wody z jego hipolimnionu. W XXI wieku tę metodę stosowano do oczyszczenia zbiornika Pławniowice osiągając poprawę warunków tlenowych, obniżenie odczynu wody, wzrost przejrzystości wody, zmniejszenie szybkości reakcji uwalniania o-fosforanów z osadów dennych [2]. Innym sposobem wspomagającym oczyszczanie wody jest użycie areacji pulweryzacyjnej. Technologia ta polega na pobraniu wody ze strefy przydennej zbiornika, natlenieniu jej i wtłoczeniu do miejsca pobrania. W ten sposób rekultywacji poddano w latach 2000–2001 jezioro Barlineckie, które uzyskało lepsze natlenienie w warstwach

przydennych i przyspieszyło samooczyszczanie [3]. Aby uzyskać lepszy efekt łączy się kilka metod rekultywacji. Dobrym przykładem jest rekultywacja jeziora Klasztornego metodą inaktywacji fosforu i biomanipulacji. Program odnowy wykonano w latach 2012–2014 uzyskując stężenie fosforu na poziomie niższym niż $0,1 \text{ mgP/dm}^3$, ograniczenie aktywności fitoplanktonu i likwidację zakwitów sinicowych [4]. Niestety, są też podejmowane próby które nie przynoszą oczekiwanego efektu. Na początku lat 90. XX wieku opracowano i wdrożono plan rekultywacji jeziora Głębocek. Zabiegi ochronne polegały na budowie rowu opaskowego, napowietrzaniu jeziora i w ostatnim okresie użyciu koagulantu PIX-118. Analizując aktualne i archiwalne wskaźniki jakości wód jeziora Głębocek (BZT_5 , fosforany, fosfor całkowity, azot całkowity, chlorofil „a”) można zauważyć trend wzrostu ich wartości, a tym samym pogorszenie stanu troficznego tego jeziora. Autorzy piszą o przyjęciu niewłaściwej metody rekultywacji lub zbyt małej intensywności oczyszczania [5].

Celem pracy jest ocena zmiany stanu prac rekultywacyjnych jezior w Polsce, które zostały przeprowadzone na przestrzeni lat 1956–2017.

STAN PRAC REKULTYWACYJNYCH W POLSCE W LATACH 1956–2017

Do analizy statystycznej stanu prac rekultywacyjnych prowadzonych w Polsce od pierwszego zabiegu (1956 r.) do 2017 roku posłużyło opracowanie Jankowskiego (2007 r.), a także dostępne publikacje naukowe (tab. 1) i informacje zamieszczone na stronach internetowych firm zajmujących się rekultywacją (tab. 1). W sumie zabiegi rekultywacyjne były i są prowadzone na 65 jeziorach.

Tabela 1. Rekultywacja jezior w Polsce

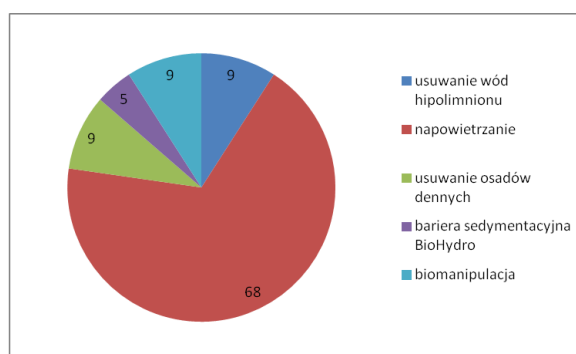
Nazwa jeziora	Położenie województwo	Metoda rekultywacji	Rok rozpoczęcia	Źródło	Powierzchnia [ha]	Gł. max [m]	Gł. śr. [m]
Miejskie	Chodzież wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2003	[6]	117	6,7	3
Rusałka	Szczecin zachodniopomorskie	inaktywacja	2006–2007	[7]	3,6	2	b.d.
Rusałka	Poznań wielkopolskie	inaktywacja	2006–2007	[8]	36,7	9,2	1,9
Uzarszewskie	Poznań Wielkopolskie	inaktywacja	2006–2007	[8]	10,6	7,5	3,4
Zbiornik Maltański	Poznań wielkopolskie	inaktywacja	2005–2009	[8]	64	5,5	3,1
Winiary	Gniezno wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2005–2007	[9]	14	4,2	b.d.
Jelonek	Gniezno wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2005–2007	[10]	14,4	2,4	1,2
Głębokie	Szczecin zachodniopomorskie	napowietrzanie + inaktywacja	2008	[6]	31,3	5	2,4
Zalew Kielecki	Kielce świętokrzyskie	napowietrzanie + inaktywacja	2008	[6]	b.d.	b.d.	b.d.
Łajskie	Łąjs warmińsko-mazurskie	napowietrzanie	b.d.	[11]	54	8	b.d.
Średnie	Turawa opolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2009	[6]	2400	13	5

Tabela 1. Rekultywacja jezior w Polsce (cd.)

Nazwa jeziora	Położenie województwo	Metoda rekultywacji	Rok rozpoczęcia	Źródło	Powierzchnia [ha]	Gł. max [m]	Gł. śr. [m]
Góreckie	Wielkopolski Park Narodowy wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2009	[6]	92,0–104,1	17,2	9
Durkowskie	Wągrowiec wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja	2009	[6]	143,7	14,6	7,9
Zalew Kraśnicki	Kraśnik lubelskie	napowietrzanie + inaktywacja	2009	[6]	42,66	b.d.	2,5
Panieńskie	Pelczyce dolnośląskie	napowietrzanie + inaktywacja	2010	[12]	10	b.d.	b.d.
Uzarszewskie	Poznań wielkopolskie	napowietrzanie + inaktywacja fosforu	2006–2008	[13]	10,6	7,3	b.d.
Trzesiecko	Szczecinek zachodniopomorskie	napowietrzanie + inaktywacja fosforu + biomanipulacja	2005–2012	[14]	300	11,8	5,4
Barlineckie	Barlinek zachodniopomorskie	napowietrzanie	2001–2002	[15]	259,1	18	7,1
Panieńskie	Pelczyce zachodniopomorskie	napowietrzanie	2010	[6]	22,2	16,6	7,7
Swarzędzkie	Swarzędz wielkopolskie	napowietrzanie	2011	[6]	93,7	7,2	2,6
Lubaskie Duże	Lubasz wielkopolskie	napowietrzanie	2012	[6]	41,44	b.d.	b.d.
Klasztorne Górne	Strzelce Krajeńskie lubuskie	inaktywacja fosforu + biomanipulacja	2012–2014	[16]	19	7,4	b.d.

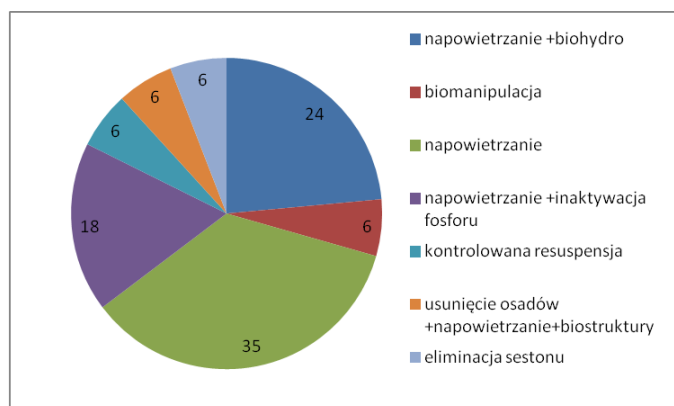
UDZIAŁ METOD REKULTYWACJI STOSOWANYCH W POLSCE

Do 1988 roku zabiegi rekultywacyjne przeprowadzono na 18 jeziorach. Z analizy danych wynika, że dominującą metodą była rekultywacja mechaniczna, głównie poprzez napowietrzanie, które stanowiło 68% (rys. 1). Mniej popularnym sposobem oczyszczania jezior było wykorzystanie biomanipulacji, usuwania osadów dennych i wód hipolimnionu (9%). Incydentalnie zastosowano barierę sedymentacyjną BioHydro, która stanowiła 5% wszystkich prób. W analizowanym okresie nie stosowano metod chemicznych.



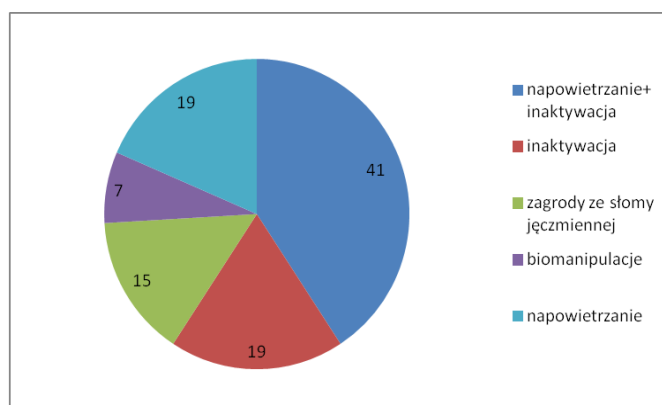
Rys. 1. Metody rekultywacji stosowane w latach 1956–1988 [%]

W latach 1989–1999 zaczęto powoli stosować dualizm metod. Jednak w dalszym ciągu najpopularniejszą metodą było zastosowanie napowietrzania, które stanowiło już tylko 35% (rys. 2). Napowietrzanie zastosowano łącznie z innymi metodami np. BioHydro (24%) oraz z inaktywacją fosforu (18%). Epizodycznie zastosowano biomanipulację, resuspensję oraz eliminację sestonu, które zastosowano tylko w 6% przypadków.



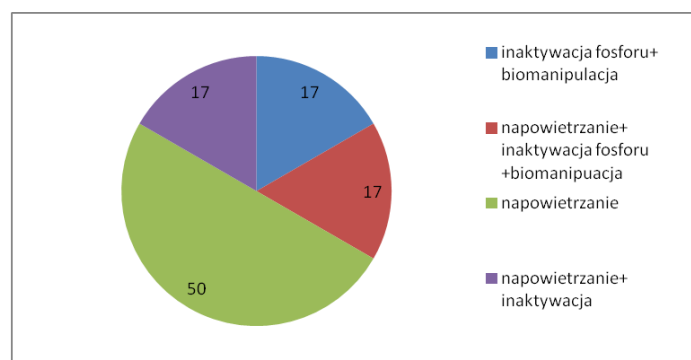
Rys. 2. Metody rekultywacji stosowane w latach 1989–1999 [%]

W XXI wieku zmieniono metody stosowane w rekultywacji jezior. Ograniczono zabiegi polegające na samym napowietrzaniu, w efekcie udział tej metody zmniejszył się do 19%. Najczęściej stosowaną metodą w latach 2000–2009 było napowietrzanie z inaktywacją fosforu (41%) (rys. 3). Natomiast pojedyncze działania rekultywacyjne, np. sama inaktywacja fosforu (19%) lub zagrody ze słomy jęczmiennej (15%) były technologiami, które zastosowano rzadziej.



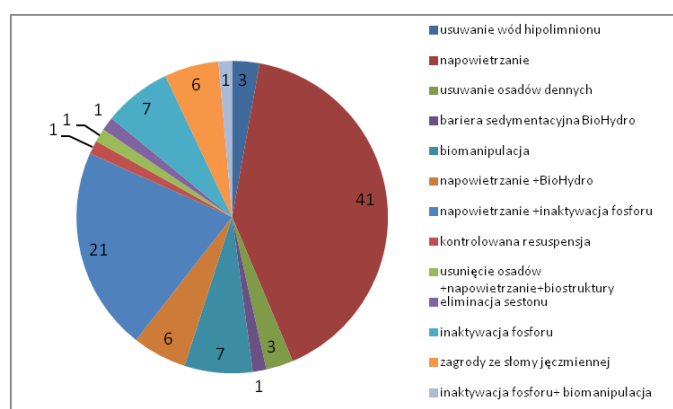
Rys. 3. Metody rekultywacji stosowane w latach 2000–2009 [%]

W latach 2010–2017 dominującą metodą stosowaną w rekultywacji jezior było mechaniczne napowietrzanie, które stanowiło 50% wszystkich działań (rys. 4). Mniej popularnym sposobem oczyszczania jezior było stosowanie inaktywacji fosforu wraz z biomanipulacją (17%). Incydentalnie zastosowano napowietrzanie z inaktywacją fosforu i biomanipulacją, które stanowiły 17% wszystkich prób.



Rys. 4. Metody rekultywacji stosowane w latach 2010–2017 [%]

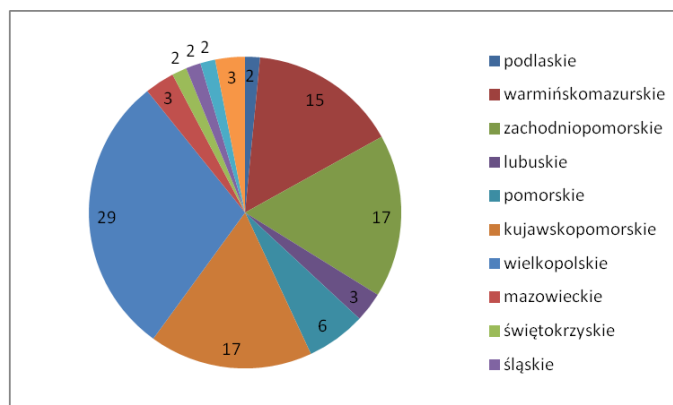
W okresie 60 lat poddano rekultywacji wiele zbiorników wodnych stosując rozmaite metody. Najpopularniejszym sposobem oczyszczania jezior było napowietrzanie, stanowiło 41% wszystkich metod. W 21% przypadków zastosowano napowietrzanie połączone z inaktywacją fosforu (rys. 5). Metody chemiczne, czyli inaktywacja fosforu stanowi jedynie 7%.



Rys. 5. Metody rekultywacji stosowane w latach 1956–2017 [%]

REALIZACJA PRAC REKULTYWACYJNYCH W WYBRANYCH WOJEWÓDZTWACH

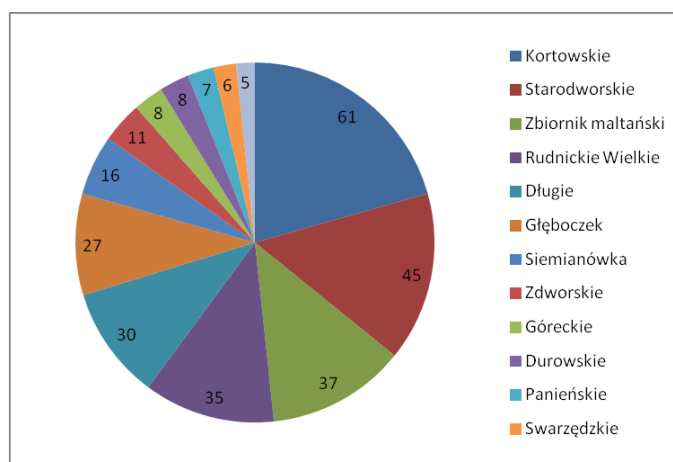
W północnej części Polski występuje najwięcej jezior, tym samym w województwach północnych prowadzono najwięcej działań rekultywacyjnych. W województwie wielkopolskim prowadzono działania rekultywacyjne na 29% jezior, w kujawsko-pomorskim i zachodniopomorskim na 17%, a w województwie warmińsko-mazurskim 15%. W pozostałych województwach prowadzono od 2 do 3% działań rekultywacyjnych (rys. 6).



Rys. 6. Udział jezior rekultywowanych w danym województwie [%]

CZAS TRWANIA REKULTYWACJI

Najdłużej rekultywowanym jeziorem w Polsce jest jezioro Kortowskie (61 lat). Jest to pierwsze jezioro podane temu procesowi już w 1956 roku. Metoda rekultywacji została opracowana przez Przemysława Olszewskiego. Polegała na odprowadzeniu przeżyźnionych wód hipolimnionu za pomocą drewnianej rury, działającej do dnia dzisiejszego. Woda odprowadzana była do rzeki Kortówki [17]. Trochę krócej prace rekultywacyjne trwają na jeziorze Starodworskim – 45 lat (rys. 7).

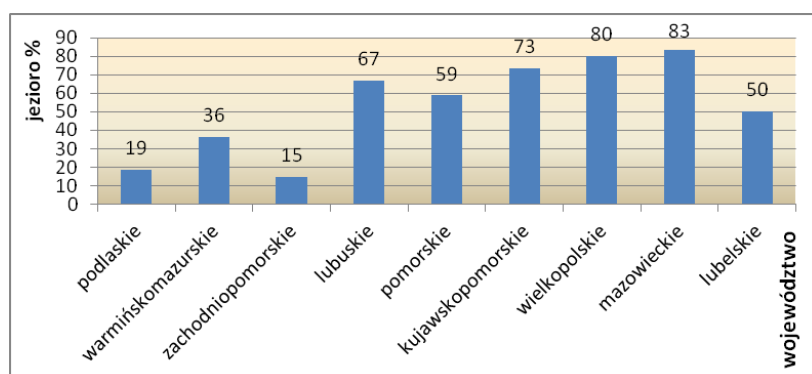


Rys. 7. Czas trwania rekultywacji (jeziora z ciągłą rekultywacją) [lat]

JEZIORA W POLSCE WYMAGAJĄCE PODJĘCIA DZIAŁAŃ REKULTYWACYJNYCH

Potrzebę prowadzenia działań rekultywacyjnych w polskich jeziorach oszacowano na podstawie oceny stanu ekologicznego i stanu troficznego jezior przeprowadzonej w przez Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska [18–26]. Jako kryterium kwalifikacji danego jeziora do rekultywacji przyjęto klasyfikację Jednolitych Części Wód o złym stanie. Dane pochodzą z lat 2014–2015 z poszczególnych stron należących do Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska. Z przedstawionych danych wynika, że najwięcej zanieczyszczonych jezior jest w województwie wielkopolskim i mazowieckim, odpowiednio 80% i 83%. Natomiast

najmniejsza ilość jezior, które powinny być poddane działaniom rekultywacyjnym znajduje się na terenie województw podlaskim (19%) i zachodniopomorskim (15%) (rys. 8).



Rys. 8. Procent jezior o złym stanie ekologicznym nadającym się do rekultywacji [%]

PODSUMOWANIE

Działania rekultywacyjne jezior w Polsce prowadzone są od 1956 roku i ulegały one znacznym zmianom na przestrzeni ponad 60 lat ich stosowania. Najpopularniejszą metodą stosowaną w Polsce jest napowietrzanie oraz napowietrzanie połączone z inaktywacją fosforu. Stanowią one odpowiednio 41% i 21%. Metody chemiczne, czyli inaktywacja fosforu stanowi jedynie 7%. Pomyślność oczyszczania jezior zależy od wyboru określonej metody. Przy wyborze należy uwzględnić głębokość ingerencji, czas prac i trwałość przewidywanego efektu [27]. Efekt rekultywacji bardziej widoczny jest dla silniej zdegradowanych akwenów. Szybkość poprawy jakości wody zależy od ładunków zanieczyszczeń dopływających do akwenu, ilości oraz „mocy” zainstalowanych urządzeń. Szybkość oczyszczenia jeziora uwidacznia się poprawą wszystkich rodzajów parametrów (bakteriologicznych, chemicznych, biologicznych i fizycznych). Prawidłowo przeprowadzona rekultywacja umożliwia doprowadzenie wiele akwenów do stanu II klasy czystości [28]. Ekosystem jeziora jest bardzo złożony, ale posiadamy coraz większą wiedzę na jego temat oraz coraz lepsze narzędzia analityczne. Komputery pomagają w gromadzeniu i przetwarzaniu zgromadzonych danych wraz z ich wnioskowaniem [27].

LITERATURA

- [1] Chmist J., Hämmerling M. Wybór najskuteczniejszej metody rekultywacji zbiorników wodnych z wykorzystaniem metody AHP. *Acta Sci. Pol. Formatio Circumiectionis* 15(2) (2016), 27–39.
- [2] Kostecki M. Zmiany wybranych wskaźników jakości wody antropogenicznego zbiornika Pławniowice w pierwszych pięciu latach rekultywacji metodą usuwania wód hipolimnionu, w: *Polska Inżynieria Środowiska pięć lat po wstąpieniu do Unii Europejskiej*, Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska PAN, Lublin. 58 (2009), 113–127.
- [3] Konieczny R. Areacja pulweryzacyjna w warunkach jeziora Barlineckiego. *Woda–Środowisko–Obszary Wiejskie*. 4(12) (2004), 291–301.
- [4] Łopata M., Wiśniewski G., Czerniawski R. Rekultywacja Jeziora Górnego w Strzelcach Krajeńskich metodą inaktywacji fosforu i biomanipulacji. *Ochrona i Rekultywacja Jezior*. Toruń, PZLiTS, 85–92.
- [5] Goszczyński J., Szatten D. Szesnaście lat badań monitoringowych jeziora Głębock. *Ochrona i Rekultywacja Jezior*. Toruń (2013), 55–64.

- [6] Podsiadłowski S. AERATOR. <http://www.aerator.pl>
- [7] Śliwa-Dominiak J., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.F. Specyficzne bakteriofagii RNA oraz bakterie z grupy coli w próbkach wody pochodzących ze śródmiejskiego jeziora w Szczecinie, (2010).
- [8] Gołdyn R., Podsiadłowski S., Kowalczevska-Madura K. Efekty rekultywacji metodą inaktywacji fosforu w trzech jeziorach wielkopolskich. [w:] Ochrona i rekultywacja jezior, red. R. Wiśniewski, Materiały Konferencyjne PZiTS. Toruń (2010), 51–61.
- [9] TE Technologie dla Środowiska Sp. z o.o. <http://www.prote.pl/PL-H17/protefoskompleksowa-uslugarekultywacji-jezior.html>
- [10] Wiśniewski R., Nowacki P., Szulczewski A. Badania jeziora Jelonek w Gnieźnie i uwarunkowania programu jego rekultywacji. [w:] Ochrona i rekultywacja jezior, red. R. Wiśniewski, Materiały Konferencyjne PZiTS. Toruń, (2010), 169–183.
- [11] www.gdos.gov.pl/rekultywacja-jeziora-lajskiego/ext:pdf
- [12] Technika rekultywacji jezior PZŚ http://www.infozs.pl/artykuly/pokaz/technika_rekultywacji_jezior
- [13] Dondajewska R., Gołdyn R., Podsiadłowski S. Zmiany jakości Jeziora Uzarzewskiego na skutek zabiegów rekultywacyjnych. [w:] Ochrona i rekultywacja jezior, red. R. Wiśniewski, Materiały Konferencyjne PZiTS. Toruń, (2013), 47–54.
- [14] Heese T., Wilk-Woźniak E., Żurek R. Ocena efektu ekologicznego rekultywacji prowadzonego w latach 2005–2012 na jeziorze Trzesiecko. [w:] Ochrona i rekultywacja jezior, red. R. Wiśniewski, Materiały Konferencyjne PZiTS. Toruń, (2013), 47–54.
- [15] Konieczny R. Areacja pulweryzacyjna w warunkach jeziora Barlineckiego. Woda–Środowisko–Obszary Wiejskie. 4(12) (2004), 291–301.
- [16] Łopata M., Wiśniewski G., Czerniawski R. Rekultywacja Jeziora Górnego w Strzelcach Krajeńskich metodą inaktywacji fosforu i biomanipulacji. Ochrona i Rekultywacja Jezior. PZiTS Toruń, 85–92.
- [17] http://www.szkolnictwo.pl/szukaj,Eksperyment_kortowski
- [18] Ocena eutrofizacji wód powierzchniowych województwa podlaskiego (na podstawie badań z lat 2013–2015). Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Białymstoku (2016) 6.
- [19] Smoter K. i wsp. Ocena jakości wód jezior badanych 2014 roku. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Olsztynie (2015), 1–182.
- [20] Milucha A. Stan środowiska w województwie zachodniopomorskim w latach 2013–2015. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Szczecinie. (2016), 101–143.
- [21] Kurzaj M. Ocena eutrofizacji jezior badanych w latach 2010–2015 na obszarze województwa lubulskiego. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Zielonej Górze (2017), 1–14.
- [22] <https://www.gdansk.wios.gov.pl/wios/aktualnosci/54-aktualnosci-publikowane-w-2016-roku/434-badania-jezior-w-2015-roku.html>. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Gdańsku.
- [23] Jutrowska E. Raport o stanie środowiska w województwie kujawsko-pomorskim w 2015 roku. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Bydgoszczy (2016) 103–126.
- [24] Pułyk M. Raport o stanie środowiska w Wielkopolsce w roku 2015. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Poznaniu. (2016), 65–70.
- [25] Monitoring jezior w latach 2010–2015. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Warszawie (2016) 7.
- [26] <http://www.wios.lublin.pl/srodowisko/monitoring-wod/ocena-jakosci-wod-jezior>. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Lublinie (2015).
- [27] Wiśniewski R. Metody rekultywacji zbiorników wodnych – stan obecny i perspektywy. Ochrona i Rekultywacja Jezior. Przysiek. (2000) 21–39.
- [28] Jerzy J., Wysocki J. Rekultywacja wód stojących przez napowietrzanie. Prz. Komunal. 9 (2006), 67–70.

WYBRANE METODY OTRZYMYWANIA OLEJKU ETERYCZNEGO ZE SKÓREK POMARAŃCZY

SELECTED METHODS OF RECEIVING THE ESSENTIAL OIL FROM ORANGE PEELS

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

Streszczenie. Istnieje wiele metod pozyskiwania olejku eterycznego ze skórek pomarańczy. Niniejsza praca przedstawia metody eksperymentalne zastosowane przez nasz zespół badawczy do pozyskiwania olejku eterycznego ze skórek pomarańczy (destylacja wodna, destylacja z parą wodną, ekstrakcja heksanem). Metody te zestawiono z metodami przedstawionymi w literaturze, co umożliwiło ich porównanie oraz określenie korzyści płynących z zastosowania poszczególnych metod oraz sprecyzowanie ich niedoskonałości. Artykuł przedstawia szerokie zastosowania olejku eterycznego ze skórek pomarańczy, a także korzyści płynące z wykorzystania odpadów, które stanowią skórki pomarańczy, do pozyskiwania olejku eterycznego.

Słowa kluczowe: ekstrakcja, destylacja, olejek eteryczny, skórki pomarańczy.

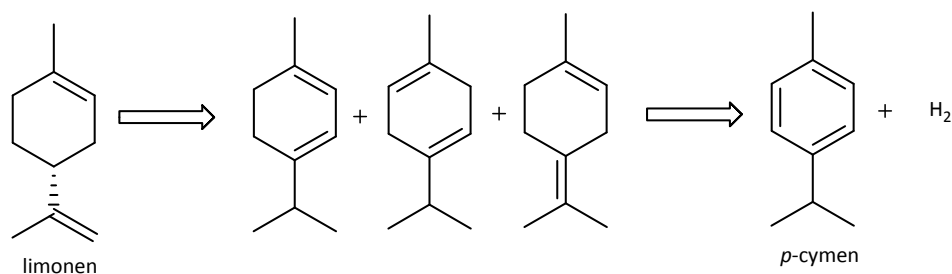
Keywords: extraction, distillation, orange essential oil, orange peels.

OLEJEK ZE SKÓREK POMARAŃCZY – ZASTOSOWANIA

Roczna produkcja owoców cytrusowych na świecie wynosi ponad 88 milionów Mg. Pomarańcze stanowią 80% całkowitej produkcji owoców cytrusowych. Największymi producentami tych owoców są: Brazylia, Stany Zjednoczone (głównie Floryda) oraz Chiny. Połowa ilości produkowanych cytrusów, których większość stanowią pomarańcze, mandarynki i cytryny, jest przetwarzana na soki owocowe i stosowana do produkcji marmolady. Około 50–60% wagowych przetwarzanych owoców stanowią odpady. Po produkcji soku pomarańczowego pozostają odpady, których 60–65% stanowią skórki z pomarańczy. W latach 2008–2011, 21,6 milionów Mg cytrusów zostało przetworzonych na soki owocowe (głównie pomarańczy i grejpfrutów), w wyniku czego, powstało 10 milionów Mg stałych odpadów. Składnikami tych odpadów były skórki i pulpa pomarańczowa, owoce, które nie nadawały się do przetworzenia (nie spełniały wymagań, były uszkodzone) oraz owoce, których był nadmiar [1].

Olejek eteryczny pozyskiwany ze skórek pomarańczy jest stosowany w szerokiej gamie produktów, takich jak: napoje gazowane, lody, ciastka, odświeżacze powietrza, perfumy, a nawet stanowi dodatek do leków. Poprawia smak lekarstw, dzięki czemu zmniejsza dyskomfort konsumentów podczas ich przyjmowania. Olejek ze skórek pomarańczy zawiera wartościowe składniki, głównym z nich jest limonen, który stanowi ponad 90% olejku. Poza limonenem, w skład olejku eterycznego wchodzi około 90 różnych związków, z których w większych ilościach występują: mircen, sabinen, γ -terpinen i α -pinen. Dzięki swojemu przy-

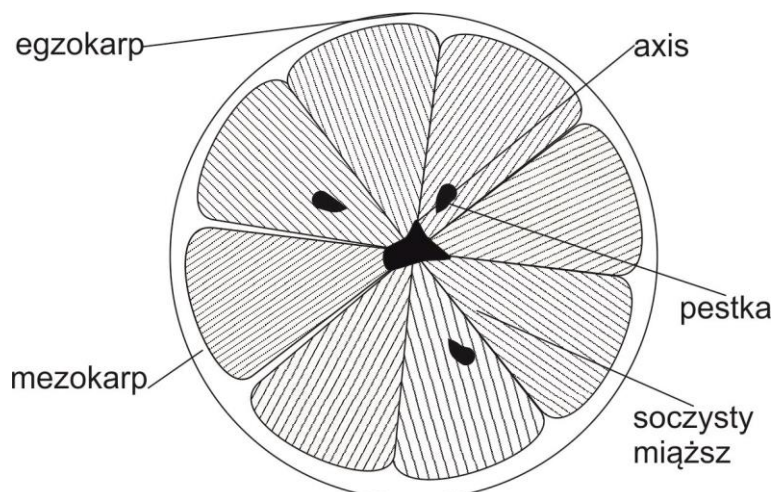
jemnemu zapachowi, olejek ten jest często stosowany, jako dodatek do żywności, perfum, kremów, mydeł, czy produktów czyszczących, wykorzystywanych w gospodarstwie domowym. Ponadto limonen wykazuje właściwości przeciwgrzybicze, bakteriostatyczne oraz bakteriobójcze, dzięki czemu ma potencjał w zastosowaniu, jako substancja konserwująca. Dzięki swoim właściwościom grzybobójczym, związek ten jest stosowany m.in. w oczyszczalniach ścieków. Limonen jest cykloterpenem, bezbarwnym węglowodorem, który w warunkach normalnych występuje w stanie ciekłym. Związek ten posiada właściwości, które przyczyniły się do badań nad jego medycznymi zastosowaniami, m. in. w leczeniu kamicy nerkowej, ponieważ rozpuszcza kamienie żółciowe oraz w leczeniu zgagi, gdyż dzięki pokrywaniu ścian przełyku, chroni go przed działaniem zawracającej treści żołądkowej. Limonen może być substratem w reakcji otrzymywania p-cymenu. (rys. 1). W pierwszym etapie tej reakcji limonen ulega izomeryzacji, a w kolejnym, powstałe izomery ulegają odwodornieniu. Właściwości limonenu powodują, że jest on również wykorzystywany jako insektycyd [2–5].



Rys. 1. Schemat reakcji otrzymywania p-cymenu, w której substratem jest limonen

OLEJEK ZE SKÓREK POMARAŃCZY POZYSKIwany W WYNIKU WYTŁACZANIA

Olejki eteryczne najczęściej pozyskuje się w procesie destylacji, ekstrakcji, absorpcji, maceracji i wytłaczania. Ta ostatnia metoda jest tradycyjną metodą otrzymywania olejku eterycznego ze skórek pomarańczy. Olejek pomarańczowy jest obecny w pęcherzykach oraz w gruczołach znajdujących się głównie w zewnętrznej części skórki (egzokarpie) oraz w niewielkiej ilości w miąższu owocu. Oba rodzaje olejków (tego otrzymywanego ze skórek oraz tego otrzymywanego z miąższu), można uzyskać mechanicznie w wyniku tłoczenia. Proces ten zachodzi bez konieczności zwiększania temperatury i dlatego jest nazywany tłoczeniem „na zimno”. Jednak w trakcie procesu pod wpływem ciśnienia i tarcia obrotowego jest wytwarzane ciepło. W celu uzyskania olejku ze skórek, kroi się owoce i oddziela zewnętrzną część skórki egzokarp od mezokarpu (rys. 2). Epiderma i gruczoły olejowe są rozdzielane przez ostrza lub ściskane w prasie. Olejek uwolniony z uszkodzonych gruczołów tworzy z wodą emulsję, z której łatwo go wyodrębnić np. poprzez wymrażanie, czy odwirowanie. Mechanicznie uzyskany olej jest przeprowadzany w strumieniu wody do zbiornika, w którym następuje dekantacja. Uzyskuje się wodną emulsję, którą umieszcza się w roztworze solanki z lodem. Następnie uzyskaną emulsję odwirowuje się w 4°C w celu uzyskania olejku. Supernatant osusza się siarczanem wapnia przez 24 godz. w temperaturze 5°C. Olejek przed analizą przechowuje się 24 godz. w temperaturze –25°C. W ten sposób uzyskuje się olejek z wydajnością 1,02% mas. [6,7].



Rys. 2. Struktura pomarańczy

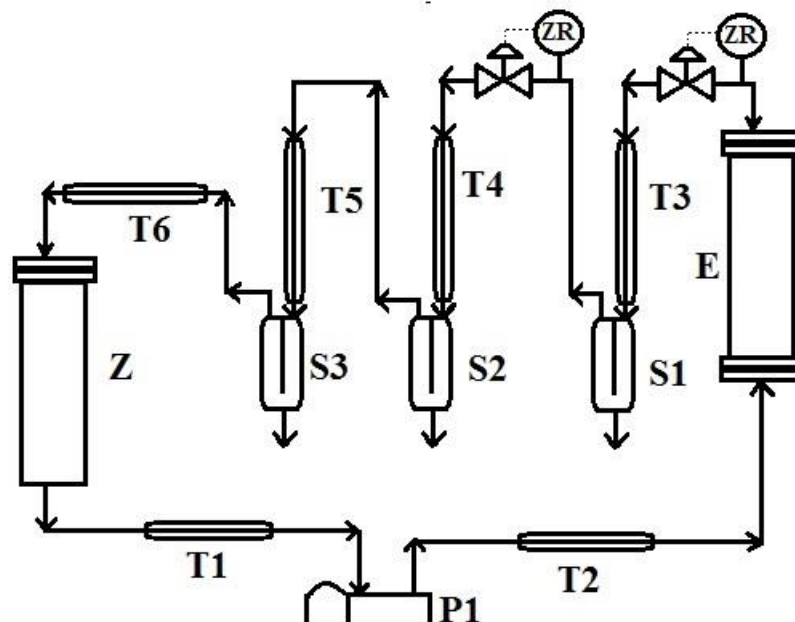
Do wytłaczania olejku ze skórek pomarańczy stosuje się urządzenia o różnej budowie. W metodzie „pelatrice” stosuje się przyrząd, którego kluczowym elementem jest przenośnik ślimakowy. W metodzie tej z całych owoców ściera się zewnętrzną warstwę skórki, z której następnie pozyskuje się olejek. Do zbiornika załadunku się owoce cytrusowe, które obracają się, za pomocą przenośnika ślimakowego, w kierunku przeciwnym do powierzchni ścierającej. Tarcie powierzchni śruby o materiał roślinny, powoduje rozrywanie gruczołów i uwolnienie emulsji złożonej z wody i olejku. Przenośnik ślimakowy transportuje odpady owocowe do odcinka wyposażonego w ostrza rozrywające pozostałe gruczoły olejkowe. Odpady owocowe są przepłukiwane wodą w celu wydobywania emulsji wodno-olejkowej. Emulsja jest przepuszczana przez sito, na którym pozostają stałe zanieczyszczenia. Następnie, emulsja dostaje się do dwóch połączonych szeregowo wirówek, gdzie po odwirowaniu uzyskuje się czysty olejek.

Inne urządzenie stosowane w tzw. metodzie „sfumatrice” do wytłaczania olejku składa się z dwóch poziomych żebrowanych rolek, które przenoszą skórki. W metodzie tej w odróżnieniu od „pelatrice” używa się skórek po wyciśnięciu soku. Skórki są tłoczone, co pozwala na uwolnienie z nich olejku. Podobnie, jak w poprzedniej metodzie, olejek jest wmywany ze skórek po tłoczeniu za pomocą wody. Również w przypadku tej metody odseparowuje się stałe cząstki, a następnie odwirowuje się oczyszczoną emulsję w dwóch wirówkach połączonych szeregowo. Zastosowanie tego urządzenia do pozyskiwania olejku eterycznego ze skórek cytrusów było bardzo popularne we Włoszech, jednak zostało wyparte przez metodę „pelatrice” [8].

METODA EKSTRAKCJI CIECZĄ W WARUNKACH NADKRYTYCZNYCH

Olejek pomarańczowy ze skórek pomarańczy można otrzymać w procesie ekstrakcji z użyciem cieczy w warunkach nadkrytycznych (SFE) (rys. 3). Do ekstrakcji olejku, jako rozpuszczalnik zastosowano dwutlenek węgla w stanie nadkrytycznym, który jest często wykorzystywany w przemyśle spożywczym ze względu na stosunkowo niskie parametry krytycz-

ne, małą lepkość oraz wysoką dyfuzyjność, która zapewnia dogłębne wnikanie w surowiec i pozyskiwanie pożądanych składników. Ponadto zaletą CO_2 jest jego nietoksyczność i duża lotność zapewniająca łatwe usuwanie po ekstrakcji [9].



Rys. 3. Schemat instalacji do ekstrakcji nadkrytycznym CO_2 składający się z: E – ekstraktora, Z – zbiornika CO_2 , P1 – pompy, T – wymienników ciepła, ZR – zaworów redukujących ciśnienie [3, 9]

Ekstrakcja skórek pomarańczy za pomocą CO_2 w stanie nadkrytycznym, w temperaturze 35°C oraz pod ciśnieniem 12,5 MPa, umożliwia otrzymanie olejku, w którym zawartość limonenu jest większa niż 99,5%. Właściwości cieczy w stanie nadkrytycznym są korzystne w procesie ekstrakcji ze względu na posiadanie cech substancji w stanie ciekłym i gazowym. Lepkość substancji w stanie nadkrytycznym jest zbliżona do gazów, natomiast gęstość jest zbliżona do cieczy. Dzięki temu możliwa jest ekstrakcja analitów z siłą zbliżoną do ciekłych rozpuszczalników a przy tym szybkość penetrowania matrycy próbki jest podobna do tej, którą charakteryzują się gazy. Olejek otrzymany tą metodą zawiera również karotenoidy, które oprócz wartości odżywczych (są prekursorem witaminy A), posiadają właściwości antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, a także są stosowane do barwienia żywności. Tradycyjnie, olejek pomarańczowy otrzymuje się w procesie tłoczenia na zimno, która to metoda jest szybką i tanią metodą, jednak wadą tego procesu jest jego mała selektywność. Główną zaletą ekstrakcji z użyciem cieczy w stanie nadkrytycznym jest możliwość oddzielenia niepożądanych terpenów, które obniżają jakość olejku, stanowiąc jego zanieczyszczenia. Limonen całkowicie miesza się z ciekłym CO_2 , a jego rozpuszczalność w temperaturze 40°C pod ciśnieniem 4–10 MPa mieści się w przedziale od 1 g/g do 100 g/g CO_2 . Efektywność ekstrakcji zmniejsza się wraz ze wzrostem przepływu CO_2 . Rozdrobnienie skórek pomarańczy zmniejsza opór dyfuzyjny przenoszenia masy [3, 9].

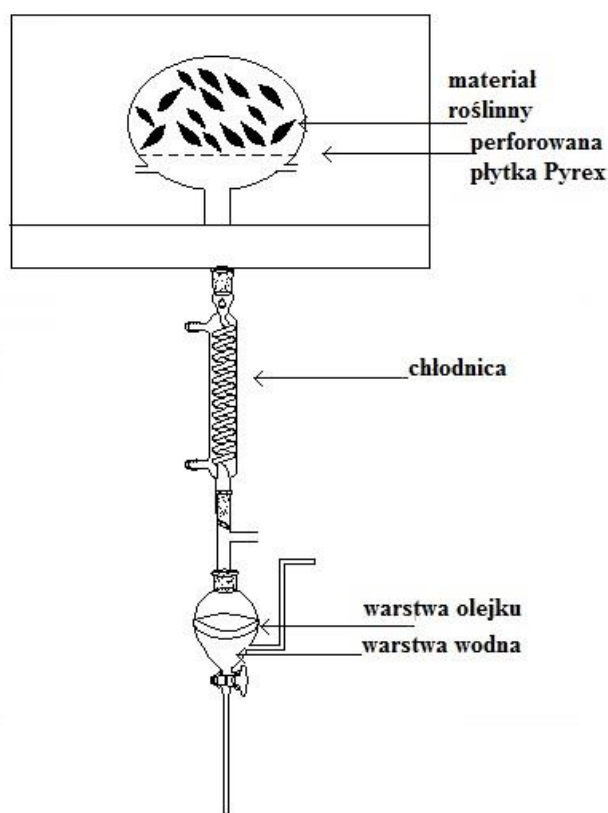
Rozdział polega na wprowadzeniu cieczy w stanie nadkrytycznym do ekstraktora, w którym znajduje się surowiec podlegający rozdziałowi. Po zetknięciu z surowcem dochodzi do

wyodrębnienia ekstrahowanych składników. Następnie wyekstrahowane składniki wraz z rozpuszczalnikami docierają do separatorów, w których następuje stopniowy rozdział w wyniku zmian ciśnienia lub temperatury. Warunki ciśnienia i temperatury są dobierane w taki sposób, aby pożądaný składnik był jak najstabilniej rozpuszczany, dzięki czemu dochodzi do jego wytrącenia [10].

Ekstrakcja olejku ze skórek pomarańczy cieczą w warunkach nadkrytycznych, jest metodą przyjazną środowisku. Pomimo szeregu zalet obejmujących dużą selektywność, krótki czas procesu oraz jego automatyzację, małą ilość stosowanych rozpuszczalników, dużą wadę tej metody stanowi wysoki koszt aparatury oraz ponoszenie dużych nakładów energii na sprężenie rozpuszczalnika [9, 11].

METODA MIKROFALOWEJ HYDRODYFUZJI I GRAWITACJI (MGH)

Nową alternatywną metodą pozyskiwania olejków eterycznych, która jest przyjazna środowisku, jest wyizolowanie olejku eterycznego za pomocą mikrofalowej hydrodyfuzji i grawitacji (MGH), prowadzonej w reaktorze mikrofalowym (rys. 4).



Rys. 4. Schemat aparatury do MGH (metody pozyskiwania olejku ze skórek pomarańczy metodą mikrofalową) [6]

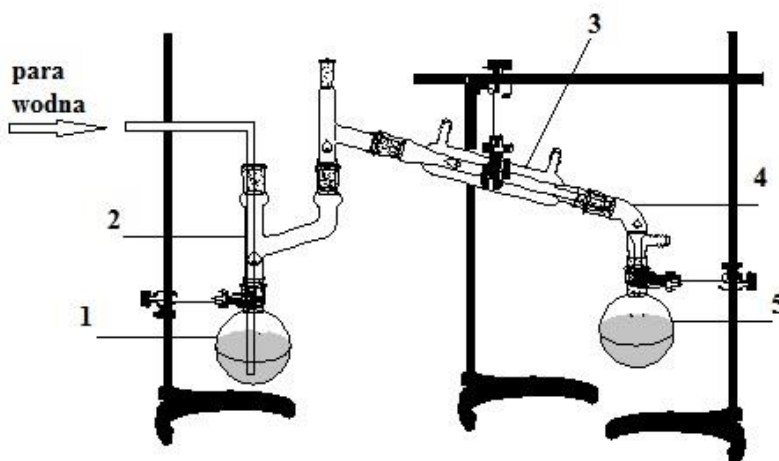
Mikrofale generują zjawisko hydrodyfuzji, które powoduje wyodrębnienie olejku na zewnątrz materiału. Następnie siła ciężkości powoduje opadania olejku i umożliwia jego oddzielenie. Proces ten przebiega pod ciśnieniem atmosferycznym. W metodzie tej materiał roślinny umieszcza się w reaktorze mikrofalowym bez dodatku rozpuszczalników i wody.

Mikrofale podgrzewające wodę znajdującą się wewnątrz materiału roślinnego, powodują rozrywanie gruczołów oraz komórek i uwalnianie cząsteczek wraz z wodą. Zjawisko to nazywane hydrodyfuzją jest podobne do destylacji z parą wodną. Umożliwia ona wyodrębnienie olejku na zewnątrz materiału roślinnego. Następnie otrzymany olejek kroplami wypływa z reaktora przez perforowaną płytę Pyrex. Znajdujący się poza reaktorem wymiennik ciepła, chłodzi ekstrakt w sposób ciągły. Ekstrakt jest zbierany i rozdzielany w odbieralnikach. Dużą zaletą MGH jest możliwość pozyskania olejku w krótkim czasie. Z 500 g skórek cytrusowych przy pomocy promieniowania o mocy 500 W, można całkowicie wyizolować olejek z materiału roślinnego w czasie 15 minut. Dodatkowo metoda ta nie wymaga użycia rozpuszczalników, których stosowanie nie jest przyjazne środowisku, a jednocześnie chłonie duże ilości energii [6].

OTRZYMYWANIE OLEJKU ETERYCZNEGO METODĄ DESTYLACJI Z PARĄ WODNĄ

Destylacja z parą wodną polega na przepuszczaniu pary wodnej przez surowiec, a następnie na skropleniu pary zawierającej lotne składniki i oddzieleniu nierozpuszczalnej w wodzie frakcji zapachowej (rys. 5). W ten sposób można pozyskać olejki eteryczne, które słabo rozpuszczają się w wodzie, a których składniki nie rozdzielają się w temperaturze 100°C i w obecności pary wodnej [12].

Metoda jest odpowiednia, kiedy pozyskiwane lotne substancje nie mieszają się z parą wodną. Takie substancje wykazują znaczną prężność pary w temperaturze 100°C (co najmniej 6,5–13 hPa) [13].



Rys. 5. Zestaw do destylacji z parą wodną. 1 – kolba destylacyjna, 2 – nasadka, 3 – chłodnica, 4 – przedłużacz, 5 – odbieralnik

Przygotowanie skórek pomarańczy przed destylacją poprzez ich podgrzanie, umożliwia otrzymanie olejku, w którym zawartość limonenu wynosi około 95%. Skórki są oczyszczane, a następnie podgrzewa się je do temperatury 45°C i utrzymuje tę temperaturę przez 2 godziny [4].

OTRZYMYWANIE OLEJKU ETERYCZNEGO METODĄ DESTYLACJI WODNEJ

Destylacja wodna jest zbliżona do destylacji z parą wodną. Różnica polega na tym, że materiał roślinny umieszcza się w naczyniu z wodą. Następnie taką mieszaninę podgrzewa się do temperatury wrzenia. Olejek skrapla się z parą wodną, którą zbiera się do odbieralnika, a otrzymaną mieszaninę olejku i wody rozdziela się w łatwy sposób w rozdzielaczu lub zamrażając wodę i zlewając znad niej olejek eteryczny [12].

Celem tej pracy jest porównanie metod otrzymywania olejków eterycznego ze skórek pomarańczy.

SPOSÓB PROWADZENIA DOŚWIADCZEŃ

Otrzymywanie olejku eterycznego – destylacja wodna

Przed przystąpieniem do destylacji ręcznie oddzielono mezokarp od egzokarpu. Tak otrzymane skórki były rozdrabniane w malakserze. Do procesu wykorzystano skórki świeże, mrożone lub suszone na powietrzu przez 4 dni. Proces otrzymywania olejku ze skórek pomarańczy prowadzono w reaktorze o pojemności 5 dm³, wyposażonym w chłodnicę i mieszadło mechaniczne. Temperaturę początkową łaźni ustawiano na 180°C, a po osiągnięciu temperatury wrzenia, zmniejszano ją do 130°C. Ilość wsadu (skórki pomarańczowe) zmieniano, aż ustalono najbardziej odpowiednią (około 1000 g), która była na tyle mała, żeby się nie przypalać i na tyle duża, żeby uzyskać dużą ilość produktu. Do wsadu dodawano około 2,5 dm³ wody. Po osiągnięciu temperatury wrzenia tzn. 91°C (po 50 minutach od włączenia grzania), rozpoczęto zbieranie pierwszych kropli destylatu do odbieralnika, a po 5 minutach zaobserwowano pierwsze krople olejku. Po 30 minutach destylacji zbierano większość olejku, w kolejnych 130 minutach zbierano pozostałą część. Cały proces od rozpoczęcia grzania trwał 3,5 godziny.

Uzyskany olejek wraz z wodą zbierano do odbieralnika. Gęstość olejku w porównaniu z gęstością wody jest mniejsza, dlatego olejek zbierał się na powierzchni wody. Następnie przelano emulsję do zamykanego, szklanego zbiornika, który umieszczono w zamrażarce, a kolejnego dnia w łatwy sposób zlewano olejek znad lodu i umieszczano w lodówce, do czasu oczyszczania i wykonania analiz.

Otrzymywanie olejku eterycznego – destylacja z parą wodną

Przed przystąpieniem do destylacji przygotowywano skórki poprzez ręczne oddzielenie mezokarpu od egzokarpu. 200 gramów skórek rozdrobniono w malakserze, dodano do nich niewielką ilość ciepłej wody. Następnie otrzymaną pulpę przeniesiono do kolby destylacyjnej. Przepuszczano przez nią parę wodną. Pierwsze krople destylatu zebrano w temperaturze 92°C. Czas trwania procesu wynosił 50 minut. Destylat zbierano przez 30 minut. Przeprowadzono analizę otrzymanego olejku eterycznego metodą GC (chromatografii gazowej).

Otrzymywanie olejku eterycznego metodą ekstrakcji heksanem, część eksperymentalna

Do kolby stożkowej odważono 100 g drobno pokrojonych skórek z pomarańczy (średnica cząstek około 0,7 cm), które schły na powietrzu przez 3 dni. Zalano je heksanem i pozostawiono do następnego dnia, w tym czasie kilkakrotnie wstrząsając zawartość kolby. Roztwór o barwie żółtej odsączono od skórek, przemyto kilkakrotnie roztworem solanki, a następnie suszono bezwodnym Na_2SO_4 . Następnego dnia odsączono Na_2SO_4 i odparowano rozpuszczalnik na wyparce próżniowej. Olejek otrzymywano ze średnią wydajnością 0,91% mas. wsadu. Przeprowadzono analizę otrzymanego olejku eterycznego metodą GC (chromatografii gazowej).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Tabela 1. Porównanie metod otrzymywania olejku ze skórek pomarańczy

Metoda	Czas trwania procesu	Procentowa zawartość olejku [%]	Zalety metody	Wady
Destylacja wodna	3,5 godziny	1,06	jedynym stosowanym rozpuszczalnikiem jest woda, proces przyjazny środowisku, duża ilość uzyskanego olejku	proces wymaga dostarczania energii
Destylacja z parą wodną	3,5 godziny	1,36	te same co w przypadku destylacji wodnej, uzyskuje się większą ilość olejku niż w przypadku destylacji wodnej	proces wymaga dostarczania energii, aparatura jest bardziej złożona niż w przypadku destylacji wodnej
Ekstrakcja heksanem	24 godziny	0,91	proces nie wymaga dostarczania energii	konieczność stosowania rozpuszczalnika, dość długi czas prowadzenia procesu
Ekstrakcja cieczą w warunkach nadkrytycznych [3]	15 minut	1,5	niska temperatura procesu, prowadzenie procesu w warunkach beztlenowych, co zapobiega utlenianiu substancji; stosowanie nietoksycznych rozpuszczalników, wysoka selektywność procesu.	wysoki koszt aparatury, konieczność stosowania zwiększonego ciśnienia (100–200 atm)
Wytłaczanie [7]	olejek otrzymuje się od razu w trakcie trwania procesu	1,02	szybka metoda, bez konieczności stosowania rozpuszczalników, ewentualnie wody	konieczność posiadania specjalnej aparatury, urządzenia często napędzane energią elektryczną
Ekstrakcja z użyciem mikrofal [6]	30 minut	0,95	proces umożliwia zaoszczędzenie energii w porównaniu z destylacją wodną. Brak konieczności stosowania rozpuszczalników. Nie stosuje się nawet wody	ograniczona wielkość reaktora mikrofalowego, uniemożliwia prowadzenie procesu na dużą skalę

Każda z przedstawionych metod posiada wady i zalety (Tab. 1). Metodą destylacji z parą wodną uzyskano olejek, który stanowił średnio aż 1,36% mas. wsadu. Natomiast metodą destylacji wodnej średnio uzyskiwano olejek, który stanowił 1,06% mas. wsadu.

Dlaczego już w temperaturze 91°C pojawiły się pierwsze krople destylatu? Ponieważ wrzenie pojawia się, kiedy suma cząstkowych ciśnień czystych substancji, czyli olejku i wody, jest równa ciśnieniu atmosferycznemu. W związku z tym, że ciśnienie wody jest dużo większe niż olejku, temperatura wrzenia jest niższa od temperatury wrzenia wody [14].

Wykonano również destylację wsadu, który został wcześniej zamrożony. Okazało się, że w ten sposób uzyskiwano olejek, który stanowił zaledwie 0,63% mas. wsadu. Im dłuższy był czas przechowywania skórek w zamrażarce tym mniejszą ilość olejku uzyskiwano (Tab. 2). Najprawdopodobniej jest to spowodowane wypływaniem olejku eterycznego w czasie zamrażania, gdyż przesuwający się w głąb materiału roślinnego front lodowy, wywiera ciśnienia na gruczoły olejkowe, powodując ich pękanie i wypływanie olejku eterycznego z materiału roślinnego.

Tabela 2. Wpływ czasu przechowywania skórek pomarańczy w zamrażarce, na procentowy udział olejku w stosunku do masy wyjściowej skórek pomarańczy

Czas przechowywania skórek w zamrażarce [dni]	Masa wsadu po rozmrożeniu [g]	% mas. wsadu, jaki stanowi otrzymany olejek eteryczny
3	1000	0,73
5	1000	0,76
7	1000	0,86
8	1240	0,51
9	1050	0,38

Nie jest również korzystne suszenie skórek przed destylacją, ponieważ po ich wysuszeniu otrzymuje się olejek stanowiący średnio 0,06% mas. świeżego wsadu (Tab. 3).

Tabela 3. Procentowy udział olejku eterycznego w stosunku do masy wyjściowej skórek suszonych na powietrzu.

Masa świeżych skórek przed suszeniem [g]	Masa skórek po 4 dniach suszenia na powietrzu [g]	Ilość otrzymanego olejku [g]	% mas. wysuszonego wsadu, jaki stanowi otrzymany olejek eteryczny	% mas. świeżego wsadu, jaki stanowi otrzymany olejek eteryczny
804	207	0,471	0,23	0,06
806	205	0,485	0,24	0,06
820	225	0,505	0,22	0,06

Postępując zgodnie z powyższą procedurą udało się również uzyskać olejek eteryczny metodą ekstrakcji heksanem, który średnio stanowił 0,91% mas. wsadu. Otrzymany tą metodą olejek był barwy pomarańczowej, która prawdopodobnie wynika z obecności karotenoidów. Zarówno metoda destylacji z parą wodną oraz destylacji wodnej zasługują na uznanie ze względu na brak stosowania rozpuszczalników organicznych. W metodach tych stosuje się jedynie wodę. Ponadto metody te nie wymagają stosowania skomplikowanej aparatury, a pozostałość po destylacji może być dalej wykorzystana, na przykład, jako dodatek do pasz dla zwierząt. Analiza GC wykazała, że olejki eteryczne otrzymane metodą destylacji wodnej, destylacji z parą wodną oraz metodą ekstrakcji heksanem, mają bardzo zbliżony skład, a zawartość limonenu w tych olejkach jest bliska 95%.

LITERATURA

- [1] Negro V., Mancini G., Ruggeri B., Fino D. Citrus waste feedstock for bio-based products recovery: Review on limonene case study and energy valorization. *Biores. Technol.* 214 (2016), 806–815.
- [2] Martin R. Natural Relief from Heartburn! *LE Magazine* September (2006), 1–6.
- [3] Mira B., Blasco M., Berna A., Subirats S. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition. *J. Supercrit. Fluids* 14 (1999), 95–104.
- [4] Sikdar D.C., Menon R., Duseja P., Kumar P., Swami P. Extraction of citrus oil from orange (*Citrus sinensis*) peels by steam distillation and its characterizations. *Inter. J. Tech. Res. Appl.* 4 (2016), 341–346.
- [5] Corma A., Iborra S., Velty A. Chemical Routes for the Transformation of Biomass into Chemicals. *Chem. Rev.* 107 (2017), 2411–2502.
- [6] Bousbia N., Vian M.A., Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *J. Food Engineer.* 90 (2009), 409–413.
- [7] Choi H-S. Character impact odorants of citrus Hallabong [(*C. unshiu* Marcov × *C. sinensis* Osbeck) × *C. reticulata* Blanco] cold-pressed peel oil. *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003), 2687–2692.
- [8] Mehl M., Marti G., Boccard J., Debrus B., Merle P., Delort E., Baroux L., Raymo V., Velazco M.I., Sommer H., Wolfender J.L., Rudaz S. Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: a metabolomics approach. *Food Chem.* 143 (2014), 325–355.
- [9] Janiszewska E., Witrowa-Rajchert D. Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość* 4 (2005), 5–16.
- [10] Sant ana L.L.B., Silva C.V., Almeida L.C., Costa T.A.C., Velozol E.S. Extraction with supercritical fluid and comparison of chemical composition from adults and young leaves of *Zanthoxylum tingoassuiba* *Revista Brasileira de Farmacognosia. Braz. J. Pharmacog.* 21(2011), 564–567.
- [11] Jagiełło M. Zastosowanie ekstrakcji w stanie nadkrytycznym do analizy fenoli. *Ochr. Śr.* 26 (2004), 7–12.
- [12] Flis A., Pikul K. Olejki eteryczne w kosmologii 3 (2013), 64–71.
- [13] Czarny A., Kawalek B., Kolasa A., Milart P., Rys B., Wilamowski J. Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej Zasady bezpieczeństwa, aparatura i techniki laboratoryjne. Wydaw. Adaman Warszawa (2007–2008).
- [14] Technologia chemiczna – ćwiczenia laboratoryjne, red. A. Machocki, Destylacja olejków eterycznych z uproszczoną symulacją procesu rektyfikacji. Lublin, Wydaw. UMCS (2007), 1–20.

Anna RZUCHOWSKA¹, Anna SZADY-CHEŁMIENIECKA¹,
Agata MARKOWSKA-SZCZUPAK², Zbigniew ROZWADOWSKI¹

AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA I PRZECIWGRZYBICZNA ZASAD SCHIFFA, POCHODNYCH PRODUKTÓW POCHODZENIA NATURALNEGO, WOBEC WYBRANYCH SZCZEPÓW MIKROORGANIZMÓW

ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SCHIFF BASES, DERIVATIVES OF NATURAL PRODUCTS, AGAINST SELECTED STRAINS OF MICROORGANISMS

¹ Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Zakład Chemii Analitycznej

² Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska, Zakład Biotechnologii

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań nad aktywnością biologiczną (antybakteryjną i przeciwgrzybiczną) 20 zasad Schiffa, pochodnych 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu oraz 2-amino-2-deoksy-D-glukozy wobec szczepów bakterii *Staphylococcus epidermidis* i *Escherichia coli* oraz grzybów *Candida albicans* i *Penicillium chrysogenum*. Dodatkowo w celach porównawczych przeprowadzono analogiczne badania dla wyjściowych aldehydów aromatycznych. Iminy wykazywały różną aktywność zależną zarówno od typu i położenia podstawnika w pierścieniu aromatycznym jak i formy reszty cukrowej. Pochodne, w których dominowała forma bez przeniesionego protonu, wykazywały większą aktywność w stosunku do bakterii *E.coli* i drożdżaka *C. albicans*. Typ reszty cukrowej w badanych zasadach Schiffa miał stosunkowo różnicowany wpływ na charakter biobójczy. Z reguły pochodne 2-amino-2-deoksy-D-glukozy wykazywały większą aktywność niż ich analogi łańcuchowe. Otrzymane wyniki wskazują na różny mechanizm aktywności biologicznej w zależności od typu mikroorganizmu.

Słowa kluczowe: zasady Schiffa, pochodne aminocukrowe, aktywność biologiczna.

Keywords: Schiff bases, aminosugar derivatives, biological activity.

WSTĘP

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania zasadami Schiffa, pochodnymi produktów pochodzenia naturalnego takimi jak aminokwasy czy aminocukry. Związane jest to z wykorzystywaniem optycznie czynnych zasad Schiffa w syntezie kompleksów stosowanych jako enancjoselektywne katalizatory czy związki o charakterze biocydów (o aktywności przeciwgrzybiczej i antybakteryjnej) oraz z tworzeniem imin jako produktów pośrednich w wielu procesach biologicznych [1–7]. Szeroki dobór aldehydów umożliwia modyfikację struktury zasad Schiffa, co przekłada się bezpośrednio na ich właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną. Wybór pochodnych 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu oraz 2-amino-2-deoksy-D-glukozy jako przedmiotu badań podyktowany był stosunkowo niewielką liczbą informacji literaturowych dotyczących tego typu układów [8–14].

Doniesienia literaturowe dotyczące tego typu układów związane były między innymi z badaniami równowagi procesu przenoszenia protonu oraz anomerii w N-(salicylideno)-2-amino-2-deoksy-D-glukozy oraz pochodnych aldehydu 3,5-dibromo-, 3,5-dichloro-, 3,5-dinitrosalicylowego oraz 2-hydroksynaftoesowego [8]. Wykazano, że w pochodnych z podstawnikami elektronoakceptorowymi, w których udział molowy formy z przeniesionym protonem jest duży, bardziej uprzywilejowany jest forma α , a proces przenoszenia protonu w istotny sposób determinuje położenie równowagi anomerycznej. W roztworze DMSO forma z przeniesionym protonem faworyzuje anomer z aksjalnym położeniem grupy hydroksylowej. Costamagna i inni badali zasady Schiffa, pochodne glukozaminy, głównie pod kątem ich wykorzystania jako ligandy w syntezie kompleksów Ni(II) [9]. W szeregu zasadach Schiffa, pochodnych D-sorbitolu, w oparciu o szczegółową analizę widm ^{13}C , ^{15}N NMR oraz widm UV-Vis określano ułamek molowy formy z przeniesionym protonem [10]. Dodatkowo autorzy sugerowali, że istnieje zależność pomiędzy położeniem protonu w wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym, a skręcalnością właściwą $[\alpha]$ badanych pochodnych. Zasady Schiffa: N-(salicylideno)-, N-(4-hydroksysalicylideno)- oraz N-(2-hydroksynaftyldeno)-1-amino-1-deoksy-D-sorbitole były produktami pośrednimi w syntezie chiralnych N-acyloksazolidyn [11]. Pessoa i inni [12] oraz Fragoso i inni [13] wykorzystywali pochodne D-sorbitolu w syntezie odpowiednio kompleksów V_2O_3 oraz miedzi Cu(II). Kompleksy wanadu zostały w pełni scharakteryzowane z wykorzystaniem szeregu technik, takich jak EPR, spektroskopia FT-IR, UV-Vis, dichroizm kołowy czy badanie podatności magnetycznej. W przypadku kompleksu miedzi w oparciu o analizę struktury krystalograficznej, stwierdzono występowanie układów, które poprzez międzycząsteczkowe wiązania wodorowe tworzą w sieci-3D przestrzenie o charakterze hydrofobowym [13].

Celem przeprowadzonych badań były próby określenia wpływu charakteru części cukrowej: łańcuchowej pochodnej D-sorbitolu i pierścieniowej D-glukozy oraz obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego na aktywność biologiczną zasad Schiffa i znalezienie ewentualnych zależności pomiędzy tą aktywnością, a ułamkiem molowym formy z przeniesionym protonem (χ_{NH}). Dobór podstawników w pierścieniu aromatycznym miał wpływ na położenie równowagi procesu przenoszenia protonu w wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym, które odpowiada za większość interesujących właściwości zasad Schiffa.

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Badane zasady Schiffa (rys. 1) zostały otrzymane zgodnie z informacjami dostępnymi w literaturze na drodze reakcji pomiędzy odpowiednim aldehydem orto-hydroksyaromatycznym i 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolem lub chlorowodorkiem 2-amino-2-deoksy-D-glukozy w bezwodnym etanolu [10]. Część badanych związków została opisana w literaturze [8,10,11]. Natomiast nowo otrzymane związki zostały w pełni scharakteryzowane z wykorzystaniem spektroskopii ^1H , ^{13}C NMR, FT-IR oraz UV-VIS. Wybrane przesunięcia chemiczne, najbardziej charakterystyczne dla badanych zasad Schiffa (sygnały pochodzące od protonu grupy -OH, protonu grupy metinowej $-\text{CH}=\text{N}-$, węgla związanego z grupą -OH, $\text{C}-\text{OH}$, węgla grupy iminowej $-\text{CH}=\text{N}-$ oraz węgla związanego z grupą iminową $\text{C}-\text{CH}=\text{N}-$) zostały zebrane w tabeli 1. Wszystkie badane związki były optycznie czynne. Skręcalność właściwa $[\alpha]$ dla

zbadanych pochodnych 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu mieściła się w granicach od około -10° do -60° , a w przypadku pochodnych 2-amino-2-deoksy-D-glukozy od około 5° do 300° . Badania aktywności biologicznej imin prowadzono metodą dyfuzyjno-krażkową wobec szczepów bakterii *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 49461) i *Escherichia coli* K12 (ATCC 25922), drożdżaków *Candida albicans* (kolekcja ITChNiŚ) oraz grzybów pleśniowych *Penicillium chrysogenum* (kolekcja ITChNiŚ) z wykorzystaniem roztworów DMSO o stężeniu 10 mg/ml. O właściwościach przeciwdrobnoustrojowych badanych zasad Schiffa decydowała wielkość strefy zahamowania wzrostu wokół krążków. Dodatkowo, przeprowadzono również badania porównawcze dla wyjściowych aldehydów aromatycznych.

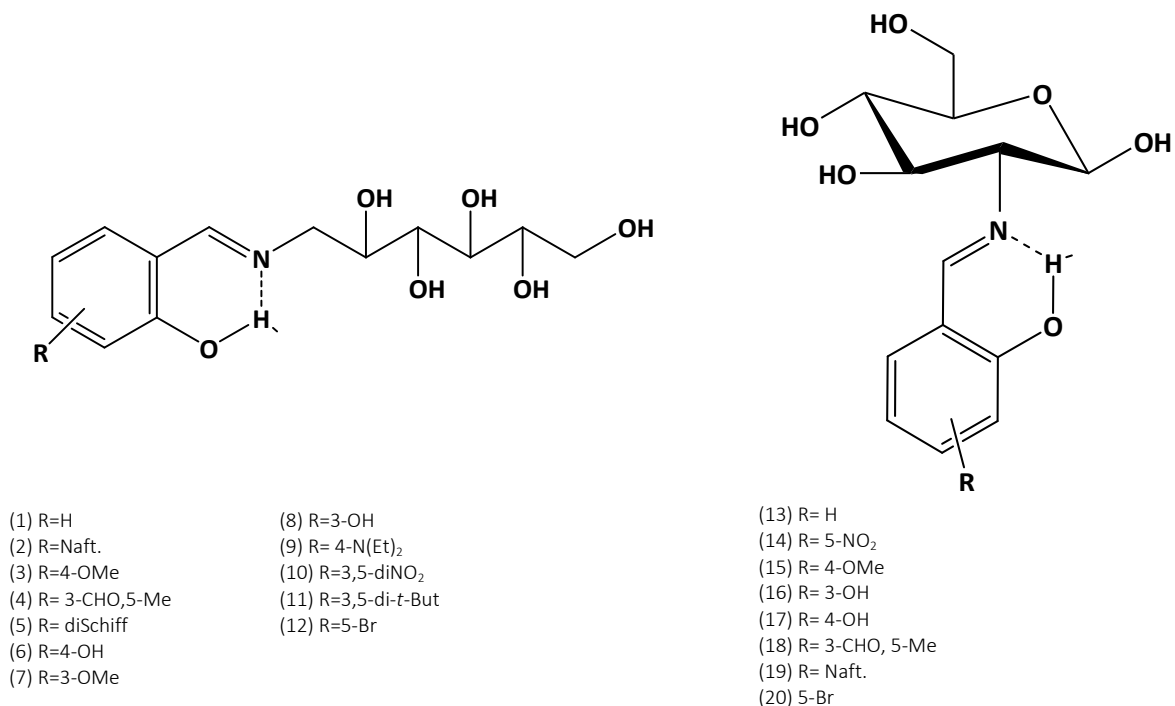
Tabela 1. Wybrane przesunięcia chemiczne ^1H i ^{13}C NMR w DMSO- d_6 (ppm) dla badanych zasad Schiffa (1–20). Dla pochodnych glukozaminy (13–20) wartości w nawiasach odpowiadają przesunięciom chemicznym anomerowi występującemu w mniejszości

Numer związku (podstawnik)	^1H NMR			^{13}C NMR	
	–OH	–HC=N–	–HC=N–	C–CH=N–	C–OH
1 (R = H) ^a	13,67	8,25	166,64	118,68	161,23
2 (R = Naft.)	13,87	9,01	159,26	127,87	178,48
3 (R = 4-OMe) ^a	14,01	8,35	165,13	111,63	168,67
4 (R = 3-CHO,5-Me)	14,40	8,55	161,83	120,98	160,82
5 (diSchiff)	14,42	8,55	161,8	121,0	160,8
6 (R = 4-OH) ^a	13,86	8,25	165,29	111,09	167,16
7 (R = 3-OMe)	13,87	8,45	167,12	114,95	153,79
8 (R = 3-OH)	13,75	8,41	166,7	116,7	154,9
9 (R = 4-N(Et) ₂)	13,56	8,08	164,59	108,41	167,81
10 (R = 3,5-diNO ₂)	13,39	8,84	168,27	117,29	169,76
11 (R = 3,5-di-t-But)	14,23	8,47	167,69	117,72	158,19
12 (R = 5-Br)	13,85	8,47	n.m.	n.m.	n.m.
13 (R = H) ^b	14,05(13,35)	8,48 (8,48)	166,7(167,0)	118,9 (119,4)	162,3 (160,9)
14 (R = 5-NO ₂)	14,54(14,27)	8,72(8,74)	167,01(167,65)	115,37(113,08)	173,49(178,49)
14 (R = 4-OMe)	13,80(14,00)	8,24(8,23)	166,26(166,61)	112,86(111,67)	164,74(164,87)
16 (R = 3-OH)	14,63(br.)	8,49(8,32)	169,2 (170,1)	118,8 (119,2)	153,6 (150,5)
17 (R = 4-OH)	14,05(br.)	8,19(8,21)	n.m.	n.m.	n.m.
18 (R = 3-CHO,5-Me)	15,11	8,50	189,38	125,46	170,95
19 (R = Naft.) ^b	13,63(14,43)	8,91(9,05)	159,0 (160,6)	118,9 (119,4)	174,6 (179,8)
20 (R = 5-Br)	13,46 (14,27)	8,41 (8,46)	165,4 (165,5)	118,9 (119,8)	159,8 (160,2)

a) wartości przesunięć chemicznych z danych literaturowych [10]

b) wartości przesunięć chemicznych z danych literaturowych [8]

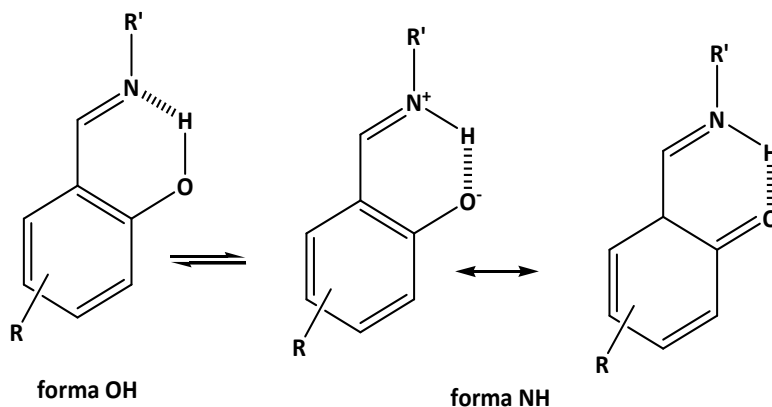
n.m. nie mierzono



Rys. 1. Badane zasady Schiffa, pochodne 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu oraz 2-amino-2-deoksy-D-glukozy

OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Większość interesujących właściwości zasad Schiffa wynika z obecności wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego i procesów przenoszenia protonu (rys. 2), stąd w pierwszym etapie badań określono położenie równowagi w badanych związkach. Wyznaczenie ułamka molowego formy z przeniesionym protonem NH (χ) dokonano w oparciu o analizę widm UV-Vis i występowanie pasm charakterystycznych dla formy OH i formy NH. Wartości ułamków molowych formy z przeniesionym protonem (χ) mieściły się w zakresie od 0,1 do 1 dla pochodnych 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu oraz w zakresie od 0,1 do 0,8 dla pochodnych 2-amino-2-deoksy-D-glukozy i zostały zebrane w tabeli 2.



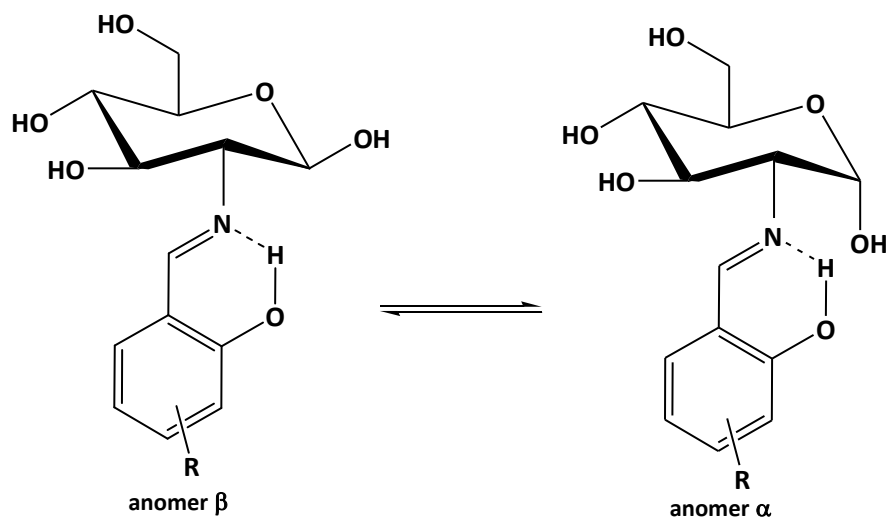
Rys. 2. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe oraz proces przenoszenia protonu w zasadach Schiffa

Tabela 2. Ułamki molowe formy z przeniesionym protonem (χ) w DMSO w badanych zasadach Schiffa wyznaczone w oparciu o analizę widm UV-Vis

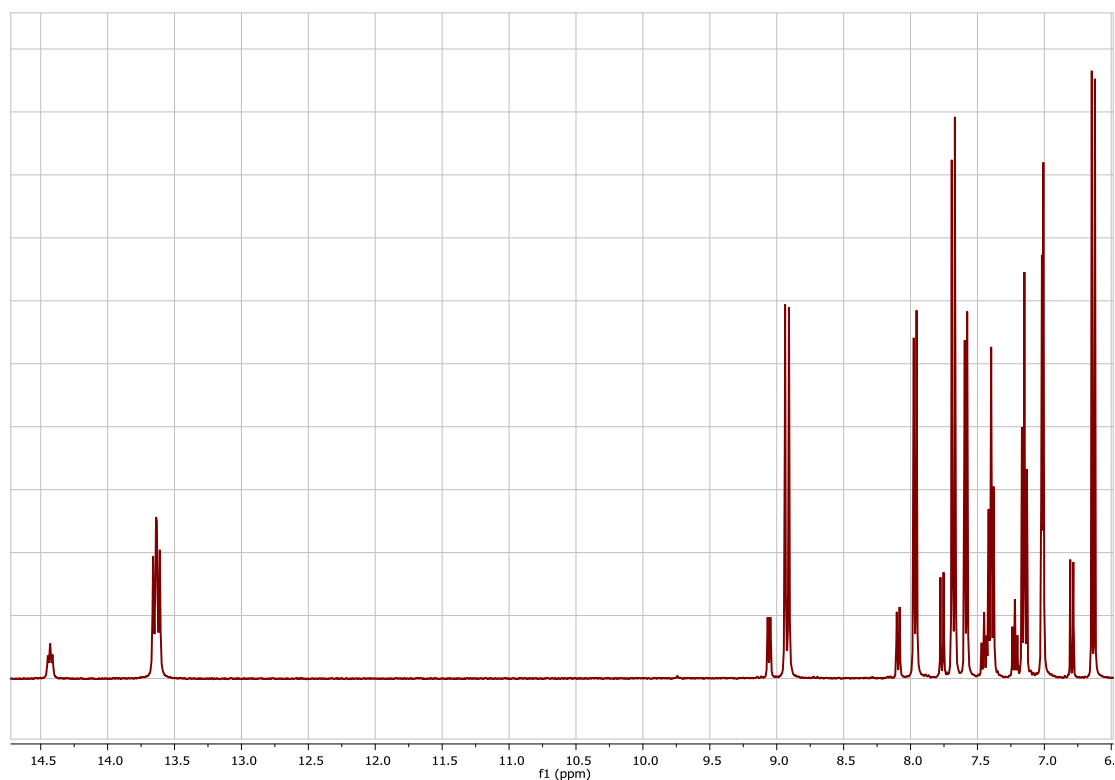
Numer związku (podstawnik)	Ułamek molowy formy NH (χ)
1 (R = H)	0,2 ^a
2 (R = Naft.)	0,5
3 (R = 4-OMe)	0,3 ^a
4 (R = 3-CHO,5-Me)	0,2
5 (diSchiff)	0,5
6 (R = 4-OH)	0,3 ^a
7 (R = 3-OMe)	0,1 ^b
8 (R = 3-OH)	0,5
9 (4-N(Et) ₂)	0,6 ^b
10 (R = 3,5-diNO ₂)	1
11 (R = 3,5-di-t-But)	0,2 ^b
12 (R = 5-Br)	0,2
13 (R = H)	0,1
14 (R = 5-NO ₂)	0,5
14 (R = 4-OMe)	0,2
16 (R = 3-OH)	0,8
17 (R = 4-OH)	0,3
18 (R = 3-CHO,5-Me)	0,7
19 (R = Naft.)	0,5
20 (R = 5-Br)	0,1

a) wartości ułamka molowego (χ) z danych literaturowych [10].b) wartości ułamka molowego (χ) wyznaczone w oparciu o przesunięcie chemiczne węgla C-2 [10].

Analogicznie jak dla innych zasad Schiffa obecność grupy nitrowej w pozycji 5 lub pierścienia naftalenowego zwiększała udział formy z przeniesionym protonem. Znaczące jest występowanie pochodnej 3,5-diNO₂ (związek 10) wyłącznie w formie NH. W większości badanych zasad Schiffa typ reszty cukrowej: łańcuchowej czy pierścieniowej nie miał na ogół większego wpływu na położenie równowagi tautomerycznej, a różnice wartości ułamków molowych χ pomiędzy pochodnymi tego samego aldehydu były z reguły równe około 0,1–0,2. Jedynie w przypadku zasad Schiffa 4 i 18, pochodnej dialdehydu różnica była zdecydowanie większa i wynosiła 0,5. W literaturze dla zasad Schiffa, pochodnych D-sorbitolu sugerowano występowanie zależności pomiędzy wartością skręcalności właściwej $[\alpha]$, a ułamkiem molowym formy z przeniesionym protonem (χ_{NH}) [10]. W oparciu o wyniki badań skręcalności właściwej dla nowo otrzymanych związków oraz pochodnych 2-amino-2-deoksy-D-glukozy potwierdzono występowanie tego typu zależności. W przypadku pochodnych glukozaminy obserwowano również występowanie równowagi anomerycznej [8, 9] (rys. 3), a w widmach NMR występowanie sygnałów pochodzących od obu anomerów (tab. 1), (rys. 4). Udział anomerów był zmienny, tylko w przypadku pochodnej 18 nie zaobserwowano występowania równowagi anomerycznej.



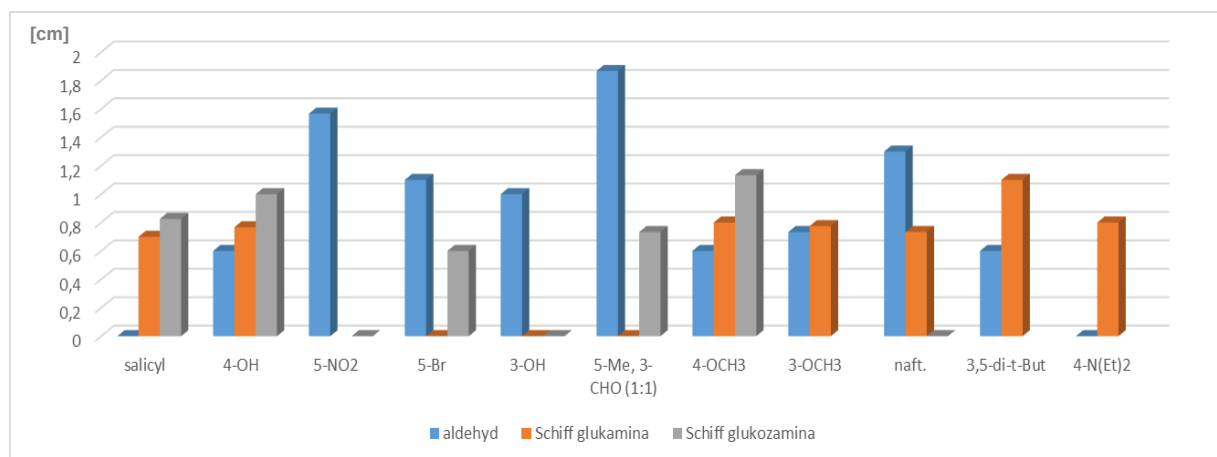
Rys. 3. Równowaga anomeryczna w badanych zasadach Schiffa, pochodnych 2-amino-2-deoksy-D-glukozy (13–20)



Rys. 4. Fragment przykładowego widma ^1H NMR N-(Naftylideno)-1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu z sygnałami pochodzącymi od obu anomerów (stosunek α do β równy 5)

Wyniki badań aktywności biologicznej wobec wybranych szczepów bakterii i grzybów przedstawiono w tabeli 3 oraz na rysunkach 5–8. Badane zasady Schiffa wykazywały stosunkowo niską aktywność w stosunku do bakterii *E. Coli* (rys. 5), często niższą niż wyjściowe aldehydy. Nie zaobserwowano istotnych zależności pomiędzy aktywnością bakteriobójczą badanych związków i formą fragmentu cukrowego. Jednak z reguły iminy, pochodne D-glukozy (forma pierścieniowa–glukozamina) wykazywały większą aktywność niż ich analogi z fragmentem łańcuchowym (D-sorbitolu, glukaminy). Wielkość stref zahamowanego

wzrostu wokół krążków dla pochodnych z podstawnikami w pozycji 4 (związki z podstawnikami 4-OH i 4-OMe) sugeruje, że obecność tego typu podstawników korzystnie wpływa na aktywność biobójczą w stosunku do tego szczepu bakterii. Podobny wpływ grupy hydroksylowej w pozycji 4 na aktywność antybakteryjną obserwowano dla analogicznych zasad Schiffa, pochodnych aldehydu 4-hydroksysalicylowego oraz szeregu amin aromatycznych, które wykazywały aktywność w stosunku do szczepów bakterii gram ujemnych i gram dodatnich, między innymi *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, i *Neisseria gonorrhoeae*. Najbardziej aktywny był w tym wypadku układ podwójnej zasady Schiffa, której aktywność była zbliżona do wzorcowego antybiotyku cefpodoksymu, cefalosporyny III generacji. Obecność dodatkowej (w stosunku do aldehydu salicylowego) grupy hydroksylowej korzystnie wpływa na aktywność biologiczną, co potwierdzają modele dokowania cząsteczki [15], jednak istotne jest w tym wypadku jego umiejscowienie w położeniu 4. Podstawnik hydroksylowy w położeniu 3 w związkach 8 i 16 nie prowadził do zwiększenia ich biobójczości, podobnie jak układ podwójnej zasady Schiffa (związek 5). Porównanie aktywności biobójczej badanych układów w stosunku do bakterii *E.Coli* z położeniem protonu w wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym wskazuje, że iminy, w których równowaga przeniesienia protonu jest silnie przesunięta w kierunku formy OH (np. związki 1 i 13 czy 6 i 17), wykazują z reguły większą aktywność niż wyjściowe aldehydy. Zależność ta może sugerować, że występowanie tautomeru formy NH o strukturze jonowej (co jest typowe dla pochodnych aldehydów salicylowych) niekorzystnie wpływa na aktywność biologiczną badanych zasad Schiffa.

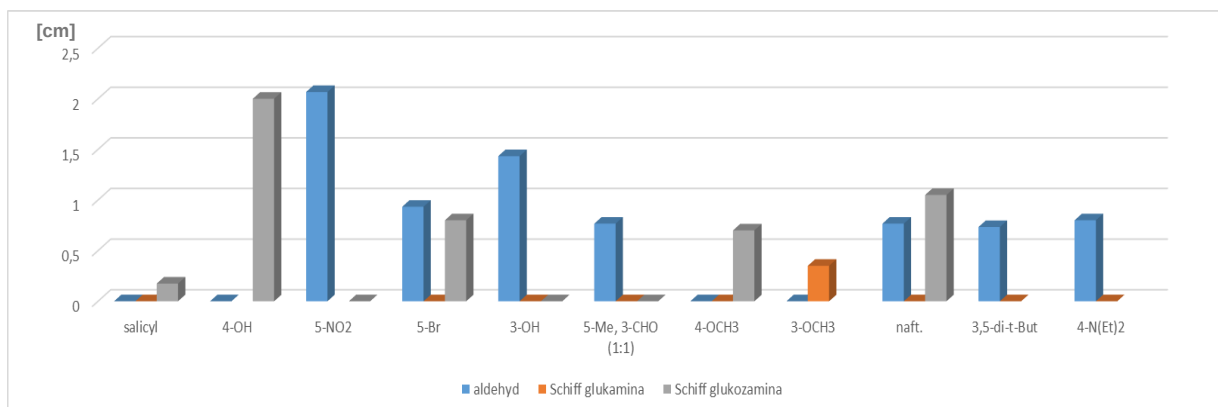


Rys. 5. Aktywność antybakteryjna badanych zasad Schiffa w stosunku do *E.Coli*

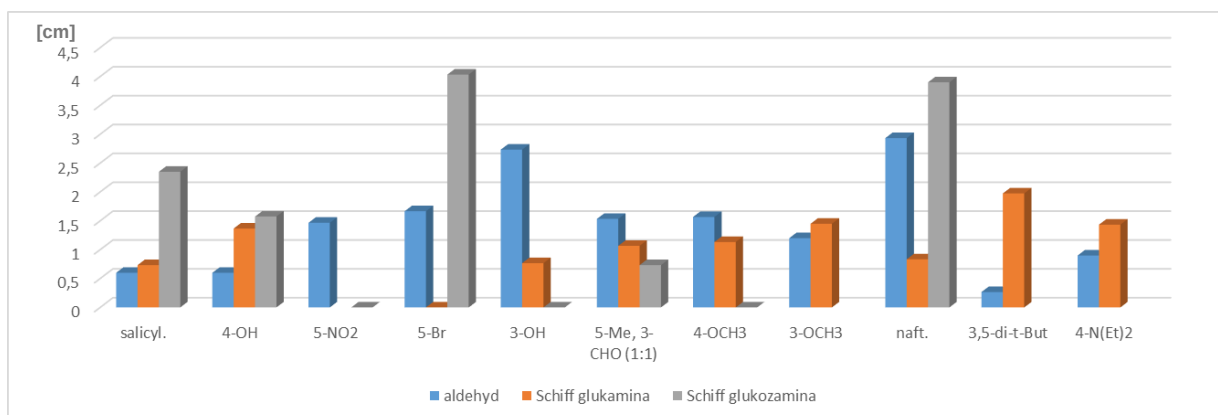
Tabela 3. Aktywność biologiczna badanych zasad Schiff i wyjściowych aldehydów orto-hydroksy-aromatycznych

Związki	Mikroorganizm			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Aldehydy salicylowe:				
R = H	0	0	0,6	0
R = 4-OH	0,6	0	0,6	0
R = 5-NO ₂	1,6	2,1	1,5	1,7
R = 5-Br	1,1	1,0	1,7	3,3
R = 3-OH	1	1,4	2,7	3,8
R = 5-Me, 3-CHO	1,9	0,8	1,5	1,2
4-OMe	0,6	0	1,6	0
3-OMe	0,7	0	1,2	1,4
3,5-di- <i>t</i> -But	0,6	0,7	0,3	0,6
4-N(Et) ₂	0	0,8	0,9	0,9
Aldehyd 2-OH naftoesowy	1,3	0,8	2,9	2,4
Numer związku (podstawnik)				
1 (R = H)	0,7	0	0,7	-
2 (R = Naft.)	0,7	0	0,8	1,3
3 (R = 4-OMe)	0,8	0	1,1	-
4 (R = 3-CHO,5-Me)	0	0	1,0	1,5
5 (di-Schiff)	0	0	1,1	1,1
6 (R = 4-OH)	0,8	0	1,4	0,9
7 (R = 3-OMe)	0,8	0,4	1,5	1,0
8 (R = 3-OH)	0	0	0,8	0
9 (4-N(Et) ₂)	0,8	0	1,4	0
10 (R = 3,5-diNO ₂)	0,7	0	0	0
11 (R = 3,5-di- <i>t</i> -But)	1,1	0	1,0	0
12 (R = 5-Br)	0	0	0	0
13 (R = H)	0,8	0,2	2,4	0,9
14 (R = 5-NO ₂)	0	0	0	0
14 (R = 4-OMe)	1,1	0,7	0	0
16 (R = 3-OH)	0	0	0	0
17 (R = 4-OH)	1,0	2,0	1,6	1,6
18 (R = 3-CHO,5-Me)	0,7	0	0,7	1,0
19 (R = Naft.)	0	1,1	3,9	2,0
20 (R = 5-Br)	0,6	0,8	4,0	1,4

W przypadku aktywności biobójczej w stosunku do bakterii *Staphylococcus epidermidis* (rys. 6) jedynie pochodna aldehydu 4-hydroksysalicylowego i 2-amino-2-deoksy-D-glukozy wykazywała taką aktywność, co potwierdza że obecność grupy hydroksylowej w pozycji 4 w istotny sposób wpływa na zwiększenia aktywności bakteriobójczej [15].

Rys. 6. Aktywność antybakteryjna badanych zasad Schiffa w stosunku do *S. epidermidis*

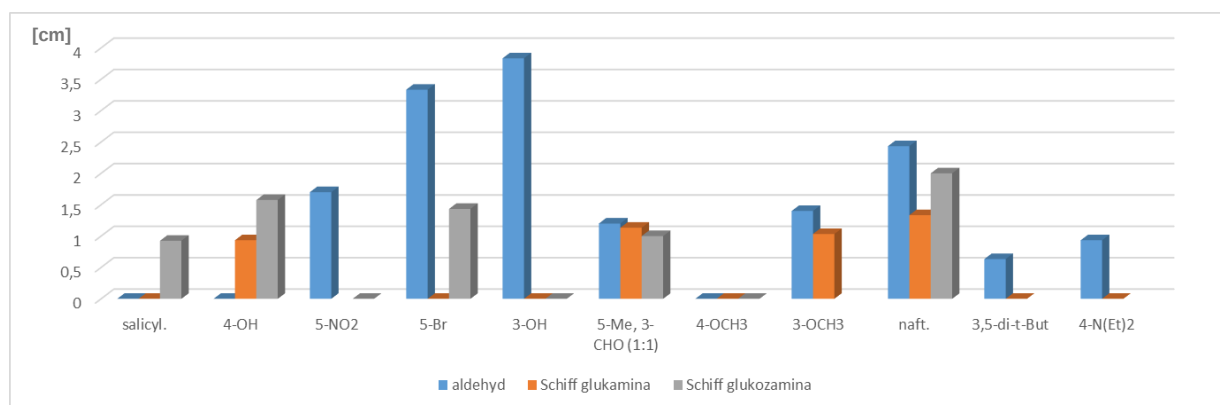
Na uwagę zasługuje fakt, że większą wrażliwością na badane związki charakteryzowały się bakterie Gram-ujemne, do których należy *E. coli*. Z literatury [18] wiadomo, że ta grupa bakterii wykazuje większą oporność na większość dostępnych antybiotyków.

Rys. 7. Aktywność antygrzybicza badanych zasad Schiffa wobec szczepu *Candida albicans*

Najbardziej wrażliwym na badane związki organizmem były drożdżaki *Candida albicans*, (rys. 7) które wywołują zakażenia oportunistyczne u chorych z obniżoną odpornością. Świadczą o tym największe strefy zahamowania wzrostu wyrażone w milimetrach, które pojawiły się wokół krążków nasączonych 20 badanymi zasadami Schiffa (rys. 1). Związkiem o szczególnej aktywności była imina, pochodna aldehydu 5-bromosalicylowego, której aktywność (rys. 9) była zdecydowanie większa niż wyjściowego aldehydu. Obecność atomu chlorowca może w istotny sposób wpływać na aktywność antygrzybiczną zasad Schiffa – pochodne w których występują zarówno podstawniki –Cl czy –F wykazują zwiększoną aktywność tego typu [16]. Również pochodna aldehydu 2-hydroksynaftoesowego posiada wyższą niż przeciętna aktywność antygrzybiczą, jednak w tym wypadku wysoką aktywność posiada również wyjściowy aldehyd. Podobnie jak w przypadku aktywności antybakteryjnej, pochodne z fragmentem pierścieniowym wykazywały na ogół większą aktywność grzybobójczą w stosunku do drożdżaków niż ich analogi łańcuchowe. Porównanie aktywności antygrzybowej w stosunku do *Candida albicans* i ułamków molowych formy z przeniesionym protonem (χ_{NH}) sugeruje, że pochodne w których dominuje forma OH (np. związki 1 i 3; 12 i 20;

6 i 17) wykazują większą aktywność niż pochodne w których ułamek molowy formy NH jest duży (np. związki 2 i 19; 8 i 16).

Na uwagę zasługuje fakt, że do leczenia grzybic spowodowanych przez *Candidy* stosuje się antybiotyki, które bardzo często są nieskuteczne, ponieważ po okresie kilku tygodni następuje nawrót choroby. Przyczyną niepowodzeń w leczeniu jest szybkie przystosowanie się drożdżaków do zmiennych warunków środowiskowych, co skutkuje nabywaniem przez nie odporności na kolejno stosowane antybiotyki. Z tego powodu niezwykle istotne jest poszukiwanie nowych środków leczniczych, których struktura chemiczna będzie inna niż stosowanych dotychczas preparatów.



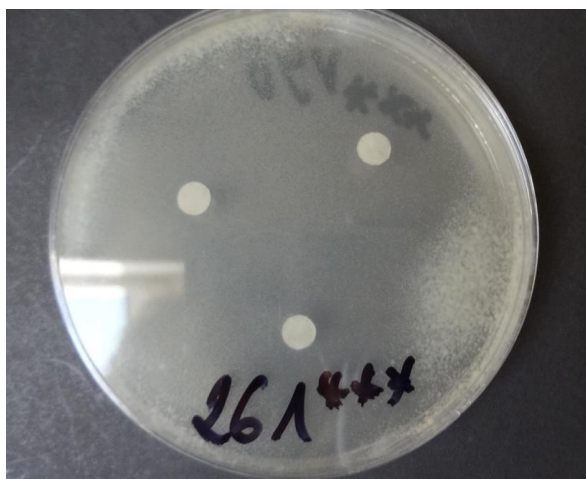
Rys. 8. Aktywność antygrzybicza badanych zasad Schiffa w stosunku do szczepu *P. chrysogenum*

Tylko 6 spośród 20 badanych związków wpływało na zahamowanie wzrostu grzybów pleśniowych *P. chrysogenum* (rys. 8). Testowany gatunek grzyba jest najpowszechniej występującą pleśnią w powietrzu pomieszczeń zamkniętych. Charakteryzuje się wytwarzaniem dużych ilości zarodników o wysokim potencjale alergennym [19]. Z tego powodu istotne staje się poszukiwanie związków chemicznych, które przyczynią się do pełnej lub częściowej eliminacji zarodników tego grzyba. Stosunkowo dużą strefę zahamowania wzrostu wykazywały pochodne aldehydu 4-hydroksysalicylowego co potwierdza istotny wpływ podstawnika hydroksylowego w pozycji 4 na aktywność biobójczą zasad Schiffa.

Zróżnicowana i z reguły dość umiarkowana aktywność biologiczna badanych zasad Schiffa wskazuje jak różny jest mechanizm działania jako biocydów badanych zasad Schiffa. W wielu przypadkach aktywność ta jest zdecydowanie większa niż wyjściowych aldehydów, co nie potwierdza doniesień literaturowych, że aktywność biologiczna, a zwłaszcza antygrzybicza, zasad Schiffa wynika wyłącznie z możliwego ich metabolizmu przez mikroorganizmy do wyjściowych aldehydów [17]. W większości wypadków nie zaobserwowano zależności pomiędzy położeniem protonu w wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym a aktywność biologiczną badanych zasad Schiffa. Pewną zależność aktywności biobójczej od ułamka molowego formy NH obserwowano tylko w przypadku bakterii *E. Coli* oraz drożdżaków z gatunku *C. albicans*. W przypadku pochodnych 2-amino-2-deoksy-D-glukozy (związki 13–20) występowanie zarówno dwóch form związanych z procesem przenoszenia protonu (formy OH i NH), które jednocześnie z reguły występują w postaci dwóch anomerów (OH α i NH α oraz OH β i NH β) utrudnia wyciąganie wniosków na temat wpływu obecności we-

wnątrcząsteczkowego wiązania wodorowego i wpływu obecności pierścienia glukozy, gdyż każda forma może wykazywać inną aktywność biobójczą, a obserwowany efekt końcowy może być ich wypadkową.

Uzyskane wyniki zachęcają do kontynuacji prac w zakresie poszukiwania nowych związków, które mogłyby znaleźć zastosowanie jako biocydy stosowane w różnych gałęziach przemysłu.



Rys. 9. Strefy zahamowania wzrostu *Candida albicans* wokół krążków nasączonych N-(5-bromo-salicylideno)-1-amino-1-deoksy-D-sorbitolem

PODSUMOWANIE

Przeprowadzono badania aktywności biologicznej 20 zasad Schiffa, pochodnych aldehydów orto-hydroksyaromatycznych i 1-amino-1-deoksy-D-sorbitolu oraz 2-amino-2-deoksy-D-glukozy, a także wyjściowych aldehydów wobec wybranych szczepów bakterii oraz grzybów. Badane iminy wykazywały stosunkowo niską aktywność antybakteryjną oraz umiarkowaną aktywność antygrzybową i antygrzybiczną. Nie zaobserwowano wyraźnych zależności pomiędzy aktywnością biobójczą a położeniem protonu w wewnątrcząsteczkowym wiązaniu wodorowym. Jedynie w przypadku aktywności wobec bakterii *E. coli* oraz drożdżaków *C. albicans* zasady Schiffa, w których położenie równowagi tautomerycznej było przesunięte w kierunku formy OH, wykazywały większą aktywność niż iminy, w których równowaga była przesunięta w kierunku formy NH. Wyniki te mogą sugerować, że struktura jonowa formy NH niekorzystnie wpływa na aktywność biologiczną badanych zasad Schiffa.

Zasady Schiffa, w których fragment cukrowy występuje w formie pierścieniowej, wykazywały z reguły większy potencjał biobójczy niż ich analogi łańcuchowe. Badane układy były najbardziej aktywne w stosunku do *Candida albicans*. Szczególnie aktywne były pochodne zawierające podstawnik bromowy w położeniu 5 oraz układy z pierścieniem naftoesowym – ich aktywność przewyższała aktywność wyjściowego aldehydu.

LITERATURA

- [1] Rîmbu C., Danac R., Pui A. Antibacterial activity of Pd(II) complexes with salicylaldehyde-amino acids Schiff bases ligands. *Chem. Pharm. Bull.* 62 (2014), 12–15.
- [2] Varyani M., Khatri P.K., Jain S.L. Amino acid derived ionic liquid supported iron Schiff base catalyzed greener approach for the aerobic oxidation of amines to nitriles. *Tetrahedron Lett.* 57 (2016), 723–727.
- [3] Lu Y., Wu S., Yue Y., He S., Li J., Tang J., Wang W., Zhou H.-B. Gossypol with hydrophobic linear esters exhibits enhanced antitumor activity as an inhibitor of antiapoptotic proteins. *ACS Med. Chem. Lett.* 7 (2016), 1185–1190.
- [4] Wang Hui, Yuan Haijian, Li Shujun, Li Zhuo, Jiang Mingyue Synthesis, antimicrobial activity of Schiff base compounds of cinnamaldehyde and amino AIDS. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26 (2016), 809–813.
- [5] Metzler D.E. In *Biochemistry. The Chemical Reactions of Living Cells*, Vol. 1, New York, Academic Press, 2001, 737–751.
- [6] Varyani M., Khatri P.K., Jain S.L. Amino acid derived ionic liquid supported iron Schiff base catalyzed greener approach for the aerobic oxidation of amines to nitriles. *Tetrahedron Lett.* 57 (2016), 723–727.
- [7] da Silva C.M, da Silva D.L., Modolo L.V., Alves R.B, de Resende M.A., Martins C.V.B., de Fátima A. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *J. Adv. Res.* 2 (2011), 1–8.
- [8] Kołodziej B., Grech E., Schilf W., Kamieński B., Makowski M., Dziembowska T., Rozwadowski Z. Anomeric and tautomeric equilibria in D-2-glucosamine Schiff bases. *J. Mol. Struct.* 844–845 (2007), 32–37.
- [9] Costamagna J., Lillo L.E., Matsuhira B., Nosedá M.D., Villagrán M. Ni(II) complexes with Schiff bases derived from amino sugars. *Carbohydr. Res.* 338, (2003), 1535–1542.
- [10] Szady-Chelminiecka A., Ossowicz P., Schilf W., Rozwadowski Z. Spectral assignment and proton transfer studies of N-(R-salicylidene)-1-amino-1-deoxy-D-sorbitols. *Magn. Reson. Chem.* 53 (2015), 849–852.
- [11] Ávalos M., Babiano R., Cintas P., Jiménez J.L., Light M.E., Palacios J.C., Pérez E.M.S. Chiral N-Acyloxazolidines: synthesis, structure, and mechanistic insights. *J. Org. Chem.* 73 (2008), 661–672.
- [12] Pessoa J.C., Tomaz I., Henriques R.T. Preparation and characterisation of vanadium complexes derived from salicylaldehyde or pyridoxal and sugar derivatives. *Inorg. Chim. Acta* 356 (2003), 121–132.
- [13] Fragoso A., Kahn M.L., Castiñeiras A., Sutter J.P., Kahn O., Cao R. Chiral channels in a 3-D network of self-assembled tetranuclear copper(II) aggregates. *Chem. Commun.* (2000) 1547–1548.
- [14] Ávalos M., Babiano R., Cintas P., Jiménez J.L., Light M.E., Palacios J.C., Pérez E.M.S. Schiff bases from D-glucosamine and aliphatic ketones. *Carbohydr. Res.* 345 (2010), 23–32.
- [15] Murtaza S., Abbas A., Iftikhar K., Shamim S., Akhtar M.S., Razzaq Z., Naseem K., Elgorban Ab. M. Synthesis, biological activities and docking studies of novel 2,4-dihydroxybenzaldehyde based Schiff base. *Med. Chem. Res.* 25 (2016), 2860–2871.
- [16] Aslam M., Anis I., Mehmood R., Iqbal L., Iqbal S., Khan I., Chishti M.S., Perveen S. Synthesis and biological activities of 2-aminophenol-based Schiff bases and their structure–activity relationship. *Med. Chem. Res.* 25 (2016), 109–115.
- [17] Pelttari E., Karhumäki E., Langshaw J., Peräkylä H., Elo H. Antimicrobial properties of substituted salicylaldehydes and related compounds. *Z. Naturforsch.* 62c (2007), 487–497.
- [18] Buczek K., Marć M., Antybiotykoporność bakterii – przyczyny i skutki. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, LXIV (2004), 1–8.
- [19] Schwab C.J., Cooley J.D., Jumper C.J., Graham S.C., Straus D.C. Allergic inflammation induced by a *Penicillium chrysogenum* conidia-associated allergen extract in a murine model. *Allergy* 59 (2004), 758–765.

WPŁYW ILOŚCI KATALIZATORA Ti-MWW NA PROCES EPOKSYDACJI ETERU DIALLILOWEGO W IZOPROPANOLU JAKO ROZPUSZCZALNIKU

THE INFLUENCE OF AMOUNT OF Ti-MWW CATALYST ON THE EPOXIDATION OF DIALLYL ETHER IN ISOPROPANOL AS A SOLVENT

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Instytut Technologii Chemicznej Organicznej

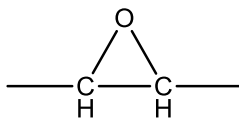
Streszczenie. W niniejszej pracy przedstawiono badania nad wpływem ilości katalizatora tytanowo-silikatowego Ti-MWW na przebieg procesu epoksydacji eteru diallilowego (EDA) wodoronadtlenkiem t-butyłu (WNTB) na katalizatorze tytanowo-silikatowym Ti-MWW i w izopropanolu jako rozpuszczalniku. Ponadto omówiono metodykę prowadzenia procesu epoksydacji oraz sposób identyfikacji i oznaczania ilościowego składu mieszanin poreakcyjnych za pomocą chromatografii gazowej. Wpływ ilości katalizatora zbadano w zakresie 0,5–10% wag. Analizy chromatograficzne pozwoliły oznaczyć w mieszaninach poreakcyjnych pięć produktów dla badanego procesu: eter allilowo-glicydolowy (EAG), eter diglicydolowy (EDG), alkohol allilowy (AA), glicydol oraz 3-alliloksypropano-1,2-diol, przy czym produkty najbardziej pożądane – eter diglicydolowy oraz allilowo-glicydolowy udało się otrzymać z wydajnością odpowiednio – 24,7% mol oraz 0,5% mol oraz z selektywnością – 85,9% mol oraz 1,8% mol.

Słowa kluczowe: epoksydacja, eter diallilowy, katalizator Ti-MWW, izopropanol, wodoronadtlenek t-butyłu.

Keywords: epoxidation, diallyl ether, Ti-MWW catalyst, isopropanol, t-butyl hydroperoxide.

WSTĘP

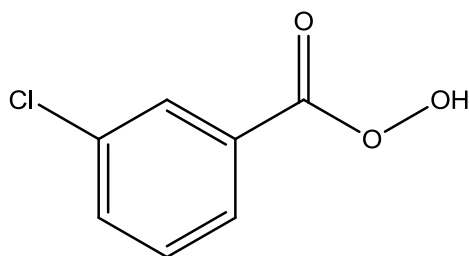
Związki epoksydowe są cyklicznymi eterami, których nazwa pochodzi od trójczołowego pierścienia oksacyklopropanowego złożonego z dwóch atomów węgla i jednego atomu tlenu, zwanego grupą epoksydową (oksiranową lub etoksylinową). Naprężenie trójczołowego pierścienia powoduje, że epoksydy są znacznie bardziej reaktywnymi związkami, niż typowe acykliczne etery [1] (rys. 1).



Rys. 1. Wzór strukturalny grupy epoksydowej

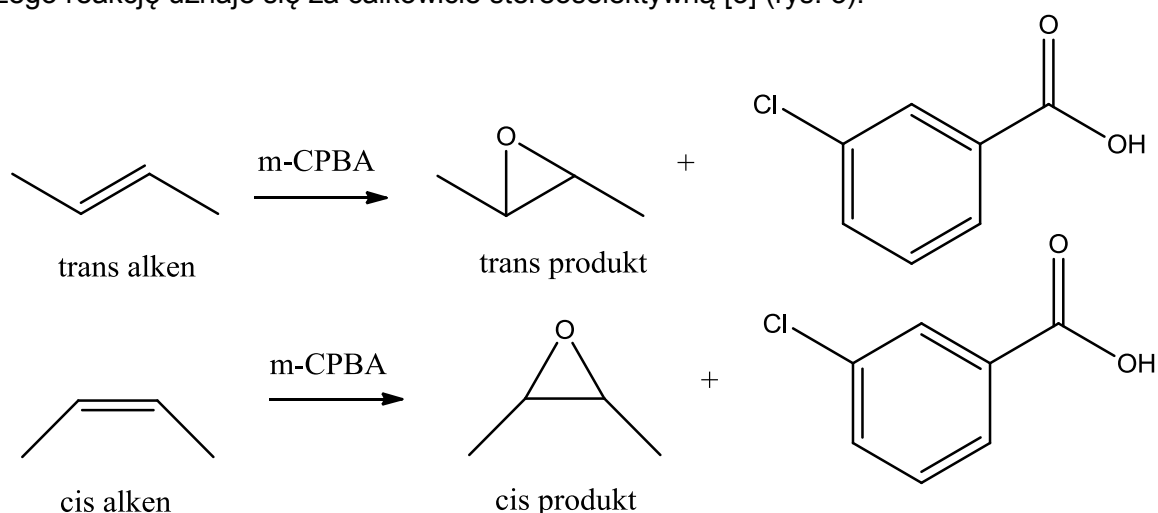
Obecnie wyróżnia się dwie metody otrzymywania związków epoksydowych. Pierwszą z nich jest utlenianie olefin, które polega na bezpośrednim utlenianiu związku nienasyconego w fazie gazowej. Reakcja alkenów z tzw. peroksokwasami prowadzi do bezpośredniego utleniania alkenu do związku epoksydowego. Peroksokwasy to związki nietrwałe, posiadające grupę funkcyjną -OOH, które są stosowane przede wszystkim jako silne utleniacze [2].

Najbardziej znanym peroksokwasem jest m-CPBA (kwas m-chloroperoksobenzoesowy) (rys. 2).



Rys. 2. Wzór kwasu m-chloroperoksobenzoesowego

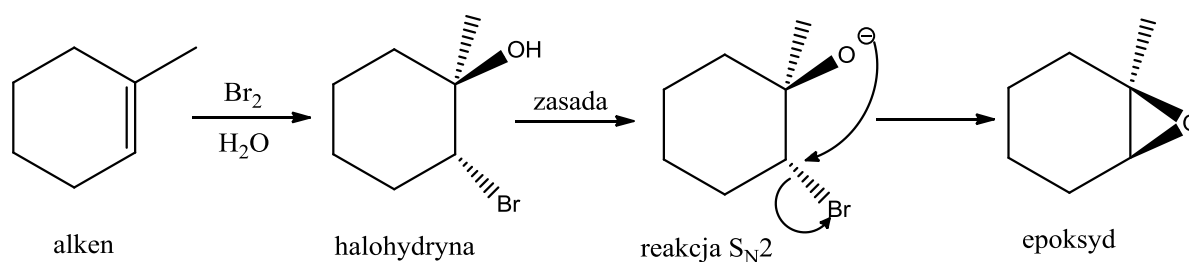
W związku z tym, że m-CPBA posiada nietrwałe wiązanie pomiędzy dwoma atomami tlenu w cząsteczce (około 33 kcal/mol), jest on bardzo reaktywny. Reakcja peroksokwasu i alkenu przebiega jednoetapowo z wytworzeniem stanu przejściowego, co oznacza że wiązanie pomiędzy tlenem i alkenem tworzy się w tym samym czasie, co wiązanie O–O pęka i proton jest przekazywany z grupy –OH dla tlenu karbonylowego. Brak półproduktów wyjaśnia dlaczego reakcję uznaje się za całkowicie stereoselektywną [3] (rys. 3).



Rys. 3. Schemat epoksydacji alkenu kwasem m-chloroperoksobenzoesowym

Źródłem tlenu w reakcji utleniania alkenów może być również tlen cząsteczkowy, powietrze, nadtlenek wodoru lub inne związki zwane peroksokwasami.

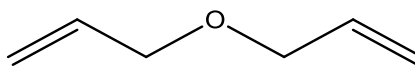
Drugą metodą otrzymywania związków epoksydowych jest dwustopniowy proces polegający na reakcji halogenohydryny z zasadą. Substratem wyjściowym w tej reakcji jest alken, który znajduje się w środowisku wodnym. Poprzez dodanie halogenka alkilowego, (może to być Cl_2 , bądź Br_2) tworzy się halogenohydryna. Reakcja halogenohydryny z mocną zasadą prowadzi do deprotonacji grupy –OH do O^- i przemieszczenia sąsiadującego halogenku przez substytucję nukleofilową $\text{S}_{\text{N}}2$, celem wytworzenia oczekiwanego epoksydu [4] (rys. 4).



Rys. 4. Dwustopniowa epoksydacja alkeny, polegająca na wytworzeniu halogenohydryny, a następnie jej reakcji z mocną zasadą

Eter diallilowy

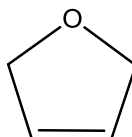
Eter diallilowy (3-alliloksy-1-propen, EDA) należy do grupy związków organicznych o budowie liniowej. W jego strukturze znajdują się dwie grupy allilowe oraz jedna eterowa (rys. 5).



Rys. 5. Wzór strukturalny eteru diallilowego

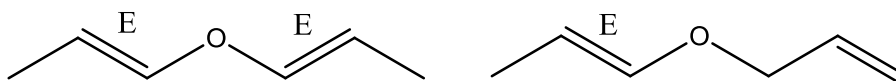
Występuje on w postaci wysoce łatwopalnej cieczy. Jego początkowa temperatura wrzenia wynosi 94–95°C, natomiast temperatura zapłonu to –7°C. Eter ten ma gęstość 0,803 g/cm³. Jego opary są cięższe od powietrza i mogą rozprzestrzeniać się nad ziemią. Substancja ta może tworzyć wybuchowe nadtlenki. EDA reaguje gwałtownie z kwasami oraz utleniaczami [4].

Eter diallilowy może ulegać wielu przemianom. Najpopularniejszą reakcją, której ulega EDA jest reakcja metatezy przebiegająca z zamknięciem pierścienia (ring-closing metathesis (RCM)). W wyniku tego procesu otrzymuje się 2,5-dihydrofuran (rys. 6) [5–6].



Rys. 6. 2,5-dihydrofuran – wzór strukturalny

Eter ten może również ulegać izomeryzacji do formy trans (E) w reakcji przebiegającej w temperaturze pokojowej oraz w obecności imidazoliowych cieczy jonowych [7–8]. Izomery otrzymuje się z wysoką wydajnością (96% mol) i w stosunkowo krótkim czasie. Powstające w tym procesie izomery przedstawiono na rysunku 7.



Rys. 7. Izomery trans (E) eteru diallilowego

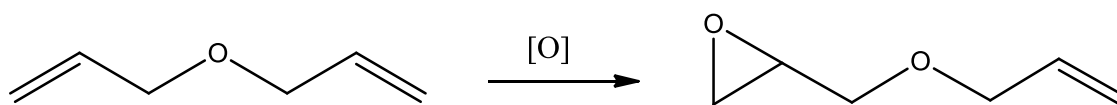
EDA bierze także udział w syntezie katalizatorów, takich jak: kompleksy platyny(0) z N-heterocyklicznymi ligandami karbenowymi dla wysoce stereoselektywnej reakcji hydrosyli-

lowania alkinów, kompleksy palladu wzbogacone grupą cynamylową, kompleksy niklu oraz kompleksy cyrkonu [9–11]. Eter ten jest ponadto reagentem w reakcji dehalogenacji wicynalnych dihalogenków alkali [12], które są stosowane między innymi w syntezie związków trifluorowinyliowych. Co więcej, ulega on asymetrycznej dihydroksylacji w obecności wody oraz katalizatora osmianowego [13]. Z kolei, reakcja epoksydacji eteru diallilowego cieszy się jak dotąd dużo mniejszą popularnością, niż inne reakcje tego eteru. Prawdopodobnie dlatego, że reakcja ta jest trudnym do zaprojektowania procesem. Podczas epoksydacji zachodzi wiele reakcji konkurencyjnych, wynikających między innymi z obecności rozpuszczalnika oraz z dużej skłonności do rozpadu cząsteczki eteru. Główną reakcją jest utlenianie wiązania nienasyconego w eterze diallilowym. W ten sposób dochodzi do utworzenia monoepoksydu – eteru allilowo-glicydolowego, jak i diepoksydu – eteru diglicydolowego [14–17]. Obecnie znaleźć można kilkanaście wzmianek literaturowych na temat tego procesu. W 1970 roku naukowcy Sheng i Zajacek opisali proces epoksydacji związków allilowych, w tym – epoksydacji eteru diallilowego [18]. Epoksydowanie z wykorzystaniem związków allilowych było trudniejszym procesem do przeprowadzenia, niż w przypadku związków izolowanych (posiadających podwójne wiązania, które są rozdzielone więcej niż jednym wiązaniem pojedynczym). Bazując na elektrofilowym mechanizmie reakcji, można zaproponować teorię tłumaczącą takie zachowanie tych związków. W przypadku związków allilowych, posiadających słabsze grupy odciągające elektron, takie jak chlorki, czy etery, epoksydacja może przebiegać szybciej oraz z wyższą wydajnością związków epoksydowych, niż w przypadku związków allilowych, które mają silniejsze grupy odciągające elektrony, takie jak: estry, czy nityle. Eter diallilowy był wprowadzony do środowiska reakcji w stosunku molowym 3 : 1 do utleniacza (do wodoronadtlenku *t*-butylu). Katalizatorem były metale przejściowe grup V b i VI b. Proces prowadzono przez 120 minut w temperaturze 95°C. W procesie osiągnięto konwersję wodoronadtlenku równą 89% mol, a wydajność epoksydu wynosiła 89% mol (obliczono ją na podstawie konwersji utleniacza).

W 1950 r. Everett i Kon zaproponowali alternatywną metodę otrzymywania eteru diglicydolowego (do tej pory otrzymywanego z małą wydajnością z epijodohydryny) [18]. W tym procesie eter diallilowy jest utleniany kwasem nadoctowym. Podobnie, jak w przypadku pracy Frosti i współ., którzy również wykorzystali kwas nadoctowy do epoksydacji EDA. Reakcję prowadzono w temperaturach 50–55°C, przez 6 godzin i przy stosunku molowym eteru do kwasu 1 : 3. W ten sposób otrzymano eter allilowo-glicydolowy z wydajnością 66% mol [19]. Z kolei Hong Fu i współ. przedstawili inną metodę otrzymywania eteru allilowo-glicydolowego z eteru diallilowego – wykorzystując monooksygenazę pozyskaną z bakterii *Pseudomonas oleovorans*, która ma zdolność katalizowania reakcji włączania tlenu cząsteczkowego w strukturę olefin. Zaobserwowano 81% enancjoselektywność użytego enzymu [20]. Kolejnym odnotowanym biokatalizatorem dla procesu epoksydacji EDA jest monooksygenaza styrenowa, pozyskana z bakterii *Rhodococcus* sp., posiadająca podobną zdolność do katalizowania reakcji z tlenem cząsteczkowym. Z wykorzystaniem tego szczepu osiąga się konwersję produktu głównego równą 17,1% mol, a wydajność eteru allilowo-glicydolowego wynosi 13,2% mol, przy enancjoselektywności enzymu 91% mol [21].

Połączenie katalizatorów tytanowo-silikatowych z nadtlaniem wodoru w procesach epoksydacji jest odkryciem ostatnich lat, powstałym na potrzeby wymogów dotyczących ochrony środowiska. Jest to połączenie zaskakująco efektywne, dające równie wysokie wartości najważniejszych funkcji procesu, bardzo porównywalne do tych sprzed kilkudziesięciu lat, od których powoli się odchodzi. Peng Wu i współ. zbadali aktywność materiału Ti-MWW w procesie epoksydacji eteru diallilowego w różnych rozpuszczalnikach. Konwersja zmieniała się w zależności od użytego rozpuszczalnika, a najwyższą jej wartość uzyskano w acetonitrylu: 39,6% mol (acetonitryl>aceton>woda>metanol>etanol>dioksan), natomiast selektywność eteru allilowo-glicydolowego zmieniała się również w zależności od rodzaju rozpuszczalnika i największą jej wartość uzyskano w etanolu: 79,8% mol (etanol>dioksan>metanol>aceton>acetonitryl>woda). Zbadano również wpływ czasu reakcji oraz wpływ temperatury. Najkorzystniejszą temperaturą dla tego procesu okazała się temperatura 60°C, a najkorzystniejszym czasem reakcji – czas 120 minut [22]. Mniejszą wydajność produktu głównego, jakim był eter allilowo-glicydolowy osiągnięto, gdy jako katalizator zastosowano Ti-ECNU-1, a jako utleniacz nadtlenek wodoru – wówczas wydajność wyniosła jedynie 35% mol. Proces taki prowadzono również przez 120 minut i w temperaturze 60°C [23].

W jednym z nowszych doniesień literaturowych na temat epoksydowania eteru diallilowego, autorzy prezentują wpływ parametrów technologicznych na przebieg tego procesu. W doniesieniu tym zdecydowano się na ponowne zaproponowanie połączenia wodnego roztworu nadtlenu wodoru z katalizatorem tytanowo-silikatowym, jakim tym razem jest TS-1. Dowiedziono, że najkorzystniejszymi wartościami parametrów dla tego procesu są: temperatura 70°C, stosunek molowy EDA/H₂O₂ = 2 : 1, stężenie metanolu 70% wag., ilość katalizatora TS-1 4% wag. oraz czas reakcji 180 minut. W takich warunkach otrzymano eter allilowo-glicydolowy z selektywnością 58% mol, a konwersja eteru diallilowego wyniosła 9% mol [24]. Jednocześnie wykazano, że w podobnych warunkach proces ten może przebiegać znacznie lepiej z użyciem dodatku w postaci nieorganicznej soli KH₂PO₄ (zwiększenie selektywności produktu i konwersji surowca) [25].



Rys. 8. Schemat epoksydacji eteru diallilowego do eteru allilowo-glicydolowego

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Przeprowadzono badania nad wpływem ilości katalizatora Ti-MWW na proces epoksydacji eteru diallilowego (EDA) wodoronadtlenkiem t-butyłu (WNTB) w izopropanolu jako rozpuszczalniku. Ilość katalizatora była jedynym zmiennym parametrem (w zakresie od 0,5 do 10% wag.). Pozostałe parametry były niezmiennie w całym badanym zakresie ilości katalizatora i wynosiły odpowiednio: temperatura – 70°C, stosunek molowy EDA do WNTB – 3 : 1, ilość izopropanolu – 50% wag., czas reakcji – 180 min., intensywność mieszania – 500 r.p.m. oraz ciśnienie 1–3 barów.

Każdą otrzymaną mieszaninę poddawano analizie metodą chromatografii gazowej, dzięki czemu oznaczono ilościowo i jakościowo ich skład. W celu ilościowego oznaczania produktów wykorzystano metodę kalibracji zewnętrznej z użyciem roztworów wzorcowych dla każdego z oczekiwanych produktów reakcji. Analizy wykonano aparatem FOCUS firmy Thermo z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID. Aparat był wyposażony w kolumnę kapilarną Quadrex 007-5 (30 m × 250 µm × 0,25 µm) oraz autosampler. Parametry analiz GC były następujące: ciśnienie helu – 50 kPa; temperatura komory próbek – 200°C; temperatura detektora – 250°C; temperatura termostatu zmieniała się według programu: izotermicznie 40°C przez 5 minut, szybkość wzrostu temperatury: 5°C/min, izotermicznie 250°C przez 5 minut, chłodzenie do 40°C; czułość wynosiła 100, natomiast objętość dozowanej próbki 0,4 µl.

Epoksydację prowadzono w aparaturze przedstawione na rys. 9.



Rys. 9. Aparatura do epoksydacji złożona z: 1) chłodnicy zwrotnej, 2) reaktora szklanego z mieszadłem teflonowym, 3) krystalizatora wypełnionego olejem silikonowym, który pełnił funkcję łaźni olejowej, 4) mieszadła magnetycznego z funkcją grzania i stabilizacją temperatury firmy WIGO MS 11 HS

Na podstawie wyników analizy obliczano selektywności przemiany eteru diallilowego do każdego z produktów reakcji (SEAG, SEDG, SAA, SG, S3A12PD), gdzie skrót EAG odpowiada eterowi allilowo-glicydolowemu, EDG – eterowi diglicydolowemu, AA – alkoholowi allilowemu, G – glicydolowi oraz 3A12PD – 3-alliloksypropano-1,2-diolowi. Ponadto wyznaczono konwersję eteru diallilowego (KEDG) i wydajności produktów (WEAG, WEDG, WAA, WG, W3A12PD). Podane funkcje obliczono korzystając ze wzorów:

a) selektywność produktu:

$$S = \frac{n}{n_i} \cdot 100\%$$

gdzie:

n – liczba moli produktu,

n_i – liczba moli wszystkich produktów, do których powstania wykorzystany został EDA;

b) wydajność produktu:

$$W = \frac{n_i}{n_{EDA}} \cdot 100\%$$

gdzie:

n_i – liczba moli produktu,

n_{EDA} – liczba moli eteru diallilowego przed reakcją;

c) konwersja EDA:

$$K_{EDA} = \frac{n_i}{n_{EDA}} \cdot 100\%$$

gdzie:

n_i – liczba moli wszystkich produktów, do których powstania wykorzystany został EDA,

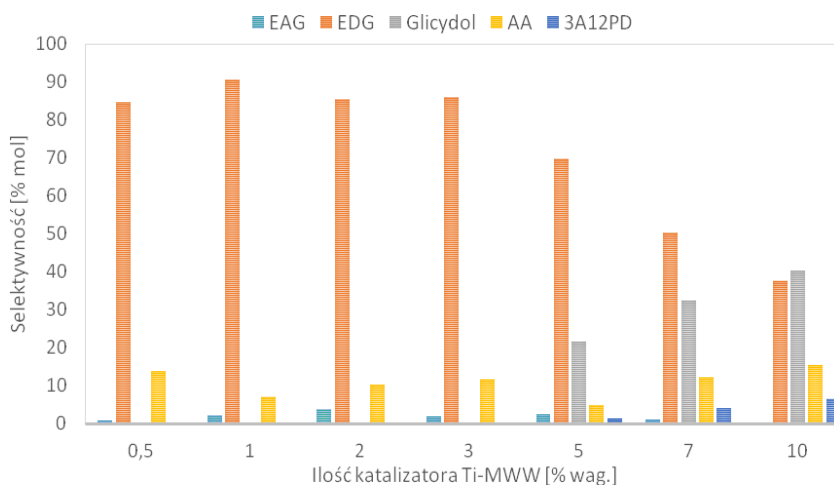
n_{EDA} – liczba moli EDA przed reakcją.

WYNIKI

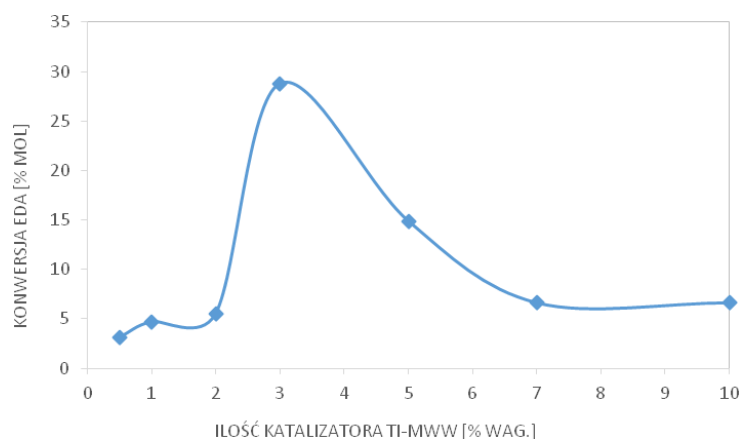
Wyniki z przeprowadzonych badań zostały przedstawione w tabeli 1 i na rysunkach 10–12.

Tabela 1. Wyniki epoksydacji eteru diallilowego

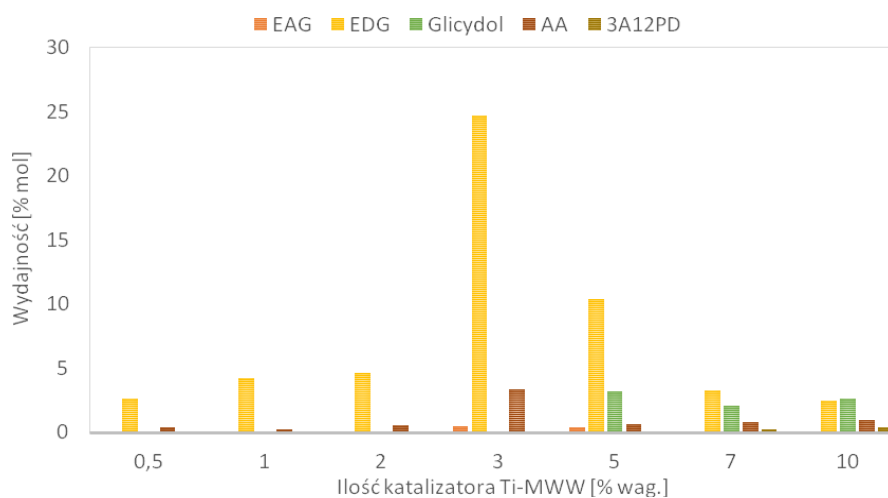
Numer syntezy			1	2	3	4	5	6	7
1.	Ilość katalizatora Ti-MWW	[% wag.]	0,5	1	2	3	5	7	10
2.	S _{produkt/EDA} :								
	EAG	[%mol]	0,9	2,1	3,7	1,8	2,5	1,1	0,5
	EDG		84,7	90,5	85,4	85,9	69,7	50,3	37,5
	Glicydol		0,0	0,0	0,0	0,0	21,6	32,4	40,3
	AA		13,9	7,1	10,3	11,7	4,9	12,2	15,3
	3A12PD		0,5	0,3	0,6	0,6	1,3	4,0	6,4
	Suma		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
3.	W _{produkt/EDA} :								
	EAG	[%mol]	0,0	0,1	0,2	0,5	0,4	0,1	0,0
	EDG		2,7	4,3	4,7	24,7	10,4	3,3	2,5
	Glicydol		0,0	0,0	0,0	0,0	3,2	2,1	2,7
	AA		0,4	0,3	0,6	3,4	0,7	0,8	1,0
	3A12PD		0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,3	0,4
	Suma		3,1	4,7	5,5	28,8	14,9	6,6	6,6
4.	K _{EDA}	[%mol]	3,1	4,7	5,5	28,8	14,9	6,6	6,6



Rys. 10. Zmiany selektywności wszystkich produktów epoksydacji eteru diallilowego wodoronadtlenkiem t-butylu w zależności od ilości katalizatora w mieszaninie reakcyjnej



Rys. 11. Zmiany konwersji eteru diallilowego w zależności od ilości Ti-MWW w mieszaninie reakcyjnej



Rys. 12. Wydajności produktów epoksydacji eteru diallilowego wodoronadtlenkiem t-butylu w zależności od ilości użytego katalizatora

Badania nad wpływem ilości katalizatora Ti-MWW na przebieg procesu epoksydacji eteru diallilowego pokazały, że jego ilość ma bardzo duży wpływ na zachodzące w reakcje. Najkorzystniejszą ilością tytanowego zeolitu w tym procesie okazało się być 3% wag. W zakresie 0,5–3% wag. selektywność oraz wydajność najbardziej pożądaných produktów reakcji, tj. eteru diglicydolowego i allilowo-glicydolowego rośnie aż do ilości 3% wag. Podobnie jest w przypadku alkoholu allilowego. Natomiast większa ilość tego katalizatora, tzn. 5–10% wag. sprzyja reakcjom powstawania glicydolu oraz 3-alliloksypropano-1,2-diolu.

Przy najkorzystniejszej wybranej ilości Ti-MWW wydajności wszystkich wyodrębnionych produktów procesu osiągnęły następujące wartości: EDG – 24,7% mol, EAG – 0,5% mol, Glicydol – 0,0% mol, AA – 3,4% mol oraz 3A12PD – 0,2% mol. Selektywności natomiast osiągnęły następujące wartości: EDG – 85,9% mol, EAG – 1,8% mol, Glicydol – 0,0% mol, AA – 11,7% mol oraz 3A12PD – 0,6% mol. Konwersja eteru diallilowego osiągnęła tutaj najwyższą wartość, tzn. 28,8% mol.

LITERATURA

- [1] Brojer Z., Hertz Z., Penczek P. *Żywice epoksydowe*, Warszawa, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, (1972), 15–17.
- [2] Haralad J. Peroxy Compounds, Inorganic, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Weinheim, Wiley-VCH, (2005).
- [3] Oyama S.T. Mechanisms in Homogeneous and Heterogeneous Epoxidation Catalysis, Elsevier (2011), 106–114.
- [4] Hunt I. Department of Chemistry, University of Calgary website, Using Halohydrins to Synthesise Epoxides, <http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch16/ch16-5-2.html>, data dostępu: 3.01.2017 r.
- [5] Allyl ether, karta charakterystyki substancji chemicznej firmy Sigma Aldrich, data wydrukowania karty: 10.06.2016.
- [6] Sen S., Schowner R., Imbrich D.A., Frey W., Hunger M., Buchmeiser M.R. Neutral and cationic molybdenum imido alkylidene N-heterocyclic carbene complexes: Reactivity in selected olefin metathesis reactions and immobilization on silica. *Chem. A Eur. J.* 21(39) (2015), 13778–13787.
- [7] Fujihara T., Tomike Y., Ohtake T., Terao J., Tsuji Y. Ruthenium-catalyzed ring-closing metathesis accelerated by long-range steric effect. *Chem. Commun.* 47(34) (2011), 9699–9701.
- [8] Erdogan E., Grotjahn D.B. Supported imidazolyphosphine catalysts for highly (E)-selective alkene isomerization. *Org. Lett.* 16(11) (2014), 2818–2821.
- [9] Larsen C.R., Grotjahn D.B. Stereoselective alkene isomerization over one position. *J. Am. Chem. Soc.* 134(25) (2012), 10357–10360.
- [10] Dierick S., Vercruysse E., Berthon-Gelloz G., Marko I.E. User-friendly platinum catalysts for the highly stereoselective hydrosilylation of alkynes and alkenes. *Chem. - A Eur. J.* 21(47) (2015), 17073–17078.
- [11] Hruszkewycz D.P., Balcells D., Guard L.M., Hazari N., Tilset M. Insight into the efficiency of cinnamyl-supported precatalysts for the Suzuki–Miyaura reaction: Observation of Pd(I) dimers with bridging allyl ligands during catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 136(20) (2014), 7300–7316.
- [12] Wu J., Nova A., Balcells D., Brudvig G.W., Dai W., Guard L.M., Hazari N., Lin P.H., Pokhrel R., Takase M.K. Nickel(I) monomers and dimers with cyclopentadienyl and indenyl ligands. *Chem. - A Eur. J.* 20(18) (2014), 5327–5337.
- [13] Hu Q.S., Hu C.M., Huang W.Y. Studies on sulfinatodehalogenation. Part 30. Synthesis of trifluorovinyl compounds, *Chinese Chemical Letters*, 8(8) (1997) 669–672.
- [14] Noe M.C., Letavic M.A., Snow S.L. Asymmetric dihydroxylation of alkenes. *Org. React.* 66(1) (2005), 109–625.
- [15] Allakhverdiev M.A., Askerov A.B. Synthesis and antimicrobial activity of N,N-disubstituted 3-allyloxy-1-amino-2-propanethiols. *Russ. J. Appl. Chem.* 76 (2003), 1280–1283.
- [16] Rahman S. Acetylene vinylidene rearrangements in organic synthesis, *Sel. Org. React. Database (SORD)* (1995).

-
- [17] Sheng M.N., Zajacek J.G. Hydroperoxide oxidations catalyzed by metals. III. Epoxidation of dienes and olefins with functional groups. *J. Org. Chem.* 35(6) (1970), 1839–1843.
- [18] Everett J.L., Kon G.A.R. The preparafioqz of some cytotoxic epoxides. *J. Chem. Soc. (Resumed)* (1950), 3131–3135.
- [19] Frostick F.C. Jr., Phillips B., Starcher P.S. Synthesis of some epoxy vinyl monomers by epoxidation with peracetic acid. *J. Chem. Soc.* 81(13) (1959), 3350–3356.
- [20] Fu H., Newcomb M., Wong C.H. *Pseudomonas oleovorans* monooxygenase-catalyzed asymmetric epoxidation of allyl alcohol derivatives and hydroxylation of a hypersensitive radical probe with the radical ring-opening rate exceeding the oxygen-rebound rate. *J. Chem. Soc.* 113(15) (1991), 5878–5880.
- [21] Toda H., Imae R., Itoh N. Bioproduction of chiral epoxyalkanes using styrene monooxygenase from *rhodococcus* sp. ST-10 (RhSMO). *Adv. Synth. & Catal.* 356(16) (2014), 3443–3450.
- [22] Wu P., Liu Y., Hea M., Tatsumi T. A novel titanosilicate with MWW structure: Catalytic properties in selective epoxidation of diallyl ether with hydrogen peroxide. *J. Catal.* 228(1) (2004), 183–191.
- [23] Liu Y., Wang L., Wu H. i in. Method for preparing alkylene oxide with high conversion rate and selectivity, CN Patent No 1793131 (2005).
- [24] Wróblewska A., Drewnowska E., Gawarecka A. The epoxidation of diallyl ether to allyl-glycidyl ether over the TS-1 catalyst, *Reaction Kinetics. Mechan. Catal.* (2016), 1–13.
- [25] Drewnowska E., Wróblewska A., Gawarecka A. The role of the additive in the form of Na₂SO₄ in the epoxidation of diallyl ether. *Appl. Mech. & Mater.* 797 (2015), 347–351.

Patrycja WILCZEWSKA, Agnieszka FISZKA BORZYSZKOWSKA,
Aleksandra PIECZYŃSKA, Ewa Maria SIEDLECKA

IDENTYFIKACJA CHEMICZNYCH INDYWIDUÓW UTLENIAJĄCYCH BIORĄCYCH UDZIAŁ W ROZKŁADZIE CYTOSTATYKÓW W OBECNOŚCI Bi-TiO₂ MODYFIKOWANYCH MWCNTs

IDENTIFICATION OF OXIDIZING CHEMICAL SPECIES INVOLVED IN CYTOSTATIC DECAY IN THE PRESENCE OF Bi DOPED TiO₂ MODIFIED BY MWCNTs

Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii

Streszczenie. Leki cytostatyczne charakteryzują się opornością na procesy biochemicznego utleniania czy fotolizy. Ze względu na wzrastające stężenie cytostatyków w środowisku należy podjąć badania nad metodą umożliwiającą efektywne ich usunięcie. Fotokataliza heterogeniczna umożliwia generację „*in situ*” silnych utleniających indywiduów chemicznych, zdolnych do rozkładu substancji trudno biodegradowalnych i/lub toksycznych. Celem pracy było poznanie mechanizmu fotokatalitycznego rozkładu cyklofosfamidu (CF) i imatynibu (IMA) w obecności Bi – TiO₂ modyfikowanych wielościennymi nanorurkami węglowymi (MWCNTs) poprzez identyfikację fotogenerowanych indywiduów chemicznych, biorących udział w tym procesie. Nanokompozyt zawierający 5% wagowych MWCNTs oraz 3% molowych Bi w stosunku do TiO₂ scharakteryzowano za pomocą spektroskopii UV-Vis, spektroskopii fotoluminescencyjnej i FT-IR. Badania wykazały, że CF ulega rozkładowi w wyniku reakcji z rodnikami hydroksylowymi i anionorodnikami ponadtlenkowymi. Z kolei utlenianie IMA zależy głównie od reakcji z fotogenerowanymi lukami elektronowymi na powierzchni katalizatora, a w mniejszym stopniu od reakcji z innymi formami utleniaczy. Badania wykazały, że ten sam katalizator może utleniać różne związki organiczne w odmienny sposób, więc badania prowadzone z wykorzystaniem tylko jednego związku modelowego nie dają nam pełnej informacji o możliwościach utleniających danego nanokompozytu.

Słowa kluczowe: AOP, fotokataliza heterogeniczna, cyklofosfamid, imatynib, leki cytostatyczne, TiO₂, wielościenne nanorurki węglowe, MWCNTs, bizmut, domieszkowanie, modyfikacja.

Keywords: AOP, heterogeneous photocatalysis, cyclophosphamide, imatinib, cytostatic drugs, TiO₂, multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs), bismuth, doping, modification.

WSTĘP

Związki farmaceutyczne charakteryzują się opornością na procesy biochemicznego utleniania czy fotolizę. Utrudnia to usuwanie ich ze ścieków metodami konwencjonalnego oczyszczania oraz z wód powierzchniowych w wyniku procesów samooczyszczania. Do farmaceutyków szczególnie szkodliwych dla środowiska należą leki cytostatyczne, których obecność potwierdzono w odpływach z miejskich oczyszczalni ścieków, osadach ściekowych, a także w wodach powierzchniowych [1]. Ze względu na wzrastające stężenie cytostatyków w środowisku podejmuje się badania nad poszukiwaniem metod umożliwiających efektywne ich usuwanie [2].

Najczęściej stosowanym cytostatykiem, nie tylko w chemioterapii jest 5-fluorouracyl. W dalszej kolejności aplikuje się gemcytabinę, ifosfamid oraz cyklofosfamid (CF). Ze względu na szybki rozwój medycyny wprowadzane są leki nowej generacji, które nie są jeszcze wykrywalne w środowisku naturalnym lecz mogą stanowić potencjalne zagrożenie. Do takich farmaceutyków wprowadzonych na rynek w 2001 roku należy imatynib (IMA) [3].

Cyklofosfamid należy do najstarszych leków przeciwnowotworowych z grupy klasycznych środków alkilujących. Ma charakter skrajnie hydrofilowy, nie ulega adsorpcji na osadach dennych oraz nie ulega bioakumulacji. Występuje wyłącznie w środowisku wodnym. Ze względu na wysoki potencjał mutageny i/lub teratogeny, wzrastające stężenie CF w ściekach, a co za tym idzie w wodach powierzchniowych, stanowi poważny problem. Dane literaturowe wskazują, że szkodliwość CF dla komórek zdrowych jest większa niż dla komórek nowotworowych [4]. Działanie cytotoksyczne cyklofosfamidu polega na interakcji między jego alkilującymi metabolitami, a DNA. Alkilacja powoduje fragmentację łańcuchów DNA oraz rozerwanie wiązań krzyżowych DNA – białko. Okres półtrwałości CF wynosi 5 lat [5]. Imatynib to substancja słabo rozpuszczalna w wodzie o charakterze średnio liofilowym, więc może ulegać częściowej bioakumulacji oraz adsorpcji na osadach. Mechanizm działania IMA opiera się na inhibicji trzech rodzajów kinaz tyrozynowych przez konkurencyjne blokowanie miejsc wiązania ATP powyższych enzymów. Prowadzi to do zahamowania przekazywania sygnałów prowadzących do powstania i proliferacji komórek nowotworowych [6].

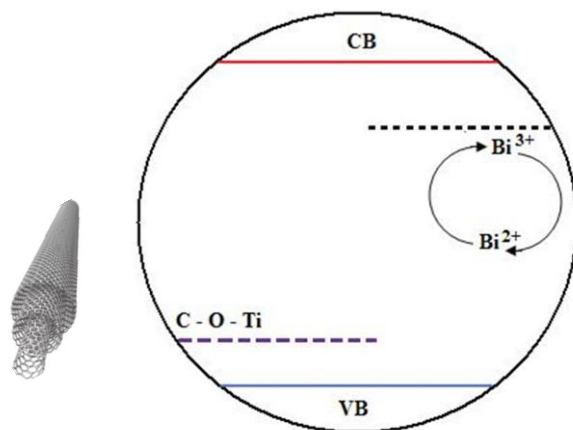
Fotokataliza heterogeniczna, którą można zakwalifikować do nowoczesnych metod utleniania, umożliwia generację „*in situ*” silnych utleniających indywiduów chemicznych, zdolnych do rozkładu substancji trudno biodegradowalnych. Najczęściej używanym fotokatalizatorem do usuwania zanieczyszczeń organicznych jest TiO_2 , który występuje w formie anatazu i rutylu. Anataz absorbuje promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie UV. Z kolei rutyl ma mniejszą energię pasma wzbronionego niż anataz. Komercyjne fotokatalizatory TiO_2 zazwyczaj są mieszaniną obu tych form, np. Degussa P25, w związku z czym ulegają również pewnemu wzbudzeniu promieniowaniem z zakresu światła widzialnego. Na ogół jednak w procesach fotokatalitycznych najaktywniejszą formą TiO_2 jest anataz.

Domieszkowanie TiO_2 atomami bizmutu lub modyfikacja nanorurkami węgla jest jedną z efektywnych metod prowadzących do podwyższenia aktywności modyfikowanego TiO_2 w zakresie światła widzialnego. Jest to możliwe dzięki pojawieniu się nowych pośrednich stanów energetycznych w strukturze TiO_2 . Jony Bi^{3+} przechwytyują wzbudzone elektrony, ulegając redukcji do Bi^{2+} , a następnie ponownie utleniane są do Bi^{3+} . Kationy bizmutu umożliwiają również transfer wzbudzonych elektronów do pasma przewodzenia TiO_2 . Takie działanie powoduje zwiększanie aktywności fotokatalitycznej na skutek separacji luk elektronowych i elektronów powodując wolniejszą rekombinację par $(e^-) - (h^+)$ [9].

Ponadto wykazano, że wysoka aktywność fotokatalityczna MWCNTs/ TiO_2 jest wynikiem wysokiej pojemności adsorpcyjnej kompozytów ze względu na wysoką powierzchnię właściwą nanorurek. Zastosowanie nanorurek daje także możliwość większej kontroli struktury otrzymywanych kompozytów bądź mieszanin MWCNTs/ TiO_2 .

Dodatek powierzchniowy (modyfikacja) wielościennych nanorurek węglowych powoduje również zwężenie pasma energii wzbronionej od strony pasma walencyjnego poprzez utwo-

zenie wiązania C–O–Ti [10]. MWCNTs hamują również rekombinację par (e^-) – (h^+) poprzez gromadzenie elektronów na swojej powierzchni. Rysunek 1 przedstawia schemat zmiany przerwy wzbronionej po domieszkowaniu i modyfikacji powierzchniowej.



Rys. 1. Zmiana szerokości przerwy energetycznej dzięki użyciu bizmutu i MWCNTs

Celem pracy było poznanie drogi fotokatalitycznego rozkładu CF i IMA o odmiennych właściwościach fizykochemicznych w obecności nanokompozytu MWCNTs/Bi–TiO₂ poprzez identyfikację fotogenerowanych na powierzchni katalizatora indywiduów chemicznych biorących udział w tym procesie. Obecnie brak jest doniesień literaturowych dotyczących syntezy i charakterystyki właściwości fotokatalitycznych nanokompozytów otrzymanych poprzez połączenie domieszkowania atomami Bi i modyfikacji powierzchniowej MWCNTs fotokatalizatora TiO₂. Te nanokompozyty o potencjalnie dobrej sorpcji i zdolności do absorpcji światła widzialnego są wykorzystywane w badaniach rozkładu leków cytostatycznych po raz pierwszy.

METODY BADAŃ

Preparatyka fotokatalizatora

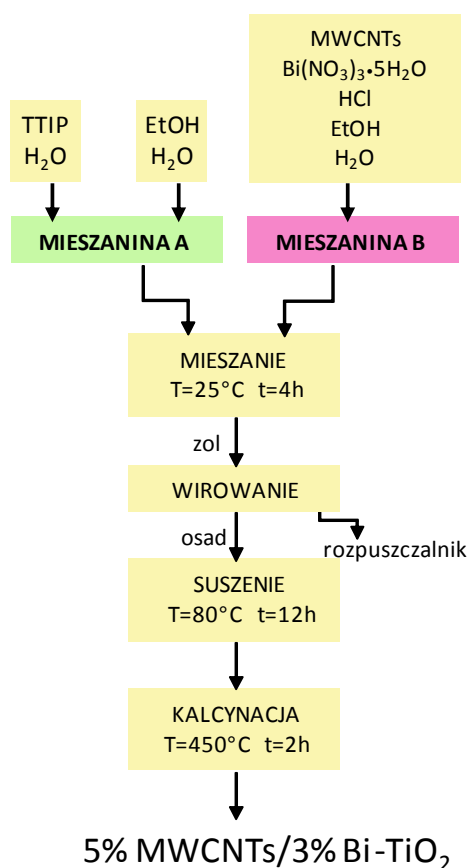
Płukanie wielościennych nanorurek węglowych (MWCNTs)

Do syntezy nanokompozytu wykorzystano MWCNTs komercyjnie dostępne o następujących parametrach: $d = 8 - 15$ nm, długość = $10 - 50$ μ m, czystość > 95 % wagowych, zawartość grup funkcyjnych (karboksylowe) 0,49% wag. W kolbie okrągłodennej ze szlifem o pojemności 250 ml zawieszono 0,2 g MWCNTs w mieszaninie 7,5 ml stężonego kwasu azotowego(V) i 142,5 ml wody dejonizowanej. Całość doprowadzono do temperatury wrzenia pod chłodnicą zwrotną i ogrzewano kolejne 45 minut. Po ostudzeniu próbki, roztwór zdekantowano, a pozostałe zsedymetowane nanorurki przepłukiwano wodą dejonizowaną, aż do usunięcia pozostałości HNO₃. Tak spreparowane MWCNTs suszono przez noc w temperaturze 80°C.

Synteza fotokatalizatora

Synteza nanokompozytu metodą zol-żel polegała na zmieszaniu ze sobą dwóch roztworów A i B. Roztwór A składał się z prekursora tetraizopropanolan tytanu (TTIP), rozpuszczo-

nego w 40 ml bezwodnego etanolu (EtOH) i 10 ml wody dejonizowanej. Roztwór B to 16,5 ml bezwodnego EtOH, 2,5 ml H₂O, 1 ml stężonego HCl, 0,1882 g Bi(NO₃)₃·5H₂O (3% molowy względem Ti) oraz 0,1875 g MWCNTs (5% masowy względem Ti). Następnie tak otrzymaną mieszaninę B, podczas intensywnego mieszania, wkraplano powoli do mieszaniny A (rozpuszczony prekursor TiO₂ w etanolu). Po zakończeniu dodawania B do A, proces otrzymywania zolu w temperaturze pokojowej trwał 5 godz. Kolejnym etapem było odwirowanie osadu. Uzyskany osad suszono przez 12 godzin w temperaturze 80°C i kalcynowano przez 2 godziny w temperaturze 450°C. Schemat syntezy przedstawiono na rysunku 1. W analogiczny sposób otrzymano TiO₂, gdzie roztwór B składał się z 16,5 ml bezwodnego EtOH i 2,5 ml H₂O.



Rys. 2. Schemat syntezy nanokompozytu

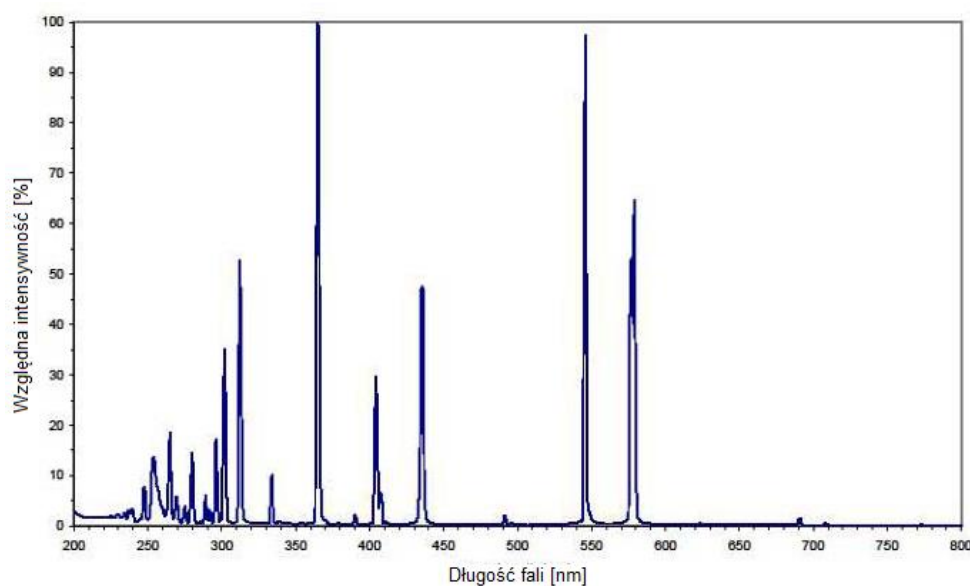
Otrzymane nanokompozyty: 5% MWCNTs/3% Bi-TiO₂ oraz niemodyfikowany TiO₂ były charakteryzowane techniką spektroskopii UV-Vis, spektroskopii fotoluminescencyjnej i FT-IR.

Fotokatalityczny rozkład leków

Układ badawczy składał się z: (i) lampy rtęciowej średniociśnieniowej o mocy 150 W firmy Heraeus wyposażonej w system chłodzący wodą, (ii) reaktora borokrzemowego umieszczonego na mieszadle magnetycznym.

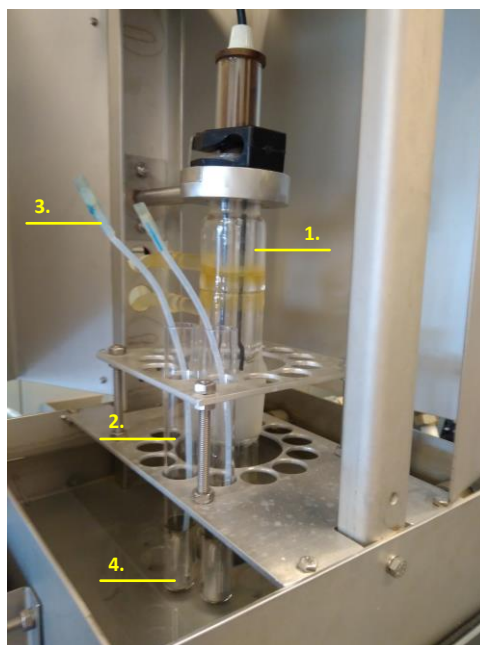
Lampa średniociśnieniowa rtęciowa wykorzystywana w badaniach emitowała promieniowanie w zakresie od 200 nm do 436 nm o maksymalnym natężeniu przy długości fali 366 nm

oraz w zakresie światła widzialnego o maksymalnym natężeniu przy długościach fal 536 nm i 579 nm, (rys. 3) [7].



Rys. 3. Widmo promieniowania emitowanego przez lampę średniociśnieniowo rtęciową

Układ do badania fotokatalizy był zamknięty w obudowie zabezpieczającej przed promieniowaniem z zewnątrz, Mieszanina naświetlana w reaktorze składała się z 7,5 mg nanokompozytu 5% MWCNTs/3% Bi-TiO₂ i 15 ml roztworu leku cytostatycznego o stężeniu wyjściowym $C_0 = 20$ mg/L. Rysunek 4 przedstawia układ doświadczalny.



Rys. 4. Zdjęcie układu doświadczalnego używanego podczas naświetlania próbki: 1 – lampa rtęciowa średniociśnieniowa w płaszczu chłodzącym; 2 – probówka z roztworem leku i badanym fotokatalizatorem; 3 – rurka umożliwiającą pobieranie próbki podczas naświetlania; 4 – mieszadło magnetyczne

Tak przygotowany układ pozostawiono na 30 minut bez naświetlania (faza ciemna) w celu ustalenia się równowagi adsorpcyjno-desorpcyjnej. Po upływie tego okresu pobrano próbkę i rozpoczęto naświetlanie promieniowaniem UV przez 150 minut. Kolejne próbki pobierano po upływie 30, 60, 120 i 150 minut od rozpoczęcia naświetlania. Próbkę filtrowano przez filtr strzykawkowy o porach 20 μm , a następnie analizowano techniką HPLC. Badano również fotolizę CF i IMA w tych samych warunkach eksperymentalnych, co fotokatalizę.

W ten sam sposób przeprowadzono badania z wyłapywaczami fotogenerowanych indywidualów chemicznych w celu określenia drogi fotodegradacji wybranych leków. W tym celu dla każdego z badanych leków przygotowano mieszaninę leku, fotokatalizatora i substancji o charakterze wyłapywacza w ilości 10 mmoli/L. Rodzaje zmiataczy fotogenerowanych indywidualów chemicznych użytych w doświadczeniu zostały zebrane w tabeli 1.

Tabela 1. Zmiatacze fotogenerowanych rodników użyte w fotokatalitycznym rozkładzie cyklofosfamidu i imatynibu w obecności nanokompozytu 5% MWCNTs/3% Bi-TiO₂

Zmiatacze	Ilość [mmol]	Rodzaj zmiatanych indywidualów chemicznych
<i>Tert</i> – butanol	10	rodniki hydroksylowe ($\cdot\text{OH}$)
Na ₂ EDTA	10	luki elektronowe (h^+)
Kwas askorbinowy	10	anionorodniki nadtlenkowe ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

Wyznaczono kinetykę rozkładu cytostatyków z i bez fotogenerowanych zmiataczy indywidualów chemicznych.

Charakterystyka optyczna nanokompozytów

Właściwości optyczne zsyntezowanych nanokompozytów określono na podstawie pomiarów spektroskopowych,

- pomiar UV – Vis: wykonany na spektrofotometrze UV – 2600 UV-VIS SPECTROPHOTOMETER Shimadzu. Widma rejestrowano w temperaturze pokojowej w zakresie długości fali 250–750 nm, stosując jako odnośnik BaSO₄.
- pomiar fotoluminescencji wykonany na Luminescence Spectrometer LS 50B Perkin Elmer ze specjalną przystawką przystosowaną do badania proszków. Badania wykonano w temperaturze pokojowej. Do analizy użyto fali wzbudzającej o długości równej 325 nm, a następnie analizowano próbkę w zakresie długości fal od 350 do 750 nm.
- pomiar FT–IR: za pomocą spektrometru Buker IFS66. Fotokatalizator o masie 3–5 mg zmielono z KBr i sprasowano. Tak przygotowaną próbkę badano w zakresie liczby falowej od 4000 do 500 cm^{-1} , w celu identyfikacji grup funkcyjnych na powierzchni fotokatalizatora.

Analiza HPLC cytostatyków

Warunki analizy CF i IMA techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej, wykonanej na LIQUID CHROMATOGRAPH LC – 20 ADXR Shimadzu z detektorem UV-Vis/DAD zebrano w tabeli 2.

Tabela 2. Parametry analizy leków cytostatycznych techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC/UV-Vis)

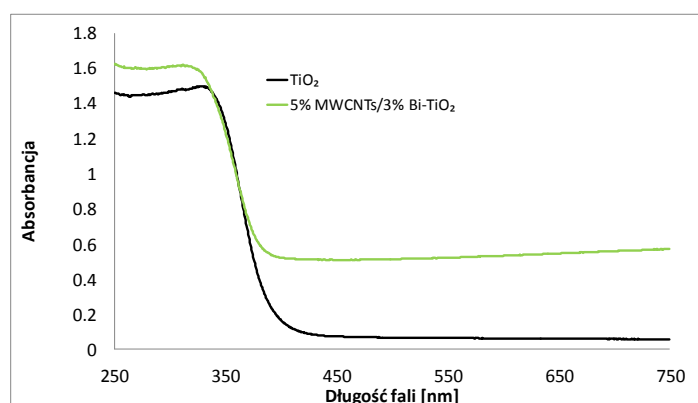
Parametry	Cyklofosamid	Imatynib
Faza stacjonarna	C18	C18
Faza ruchoma	25% acetonitryl: 75% woda	85% 1ml HCOOH/ 1l woda: 25% acetonitryl
Objętość nastrzyku	50 μ l	30 μ l
Natężenie przepływu	0,3 ml/min	0,7 ml/min
Rodzaj elucji	izokratyczna	izokratyczna
Czas analizy	8,5 min	6 min
Czas retencji t_r	6,65 min	4,26 min
Długość fali	200 nm	265 nm

WYNIKI I DYSKUSJA

Charakterystyka zsyntezowanego fotokatalizatora

Dla nanokompozytu 5%MWCNTs/3%Bi-TiO₂ i TiO₂ zsyntezowanych metodą zol-żel została przeprowadzona analiza spektroskopowa w zakresie promieniowania UV-Vis, fotoluminescencji i spektroskopii fourierowskiej FT-IR. Wyniki zostały przedstawione rysunkach. 5, 6, 7 oraz 8.

Zsyntezowany nanokompozyt wykazuje znaczną poprawę czułości spektralnej w zakresie światła UV jak i światła widzialnego w porównaniu z otrzymanym tą samą metodą TiO₂. Jest to spowodowane wbudowaniem atomów Bi w strukturę TiO₂ oraz obecnością wielościennych nanorurek węglowych, które wykazują cechy sensybilizatorów [9,10].

Rys. 5. Widmo UV-Vis badanego nanokompozytu w porównaniu do TiO₂ otrzymanego tą samą metodą

Na podstawie spektroskopii UV-Vis/DRS możliwe jest wyznaczenie wartości energii pasma wzbronionego półprzewodników, które znajduje się między pasmem walencyjnym (VB) a przewodnictwa (CB). Energie przejścia wzbudzonego elektronu (E_g) określono przy użyciu równania Kubelki-Munka:

$$F(R) = \frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{k(\lambda)}{s(\lambda)} = \frac{A_C}{s}$$

gdzie:

R – współczynnik odbicia,

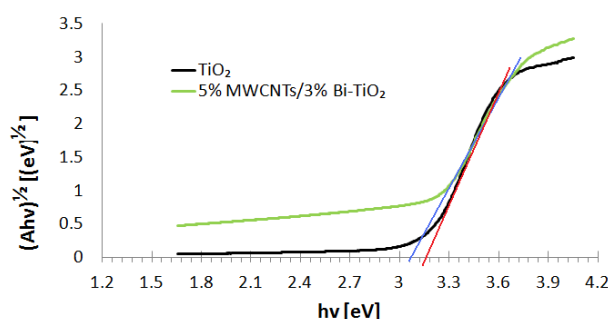
$k(\lambda)$ – współczynnik absorpcji mieszaniny przy długości fali λ ,

$s(\lambda)$ – współczynnik rozproszenia mieszaniny przy długości fali λ ,

c – stężenie związku absorbującego,

A – absorbancja.

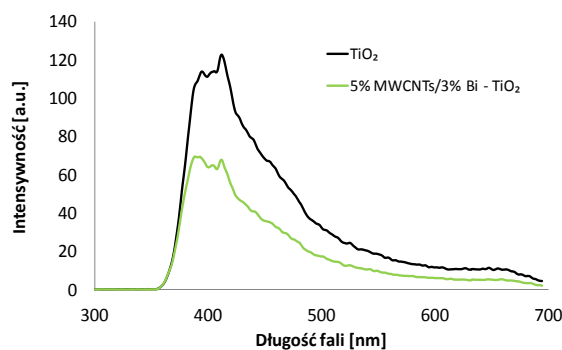
W zależności od typu półprzewodnika (prosty lub skośny) wartość E_g wyznacza się stosując przekształcenie równania Kubelki-Munka i ekstrapolując jej liniowy fragment do wartości 0. Dytlenek tytanu jest półprzewodnikiem skośnym. Po przekształcenia dla niego równania wykreślono wykres $(A(\lambda)h\nu)^{1/2}$ vs. $h\nu$ (rys. 6).



Rys. 6. Wyznaczanie E_g z funkcji Kubelka-Munka

Wartość przerwy energetycznej (E_g) dla TiO_2 wynosiła 3,15 eV i wskazywała na występowanie ditlenku tytanu w formie anatazu. Dla nanokompozytu E_g miało niższą wartość równą 3,06 eV. Otrzymany wynik potwierdza, iż wprowadzenie nanorurek węglowych i bizmutu zwiększa zdolności absorpcyjną nanokompozytu w zakresie promieniowania o $\lambda > 400$ nm.

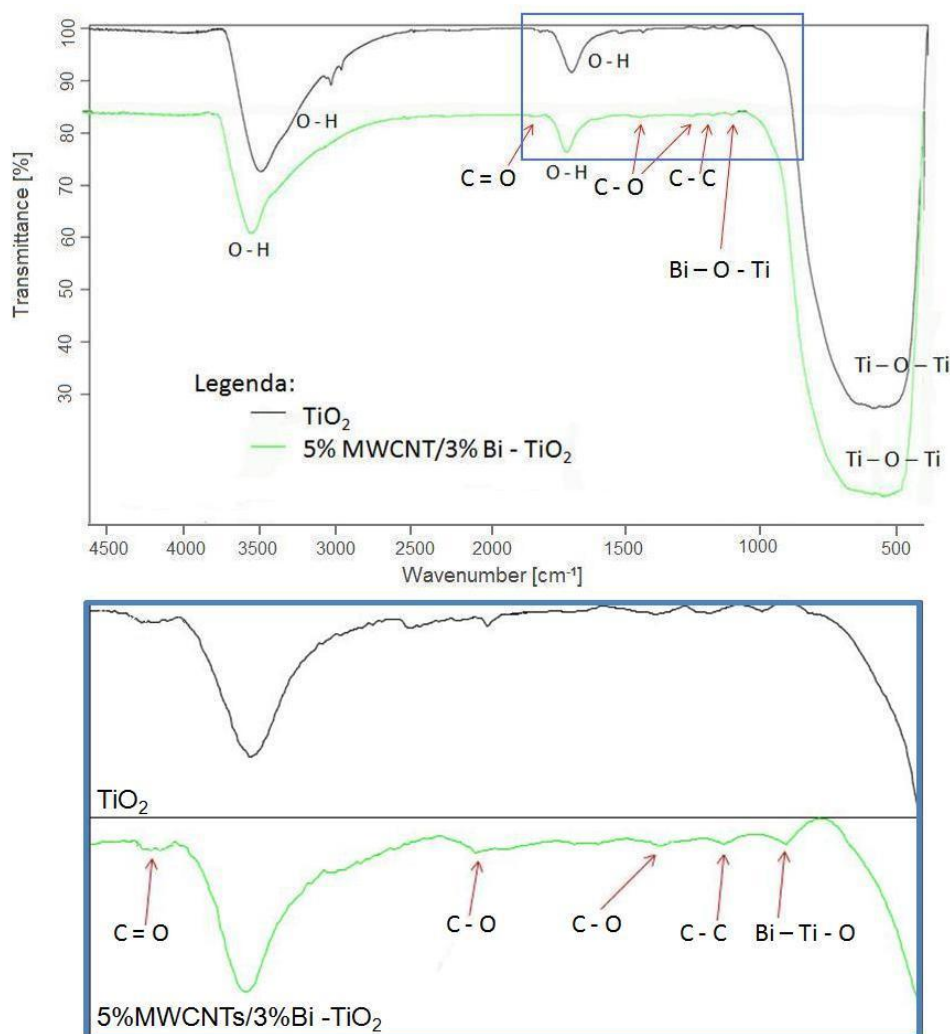
Spektroskopia fotoluminescencyjna umożliwiła ocenę szybkości rekombinacji fotogenerowanych par (e^-) – (h^+), która przekłada się na zdolność produkcji utleniaczy i reduktorów na powierzchni katalizatora. Widmo fotoluminescencyjne TiO_2 i 5% MWCNTs/3% Bi- TiO_2 zostało przedstawione na rysunku 7.



Rys. 7. Widmo fotoluminescencyjne badanego nanokompozytu

Nanokompozyt charakteryzuje się mniejszą intensywnością fotoluminescencji niż TiO_2 , czyli wolniejszą rekombinacją par nośników ładunków (e^-) – (h^+). Fotogenerowane ładunki (e^-) i (h^+) wchodzi w reakcje utleniania i redukcji podczas fotokatalitycznego rozkładu wybranych substancji.

Z kolei rysunek 7 przedstawia widma FT-IR 5% MWCNTs/3% Bi- TiO_2 i zsyntezowanego tą samą metodą TiO_2 . Na widmie TiO_2 widoczne są trzy rodzaje sygnałów. Sygnał dla 580 cm^{-1} pochodzi od drgań zginających wiązania Ti–O i Ti–O–Ti, sygnał 1632 cm^{-1} wynika z obecności pary wodnej podczas analizy i pochodzi od drgań zginających H–O, sygnał 3415 cm^{-1} pochodzi od drgań rozciągających grupy OH połączonej z atomami tytanu. Wszystkie trzy sygnały obecne są na widmie nanokompozytu. Dodatkowo stwierdzono obecność innych drgań, słabo widocznych na wykresie z powodu dużej intensywności pików pochodzącego od wiązania tytanu z tlenem.



Rys. 8. Widmo FT-IR badanego nanokompozytu

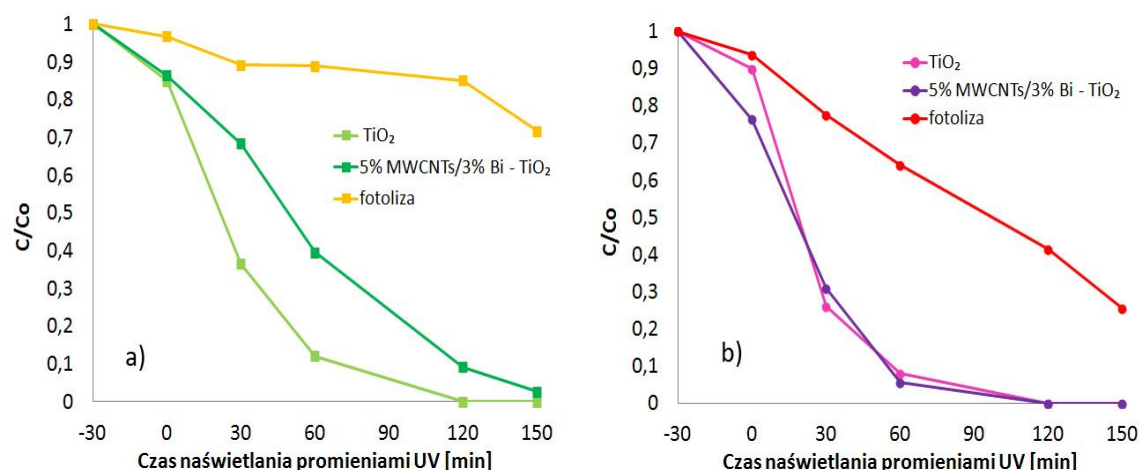
Sygnały na widmie nanokompozytu to 1738 cm^{-1} pochodzący od drgań rozciągających wiązanie C=O, charakterystyczny w przypadku obecności grupy karboksylowej; 1372

i 1197 cm^{-1} pochodzących od odkształceń wiązania pojedynczego między węglem a tlenem, 1124 cm^{-1} będący skutkiem drgań szkieletowych łańcucha węglowego C–C oraz sygnał 1058 cm^{-1} powstały na skutek odkształcania wiązania Bi–O–Ti [11] lub drgań rozciągających C=O [12]. Zarówno bizmut jak i wielościennie nanorurki węglowe dają słabe sygnały ze względu na niewielką ich ilość obecną w nanokompozycie.

Aktywność fotokatalityczna MNCNT-Bi-TiO₂ w usuwaniu leków cytostatycznych

Rysunek 9 przedstawia szybkość reakcji fotokatalitycznego rozkładu cyklofosfamidu i imatynibu w obecności nanokompozytu 5% MWCNTs/3% Bi-TiO₂ i TiO₂ oraz fotolizę leków cytostatycznych w świetle lampy średniociśnieniowej rtęciowej. Fotoliza CF po 150 minutach naświetlania spowodowała rozkład tego leku w 18%. Z literatury jak i własnych badań wynika, że CF nie ulega bezpośredniej fotolizie, ale może rozkładać się w niewielkim stopniu poprzez fotolizę pośrednią. Natomiast IMA ulegał fotolizie w 75%. Badania właściwości adsorpcyjnych otrzymanego fotokatalizatora wykazały, że CF w fazie ciemnej uległ adsorpcji na powierzchni nanokompozytu w 14% podczas, podczas gdy adsorpcja IMA wynosiła 24%.

Fotokataliza CF i IMA po 150 minutach naświetlania była skuteczna i wynosiła dla CF 98% a dla IMA 100%.



Rys. 9. Rozkład fotokatalityczny CF (7a) i IMA (7b) w obecności 5% MWCNTs/3% Bi-TiO₂ oraz TiO₂

Reakcja rozkładu CF i IMA przebiegała zgodnie z kinetyką reakcji pseudo-pierwszego rzędu względem leku. Modyfikacja atomami Bi i MWCNTs katalizatora TiO₂ spowodowała spowolnienie procesu rozkładu CF, natomiast nie zmieniła aktywności tego katalizatora względem usuwania IMA. Wolniejsza rekombinacja nośników par (e^-) – (h^+) w nanokompozycie nie ma odzwierciedlenia w aktywności fotokatalitycznej tego fotokatalizatora aktywowanego promieniowaniem ultrafioletowym. Może wynikać to z różnych czynników: nierównomiernej dyspersji wielościennych nanorurek węglowych, czy ułożenia międzywęzłowego atomów bizmutu w siatce krystalicznej.

Otrzymane wyniki wskazują również, na podwyższenie zdolności adsorpcyjnych fotokatalizatora MWCNTs/TiO₂-Bi ze względu na zmianę charakteru powierzchni nowego materiału.

Przekłada się to na lepszą skuteczność usuwania leku o wyższej wartości współczynnika $K_{o/w}$ czyli IMA niż CF.

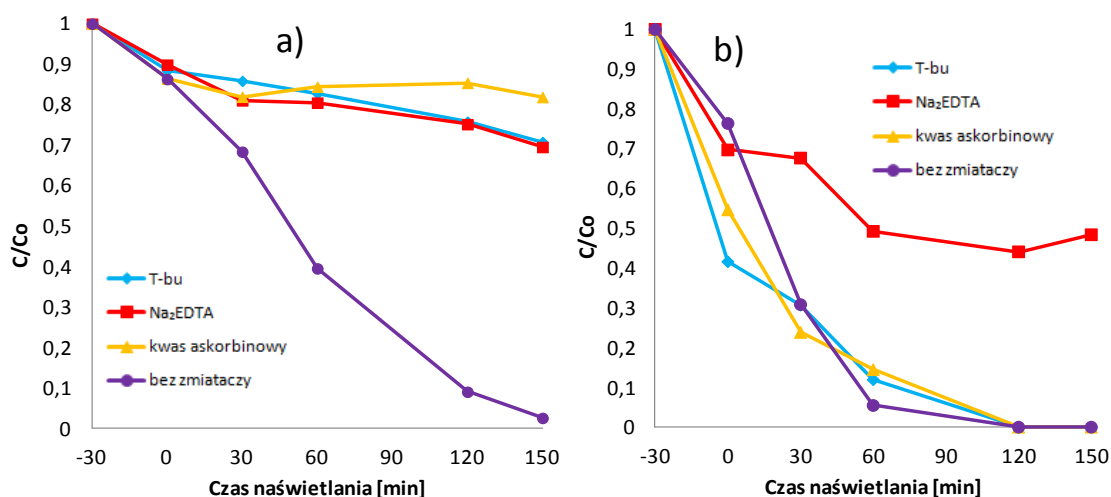
Identyfikacja drogi rozkładu leków cytostatycznych

Podczas wzbudzenia półprzewodnika fotonami w paśmie walencyjnym powstają luki (h^+) mogące utleniać wodę do rodników hydroksylowych ($\bullet OH$), lub bezpośrednio brać udział w utlenianiu materii organicznej. Natomiast wzbudzone elektrony przechodzą do pasma przewodzenia i zdolne są do redukcji tlenu rozpuszczonego w wodzie do anionorodnika ponadtlenkowego. Potencjał utleniający rodników i luk elektronowych przedstawiono w tabeli 3 [8].

Tabela 3. Indywidua biorące udział w procesie utleniania wybranych cytostatyków

Rodzaj indywidua	Standardowy potencjał redox [V]	pH	Rola w procesie
$\bullet OH$	2,27	7	Silny utleniacz
$O_2^{\bullet -}$	-0,33	pH > 4,8	Słaby reduktor
h^+	2,53	7	Silny utleniacz

W celu poznania utleniaczy biorących udział w rozkładzie leków cytostatycznych w wyniku fotokatalizy, przeprowadzono badania szybkości reakcji w obecności zmiataczy: *tert*-butanolu – zmiatacza rodników hydroksylowych, EDTA reagującego z lukami elektronowymi i kwasu askorbinowego, wyłapującego anionorodniki ponadtlenkowe. Rysunek 10 przedstawia rozkład cyklofosfamidu (9a) i imatynibu (9b) z wyłapywaczami i w obecności 5% MWCNTs/3% Bi – TiO₂.



Rys. 10. Rozkład: a) cyklofosfamidu oraz b) imatynibu w obecności 5% MWCNTs/ 3% Bi – TiO₂

W przypadku fotokatalitycznego rozkładu cyklofosfamidu w obecności nanokompozytu, wszystkie analizowane wyłapywacze luk elektronowych i rodników zahamowały reakcję utleniania leku. W reakcji z *tert*-butanolem, Na₂EDTA i kwasem askorbinowym otrzymano kolej-

no 82%, 70% i 69% hamowania reakcji rozkładu CF. Utlenianie cyklofosfamidę ze zmiataczami w obecności TiO_2 zahamowało reakcje w 40% po dodaniu *tert*-butanolu. Z kolei dodatek Na_2EDTA i kwasu askorbinowego spowodował znacznie wyższe zahamowanie rozkładu CF (74%, 75%). Rezultaty badań wskazują, że efektywne utlenianie cyklofosfamidę przebiega głównie z rodnikami hydroksylowymi, które są fotogenerowane w wyniku utleniania wody w reakcji z lukami elektronowymi oraz anionorodnikami tlenkowymi, które mogą być również źródłem rodników hydroksylowych. Mniejsze hamowanie utleniania CF (40%) w obecności TiO_2 niż nanokompozytu (82%) może sugerować wyższe stężenie rodników hydroksylowych fotogenerowanych na niemodyfikowanym TiO_2 .

Natomiast w przypadku imatynibu wprowadzenie do układu reakcyjnego wylapywaczy takich jak *tert*-butanol i kwas askorbinowy nie spowodowało istotnego zahamowania reakcji rozkładu leku. IMA został usunięty w 100% już po 120 minutach naświetlania. Podobne wyniki otrzymano, gdy używano jako fotokataliza TiO_2 . Można więc stwierdzić, iż $\text{O}_2^{\cdot-}$ oraz $\cdot\text{OH}$ nie są głównymi reagentami w utlenianiu tego związku. Natomiast wprowadzenie Na_2EDTA znacząco zahamowało reakcje i po 150 min procesu rozkład IMA, w obecności TiO_2 i nanokompozytu, był niższy odpowiednio o 34% i 46%. Wynik ten również sugeruje nieco mniejszą aktywność w fotogenerowaniu luk elektronowych nanokompozytu.

WNIOSKI

Fotokataliza w zakresie promieniowania UVA z wykorzystaniem nanokompozytu MWCNTs/Bi- TiO_2 w porównaniu z aktywnością czystego TiO_2 jest procesem o niższej efektywności usuwania z fazy wodnej CF oraz porównywalnej aktywności w eliminowaniu IMA. Mimo wprowadzenia MWCNTs i zwiększenia adsorpcji imatynibu na powierzchni nanokompozytu nie zaobserwowano wzrostu efektywności usuwania tego leku. Modyfikacja atomami Bi i MWCNTs katalizatora TiO_2 spowodowała inhibicję rekombinacji nośników ładunków. W świetle otrzymanych wyników obserwowane zjawisko jest najprawdopodobniej wynikiem powstawania mniejszej ilości form aktywnych aniżeli ich lepszej separacji. Aktywność otrzymanego fotokatalizatora zależy od mechanizmu rozkładu danego leku cytostatycznego. CF był głównie utleniany przez rodniki $\cdot\text{OH}$, które po modyfikacji TiO_2 atomami Bi i MWCNTs były prawdopodobnie generowane w mniejszej ilości, co miało odzwierciedlenie w efektywności utleniania tego leku. Z kolei IMA był utleniany bezpośrednio w reakcji z lukami elektronowymi, których aktywność była porównywalna w modyfikowanym, jak i niemodyfikowanym TiO_2 . Niestety zaproponowane nanokompozyty w świetle UV nie wykazują oczekiwanego wzrostu efektywności usuwania leków cytostatycznych.

Dalsze badania powinny dotyczyć oceny efektywności utleniania oraz poznania drogi rozkładu leków cytostatycznych w obecności nanokompozytu aktywowanego światłem widzialnym, gdzie rola atomów Bi i MWCNTs może być bardziej znacząca. Ponadto przeprowadzone badania mogą pomóc w wyjaśnieniu roli atomów Bi oraz MWCNTs w otrzymanym nanokompozycie podczas jego aktywowania światłem słonecznym.

LITERATURA

- [1] Zwiener C., Glauner T., Frimmel F.H. Biodegradation of Pharmaceutical Residues Investigated by SPE-GC/ITD-MS and On-Line Derivatization J. Sep Sci. 23 (2000), 474–478.
- [2] Ahmad T., Rasool S., Sarwar M., Haq A., Hasan Z. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. Anim. Feed Sci. Technol. 83 (2000), 103–114.
- [3] strona domowa Agencji Żywności i Leków, FDA (ang. *Food and Drug Administration*).
- [4] Abdel-Hafez S.M.N., Rifaai R.A., Abdelzaher W.Y. Possible protective effect of royal jelly against cyclophamide induced prostatic damage in male albino rats: a biochemical, histological and immuno-histo-chemical study. Biomed. Pharmacother. 90 (2017), 15–23.
- [5] Karta charakterystyki cyklofosfamidu firmy Baxter.
- [6] Sacha T. Historia leczenia przewlekłej białaczki szpikowej. Hematologia. T. 2 Supl. B. 1–7 (2011), Via Medica.
- [7] Stowe R.W. Comparing Traditional UV Systems with UV-LED Systems for UV Curing, Heraeus Noblelight America LLC.
- [8] Grassian V.H. The Organic Chemistry of TiO₂ Photocatalysis of Aromatic Hydrocarbon (2005), 35.
- [9] Bagwasi S., Tian B., Zhang J., Nasir M. Synthesis, characterization and application of bismuth and boron co-doped TiO₂: A visible light active photocatalyst. Chem. Eng. J. 217 (2013), 108–118.
- [10] Leary R., Westwood A. Carbonaceous nanomaterials for the enhancement of TiO₂ photocatalysis. Carbon 49 (2011), 741–772.
- [11] Lv K., Zuo H., Sun J., Deng K., Liu S., Li X., Wang D. (Bi, C and N) codoped TiO₂ nanoparticles. J. Hazard Mater. 161 (2009), 396–401.
- [12] Tarigh G.D., Shemirani F., Maz'hari N.S. Fabrication of a reusable magnetic multi-walled carbon nanotube–TiO₂ nanocomposite by electrostatic adsorption: enhanced photodegradation of malachite green. RSC Adv. 5 (2015), 35070–35080.

