

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ  
ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

Јелена М. Гороња

**КАРАКТЕРИЗАЦИЈА СИСТЕМА ХИБРИДНЕ  
МИЦЕЛАРНЕ ТЕЧНЕ ХРОМАТОГРАФИЈЕ СА  
КАТЈОНСКИМ СУРФАКТАНТОМ ЦЕТИЛ  
ТРИМЕТИЛ АМОНИЈУМ БРОМИДОМ**

докторска дисертација

Београд, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Jelena M. Goronja

**CHARACTERIZATION OF HYBRID MICELLAR  
CHROMATOGRAPHY SYSTEM WITH CATIONIC  
SURFACTANT CETYLTRIMETHYL AMMONIUM  
BROMIDE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021

Ментор

---

др Анђелија Маленовић, редовни професор  
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет,  
Катедра за аналитику лекова

Чланови комисије

---

др Мира Зечевић, редовни професор  
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет,  
Катедра за аналитику лекова

---

др Наташа Пејић, редовни професор  
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет,  
Катедра за физичку хемију и инструменталне методе

---

др Александра Јаношевић Лежаић, ванредни професор  
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет,  
Катедра за физичку хемију и инструменталне методе

---

др Даница Бајук-Богдановић, виши научни сарадник  
Универзитет у Београду – Факултет за физичку хемију

Датум одбране

Београд, \_\_\_\_\_

*У сјећање на најдивнијег тату Манојла, а на понос најдивнијој мами Нади.*

*Дугујем им вјечну захвалност.*

# КАРАКТЕРИЗАЦИЈА СИСТЕМА ХИБРИДНЕ МИЦЕЛАРНЕ ТЕЧНЕ ХРОМАТОГРАФИЈЕ СА КАТЈОНСКИМ СУРФАКТАНТОМ ЦЕТИЛ ТРИМЕТИЛ АМОНИЈУМ БРОМИДОМ

## САЖЕТАК

Примјена раствора сурфактанта, као мобилне фазе, у концентрацији већој од критичне мицеларне концентрације (КМК) у смјеси воде и органског растварача, омогућила је настанак хибридне мицеларне течне хроматографије (*HMLC*). У систему *HMLC* сурфактант се адсорбује на стационарну фазу, а у мобилној фази егзистира у облику мономера и мицела тако да се у овом хроматографском систему аналит расподјељује између водене фазе, мицеларне псеудофазе и сурфактантом модификоване стационарне фазе, што предвиђање ретенционог понашања аналита чини веома комплексним. Примјена мицеларних раствора катјонских сурфактаната као мобилних фаза интересантна је за изучавање јер се, за разлику од анијонског сурфактанта, мономери катјонског сурфактанта адсорбују на стационарну фазу двојачко: тако да им је хидрофилни дио молекула оријентисан ка мобилној фази, али и тако да им је хидрофобни дио молекула оријентисан ка мобилној фази, што додатно усложњава систем *HMLC*. Поред тога, цетилтриметиламонијум бромид (*CTAB*) ријетко је примјењиван у *HMLC* системима, тако да је процес мицелизације у мобилним фазама и утицај на ретенцију недовољно истражен.

Како је процес формирања мицела од кључног значаја за ретенционе механизме у систему *HMLC*, циљ ове докторске дисертације био је истраживање физичкохемијских аспеката мицелизације одабраног сурфактанта *CTAB*-а у води и у бинарним смјешама ацетонитрил-вода одређивањем параметара мицелизације (КМК, степена јонизације мицеле ( $\alpha$ ), Крафтове температуре ( $T_K$ ), термодинамичких параметара (промјене стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије мицелизације ( $\Delta S_m^0$ ), ентропијског доприноса Гибсовој слободној енергији ( $T\Delta S_m^0$ ), слободне енергије трансфера ( $\Delta G_T^0$ ) и компензацијске температуре ( $T_C$ )), агрегационог броја ( $N_{ag}$ ), структурних параметара мицеле (површине по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ) и параметра паковања ( $P$ )). Познавање КМК сурфактанта је од кључног значаја за примјену мицеларних раствора као мобилних фаза, а бројне математичке методе за одређивање КМК презентоване су до сада у научним истраживањима. Како би се изабрала најпогоднија математичка метода за прецизно одређивање КМК спроведена је

упоредна анализа вриједности КМК добијених различитим математичким методама из кондуктометријски добијених експерименталних података за *СТАВ* у води и у бинарној смјеси ацетонитрил-вода.

У првом дијелу истраживања одређена је КМК *СТАВ*-а у води на  $t = 25,0^{\circ}\text{C}$  и у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0^{\circ}\text{C}$  из кондуктометријски добијених експерименталних података примјеном различитих математичких метода: Вилијамсове (класичне) методе, методе диференцирања (методе првог извода и Филипсове методе – примијењена код одређивања КМК *СТАВ*-а у води) и методе интегралења (Карпенове методе). Показано је да нема значајне разлике између КМК добијених различитим математичким методама за *СТАВ* у води на  $t = 25,0^{\circ}\text{C}$ . Међутим, при одређивању КМК *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0^{\circ}\text{C}$ , запажена је значајна разлика између КМК добијених Вилијамсовом методом, методом првог извода и Карпеновом методом. Такође је уочено да је релативна стандардна грешка одређивања КМК *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0^{\circ}\text{C}$  најмања за КМК одређену Карпеновом методом у односу на КМК одређене Вилијамсовом и методом првог извода. Установљено је да се за одређивање КМК сурфактанта из кондуктометријски добијених података може примијенити било која од поменуте четири математичке методе уколико постоји значајна разлика између нагиба предмицеларног и постмицеларног дијела криве зависности специфичне проводљивости  $\kappa$  од концентрације сурфактанта  $cs$ , као што је случај воденог раствора *СТАВ*-а. Међутим, код мицеларног система *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода, код кога је разлика између нагиба предмицеларног и постмицеларног дијела криве  $\kappa$ - $cs$  мала, показано је да је Карпенова метода најпогоднија за прецизно одређивање КМК. Иако је Карпенова метода примјењивана за одређивање КМК у бројним научним истраживањима, није детаљно представљен поступак за одређивање КМК овом методом. У овој докторској дисертацији дефинисан је алгоритам елементарних корака за примјену Карпенове методе. Алгоритам је развијен на примјеру хибридног мицеларног система *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, *V/V*) на  $t = 30,0^{\circ}\text{C}$ , а верификован примјеном на три мицеларна система *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода: 10:90, 15:85 и 20:80, *V/V* на температури  $t = 18,0^{\circ}\text{C}$ .

У циљу постизања што потпуније карактеризације система *HMLC* са *СТАВ*-ом, одређени су бројни параметри мицелизације. Примјеном Карпенове методе одређена је КМК *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80, *V/V*) на различитим

температурама: 18,0°C (291,2 К), 22,0°C (295,2 К) и 25,0°C (298,2 К) из кондуктометријски добијених података, а одређен је и степен јонизације мицеле,  $\alpha$ . Уочено је да при константној температури, а са повећањем запреминског удјела ацетонитрила, расте КМК *CTAB*-а у испитиваним мицеларним системима. У испитиваном опсегу температуре, за *CTAB* у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V), при повећању температуре повећава се и КМК, док за смјеше ацетонитрил-вода 15:80, V/V и 20:80, V/V, КМК има минимум на  $T_m=295,2$  К. Разматрана је и промјена  $\alpha$  са промјеном запреминског удјела ацетонитрила, односно температуре. Уочено је да, при константној температури, с повећањем удјела ацетонитрила од 0 до 15% V/V, долази до наглог пораста  $\alpha$ , након чега, с даљим повећањем удјела ацетонитрила,  $\alpha$  опада. С друге стране, при константном удјелу ацетонитрила, а с порастом температуре долази до повећања  $\alpha$  у бинарној смјеси са удјелом ацетонитрила 10% V/V, док за бинарне смјеше са удјелом ацетонитрила 15% V/V и 20% V/V, овај тренд промјене је сложенији. Одређена је и Крафтова температура *CTAB*-а за испитиване мицеларне системе, те је запажено хистерезисно понашање. Такође су одређени агрегациони број ( $N_{ag}$ ) и структурни параметри мицеле: радијус мицеле ( $R_0$ ), површина по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ) и параметар паковања ( $P = v/a_0l_c$ ) *CTAB*-а у води на температури 298,2 К, и у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80, V/V) на температурама: 291,2 К, 295,2 К и 298,2 К. Уочено је да са повећањем запреминског удјела ацетонитрила у воденом раствору *CTAB*-а долази до смањења  $N_{ag}$ . На основу добијених вриједности структурних параметара мицеле закључено је да су мицеле *CTAB*-а у води, као и у испитиваним бинарним смјешама ацетонитрил-вода сферног облика. Утицај ацетонитрила на процес мицелизације *CTAB*-а разматран је и одређивањем термодинамичких параметара мицелизације: промјене стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије ( $\Delta S_m^0$ ), као и енталпијско-ентропијског компензационог ефекта. Уочено је да је процес мицелизације *CTAB*-а у води, као и у смјешама ацетонитрил-вода на свим температурама спонтан ( $\Delta G_m^0 < 0$ ) и егзотерман ( $\Delta H_m^0 < 0$ ), осим за *CTAB* у смјеси са удјелом 10% и 20% ацетонитрила на  $T=291,2$  К ( $\Delta H_m^0 > 0$ ), те да је мицелизација термодинамички најповољнија на  $T=295,2$  К.

Након карактеризације система *HMLC* са *CTAB*-ом, циљ је био испитати утицај карактеристика хибридног мицеларног система на ретенционо понашање одабраних модел супстанци киселих особина, али и испитати утицај структурних карактеристика одабраних анализа на ретенционо понашање у датом *HMLC* систему примјеном *QSPR*

(енг. *quantitative structure property relationship*) анализе. Испитивано је ретенционо понашање одабраних анализата – слабих киселина у *HMLC* са мобилним фазама: 10% ACN - 90% 20 mM *CTAB*, 20% ACN - 80% 20 mM *CTAB*, 10% ACN - 90% 40 mM *CTAB* и 20% ACN - 80% 40 mM *CTAB*, уз варирање *pH* у опсегу од 2,5 до 7,5 за сваку од наведених мобилних фаза. Анализати су сврстани у три групе према уоченом ретенционом понашању. Тако је за анализате из прве групе – монопротонске слабе киселине (ацетилсалицилна киселина, бензојева киселина и аскорбинска киселина) уочено да је доминантни фактор који утиче на ретенцију при  $pH < pK_a$  запремински удио ацетонитрила, те је најмања ретенција нејонизованог облика анализата запажена при примјени мобилних фаза са запреминским удјелом 20% ацетонитрила у односу на мобилне фазе са 10% ацетонитрила. Насупрот томе, при  $pH > pK_a$ , ретенција испитиваних монопротонских слабих киселина зависи од концентрације *CTAB*-а у мобилној фази; ретенција је мања при примјени мобилних фаза са концентрацијом *CTAB*-а 40 mM у воденом дијелу мобилне фазе у односу на мобилне фазе са 20 mM *CTAB*-ом у воденом дијелу мобилне фазе. Ретенционо понашање анализата из групе 2 (сулфацетамид, *p*-аминобензојева киселина, ампицилин и амоксицилин) било је изузетно тешко предвидјети, али је уочено да се ампицилин и амоксицилин понашају неретенционо при *pH* 2,5. Фуросемид и салицилна киселина, анализати из групе 3, специфични су по томе што је доминантан утицај концентрације *CTAB*-а на њихово ретенционо понашање очуван у цијелом испитиваном опсегу *pH*. За салицилну киселину и фуросемид карактеристично је и то да је добијена нижа вриједност ретенционог фактора јонизованог облика анализата у хибридном мицеларним системима са мањим запреминским удјелом ацетонитрила, што их издваја у односу на анализате из групе 1. Како би се квантификовали уочени обрасци ретенционог понашања, добијени ретенциони фактори фитовани су у модел ретенционог понашања који обухвата девет константи: *KAS* и *KHAS* - константе везивања јонизованог и нејонизованог облика за стационарну фазу, *KAM* и *KHAM* - константе везивања јонизованог и нејонизованог облика за мицелу, *KMD* и *KHMD* - мјере релативне промјене концентрације јонизованог и нејонизованог облика анализата у мицели у присуству корастварача у односу на чист мицеларни раствор, *KAD* и *KHAD* – мјере релативне промјене концентрације јонизованог и нејонизованог облика анализата у воденом дијелу мобилне фазе у присуству корастварача у односу на чист мицеларни раствор и *KH* – константу протоновања. Модел је развијен на примјеру ретенционог понашања супстанци базног карактера, те га је било неопходно прилагодити за примјену код супстанци киселог



карактера, што је учињено за сваки аналит искључивањем константи за које је утврђено да имају занемарљив утицај. Потом је испитан утицај структуре аналита на његово ретенционо понашање квантификавањем односа између молекулских дескриптора и константи *KAS*, *KHAS*, *KAM* и *KHAM*. Анализа молекулских дескриптора показала је да негативно наелектрисана површина молекула омогућава електростатичке интеракције и јонизованог и нејонизованог облика аналита с позитивно наелектрисаним молекулима *СТАВ*-а адсорбованим на стационарној фази, као и то да величина и геометрија аналита, те агрегациони број мицеле, утичу на ретенционо понашање аналита.

**Кључне ријечи:** цетилтриметиламонијум бромид (*СТАВ*), критична мицеларна концентрација (КМК), Карпенова метода, параметри мицелизације, хибридна мицеларна течна хроматографија (*HMLC*), моделовање ретенционог понашања, *QSPR* анализа

**Научна област:** Фармација

**Ужа научна област:** Аналитика лекова

# CHARACTERIZATION OF HYBRID MICELLAR CHROMATOGRAPHY SYSTEM WITH CATIONIC SURFACTANT CETYLTRIMETHYL AMMONIUM BROMIDE

## ABSTRACT

Hybrid micellar liquid chromatography (HMLC) emerged as a result of application of mobile phases consisting of surfactant solutions in mixture of water and organic solvent, with concentration higher than surfactant critical micelle concentration (CMC). In HMLC system, surfactant is adsorbed onto the stationary phase, while in mobile phase it exists in form of monomers and micelles, so in this chromatographic system, analyte is distributed between water, micellar pseudophase and surfactant-modified stationary phase, which makes retention behavior prediction very complex. Use of cationic surfactants micellar solutions as mobile phases is interesting to study because, unlike anionic surfactants, monomers of cationic surfactant adsorb onto stationary phase in two ways: with hydrophilic part of molecule oriented towards mobile phase, as well as with hydrophobic part of molecule oriented towards mobile phase, which makes HMLC system even more complex. Also, CTAB has been rarely employed in HMLC systems, and thus micellization process in mobile phases and effect to retention has not been investigated sufficiently.

Considering that micelles are key factor to retention mechanisms in HMLC system, the purpose of this doctoral dissertation was to investigate physicochemical aspects of micellization of chosen surfactant CTAB in water and in binary mixtures acetonitrile-water, by determining micellization parameters (CMC, micelle ionization degree ( $\alpha$ ), Krafft temperature ( $T_K$ ), thermodynamic parameters (changes of the standard Gibbs free energy ( $\Delta G_m^0$ ), enthalpy ( $\Delta H_m^0$ ) and entropy of micellization ( $\Delta S_m^0$ ), entropic contribution to the Gibbs free energy ( $T\Delta S_m^0$ ), free energy of transfer ( $\Delta G_T^0$ ) and compensation temperature ( $T_C$ ), micelle aggregation number ( $N_{agg}$ ), structural micelle parameters (surface area per head group ( $a_0$ ) and packing parameter ( $P$ )). Knowing CMC is of key importance for application of micellar solutions as mobile phases, and so far there have been numerous mathematical methods for CMC determination presented in scientific research. In order to make the best choice of mathematical method for precise CMC determination, comparative analysis was conducted for CMC values obtained by applying different mathematical methods to conductometry experimental data for CTAB in water and CTAB in binary mixture acetonitrile-water.

The first part of this investigation was dedicated to CMC determination of CTAB in water at  $t = 25.0^{\circ}\text{C}$  and in acetonitrile-water mixture (20:80, V/V) at  $t = 20.0^{\circ}\text{C}$  from conductometry experimental data, by applying different mathematical methods: Williams' (conventional) method, derivative methods (first derivative method and Phillips' method – applied to CMC determination of CTAB in water) and integration method (Carpena's method). In case of CTAB in water at  $t = 25.0^{\circ}\text{C}$ , it was shown there was no significant difference between CMC values obtained by different mathematical methods. However, in case of CMC determination of CTAB in acetonitrile-water mixture (20:80, V/V) at  $t = 20.0^{\circ}\text{C}$ , significant difference was observed between CMC values obtained by Williams' method, first derivative method and Carpena's method. Also it was observed that relative standard error of CMC determination of CTAB in acetonitrile-water mixture (20:80, V/V) at  $t = 20.0^{\circ}\text{C}$  was the lowest for CMC determined by Carpena's method, compared to CMC values obtained by Williams' and first derivative method. It was established that any of presented four mathematical methods could be applied to CMC determination if there was significant difference between slopes of premicellar and postmicellar part of curve presenting specific conductivity  $\kappa$  versus surfactant concentration  $c_s$ , likewise for CTAB aqueous solution. However, for micellar system of CTAB in acetonitrile-water mixture, that shows small difference between slopes of premicellar and postmicellar part of  $\kappa$ - $c_s$  curve, it was shown that Carpena's method was the most convenient one for precise CMC determination. Although Carpena's method was employed for CMC determination in many scientific researches, detailed process for CMC determination by this method has not been presented so far. In this doctoral dissertation, algorithm of basic steps to apply Carpena's method was presented. The algorithm was developed for hybrid micellar system of CTAB in mixture acetonitrile-water (10:90, V/V) at  $t = 30.0^{\circ}\text{C}$ , while it was verified for three micellar systems of CTAB in mixtures of acetonitrile-water: 10:90, 15:85 and 20:80, V/V at  $t = 18.0^{\circ}\text{C}$ .

In order to accomplish as complete characterization of CTAB HMLC system as possible, numerous micellization parameters were determined. CMC values were determined by applying Carpena's method to conductometry obtained data for CTAB in acetonitrile-water mixtures (10:90, 15:85 and 20:80, V/V) at various temperatures:  $18.0^{\circ}\text{C}$  (291.2 K),  $22.0^{\circ}\text{C}$  (295.2 K) and  $25.0^{\circ}\text{C}$  (298.2 K), and micelle ionization degree  $\alpha$  was determined as well. At constant temperature and with increasing acetonitrile volume fraction, it was noted that CMC was increasing for examined micellar systems. In investigated temperature range, for CTAB in acetonitrile-water mixture (10:90, V/V), CMC was increasing with temperature increase,

while for mixtures of acetonitrile-water 15:80, V/V and 20:80, V/V, CMC had minimum at  $T_m=295.2$  K. Change of  $\alpha$  with acetonitrile volume fraction change as well as with temperature change was also discussed. It was noted that at constant temperature,  $\alpha$  was abruptly increasing with increase of acetonitrile volume fraction from 0 to 15% V/V, while afterwards, with further increase of acetonitrile volume fraction,  $\alpha$  was decreasing. On the other hand, at constant acetonitrile volume fraction, and with temperature increase,  $\alpha$  was increasing as well in binary mixtures with acetonitrile fraction of 10% V/V, while for binary mixtures with acetonitrile volume fraction of 15% V/V and 20% V/V, change of  $\alpha$  was more complex. Krafft temperature was determined as well for CTAB in examined micellar systems, and hysteresis behavior was observed. Micelle aggregation number ( $N_{agg}$ ) and structural parameters of micelle were determined: micelle radius ( $R_0$ ), surface area per head group ( $a_0$ ) and packing parameter ( $P = v/a_0l_c$ ) for CTAB in water at temperature of 298.2 K, as well as in acetonitrile-water mixtures (10:90, 15:85 и 20:80, V/V) at temperatures: 291.2 K, 295.2 K and 298.2 K. It was observed that  $N_{agg}$  decreased with acetonitrile volume fraction increase in CTAB aqueous solution. Based on obtained values of structural parameters of micelle, it was established that CTAB micelles in water as well as in examined binary acetonitrile-water mixtures were of spheric shape. Acetonitrile impact to CTAB micellization process was discussed by determination of thermodynamic parameters of micellization: changes of the standard Gibbs free energy ( $\Delta G_m^0$ ), enthalpy ( $\Delta H_m^0$ ) and entropy ( $\Delta S_m^0$ ) as well as the enthalpy-entropy compensation effect. It was observed that CTAB micellization in water as well as in acetonitrile-water mixtures was spontaneous ( $\Delta G_m^0 < 0$ ) and exothermic ( $\Delta H_m^0 < 0$ ) process at all temperatures, except for CTAB in mixture with 10% and 20% acetonitrile at  $T=291.2$  ( $\Delta H_m^0 > 0$ ), and observation was made that micellization was thermodynamically most convenient at  $T=295.2$ .

After CTAB HMLC system characterization, the goal was to investigate hybrid micellar system impact to retention behavior of chosen model substances of weak acidic properties, as well as to examine impact of structural properties of chosen analytes to their retention behavior by employing QSPR (quantitative structure property relationship) analysis. Retention behavior of chosen analytes – weak acids was investigated in HMLC with mobile phases: 10% ACN - 90% 20 mM CTAB, 20% ACN - 80% 20 mM CTAB, 10% ACN - 90% 40 mM CTAB and 20% ACN - 80% 40 mM CTAB, by varying  $pH$  in range from 2.5 to 7.5 for each of listed mobile phases. Analytes were grouped to three groups based on noted retention behavior. Thus for analytes from the first group – monoprotic weak acids

(acetylsalicylic acid, benzoic acid and ascorbic acid), it was observed that main factor affecting retention at  $pH < pK_a$  was acetonitrile volume fraction, so the lowest retention of unionized analyte was obtained with mobile phases containing 20% acetonitrile compared to mobile phases with 10% acetonitrile. On the contrary, at  $pH > pK_a$ , retention of examined monoprotic weak acids depended on CTAB concentration in the mobile phase; retention was lower for mobile phases with 40 mM CTAB in aqueous part of mobile phase compared to mobile phase with 20 mM CTAB in aqueous part of mobile phase. Group 2 analytes (sulphacetamide, *p*-aminobenzoic acid, ampicillin, amoxicillin) retention behavior was extremely difficult to predict, but it was noted that ampicillin and amoxicillin show non-retention behavior at  $pH$  2.5. Furosemide and salicylic acid, analytes from group 3, were specific by preserving prevailing effect of CTAB concentration to their retention behavior throughout the whole examined  $pH$  range. Salicylic acid and furosemide were specific by showing lower retention factor value for their ionized form in hybrid micellar systems with lower acetonitrile volume fraction, which distinguished them from group 1 analytes. In order to quantify observed retention behavior patterns, obtained retention factors were fitted into retention behavior model containing nine constants:  $K_{AS}$  and  $K_{HAS}$  - stationary phase binding constants for ionized and unionized analyte species,  $K_{AM}$  and  $K_{HAM}$  - micelle binding constants for ionized and unionized analyte species, respectively,  $K_{MD}$  and  $K_{HMD}$  - measure the relative variation in the concentration of ionized and unionized analyte in micelle in the presence of modifier taking the pure micellar solution as reference,  $K_{AD}$  and  $K_{HAD}$  - measure the relative variation in the concentration of ionized and unionized analyte in bulk water in the presence of modifier taking the pure micellar solution as reference, and  $K_H$  is protonation constant. The model was developed for retention behavior of analytes with basic properties, so it was necessary to adjust it for analytes with acidic properties, which was done for each analyte by removing the constants for which it was established they had negligible impact. Then impact of analytes structure to its retention behavior was examined by quantifying relationship between molecule descriptors and constants  $K_{AS}$ ,  $K_{HAS}$ ,  $K_{AM}$  and  $K_{HAM}$ . Molecule descriptors analysis showed that negatively charged surface of molecule enabled electrostatic interactions of both ionized and unionized analyte species with positively charged CTAB molecules adsorbed to the stationary phase, as well as that analyte size and geometry, micelle aggregation number affect analyte retention behavior.

**Keywords:** cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), critical micelle concentration (CMC), Carpena's method, micellization parameters, hybrid micellar liquid chromatography (HMLC), retention behavior modeling, QSPR analysis

**Scientific field:** Pharmacy

**Special topic:** Drug analysis

# САДРЖАЈ

<b>1. ОПШТИ ДИО</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Хибридна мицеларна течна хроматографија – развој и основне карактеристике</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 <i>Развој хибридне мицеларне течне хроматографије</i> .....	1
1.1.2 <i>Својства система хибридне мицеларне течне хроматографије</i> .....	6
<b>1.2 Утицај различитих фактора на параметре мицелизације сурфактанта</b> .....	<b>10</b>
1.2.1 <i>Утицај органског растварача (корастварача) на процес мицелизације</i> .....	12
1.2.2 <i>Утицај структуре молекула сурфактанта на процес мицелизације</i> .....	14
1.2.3 <i>Утицај соли (електролита) на процес мицелизације</i> .....	15
1.2.4 <i>Утицај притиска на процес мицелизације</i> .....	15
1.2.5 <i>Утицај температуре на процес мицелизације</i> .....	15
1.2.6 <i>Крафтова температура (тачка) и тачка замућења</i> .....	16
1.2.6.1 <i>Крафтова температура (тачка)</i> .....	16
1.2.6.2 <i>Тачка замућења</i> .....	17
<b>1.3 Одређивање КМК</b> .....	<b>18</b>
1.3.1 <i>Кондуктометријско одређивање КМК јонских сурфактаната</i> .....	19
1.3.1.1 <i>Математичке методе за одређивање КМК из кондуктометријски добијених података</i> .....	21
1.3.2 <i>Одређивање КМК и агрегационог броја мицела примјеном молекулске флуоресцентне спектрометрије</i> .....	28
<b>1.4 Термодинамички параметри мицелизације</b> .....	<b>34</b>
<b>1.5 Моделовање ретенционог понашања анализата у системима <i>HMLC</i></b> .....	<b>35</b>
1.5.1 <i>Утицај рН и концентрације сурфактанта на ретенционо понашање анализата</i> .....	36
1.5.2 <i>Утицај рН, концентрације сурфактанта и корастварача на ретенционо понашање анализата</i> .....	38
1.5.3 <i>Утицај корастварача и сурфактанта на константу протоновања анализата</i> .....	40
<b>1.6 Анализа квантитативног односа између структуре и својства молекула (<i>QSPR</i>)</b> .....	<b>43</b>
<b>2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА</b> .....	<b>45</b>

<b>3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДИО</b> .....	<b>47</b>
<b>3.1 Апаратура, реагенси и математичко-софтверски системи</b> .....	47
<b>3.2 Активне фармацевтске супстанце</b> .....	49
<b>3.3 Кондуктометријско одређивање критичне мицеларне концентрације   цетилтриметиламонијум бромида у води и у смјешама воде и ацетонитрила</b> ...	49
3.3.1 Припрема раствора СТАВ-а .....	49
3.3.2 Експериментални услови и поступак за кондуктометријска мјерења – одређивање КМК .....	50
<b>3.4 Кондуктометријско одређивање Крафтове температуре   цетилтриметиламонијум бромида у смјешама воде и ацетонитрила</b> .....	51
3.4.1 Припрема раствора СТАВ-а .....	51
3.4.2 Експериментални услови и процедура за кондуктометријска мјерења – одређивање Крафтове температуре .....	52
<b>3.5. Одређивање критичне мицеларне концентрације цетилтриметиламонијум   бромида у води и у смјешама воде и ацетонитрила методом стационарне   флуоресцентне спектроскопије</b> .....	52
3.5.1 Припрема раствора СТАВ-а .....	52
3.5.2 Експериментални услови за мјерења методом стационарне флуоресцентне спектроскопије .....	54
<b>3.6 Одређивање агрегационог броја (<math>N_{ag}</math>) цетилтриметиламонијум бромида у   води и у смјешама воде и ацетонитрила</b> .....	54
3.6.1 Припрема раствора СТАВ-а .....	54
3.6.2 Експериментални услови за мјерења методом стационарне флуоресцентне спектроскопије (метода гашења флуоресценције) .....	56
<b>3.7 Испитивање ретенционог понашања анализата у мицеларном   хроматографском систему са цетилтриметиламонијум бромидом у смјешама   ацетонитрила и воде</b> .....	57
3.7.1 Припрема раствора анализата .....	57
3.7.2 Хроматографски услови .....	57
3.7.3 <i>In silico</i> анализа структурних карактеристика молекула које утичу на њихово хроматографско понашање .....	57
<b>4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА</b> .....	<b>59</b>
<b>4.1 Математичке методе за одређивање КМК СТАВ-а у води и у смјешама   ацетонитрил-вода из кондуктометријски добијених података</b> .....	59
4.1.1 Одређивање КМК СТАВ-а у води .....	59
4.1.2 Одређивање КМК СТАВ-а у смјешама ацетонитрил-вода (20:80, V/V) .....	63



<b>4.2 Одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода методом интегралнења (Карпенова метода) .....</b>	<b>67</b>
4.2.1 Карпенова метода – елементарни кораци .....	67
4.2.2 Поступак избора одговарајућег фита .....	71
4.2.3 Додатна разматрања .....	75
4.2.4 Верификација предложеног алгоритма .....	78
<b>4.3 Карактеризација мицеларног система СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода .....</b>	<b>89</b>
4.3.1 Одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода .....	90
4.3.2 Крафтова температура СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода .....	101
4.3.3 Структурне карактеристике мицеларног система са СТАВ-ом .....	104
4.3.4 Термодинамика процеса мицелизације СТАВ-а .....	108
<b>4.4 Фактори који утичу на ретенцију слабих киселина у хибридном мицеларном систему са СТАВ-ом-.....</b>	<b>117</b>
4.4.1 Моделовање ретенционог понашања .....	119
<b>5. ЗАКЉУЧАК .....</b>	<b>135</b>
<b>6. ЛИТЕРАТУРА .....</b>	<b>138</b>

## 1. ОПШТИ ДИО

### 1.1 Хибридна мицеларна течна хроматографија – развој и основне карактеристике

#### 1.1.1 Развој хибридне мицеларне течне хроматографије

Течна хроматографија под високим притиском (енг. *high-pressure liquid chromatography* – *HPLC*) једна је од најзаступљенијих аналитичких метода, која има примјену у раздвајању, идентификацији и квантификацији различитих хемијских једињења. Изузетно је цијењена због своје ефикасности и осјетљивости, а примјена *HPLC*, и то *HPLC* реверзних фаза (*Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography* – *RP-HPLC*), од нарочитог је значаја у фармацеутској анализи. Ипак, неки од најчешћих проблема у вези са примјеном *HPLC* методе у свакодневној аналитичкој пракси односе се на постизање добре селективности, тј. добијање оптималног фактора резолуције, добијање пикова адекватног облика (симетричног, Гаусовог), утицај врсте и удјела органског растварача на ретенционо понашање анализата, токсичност мобилне фазе итд. Како би се наведени проблеми превазишли, често се развијају нове, или модификују постојеће хроматографске методе, а једна од њих је мицеларна течна хроматографија (енг. *micellar liquid chromatography* – *MLC*), као и хибридна мицеларна течна хроматографија (енг. *hybrid micellar liquid chromatography* – *HMLC*), које представљају алтернативу *RP-HPLC* као најзаступљенијој хроматографској методи у фармацеутској анализи.

Испитивања својстава раствора сурфактаната и процеса мицелизације, тј. самоорганизације мономера сурфактаната и грађења мицела, довела су до примјене мицеларних раствора сурфактаната као мобилних фаза код *HPLC* у циљу побољшања ефикасности и селективности. То је довело до развоја *MLC*, а потом и *HMLC*. Код обје методе, користи се реверзно-фазна колона и мобилна фаза која садржи агрегате мономера сурфактаната (мицеле), тако да се у овом хроматографском систему аналит расподјељује између водене фазе, мицеларне псеудофазе и сурфактантом модификоване стационарне фазе [1, 2].

Развојни пут *HMLC* методе приказан је на слици 1: од јон-пар течне хроматографије (енг. *Ion Pair Chromatography* – *IPC*) преко *MLC*, па до *HMLC* каква је данас.

Заједнички именитељ наведеним методама јесте употреба раствора сурфактанта као мобилне фазе, а оно што их разликује јесте концентрација сурфактанта у мобилној фази.



Слика 1. Развој *HMLC*

$C_s$  – концентрација сурфактанта, КМК – критична мицеларна концентрација сурфактанта

Развој *MLC* и *HMLC* заснива се на примјени мицеларних система, тј. на специфичној (амфибилној) природи сурфактаната, захваљујући којој ова једињења имају способност да се, у зависности од концентрације сурфактанта, акумулирају на граничним површинама фаза, као и да формирају термодинамички стабилне агрегате већег броја молекула – мицеле. У растворима који садрже сурфактант у малој концентрацији, молекули сурфактанта у растварачу постоје као мономери, који се адсорбују на граничној површини/међуповршини система чиме смањују слободну површинску/међуповршинску енергију и тако, у знатној мјери мијењају површинске/међуповршинске особине граничних фаза. Међутим, при одређеној концентрацији сурфактанта (критична мицеларна концентрација, КМК), гранична/међугранична површина је у потпуности засићена мономерима сурфактанта, тако да у „унутрашњости“ раствора (*bulk*) долази до спонтаног груписања мономера у агрегате и образовања мицела. Критична мицеларна концентрација (КМК) је концентрација мономера сурфактанта која је неопходна за формирање мицела. С даљим

повећањем концентрације сурфактанта изнад КМК (тзв. постмицеларна област), сви мономери се инкорпорирају у мицеле, што значи да се концентрација мицела повећава, док се концентрација мономера сурфактанта не мијења, тј. остаје константна и једнака је КМК [3].

Својство акумулирања молекула (мономера) сурфактанта на граничним површинама фаза основа је за настанак *IPC*, док је способност спонтаног формирања агрегата мономера – мицела, искоришћена код *MLC*, а потом и *HMLC*.

Еволуирање јон-пар течне хроматографије у *MLC* било је подстакнуто добијањем нерепродуктивних резултата код употребе *IPC* методе. Наиме, како је у системима јон-пар течне хроматографије сурфактант присутан у концентрацији мањој од КМК ( $c_s < \text{КМК}$ ), долази до парцијалне адсорпције сурфактанта на стационарну фазу што отежава успостављање равнотеже у систему, тј. равнотежну расподјелу мономера сурфактанта у воденој фази и сурфактанта адсорбованог на стационарној фази. Такође, с временом долази до елуирања адсорбованог сурфактанта с колоне, што значајно мијења ретенционо понашање анализата. Осим тога, веома је важно да концентрација сурфактанта не буде већа од КМК, јер ће у том случају мобилна фаза имати доминантно мицеларна својства, што последично доводи до драстичне промјене ретенционог понашања анализата [1, 4]. За разлику од *IPC*, у систему *MLC* концентрација сурфактанта је већа од КМК ( $c_s > \text{КМК}$ ) тако да је могуће постићи засићење стационарне фазе мономерима сурфактанта, те на тај начин успоставити равнотежу у систему и обезбиједити задовољавајућу репродуктивност резултата. Тако, повећањем концентрације сурфактанта изнад КМК, долази до смањења ретенције анализата услед његове интеракције с мицелама, као и формирања јон-парова између анализата и мономера сурфактанта у мобилној фази. Мицеле су динамичне структуре, а њихово присуство повећава број интеракција у хроматографском систему, те се значајно мијења растворљивост анализата и његова расподјела између мобилне и стационарне фазе у односу на јон-пар течну хроматографију и конвенционалну хроматографију реверзних фаза [4].

Интересантан је податак да су мицеларни раствори сурфактанта, прије него што су нашли примјену у *HPLC* системима, први пут били примијењени у гел пропусној

хроматографији (енг. *gel permeation chromatography – GPC*). Наиме, Харис, Бишоп и Ричардс [5] су проучавали кинетику хемијских реакција између производа денатурације протеина и различитих агенаса у мицеларном раствору натријум додецил сулфата (енг. *sodium dodecyl sulphate – SDS*) са циљем да утврде да ли различита расподјела два реактанта између водене и мицеларне фазе утиче на брзину хемијске реакције. Како би израчунали коефицијент расподјеле испитиваних анализата између водене и мицеларне фазе у мицеларном раствору *SDS*-а, користили су *GPC* методу. У *GPC* систему мицеле се понашају неретенционо јер због своје величине не могу да се задрже у порама гел стационарне фазе, док мономери суфактанта показују ретенционо понашање. Сходно томе, испитивани анализати мале молекулске масе ће се у *GPC* систему са мицеларним раствором *SDS*-а понашати у зависности од коефицијента расподјеле између водене и мицеларне фазе, који се може израчунати из елуационе запремине анализата [2].

Научна сазнања до којих су дошли Харис, Бишоп и Ричардс [5] примијенили су Армстронг и Фендлер за одређивање мицеларног партиционог коефицијента транспортне рибонуклеинске киселине (tRNK) примјеном *GPC* методе [6], истичући ниску цијену и кратко вријеме анализе као предности ове методе. Потом је Армстронг са сарадницима проширио употребу мицеларних раствора сурфактаната на танкослојну хроматографију (енг. *thin layer chromatography – TLC*), испитујући мицеларне растворе *SDS*-а и цетилтриметиламонијум бромида (енг. *cetyltrimethylammonium bromide – CTAB*), као и реверзне мицеле<sup>1</sup> диоктилсулфосукцината у циклодекстрину [7, 8]. Наставио је своја истраживања испитујући примјену мицеларних раствора сурфактаната у *HPLC*. Развој и примјена *MLC* везује се за ране осамдесете године XX вијека када су Армстронг и Хенри испитивали примјену *MLC* у раздвајању фенола и полицикличних ароматичних угљоводоника (енг. *polynuclear aromatic hydrocarbons – PAH*) [10]. Након тога интересовање за ову сепарациону технику расте и она постаје све заступљенија у научном истраживању [11–15]. Међутим, *MLC*, у односу на конвенционалну *RP-HPLC* методу, има мању селективност и ефикасност, а мицеларна мобилна фаза код *MLC* и мању елуациону моћ [16]. Стога, у циљу повећања

---

<sup>1</sup> Реверзне мицеле су термодинамички стабилни агрегати сурфактанта, који настају удруживањем мономера сурфактанта у неводеној средини (различити органски растварачи), за разлику од регуларних (нормалних) мицела, које настају агрегацијом мономера у води. Поларне групе мономера сурфактанта сачињавају језгро мицеле, док су неполарни дијелови (угљоводонични ланци) оријентисани ка растварачу, тако да је оријентација мономера обрнута у односу на регуларну структуру мицела формираних у води [9].

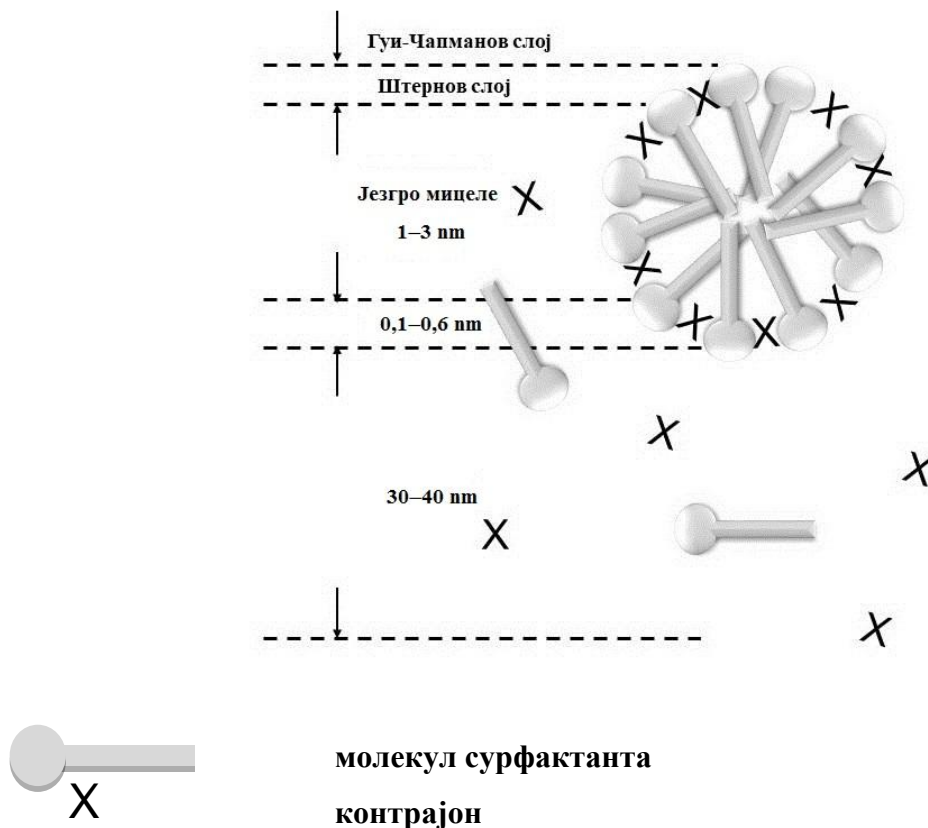
ефикасности *MLC*, предложена је модификација састава мобилне фазе додатком одређене количине органског растварача у мобилну фазу [17]. Тако је настала *HMLC*. Додатак органског растварача смањује поларност воденог раствора, мијења структуру мицела и количину адсорбованог сурфактанта на стационарној фази [18], што за посљедицу има краће вријеме анализе и побољшање селективности и облика хроматографског пика [4].

Иако се *MLC* и *HMLC* још увијек не примјењују у рутинској фармацеутској анализи, ипак имају предност у односу на *RPLC* у одређеним аспектима фармацеутске анализе. Код базних активних фармацеутских супстанци, на примјер, алкалоида, примјена *MLC* и *HMLC* у фармацеутској анализи смањује развлачење хроматографског пика (тзв. *tailing*) [19, 20]. Затим, *MLC* и *HMLC* користе се у фармацеутској анализи такозваних *OTC* (енг. *over the counter*) препарата за прехладу који често садрже велики број активних фармацеутских супстанци. Уколико би се препарати који садрже велики број активних фармацеутских супстанци, анализирали примјеном *RP-HPLC*, тада би било неопходно примијенити градијентно елуирање које није погодно за рутинску анализу због релативно мале репродуктивности и времена потребног за анализу [20]. Стога, умјесто примјене конвенционалне *RP-HPLC* градијентним елуирањем, успјешно се користе *MLC* и *HMLC* у фармацеутској анализи ових препарата. Такође, *MLC* и *HMLC* имају примјену у анализи липофилних активних фармацеутских супстанци какве су стероидна једињења, трициклични антидепресиви и флуорохинолони [21–25], као и код сепарације енантиомера [26–28]. Ипак, најинтересантнија је примјена *MLC* и *HMLC* у анализи активних фармацеутских супстанци и њихових метаболита у физиолошким течностима, јер се узорци физиолошких течности могу анализирати овим методама директним инјектовањем у хроматографски систем, без претходне припреме узорка [29]. Након инјектовања биолошког узорка у хроматографски систем *MLC* или *HMLC*, мицеле солубилизују протеине у матриксу узорка. Услед интеракције протеина са мицелама, ослобађа се лијек из комплекса лијек-протеин, те интерагује са стационарном фазом. Солубилизирани протеини елуирају се са фронтом растварача, док се лијек елуира у зависности од своје липофилности [20]. Неки од примјера примјене *MLC* или *HMLC* у анализи биолошких узорака директним инјектовањем у хроматографски систем су: одређивање кофеина, теофилина и теобромина у урину [30], одређивање никотина и котинина у урину [31] и одређивање теофилина у серуму [32].

### 1.1.2 Својства система хибридне мицеларне течне хроматографије

Код *HMLC*, присуство сурфактанта у концентрацији већој од КМК мијења хроматографски систем на више начина, а тим промјенама изложене су и стационарна и мобилна фаза.

Мобилна фаза у мицеларном хроматографском систему је макроскопски хомогена, али је микроскопски хетерогена услед присуства мицела; састоји се из агрегата сурфактанта (мицела) и водене фазе (*bulk*), која садржи мономере сурфактанта у концентрацији приближно једнакој КМК [1, 2]. Мицеле представљају псеудофазу [1, 2, 33] јер показују другачија хроматографска својства, односно другачије интерагују с анализитима у поређењу с *bulk* фазом. Слика 2 показује да мицеле у потпуности оправдавају назив псеудофаза, и то захваљујући комплексности своје структуре коју сачињавају: електрични дифузни двослој – Гуи-Чапманов слој, поларне главе сурфактанта – Штернов слој и хидрофобно језгро мицеле.



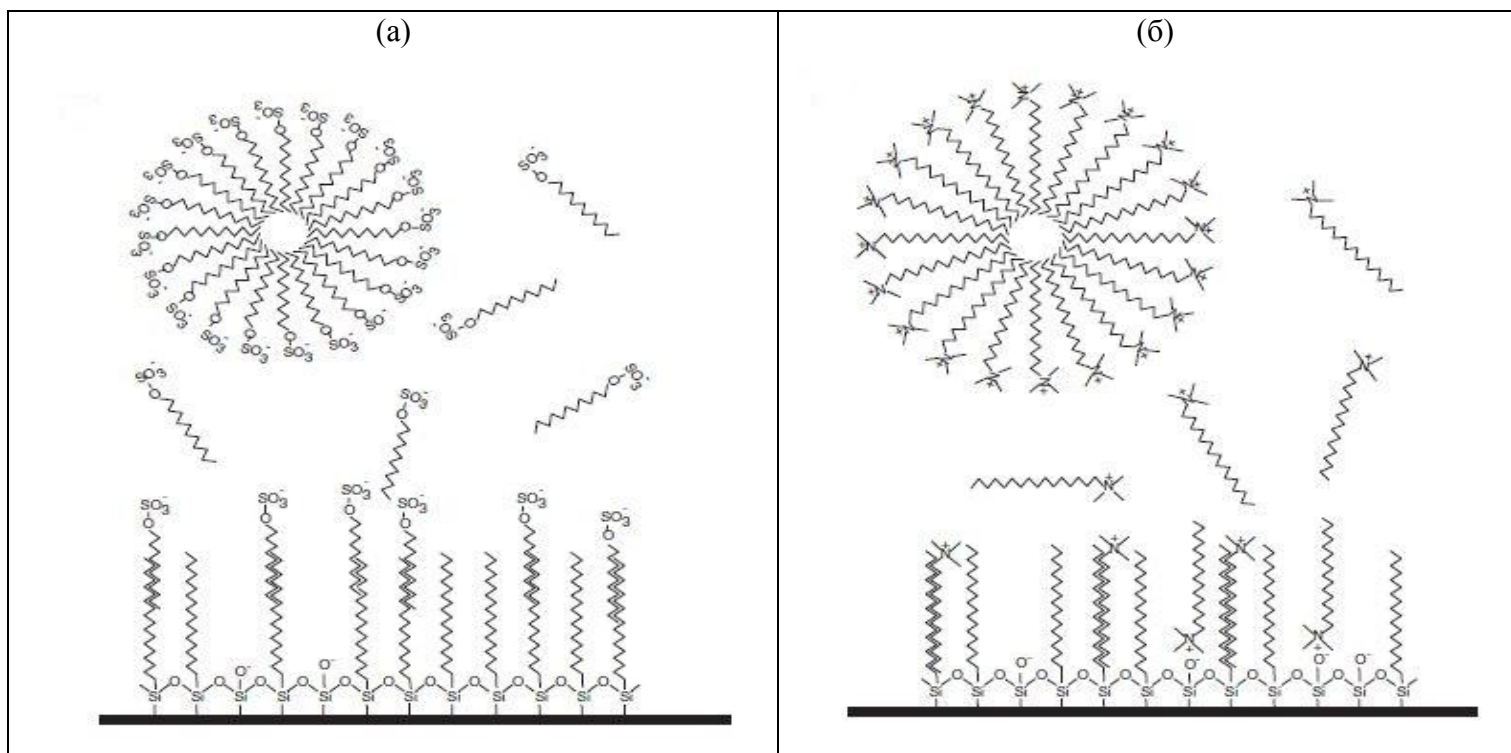
**Слика 2.** Структура мицеле јонског сурфактанта према Хартлију [34] (прилагођено из референце [2]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Taylor & Francis Group LLC – Books*)

У комплексној структури мицеле налазе се области различите поларности, што омогућава разноврсне интеракције мицеле са молекулом анализата. Тако, анализат се може инкорпорирати у језгро (унутрашњост) мицеле, што је својствено изразито неполарним анализатама, адсорбовати за Штернов слој (хидрофилна површина мицеле), уколико је наелектрисан/изразито поларан, или може бити лоциран у граничном слоју између хидрофилних поларних глава и језгра мицеле, а у зависности од поларности анализата и стерних фактора [4]. Такође, анализат може бити у *bulk* фази или интераговати с наелектрисаним главама или неполарним репом сурфактанта адсорбованог на површини стационарне фазе [2], те је јасно због чега употреба мицеларног раствора сурфактанта као мобилне фазе усложњава хроматографски систем и отежава предвиђање ретенционог понашања анализата.



Додатак органског растварача, те настанак хибридног мицеларног система, повећава број могућих интеракција анализата и компоненти мобилне фазе: органски растварач, осим што утиче на мицелизацију сурфактанта (поглавље 1.2.1), може бити солубилизован мицеларним раствором сурфактанта [2], а то може довести до додатних интеракција у систему. Због свега овога, опис и предвиђање ретенционог понашања анализираних једињења у датом *HMLC* систему није ни једноставно, нити једнозначно. Код *RP-HPLC* система нарочита пажња се посвећује одабиру стационарне фазе, и то су најчешће алкил групама модификоване силика стационарне фазе, као што су  $C_{18}$  и  $C_8$ . Међутим, код мицеларних хроматографских система, поред адекватно одабране стационарне фазе, веома је важан и избор сурфактанта. Присуство сурфактанта у значајној мјери мијења особине стационарне фазе, те отвара могућности за бројне и разноврсне интеракције с анализитима.

Мономери сурфактанта се адсорбују на стационарну фазу, тако модификујући њену поларност; смјер промјене поларности (порастан или смањење) зависи од начина везивања сурфактанта за стационарну фазу. На примјер, адсорпцијом *SDS*-а, односно *CTAB*-а на  $C_{18}$  стационарној фази, добија се модификована стационарна фаза, која је у случају *SDS*-а поларнија од стационарне фазе с адсорбованим *CTAB*-ом (слика 3) [4]. Наиме, *SDS* мономери оријентисани су тако да су поларне главе мономера окренуте ка мобилној фази, док се неполарни реп оријентише ка стационарној фази, тј. интерагује са алкил групама стационарне фазе. Са друге стране, мономери *CTAB*-а адсорбују се на стационарну фазу двојачко: интеракцијом неполарног репа мономера са алкил групама стационарне фазе, при чему је поларна глава мономера оријентисана ка мобилној фази, али и интеракцијом поларних глава мономера са слободним силанолним групама стационарне фазе, при чему је неполарни реп мономера оријентисан ка мобилној фази [35]. Захваљујући адсорпцији мономера сурфактанта на стационарну фазу повећава се број могућих интеракција између стационарне фазе и анализата. Такође, додатак органског растварача мијења стационарну фазу солубилизацијом мономера сурфактанта адсорбованих на стационарној фази, тј. десорпцијом мономера сурфактанта [18, 36], што указује на још већу комплексност хибридног мицеларног система у односу на мицеларни систем.



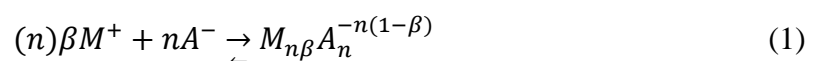
Слика 3. Шематски приказ адсорпције мономера *SDS* (а) и *CTAB*-а (б) на  $C_{18}$  силика стационарну фазу (преузето из референце [4]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *John Wiley & Sons*)

Одабир сурфактанта је од велике важности приликом креирања хибридног мицеларног хроматографског система. Сурфактанти који су погодни за ову методу требало би да имају мале КМК, као и мали агрегациони број (поглавље 1.2), а у случају јонских сурфактаната и ниске Крафтове температуре (поглавље 1.2.6). Осим тога, како се у *HPLC* системима најчешће користе *UV* детектори, неопходно је да одабрани сурфактант има малу вриједност моларне апсорптивности на радној таласној дужини [4]. У досадашњим истраживањима, најчешће је испитиван *SDS* [37], с обзиром на његову доступност и ниску цијену. Велики број у литератури доступних података о мицеларним и хибридним мицеларним системима са *SDS* као сурфактантом олакшава постављање хроматографских метода за конкретне анализе. С друге стране, у односу на *SDS*, *CTAB* је веома ријетко експлоатисан у области хроматографских мицеларних, као и хибридних мицеларних система, тако да су и мицеларна својства *CTAB*-а с физичкохемијског и хроматографског аспекта недовољно изучавана.

Када је у питању одабир корастварача, познато је да је ацетонитрил растварач избора за *RP-HPLC*, те да побољшава облик пика у *MLC* [38]. Упркос томе, значајно је већи број истраживања хибридних мицеларних система који садрже друге кораствараче, као што је на примјер 1-пропанол [39–43]. Хибридни мицеларни системи са *CTAB*-ом као сурфактантом и ацетонитрилом као корастварачем до сада нису детаљно испитивани, тако да је доступан веома мали број експерименталних резултата у вези са истраживањем овог хроматографског система [44–46].

## 1.2 Утицај различитих фактора на параметре мицелизације сурфактанта

Процес мицелизације теоријски може бити разматран кроз два модела: модел дејства маса [47–49] и модел псеудофаза, тј. раздвајања фаза [48]. Према моделу дејства маса, мицеларни раствор је хомоген систем, у којем је агрегација мономера сурфактанта описана реверзибилном реакцијом у којој су мицеле и мономери (или јони) сурфактанта у асоцијационо-дисоцијационој равнотежи [3]:



гдје су  $M^+$  и  $A^-$ , мономери сурфактанта, односно јони,  $M_{n\beta}A_n^{-n(1-\beta)}$  је мицела,  $n$  је агрегациони број мицеле, а  $\beta$  је удио контрајона адсорбованих на површину мицеле [47].

Код модела псеудофаза, претпоставка је да при концентрацији сурфактанта једнакој или већој од КМК, формиране мицеле образују нову фазу, због чега се сматра да су мицеларни раствори хетерогени системи који се састоје од двије фазе: једне, која садржи мономере сурфактанта у раствору и друге, која представља мицеле (мицеларна псеудофаза) [3].

Разматрањем ових модела одређују се параметри мицелизације: КМК, степен јонизације мицеле ( $\alpha$ ) и агрегациони број мицеле ( $N_{ag}$ ).

Познавање вриједности КМК сурфактанта који ће се користити код датог *HMLC* система је од изузетног значаја, јер у овим хроматографским системима, сурфактанти морају бити у концентрацији већој од КМК. Као што је претходно поменуто,  $KMK^2$  представља концентрацију (односно релативно узак опсег концентрације сурфактанта) при којој почиње формирање мицела. Додатак сурфактанта у концентрацији већој од КМК, не доводи до повећања броја мономера сурфактанта у *bulk* фази, већ сваки додати мономер учествује у формирању мицела, док концентрација слободних мономера остаје једнака КМК [3].

Када се сурфактанти као амфифилни молекули нађу у воденом раствору или у смјеси воде и органског растварача, могуће су разне интеракције – ван дер Валсове, стерне, хидрофобне и електростатичке (у случају јонских сурфактаната). За настанак мицела у води (или бинарној смјеси воде и органског растварача) одговорне су хидрофобне интеракције јер се молекули сурфактанта оријентишу тако да изолују неполарне дијелове молекула од контакта са поларним растварачем, тако формирајући језгро мицеле, док се поларни дијелови молекула сурфактанта оријентишу ка растварачу. Од значаја за формирање мицела је и постојање Штерновог слоја, јер је управо равнотежа између поменутог хидрофобног ефекта и електростатичких сила одбијања између истоимено наелектрисаних поларних глава, одговорна за очување интегритета мицеле [2]. Такође, поларне главе молекула сурфактанта у мицели формирају електрични дифузни слој, тзв. Гуи-Чапманов слој у коме се налазе јони супротног наелектрисуња у

---

2 Према IUPAC-у, КМК представља релативно мали опсег концентрације сурфактанта са доњом границом, која одговара концентрацији сурфактанта испод које нема мицела и горњом границом, која одговара концентрацији сурфактанта изнад које сваки додати молекул сурфактанта формира мицелу [3].

односу на наелектрисање поларних глава молекула сурфактанта. Ови јони називају се контрајони (енг. *counterions*); захваљујући њима, смањује се електростатичко одбијање између истоимено наелектрисаних поларних глава молекула сурфактанта, и тако повећава стабилност мицеле.

Број мономера сурфактанта који формирају мицелу представља агрегациони број мицеле ( $N_{ag}$ ). Овај параметар карактеристичан је за одређени сурфактант у одређеном растварачу. Јонски сурфактанти имају агрегационе бројеве у опсегу 10-170 [3].

Степен јонизације мицеле ( $\alpha$ ) представља фракцију контрајона дисосованих са површине мицеле [50, 51], и дефинисан је као  $(1-n/N_{ag})$ , гдје је  $n$  број контрајона адсорбованих на површини мицеле, а  $N_{ag}$  је агрегациони број мицеле [52]. У зависности од примијењене методе за одређивање  $\alpha$ , овај параметар може значајно варирати за један сурфактант [53].

Мицеле су динамичке структуре које настају као резултат веома деликатног баланса између различитих одбојних и привлачних сила тј. интеракција (хидрофобних, стерних и електростатичких). Стога је разумљиво да на процес мицелизације могу утицати бројни фактори као што су структура сурфактанта, додаток соли, додаток органског растварача, промјене температуре и притиска.

### 1.2.1 Утицај органског растварача (корастварача) на процес мицелизације

Додатак органског растварача одражава се на процес мицелизације сурфактанта, тј. на вриједност КМК, агрегационог броја ( $N_{ag}$ ) и степена јонизације мицела (поглавље 1.2), а такође и на вриједност термодинамичких параметара мицелизације: промјену стандардне Гибсове енергије ( $\Delta G_m^0$ ) мицелизације, промјену стандардне енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) мицелизације и промјену стандардне ентропије ( $\Delta S_m^0$ ) мицелизације, као и удио промјене стандардне ентропије у Гибсовој слободној енергији ( $T\Delta S_m^0$ ) (поглавље 1.4). Иако се под утицајем додатка органског растварача мијењају наведени параметри мицелизације, мобилна фаза задржава мицеларни карактер, а захваљујући присуству органског растварача ефикасност и селективност *HMLC*, као и елуациона моћ мобилне фазе приближавају се онима које одговарају *RP-HPLC*. Побољшање перформанси *MLC* додатком малих количина органског растварача објашњава се смањењем поларности

мобилне фазе, али и смањењем количине адсорбованих молекула сурфактанта на стационарној фази [1].

Свакако, не постоји јединствен принцип према коме се може одредити смјер промјене вриједности КМК у зависности од типа или количине додатог корастварача. У литератури се могу наћи бројни научни радови у вези са испитивањем утицаја додатка различитих корастварача на процес мицелизације у воденим растворима сурфактаната:

- додаток диметилформамида, етиленгликола или диоксана воденом мицеларном раствору пентаметилен-1,5-bis(тетрадецилдиметиламонијум бромида)(14-5-14) доводи до повећања КМК овог сурфактанта [54];
- додаток 1,2-етандиола и 1,2,3-пропантриола воденом мицеларном раствору *SDS*-а доводи до повећања КМК овог сурфактанта [55];
- додаток диметилсулфооксида, ацетонитрила и диметилформамида воденом мицеларном раствору цетилдиетилетаноламонијум бромида доводи до повећања КМК овог сурфактанта [56];
- додаток етанола или пропанола воденом мицеларном раствору *CTAB*-а доводи до повећања КМК [57–59], док додаток етанола, пропанола или метанола воденом мицеларном раствору *SDS*-а доводи до смањења КМК [57];
- додаток алкохола дугог ланца (пропанол, бутанол, пентанол, хексанол, октанол, деканол) воденом мицеларном раствору калијум додеканоата доводи до смањења КМК, а тај ефекат постаје све израженији са повећањем дужине угљоводоничног низа [60]; исти ефекат је уочен код додатка октанола и нонанола воденом мицеларном раствору *CTAB*-а [61].

Дакле, комбинације корастварача и водених мицеларних раствора сурфактаната су заиста бројне и веома различите. У литератури се могу наћи резултати истраживања процеса мицелизације у различитим хибридни мицеларним системима. Међутим, насупрот значајном броју истраживања мицелизације *CTAB*-а у смјеси различитих алкохола и воде, прегледом доступне научне литературе пронађен је мали број истраживања која се односе на мицелизацију *CTAB*-а у смјеси ацетонитрила и воде [62–64]. Резултати ових истраживања показују да додаток ацетонитрила воденом раствору *CTAB*-а отежава мицелизацију, те повећава КМК у испитиваним експерименталним условима, што се, поједностављено, може објаснити слабљењем хидрофобних интеракција и повећањем ентропије у систему, усљед нарушавања

"уређене" структуре коју молекули воде формирају око хидрофобних дијелова молекула сурфактанта.

### *1.2.2 Утицај структуре молекула сурфактанта на процес мицелизације*

Научна истраживања показала су да се КМК смањује с порастом дужине хидрофобног ланца мономера сурфактанта, а утицај броја С-атома на КМК више је изражен код нејонских него код јонских сурфактаната. На примјер, с повећањем дужине хидрофобног ланца сурфактанта за једну метиленску јединицу, КМК јонског сурфактанта смањује се два пута, док се КМК нејонског сурфактанта смањује три пута [2]. Такође, КМК нејонских сурфактаната је мања од КМК јонских сурфактаната истих дужина угљоводоничног ланца [65–67]. Како је претходно истакнуто, интегритет мицела одржава се захваљујући равнотежи између сила које фаворизују мицелизацију – хидрофобне интеракције између угљоводоничних ланаца, мономера сурфактанта (неполарни реп) и сила које отежавају мицелизацију – сила одбијања између хидрофилних дијелова мономера сурфактанта (поларна глава) у мицели [2]. Стога, с повећањем дужине хидрофобног дијела мономера сурфактанта интензивирају се ефекти који поспјешују мицелизацију, односно смањује се КМК. Такође, код нејонских сурфактаната не постоје електростатичке интеракције, тј. Кулонове силе одбијања између поларних глава сурфактанта, док се код јонских сурфактаната електростатичко одбијање супротставља агрегацији мономера, тако да су КМК нејонских сурфактаната мање од КМК јонских [3].

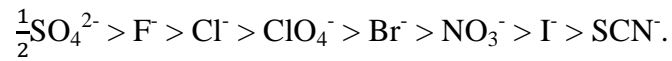
Поред дужине неполарног репа мономера сурфактанта, на КМК утичу и природа, као и положај поларне главе мономера сурфактанта. Тако, што је поларна група, за исту дужину угљоводоничног ланца, ближа крају репа мономера сурфактанта, то је и мања КМК. С друге стране, присуство двоструких веза у угљоводоничном ланцу повећава КМК [3].

### 1.2.3 Утицај соли (електролита) на процес мицелизације

Додатак соли (електролита) доводи до смањења КМК, како јонских тако и нејонских сурфактаната [68, 69], а јачина овог ефекта зависи од наелектрисања и полупречника хидратисаних јона електролита, пратећи Хофмајстеров (лиотропни) низ [69] за катјоне:



односно анјоне:



Наиме, по додатку соли, долази до смањења интензитета сила одбијања између поларних глава молекула сурфактанта захваљујући чему до изражаја долази хидрофобни ефекат. Овакав утицај соли на мицелизацију назива се ефекат исољавања [70] и више је изражен код јонских него код нејонских сурфактаната.

### 1.2.4 Утицај притиска на процес мицелизације

Екстремно високи притисци ( $2000 \text{ kg/cm}^2$ ) узрокују промјене КМК до 10%, те се може сматрати да притисак који се користи у течной хроматографији ( $40\text{--}200 \text{ kg/cm}^2$ ) нема утицаја на КМК [2].

### 1.2.5 Утицај температуре на процес мицелизације

Чињеница је да се не може дефинисати јединствено правило које би једнозначно описало утицај температуре на процес мицелизације одређене врсте сурфактанта, односно да је температурна зависност процеса мицелизације сложена. Уколико се испитује релативно широк опсег температуре, најчешће се с повећањем температуре у систему, КМК одређеног сурфактанта најприје смањује, а затим повећава [66], тј. зависност  $\text{КМК} = f(T)$  је крива са минимумом, а који износи око  $25^\circ\text{C}$  (јонски сурфактанти) и приближно  $50^\circ\text{C}$  (нејонски сурфактанти) [3].

Резултати неких испитивања утицаја температуре на процес мицелизације показују да пораст температуре доводи до повећања вриједности КМК [57, 71–75]. Овај феномен може се објаснити сљедећим разматрањем. Наиме, појединачни молекули воде су међусобно повезани јаким водоничним везама, а присуство других молекула може да ојача или да ослаби успостављене везе. Од нарочитог значаја је разматрање понашања хидрофобних молекула, око којих се молекули воде организују и формирају



"структуре" сличне кристалима тзв. *clathrates* [76]. Управо захваљујући томе јавља се такозвани хидрофобни ефекат, тј. уклањање хидрофобних дијелова мономера сурфактанта из воде, формирањем мицела. Пораст температуре изазива двоструке промјене у систему: с једне стране, смањује хидратацију поларних група, што фаворизује мицелизацију, док с друге стране, доводи до разрушавања "уређене структуре" воде успостављене у непосредној околини хидрофобних група сурфактанта, што отежава мицелизацију [77]. У зависности од релативног односа ова два ефекта, добијају се различите температурне зависности КМК. Ипак, с порастом температуре, најчешће преовлађује ефекат нарушавања "уређене структуре" воде и смањења хидрофобног ефекта, што отежава мицелизацију и повећава КМК [78–80]. Међутим, као што је поменуто, зависност КМК од температуре често одговара кривој облика латиничног слова *U* (енг. *U-shaped behaviour*), тј. кривој са минимумом, како код јонских, тако и код нејонских сурфактаната [81–85].

### 1.2.6. Крафтова температура (тачка) и точка замућења

#### 1.2.6.1 Крафтова температура (тачка)

Осим што утиче на КМК, значајан је утицај температуре на растворљивост сурфактаната, а који се значајно разликује у зависности од врсте сурфактанта. Важна карактеристика јонских сурфактаната јесте Крафтова тачка (температура),  $T_K$  [66, 67, 86, 87], која представља најнижу температуру на којој сурфактанти почињу да формирају мицеле. На  $T_K$  растворљивост сурфактанта једнака је КМК (слика 4).

Крива растворљивости приказана на слици 4 заправо представља границу између области у којима егзистирају: мицеларна фаза у којој су сви мономерни сурфактанта растворени услед формирања мицела и фаза коју чине хидратисани мономерни нераствореног сурфактанта и растварач. Графички посматрано (слика 4), Крафтова тачка представља пресјек криве растворљивости мономера сурфактанта и криве зависности КМК од температуре. Када је температура нижа од Крафтове тачке, а концентрација сурфактанта већа од КМК, формирају се двослојне структуре које сачињавају хидратисани мономерни нераствореног сурфактанта. С друге стране, када је температура виша од Крафтове тачке и концентрација сурфактанта већа од КМК, формирају се мицеле (слика 4) [87].



**Слика 4.** Шематски приказ температурне зависности растворљивости јонског сурфактанта; КМК – критична мицеларна концентрација,  $T_K$  – Крафтова тачка (температура на којој је растворљивост сурфактанта једнака КМК) (прилагођено из референце [87]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Elsevier*)

Вриједност Крафтове температуре зависи од дужине хидрофобног ланца, као и од природе поларне групе молекула сурфактанта. На примјер, у хомологој серији јонских сурфактаната,  $T_K$  се повећава с повећањем дужине угљоводоничног низа сурфактанта [88].

Крафтова температура одређује се експериментално, најчешће мјерењем електричне проводљивости, или визуелним праћењем промјене замућења пресићених раствора сурфактаната. У практичном лабораторијском раду, јонске сурфактанте треба користити на температурама вишим од  $T_K$ .

#### 1.2.6.2 Тачка замућења

За разлику од јонских сурфактаната, нејонски сурфактанти немају Крафтову тачку. Међутим, нејонске сурфактанте карактерише тачка замућења (енг. *clouding point*). Тачка замућења представља карактеристичну температуру на којој долази до формирања великих агрегата, а који се издвајају као посебна фаза што доводи до замућења раствора услед преципитације сурфактанта. Наиме, загријавање нејонских

сурфактаната доводи до смањења солватације нејонских поларних група, усљед чега долази до дехидратације полиоксиетиленских ланаца који су основна структура већине нејонских сурфактаната, што има за последицу смањење растворљивости сурфактанта и настајање система који се састоји од двије фазе – бистре водене фазе која је засићена мицелама нејонског сурфактанта и замућене фазе у којој се налазе вода и већина мономера сурфактанта. Тачка замућења се повећава с повећањем дужине полиоксиетиленског низа сурфактанта [2].

Тачка замућења одређује се експериментално (нпр. турбидиметријски). Код практичне примјене, нејонски сурфактанти користе се на температурама мањим од тачке замућења.

Прегледом доступне литературе пронађено је неколико истраживања која се баве одређивањем Крафтове температуре *СТАВ*-а [89–92]. Такође, у оквирима доступне литературе нису пронађена истраживања која говоре Крафтовој температури *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрила и воде, а познавање ове температуре је од великог значаја за постављање хроматографске методе, имајући у виду да јонски сурфактанти нису растворљиви на температурама нижим од Крафтове температуре.

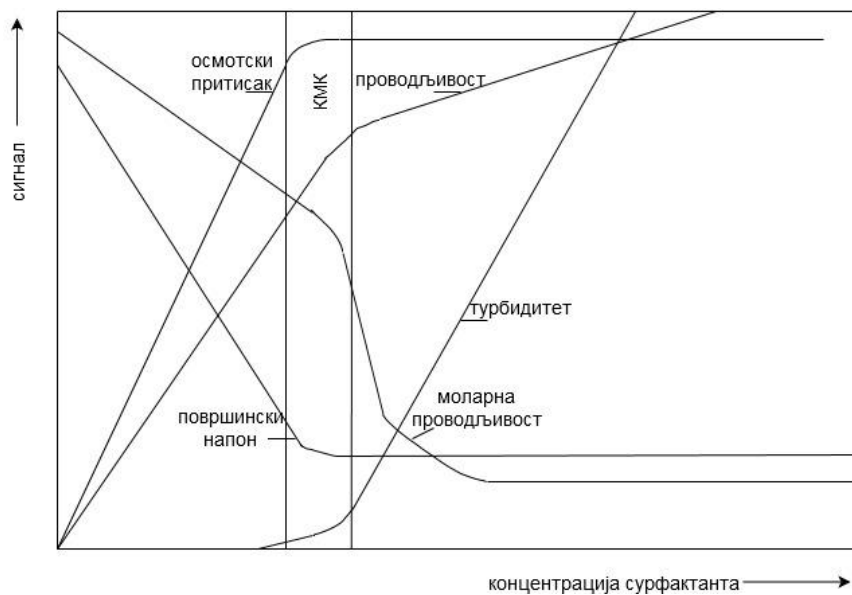
### 1.3 Одређивање КМК

Још откако је Мекбејн [93] уочио да са промјеном концентрације алкалне соли масне киселине долази до промјене осмотског притиска и ово понашање повезао са способношћу једињења да формира сопствене агрегате, у литератури се могу наћи бројне методе за експериментално одређивање КМК сурфактанта: кондуктометрија [94], спектрофлуориметрија [95], турбидиметрија [96], као и методе засноване на мјерењу површинског напона [97], густине [98], индекса рефракције [99].

Методе за одређивање КМК могу бити директне и индиректне (слика 5). Методе за директно одређивање КМК заснивају се на промјени одређеног физичкохемијског својства сурфактанта (површинског напона, индекса рефракције, електричне проводљивости итд.) са промјеном концентрације сурфактанта. Како се мономери сурфактанта и мицеле разликују по структури и особинама, у уском опсегу концентрације сурфактанта у којем се формирају мицеле, а која представља КМК, долази до нагле промјене одређеног физичкохемијског својстава сурфактанта [3]. Методе за индиректно одређивање КМК заснивају се на мјерењу промјене одређене

физичкохемијске величине (интензитет флуоресценције, гранична дифузиона струја, итд.) неког једињења присутног у испитиваном мицеларном систему са промјеном концентрације тог једињења [3].

Типичне КМК, на собној температури, су у опсегу  $10^{-3} - 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  (анјонски сурфактанти),  $10^{-3} - 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$  (катјонски и амфотерни сурфактанти) и  $10^{-5} - 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (нејонски сурфактанти) [101]. Многобројни су фактори који могу утицати на вриједности КМК (поглавље 1.2), а познавање ове најзначајније карактеристике сурфактанта, веома је важно с аспекта примјене мицеларних система како у фундаменталним истраживањима, тако и у примијењеној науци.



**Слика 5.** Одабране експерименталне методе за одређивање КМК (прилагођено из референце [100]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Taylor & Francis*)

### 1.3.1 Кондуктометријско одређивање КМК јонских сурфактаната

Код јонских сурфактаната, КМК се најчешће одређује кондуктометријски, мјерењем специфичне проводљивости раствора сурфактанта [75, 102, 103]. Ова метода се одликује једноставношћу и тачношћу, па су управо то најчешћи разлози због којих се примјењује.

Кондуктометријска метода за одређивање КМК заснива се на чињеници да постоји разлика у степену јонизације, а самим тим и у проводљивости раствора мономера сурфактанта (јак електролит) испод КМК, и мицела (слаб електролит и дјелимично

јонизована), изнад КМК [3]. Уз претпоставку да су у воденим растворима мономерни сурфактанта потпуно дисосовани и да слиједе Колраушов закон, специфична проводљивост,  $\kappa$  раствора сурфактанта испод КМК (када нема формираних мицела), потиче од јона сурфактанта и контрајона, те се према Колраушовом закону може изразити преко моларне јонске проводљивости сурфактанта,  $\lambda_S$  и моларне проводљивости контрајона,  $\lambda_C$ :

$$\kappa = (\lambda_S + \lambda_C)c_S = p_1 c_S \quad (2)$$

Зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације сурфактанта,  $c_S$  испод КМК (тзв. предмицеларна област), је линеарна; добијена права има нагиб  $p_1 (= \lambda_S + \lambda_C)$  (једначина 2).

Изнад КМК (тзв. постмицеларна област), у систему су присутне и мицеле, тако да проводљивост потиче не само од јона сурфактанта и контрајона ( $\lambda_S + \lambda_C$ ), него и од саме мицеле ( $\lambda_M$ ) и контрајона који нису везани за мицеле. Стога је специфична проводљивост дата једначином:

$$\kappa = (\lambda_S + \lambda_C) \text{ КМК} + \lambda_M [M] + (c_S - \text{КМК}) \alpha \lambda_C \quad (3)$$

гдје је  $\lambda_S$  моларна проводљивост јона сурфактанта при КМК,  $\lambda_C$  моларна проводљивост контрајона при КМК,  $\lambda_M$  моларна проводљивост мицела,  $\alpha$  – степен јонизације мицеле и  $(c_S - \text{КМК})$  концентрација контрајона који нису везани за мицеле.

Концентрација мицела  $[M]$  дата је једначином:

$$[M] = (c_S - \text{КМК})/N_{ag} \quad (4)$$

гдје је  $N_{ag}$  агрегациони број мицеле (поглавље 1.2).

Уколико се претпостави да је мицеларна проводљивост једнака моларној проводљивости свих наелектрисаних мономера сурфактанта који су инкорпорирани у мицеле, онда је мицеларна проводљивост,  $\lambda_M$  дата једначином:

$$\lambda_M = \lambda_S \times N_{ag} \times \alpha \quad (5)$$

Замјеном једначина (4) и (5) у једначину (3), добија се једначина:

$$\kappa = (\lambda_S + \lambda_C) \text{ КМК} (1 - \alpha) + (\lambda_S + \lambda_C) \alpha c_S = \kappa_0 + p_2 c_S \quad (6)$$

гдје је  $c_S$  концентрација сурфактанта изнад КМК,  $p_2 (= (\lambda_S + \lambda_C) \alpha)$  нагиб праве која представља зависност  $\kappa$  од  $c_S$  за концентрације сурфактанта изнад КМК (постмицеларна област) и  $\kappa_0 (= (\lambda_S + \lambda_C) \text{КМК} (1 - \alpha))$  одсјечак праве.

Степен јонизације мицеле,  $\alpha$  добија се из односа нагиба праве која одговара постмицеларном ( $p_2$ ) и нагиба праве која одговара предмицеларном ( $p_1$ ) дијелу криве  $\kappa = f(c_S)$ :

$$\alpha = \frac{p_2}{p_1} \quad (7)$$

Степен дисоцијације контрајона,  $\beta$  дат је једначином:

$$\beta = 1 - \alpha \quad (8)$$

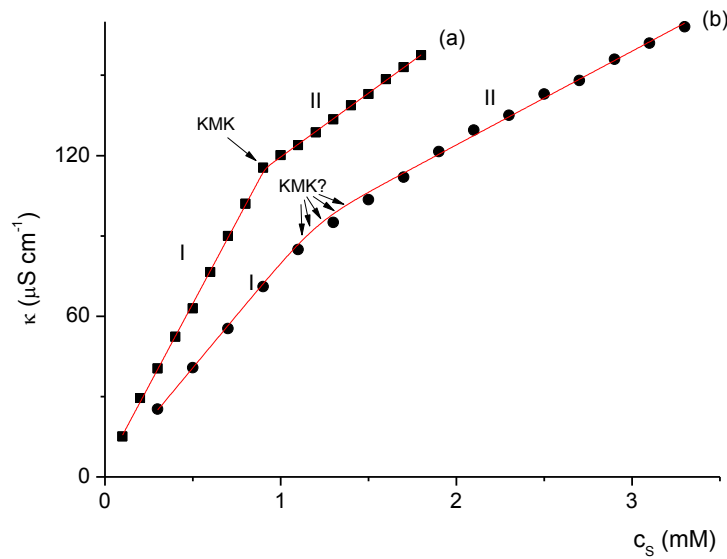
гдје  $\alpha$  означава степен јонизације мицеле.

КМК представља тачку пресјека правих добијених мјерењем проводљивости раствора сурфактанта чије су концентрације испод и изнад КМК [3]. Експериментално добијена зависност специфичне проводљивости раствора сурфактанта,  $\kappa$  од концентрације сурфактанта,  $c_S$  може се анализирати различитим математичким методама.

1.3.1.1 Математичке методе за одређивање КМК из кондуктометријски добијених података

Графички приказане зависности специфичне проводљивости раствора сурфактанта,  $\kappa$  од концентрације сурфактанта,  $c_S$  имају облик кривих приказаних на слици 6. Добијене криве  $\kappa = f(c_S)$  састоје се из различитих области, и то: предмицеларне (математички описана линеарном једначином 2), постмицеларне (математички описана линеарном једначином б) и области прелаза између ова два сегмента.

Као што се може видјети са слике 6, прелаз између поменутих линеарних сегмената – предмицеларне, I и постмицеларне, II области, може бити “оштар” (велика промјена у нагибу правих, које одговарају сегментима Ia и IIa) или “благ” (мала промјена у нагибу правих које одговарају сегментима Ib и IIb), а што најчешће зависи од врсте растварача/корастварача коришћеног у датом мицеларном систему.

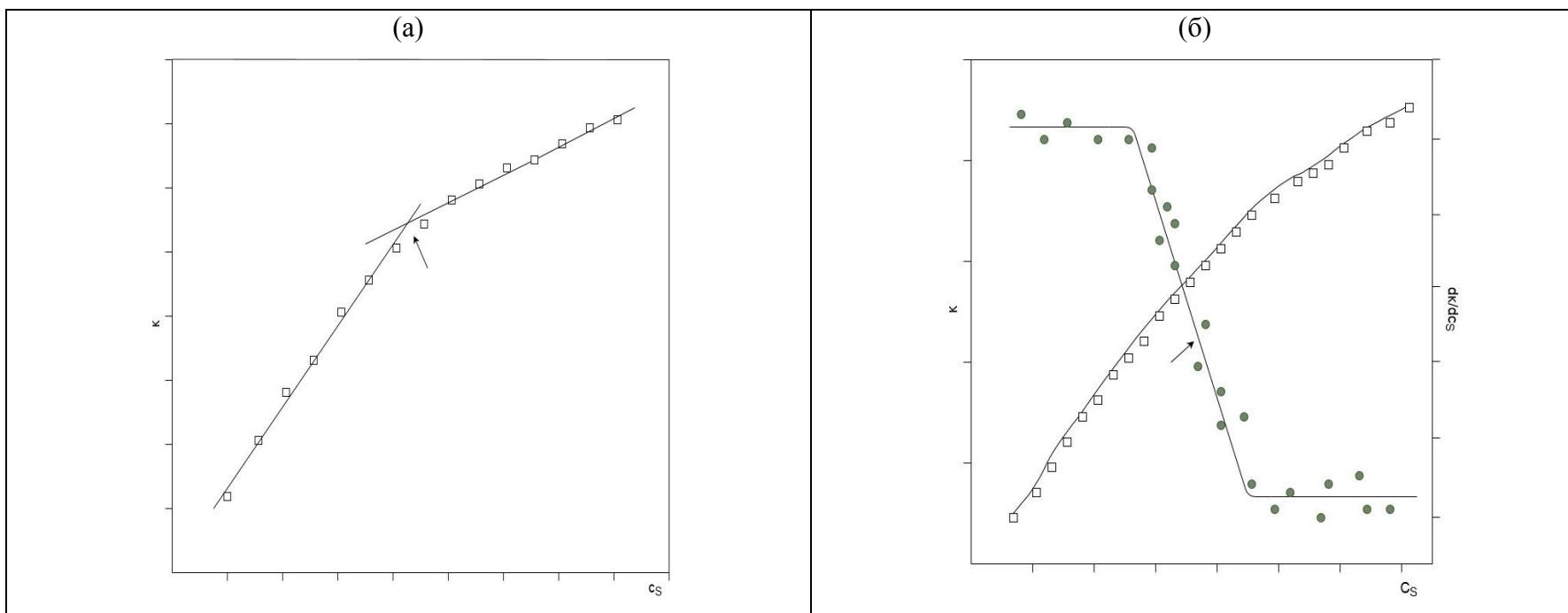


**Слика 6.** Зависност специфичне проводљивости ( $\kappa$ ) од концентрације сурфактанта ( $c_s$ ) за два мицеларна система: (а) водени раствор *CTAB*-а на  $t = 25^\circ\text{C}$  и (б) *CTAB* у бинарној смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 20^\circ\text{C}$ ; I – предмицеларна област, II – постмицеларна област

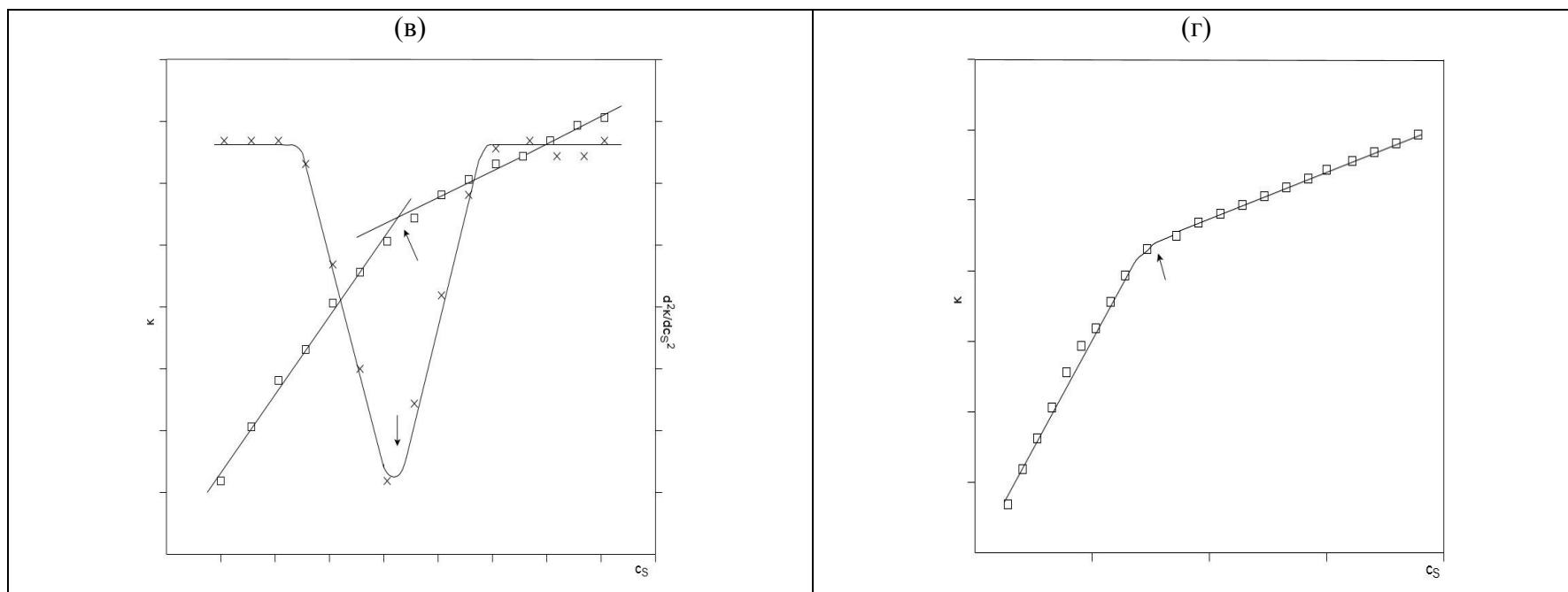
Уколико се на прелазу из предмицеларне области у постмицеларну област специфична проводљивост мијења нагло (крива (а) на слици б), тј. када је велика промјена у нагибу правих  $p_1$  и  $p_2$ , КМК се може одредити као тачка пресека правих које описују предмицеларни, односно постмицеларни сегмент [104, 105]. Међутим, иако је ово најједноставнија математичка метода (класична или Вилијамсова) за одређивање КМК, бројни су случајеви код којих се не може запазити јасан прелаз између предмицеларног и постмицеларног сегмента, и једнозначно одредити КМК (крива (б) на слици б). Такође, КМК не треба схватити као јединствену тачку којој одговара концентрација сурфактанта при којој тренутно настају мицеле. Напротив, мицеле почињу да се формирају у одређеном опсегу концентрације сурфактанта; тај опсег графички посматрано одговара прелазу између предмицеларног и постмицеларног сегмента, а КМК се одређује математички као сингуларна тачка. Стога, не чуди да се упоредо с развојем различитих експерименталних метода за одређивање КМК, повећавао и број математичких метода које се користе за прецизно одређивање КМК. Тако, поред класичне (Вилијамсове) методе, користе се и метода диференцирања (метода првог и метода другог извода) [73, 106], као и метода интегралања (Карпенова метода) [107]. У зависности од тога да ли се за разматрање процеса мицелизације користи модел дејства

маса или модел псеудофаза (поглавље 1.2), постоје различите математичке методе за одређивање КМК, односно и различите дефиниције КМК.





Наставак слике 7 на следећој страни.



**Слика 7.** Одређивања КМК примјеном различитих математичких метода: (а) Вилијамсовом методом, (б) методом првог извода, (в) методом другог извода и (г) Карпеновом методом; ознаке  $\square$ ,  $\bullet$  и  $\times$  означавају редом: експерименталне податке, први извод и други извод; КМК – критична мицеларна концентрација; стрелице означавају КМК; слике (а) и (в) прилагођене су из референце [108] (одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *American Chemical Society*), слика (б) је прилагођена из референце [109] са отвореним приступом, слика (г) прилагођена је из референце [107] (одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *American Chemical Society*)

*Вилијамсова (класична) метода.* Вилијамс и сарадници [104] предложили су математички најједноставнију методу за одређивање КМК, засновану на моделу псеудофаза (поглавље 1.2). Према овој методи, КМК се одређује из инфлексционе тачке функције  $\kappa = f(c_s)$ . Експериментални подаци добијени испод (предмицеларни сегмент) и изнад (постмицеларни сегмент) инфлексције фитују се методом најмањих квадрата у двије линеарне једначине (слика 7а); КМК, односно тачка пресека правих, добија се рјешавањем једначина ових правих по концентрацији сурфактанта, док количник нагиба правих добијених у постмицеларном и предмицеларном сегменту представља степен јонизације мицеле ( $\alpha$ ), једначина (7) [75, 110–112]. Прецизност одређивања КМК и  $\alpha$  Вилијамсовом методом зависи од ширине концентрационог интервала у коме се мијења мјерена физичкохемијска величина, као и од броја експерименталних тачака узетих за линеаризацију, тј. добијање регресионих једначина и нагиба, што је често веома субјективно.

*Метода првог извода.* Код ове математичке методе [73], КМК се израчунава из зависности првог извода специфичне проводљивости ( $dk/dc_s$ ) од концентрације сурфактанта ( $c_s$ ). Ова функционална зависност представља криву сигмоидног типа (слика 7б) и може се описати Болцмановом једначином:

$$\frac{dk}{dc_s} = A_2 + \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(c_s - c_0)/\Delta c}} \quad (9)$$

гдје  $A_1$  и  $A_2$  представљају асимптотске вредности функције при малим и великим вриједностима концентрације сурфактанта ( $c_s$ );  $c_0$  предстаља КМК, односно центар сигмоидне криве (централну тачку прелаза);  $\Delta c$  јесте ширина прелаза и директно је у вези са опсегом концентрације сурфактанта у којем долази до нагле промјене  $\kappa$ .

Код методе првог извода, степен јонизације мицеле,  $\alpha$  одређује се из количника  $A_2/A_1$ . Метода првог извода користи се за одређивање КМК када крива  $\kappa = f(c_s)$  показује благ прелаз између предмицеларног и постмицеларног сегмента, што је најчешће случај код јонских сурфактаната растворених у смјеси воде и органског растварача [113, 107] и у растворима јонских сурфактаната са малим агрегационим бројем [114].

*Метода другог извода – Филипсова метода.* Филипс је дефинисао КМК као укупну концентрацију сурфактанта ( $c_s$ ) која одговара максимуму промјене градијента зависности мјерене физичкохемијске величине од укупне концентрације сурфактанта,

односно други извод мјерене физичкохемијске величине по укупној концентрацији сурфактанта ( $c_S$ ) [106], која је дата једначином:

$$F'''(КМК) = \left( \frac{d^3F}{dc_S^3} \right)_{c_S=КМК} \quad (10)$$

Филипсова метода примјењује се у два облика: класични и облик који обухвата интегралне Рунге-Кута методом и методом најмањих квадрата (Левенберг-Маркарт).

Класични облик предложили су Гарсија-Матеос [115]. Према овом облику, други извод функције зависности физичкохемијске величине од концентрације сурфактанта описује Гаусова једначина:

$$F'' = \frac{d^2F}{dc_S^2} = -H \times e^{-\frac{(c_S-КМК)^2}{2\sigma^2}} \quad (11)$$

гдје је КМК центар Гаусове криве (слика 7в),  $H$  је амплитуда функције, а  $\sigma$  је ширина области прелаза око КМК. Одређивање КМК методом другог извода у класичном облику, састоји се од узастопног нумеричког интегралне једначине (11) Еулеровом методом у комбинацији са итеративном мрежном анализом како би се израчунали најбољи параметри за фитовање (КМК,  $H$  и  $\sigma$ ), након чега се експериментално добијени подаци фитују у Гаусову једначину [115]. Ова метода заснива се на моделу псеудофаза који најбоље описује чисте мицеларне системе са великим агрегационим бројем [116], али се успјешно примјењује и на одређивање КМК јонских сурфактаната у бинарним смјешама [115], као и на мицеларне системе са малим агрегационим бројем [117].

У случају одређивања КМК из кондуктометријом добијених података, једначина (10) има сљедећи облик:

$$\left( \frac{d^2\kappa}{dc_S^2} \right)_{c_S=0} = \left( \frac{d^2\kappa}{dc_S^2} \right)_{c_S=0} + \frac{A}{w\sqrt{\pi/2}} \exp\left( \frac{-2(c_S-КМК)^2}{w^2} \right) \quad (12)$$

гдје  $\left( \frac{d^2\kappa}{dc_S^2} \right)_{c_S=0}$  представља одступање од базне линије,  $A$  одговара укупној површини испод криве мјерено од базне линије, а  $w$  означава ширину пика на половини висине. Минимум инверзне Гаусове криве одговара тачки максималне варијације која се поклапа са КМК (слика 7в).

Класични облик методе другог извода за одређивање КМК модификовао је Перез-Родригез са сарадницима [108] тако што је примијенио Рунге-Кута методу за нумеричко интегралне Гаусове функције и Левенберг-Маркарт алгоритам за

фитовање методом најмањих квадрата (РК-ЛМ метода). Међутим, РК-ЛМ метода има ограничену примјену због тога што захтијева одређене вјештине у програмирању и познавање техника рачунања [116, 118].

*Метода интеграљења – Карпенова метода* [107] заснива се на директном фитовању експериментално добијених података  $\kappa = f(c_s)$ . Под претпоставком да зависност првог извода специфичне проводљивости од концентрације сурфактанта, тј. функција  $d\kappa/dc_s$  има сигмоидни облик Болцмановог типа (једначина 9), тада ће зависност специфичне проводљивости од концентрације сурфактанта одговарати интегралу сигмоидне криве (слика 7г), а директним интеграљењем израза (9), добија се једначина:

$$\kappa = \kappa(0) + p_1 c_s + (p_2 - p_1) \Delta c \ln \left( \frac{1 + e^{(c_s - c_0)/\Delta c}}{1 + e^{-c_0/\Delta c}} \right) \quad (13)$$

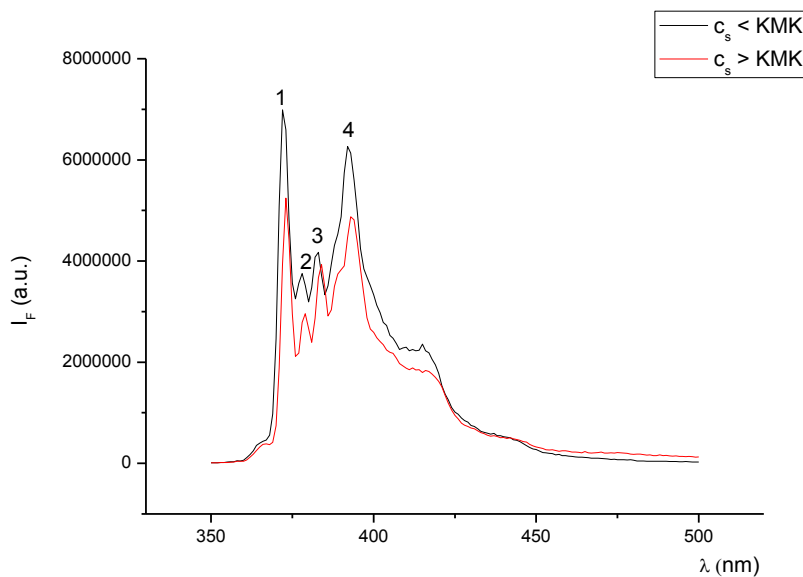
гдје  $\kappa(0)$  представља специфичну проводљивост раствора када је концентрација сурфактанта ( $c_s$ ) једнака нули,  $p_1$  и  $p_2$  су нагиби предмицеларног и постмицеларног сегмента криве,  $c_0$  представља централну тачку сигмоидне криве, односно централну тачку области прелаза између предмицеларног и постмицеларног сегмента, и одговара вриједности КМК, док  $\Delta c$  представља ширину прелаза, тј. опсег концентрација сурфактанта у којем долази до промјене  $\kappa$  у близини КМК.

Иако су бројни примјери примјене Карпенове методе на одређивање КМК презентовани у литератури, не може се рећи да су приказани и појашњени појединачни кораци које је потребно предузети приликом одређивања КМК овом методом за било који мицеларни, односно хибридни мицеларни систем са јонским сурфактантом. Свакако, систематичан и детаљан опис поступка омогућио би једноставнију и ширу примјену Карпенове методе у анализи експериментално добијених података за различите мицеларне, односно хибридне мицеларне системе с јонским сурфактантом.

### *1.3.2 Одређивање КМК и агрегационог броја мицела примјеном молекулске флуоресцентне спектрометрије*

Одређивање КМК сурфактаната флуоресцентном спектрометријом заснива се на зависности интензитета флуоресценције вибрационих трака пирена од поларности растварача, тј. од концентрације сурфактанта и присуства мицела у раствору [119, 120]. Ова метода је врло значајна за одређивање КМК нејонских и цвтерјонских сурфактаната, код којих се не може примијенити кондуктометријска метода.

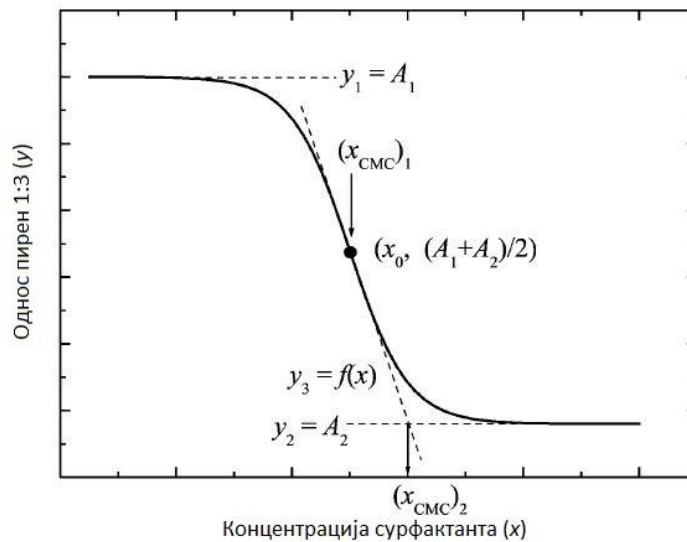
Специфичне карактеристике пирена: фина структура флуоресцентног емисионог спектра, дуго вријеме живота побуђеног стања, велики квантни принос флуоресценције, способност грађења ексцимера<sup>3</sup> и велика осјетљивост флуоресцентног спектра пирена на микроокружење, чине га атрактивним за коришћење као флуорофоре [3]. На слици 8 приказан је флуоресцентни емисиони спектар разблаженог раствора пирена, концентрације 1  $\mu\text{M}$ , у растворима *СТАВ*-а у бинарној смјеси ацетонитрил-вода, 10:90, *V/V*, чије су концентрације веће и мање од КМК. Фина структура спектра, која показује четири вибрационе траке (од 1 до 4) [121], мијења се са промјеном поларности растварача, односно концентрације сурфактанта тако да се изглед спектра разликује при концентрацији сурфактанта мањој и већој од КМК. Однос интензитета прве вибрационе траке ( $I_1$ ) ( $\lambda = 373 \text{ nm}$ ) и треће вибрационе траке ( $I_3$ ) ( $\lambda = 384 \text{ nm}$ ) пирена,  $I_3/I_1$  зависи од поларности растварача и смањује се са повећањем поларности микроокружења пирена [119, 121, 122].



**Слика 8.** Флуоресцентни емисиони спектар пирена у раствору *СТАВ*-а у бинарној смјеси ацетонитрил-вода 10:90, *V/V* концентрација *СТАВ*-а већих и мањих од КМК

<sup>3</sup> При великим концентрацијама пирена долази до интеракције побуђеног молекула пирена са молекулом пирена у основном стању, те се тако формира димер, тј. ексцимер [121]. Како би се избјегло формирање ексцимера при одређивању параметара мицеларног система (КМК, агрегационог броја) молекулском флуоресцентном спектрометријом, користе се веома разблажени раствори пирена [119, 120].

За одређивање КМК анализирају се флуоресцентни спектри раствора флуорофоре (пирена), у присуству различитих концентрација испитиваног сурфактанта. Са флуоресцентног спектра читавају се вриједности интензитета флуоресценције прве и треће вибрационе траке ( $I_1$  и  $I_3$ ), а из зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта, која се назива и *pyrene 1:3 ratio*, одређује се КМК [123, 124]. Крива зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта има сигмоидни облик како је приказано на слици 9. За концентрације сурфактанта мање од КМК, однос  $I_1/I_3$  одговара поларном микроокружењу пирена, а са повећањем концентрације сурфактанта изнад КМК, смањује се поларност микроокружења пирена услед инкорпорирања у мицеле што се одражава кроз нагло опадање вриједности  $I_1/I_3$  [3].



**Слика 9.** Крива зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта Болцмановог типа;  $(x_{CMC1})$  означава центар Болцманове криве,  $(x_{CMC2})$  одговара пресеку правих  $y_2 = A_2$  и  $y_3 = f(x)$  (прилагођено из референце [124]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Elsevier*)

График зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта представљен је сигмоидном кривом Болцмановог типа коју описује једначина:

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x - x_0)/\Delta x}} + A_2 \quad (14)$$

гдје  $y$  представља вриједност  $I_1/I_3$ ,  $x$  представља укупну концентрацију сурфактанта,  $A_1$  и  $A_2$  су горње и доње граничне вриједности сигмоидне криве (асимптоте),  $x_0$  је централна тачка сигмоидне криве, а  $\Delta x$  представља опсег концентрација сурфактанта у коме долази до нагле промјене тренда раста зависно промјенљиве  $I_1/I_3$ .

За одређивање КМК из зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта, у литератури су предложени сљедећи приступи математиче обраде резултата:

- 1) одређивање тачке пресека једначина добијених након линеарног фитовања силазног дијела сигмоидне криве, као и дијела криве који одговара доњој асимптоти [125];
- 2) из инфлексционе тачке зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта која је приказана као  $(x_{CMC})_1$  на слици 9 [124, 126];
- 3) из пресека једначине тангенте на сигмоидну криву у тачки  $x_0$  и једначине доње асимптоте,  $y = A_2$ , при чему пресјек одговара тачки  $(x_{CMC})_2$  како је приказано на слици 9 [124].

Како између кондуктометријски и спектрофлуориметријски одређене КМК могу постојати значајне разлике у зависности од примијењене математичке методе, за одређивање КМК из зависности  $I_1/I_3$  од концентрације сурфактанта, важно је знати да се за сурфактанте чија је КМК мања од 1 mM препоручује метода 2) [126].

Флуоресцентном спектрометријом може се одредити и агрегациони број мицеле ( $N_{ag}$ ). Такозвани *static fluorescence quenching method* заснива се на гашењу флуоресценције флуорофоре у раствору сурфактанта додатком гасиоца, такозваног *quencher* [3, 127]. Анализирају се флуоресцентни емисиони спектри раствора флуорофоре (пирена) константне концентрације и сурфактанта различитих концентрација у присуству различитих концентрација гасиоца. Потом се са флуоресцентног спектра сваког раствора на одређеној таласној дужини читава вриједност интензитета флуоресценције раствора који не садржи гасилац ( $I_0$ ) и сваког појединачног раствора који садржи одређену концентрацију гасиоца ( $I_Q$ ), а из зависности односа ова два параметра од концентрације гасиоца, може се одредити агрегациони број мицеле. Како би овај поступак био примијењен, неопходно је да су испуњени сљедећи услови: а) мицеле су монодисперзни системи, б) флуорофора и гасилац морају бити солубилизирани и имобилизирани у мицели, при чему је њихово вријеме боравка у мицели дуже од времена живота ексцитованог стања флуорофоре, в) до гашења флуоресценције усљед формирања комплекса између флуорофоре и гасиоца, долази прије ексцитације флуорофоре, и г) расподјела флуорофоре и гасиоца у мицели мора пратити Поасон дистрибуцију [3, 74]. Уколико су задовољени ови услови, однос између  $I_Q$  и  $I_0$  може се изразити кроз однос концентрације гасиоца, такозваног *quencher* [Q] и мицеларне концентрације [M]:



$$\frac{I_Q}{I_0} = \exp\left(-\frac{[Q]}{[M]}\right) \quad (15)$$

Како је мицеларна концентрација  $[M]$  дата изразом:

$$[M] = \frac{c_s - KMK}{N_{ag}} \quad (16)$$

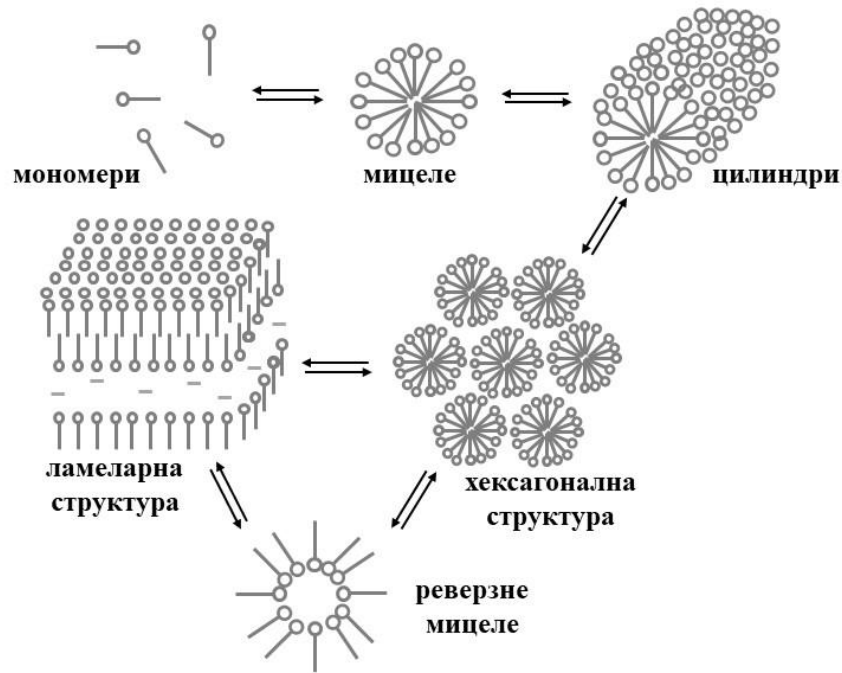
гдје је  $c_s$  укупна концентрација сурфактанта, а  $N_{ag}$  агрегациони број, из једначина (15) и (16) слиједи:

$$\ln \frac{I_0}{I_Q} = \frac{N_{ag}}{c_s - KMK} [Q] \quad (17)$$

Зависност  $\ln \frac{I_0}{I_Q}$  од концентрације гасиоца је линеарна, а нагиб праве  $\ln(I_0/I_Q) = f(Q)$  једнак је реципрочној вриједности мицеларне концентрације  $1/[M]$ , те се агрегациони број  $N_{ag}$  израчунава из једначине:

$$N_{ag} = \frac{c_s - KMK}{[M]} \quad (18)$$

Агрегациони број је параметар значајан са аспекта структурних карактеристика мицеларног система јер нам омогућава да претпоставимо облик и величину мицеле, што је од значаја код извођења мицеларне, односно хибридне мицеларне хроматографије *HPLC* методом. Мицеле су динамичне структуре које са повећањем концентрације сурфактанта или у присуству адитива, као што су органски растварачи и електролити, мијењају величину и облик. Са повећањем концентрације сурфактанта изнад КМК, сви мономери сурфактанта додати у раствор бивају инкорпорирани у мицеле. Међутим, поставља се питање да ли се на овај начин повећава број или величина мицела [128]. Код јонских сурфактаната не постоји јединствен одговор на ово питање; код појединих јонских сурфактаната постоји тенденција ка формирању већих агрегата са порастом концентрације сурфактанта, док се код других формирају мањи агрегати чији се број повећава [129]. Са повећањем концентрације сурфактанта мицеле мијењају облик од сферног преко цилиндричног, па до хексагоналне и ламеларне структуре и на крају реверзних мицела (слика 10).



**Слика 10.** Облици агрегата мономера сурфактанта који настају са повећањем концентрације сурфактанта изнад КМК (прилагођено из референце [2]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Taylor & Francis Group LLC – Books*)

Сваки од могућих облика просторног организовања мономера сурфактанта у агрегате у воденом раствору или у смјеси воде и органског растварача (корастварача) у складу је са тежњом да се изолују хидрофобни репови мономера сурфактанта од воде, а да се поларне главе сурфактанта доведу у контакт са водом. Начин на који мономер сурфактанта формирају мицеле одређеног облика зависи од дужине хидрофобног ланца ( $l_c$ ), његове запремине ( $v$ ) и површине по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ) [130]. При великим концентрацијама сурфактанта најчешће се формирају велики агрегати који повећавају вискозитет мицеларног, односно хибридног мицеларног раствора. Вискозни раствори су непожељни као мобилне фазе код *HPLC* методе, те би идеална мобилна фаза у овом случају био мицеларни, односно хибридни мицеларни раствор који садржи мицеле сферног облика [2]. Стога карактеризација система *HMLC* треба да обухвати одређивање  $N_{ag}$  мицеле у води, односно у смјеси воде и корастварача, као и параметара  $l_c$ ,  $v$  и  $a_0$ .

#### 1.4 Термодинамички параметри мицелизације

Из зависности КМК и  $\alpha$  од промјене температуре у мицеларном систему, одређују се термодинамички параметри мицелизације: промјена стандардне Гибсове енергије мицелизације ( $\Delta G_m^0$ ), промјена стандардне енталпије мицелизације ( $\Delta H_m^0$ ) и промјена стандардне ентропије мицелизације ( $\Delta S_m^0$ ). Одређивање термодинамичких параметара мицелизације,  $\Delta G_m^0$ ,  $H_m^0$  и  $\Delta S_m^0$  од значаја је у разматрању интеракција у процесу мицелизације.

Иако се процес мицелизације може разматрати кроз два модела: модел дејства маса и модел псеудофаза, код термодинамичког приступа процесу мицелизације, оба модела дају исте математичке изразе за израчунавање термодинамичких параметара [3]. Према моделу дејства маса (једначина 1, поглавље 1.2), са повећањем концентрације мономера сурфактанта, повећава се и концентрација мицела и обрнуто.

Промјена стандардне Гибсове енергије мицелизације  $\Delta G_m^0$  дата је једначином:

$$\Delta G_m^0 = R T \ln K_m \quad (19)$$

гдје је  $R$  гасна константа ( $8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ),  $T$  је апсолутна температура (изражена у степенима Келвина),  $K_m$  је константа равнотеже реакције (1), поглавље 1.2.

Примјеном одређених апроксимација,  $\Delta G_m^0$  израчунава се на сљедећи начин [131]:

$$\Delta G_m = (2 - \alpha)RT \ln X_{\text{КМК}} \quad (20)$$

гдје је  $\alpha$  степен јонизације мицеле, а  $X_{\text{КМК}}$  је КМК изражена у молском удјелу [101].

Промјена стандардне енталпије мицелизације  $\Delta H_m^0$  израчунава се из једначине добијене диференцирањем једначине (20) по температури (при константном притиску) и замјеном добијеног израза у Гибс-Хелмхолцову једначину [101]:

$$\Delta H_m^0 = -RT^2 \left[ (2 - \alpha) \left( \frac{\partial \ln X_{\text{КМК}}}{\partial T} \right)_p - \ln X_{\text{КМК}} \left( \frac{\partial \alpha}{\partial T} \right)_p \right] \quad (21)$$

Уколико је промјена  $\alpha$  са промјеном температуре мала, у том случају се  $\Delta H_m^0$  може израчунати из једначине:

$$\Delta H_m^0 = -(2 - \alpha)RT^2 \left( \frac{\partial \ln X_{\text{КМК}}}{\partial T} \right)_p \quad (22)$$

Из једначине (22) могуће је одредити промјену стандардне енталпије мицелизације из нагиба тангенте на графику зависности  $\ln X_{\text{КМК}}$  од  $T$  у одређеној температурној тачки.

Ова зависност је представљена полиномом другог степена. Након што се израчунају  $\Delta G_m^0$  и  $\Delta H_m^0$ , могуће је одредити  $\Delta S_m^0$  из израза:

$$\Delta G_m^0 = \Delta H_m^0 - T\Delta S_m^0 \quad (23)$$

из којег слиједи:

$$\Delta S_m^0 = \frac{\Delta H_m^0 - \Delta G_m^0}{T} \quad (24)$$

Утицај додатка корастварача на термодинамику процеса мицелизације могуће је квантификовати израчунавањем слободне енергије трансфера  $\Delta G_{trans}^0$  [67]:

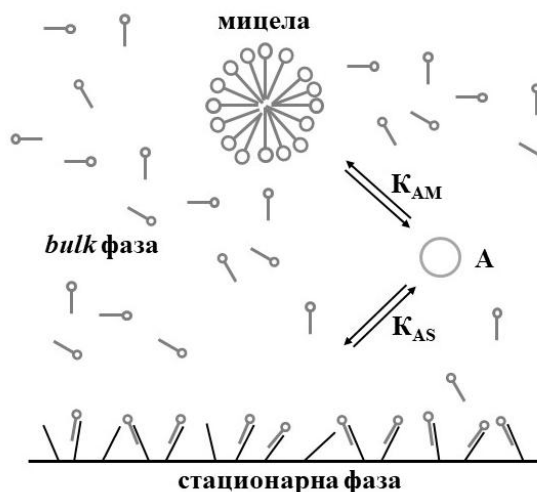
$$\Delta G_{trans}^0 = (\Delta G_m^0)_{KO+H_2O} - (\Delta G_m^0)_{H_2O} \quad (25)$$

гдје  $(\Delta G_m^0)_{KO+H_2O}$  представља промјену стандардне Гибсове енергије мицелизације сурфактанта у смјеси воде и корастварача, а  $(\Delta G_m^0)_{H_2O}$  промјену стандардне Гибсове енергије мицелизације сурфактанта у води.

Како је потребан одређени број апроксимација како би се израчунали термодинамички параметри мицелизације сурфактанта, они не могу бити разматрани као егзактне вриједности, али ипак нам могу дати основне информације о спонтаности процеса мицелизације и међумолекулским интеракцијама у мицеларном систему. Стога је разматрање ових параметара израчунатих за хибридни мицеларни систем *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрила и воде значајно са аспекта карактеризације овог система.

### 1.5 Моделовање ретенционог понашања анализата у системима *HMLC*

Мицеларни раствори су микроскопски хетерогени системи у којима су осим воде и мономера сурфактанта, присутне и мицеле што значајно усложњава хроматографски систем и механизме раздвајања анализата. Постоји велики број различитих интеракција које анализат може остварити са сваком од компоненти овог система. Интеракције се остварују не само између анализата и појединачних компоненти система, већ компоненте система могу и међусобно интераговати. То се првенствено односи на утицај корастварача на формирање мицела, тј. на вриједност КМК и  $N_{ag}$ . Осим тога, додаток корастварача доводи до десорпције молекула сурфактанта са стационарне фазе [2]. Све ово усложњава предвиђање ретенционог понашања анализата у систему *HMLC*. Расподјела анализата (А) између различитих компоненти хибридног мицеларног система (мицела, *bulk* фаза и стационарна фаза), шематски је приказана на слици 11.

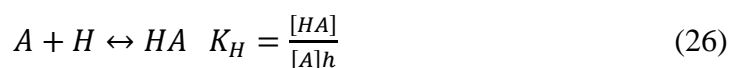


**Слика 11.** Расподјела анализата (А) између мицеларне и стационарне фазе;  $K_{AM}$  – константа везивања анализата за мицелу;  $K_{AS}$  – константа везивања анализата за стационарну фазу (прилагођено из референце [2]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији дозволом издавача *Taylor & Francis Group LLC – Books*)

Осим што се везује за стационарну фазу, у систему *HMLC* анализат интерагује и са компонентама мобилне фазе (поглавље 1.1.2). Ретенционо понашање анализата одређено је следећим трима равнотежним расподјелама према моделу који су описали [132]: 1) расподјелом анализата између мицеле и *bulka*, 2) расподјелом анализата између стационарне фазе и *bulka*, и 3) расподјелом анализата између мицеле и стационарне фазе. Посљедња наведена равнотежна расподјела, директан трансфер анализата између стационарне фазе и мицеле, а који карактерише равнотежна константа  $K_{MS}$ , значајна је само код изразито неполарних анализата, тако да се у већини случајева, може занемарити. Смањење ретенције анализата најчешће се постиже повећањем концентрације сурфактанта или корастварача. а како поред ових фактора, на ретенционо понашање анализата утиче и рН, то је за предвиђања ретенционог понашања анализата потребно анализирати сва три фактора [133].

#### 1.5.1 Утицај рН и концентрације сурфактанта на ретенционо понашање анализата

Арунианарт и Клајн-Лав [134], као и Роџерс са сарадницима [135, 136] испитивали су утицај рН на ретенционо понашање слабих киселина и база. Киселинско-базна равнотежа у монопротичним системима у води може се представити на следећи начин:



гдје је  $K_H$  константа протоновања, а  $h$  је концентрација протона.

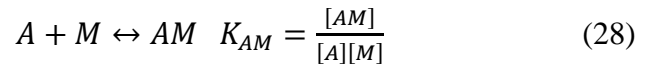
Поменути научници су на основу једначине (26) дали израз за ретенциони фактор ( $k$ ):

$$k = \phi \frac{[AS] + [HAS]}{[A] + [HA] + [AM] + [HAM]} \quad (27)$$

гдје  $[AS]$  и  $[A]$  представљају концентрације непротонованог (базног) облика анализата у стационарној фази и у *bulk*-у,  $[HAS]$  и  $[HA]$  су одговарајуће концентрације протонованог (киселог) облика анализата,  $[AM]$  и  $[HAM]$  означавају концентрацију базног и киселог облика анализата везаног за мицелу.

У мицеларном систему у коме није присутан корастварач, могуће је успостављање следећих равнотежа:

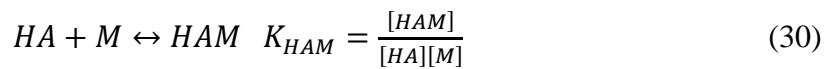
- везивање базног облика анализата (A) за мицелу (M):



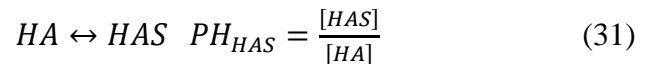
- везивање базног облика анализата (A) за стационарну фазу (S):



- везивање киселог облика анализата (HA) за мицелу (M):



- везивање киселог облика анализата (HA) за стационарну фазу (S):



Замјеном једначина (26) и 28-31 у једначину (27), као и израза  $K_{AS} = \phi P_{AS}$   $K_{HAS} = \phi P_{HAS}$ , добија се следећа једначина:

$$k = \frac{K_{AS} + K_{HAS} K_H h}{1 + K_H h + K_{AM} [M] + K_{HAM} K_H h [M]} \quad (32)$$

односно:

$$k = \frac{\frac{K_{AS} + K_{HAS} K_H h}{1 + K_H h}}{1 + \frac{K_{AM} + K_{HAM} K_H h}{1 + K_H h} [M]} = \frac{K_{AS}^H}{1 + K_{AM}^H [M]} \quad (33)$$

гдје су  $K_{AS}^H$  и  $K_{AM}^H$  условне константе у односу на концентрацију протона.

Једначина (32) може се написати и у сљедећем облику:

$$k = \frac{\frac{K_{AS}}{1 + K_{AM} [M]} + \frac{K_{HAS}}{1 + K_{HAM} [M]} \times \frac{1 + K_{HAM} [M]}{1 + K_{AM} [M]} K_H h}{1 + \frac{1 + K_{HAM} [M]}{1 + K_{AM} [M]} K_H h} \quad (34)$$

односно:

$$k = \frac{k_A + k_{HA} K_H^M h}{1 + K_H^M h} \quad (35)$$

Једначине (34) и (35) указују на то да промјена ретенционог фактора,  $k$  са промјеном  $pH$  прати сигмоидни облик између ретенционог фактора киселог  $k_{HA}$  и ретенционог фактора базног облика анализата  $k_A$ , а такође указују на то да концентрација сурфактанта утиче на привидну константу протоновања  $K_H^M$  анализата [133].

### 1.5.2 Утицај $pH$ , концентрације сурфактанта и корастварача на ретенционо понашање анализата

У пракси је чешћа употреба хибридних мицеларних система у односу на мицеларне системе, па је стога важно предвидјети, и утицај концентрације корастварача на ретенционо понашање анализата. Показано је да у хибридном мицеларном систему који садржи константну концентрацију корастварача при датој вриједности  $pH$ , ретенциони фактор ( $k$ ) зависи од концентрације сурфактанта при којој се формирају мицеле [М] [132, 137, 138]:

$$k = \frac{K_{AS}^\varphi}{K_{AM}^\varphi [M]} \quad (36)$$

гдје је  $K_{AS}^\varphi = \phi P_{AS}^\varphi$ , што представља производ односа фаза и партиционог коефицијента између стационарне фазе и воде, док је  $K_{AM}^\varphi$  константа везивања анализата и мицеле. Ознака  $\varphi$  у индексу упућује на условни карактер ових константи у односу на концентрацију корастварача [139].

Под претпоставком да је релативна промјена концентрације анализата у *bulk* фази и мицели пропорционална концентрацији корастварача, константе  $K_{AS}^\varphi$  и  $K_{AM}^\varphi$  могу се изразити једначинама:

$$K_{AS}^{\varphi} = \frac{AS}{A+\Delta A} = K_{AS} \frac{1}{1+K_{AD}\varphi} \quad (37)$$

$$K_{AM}^{\varphi} = \frac{AM+\Delta AM}{M(A+\Delta A)} = K_{AM} \frac{1+K_{MD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi} \quad (38)$$

гдје  $\varphi$  представља концентрацију корастварача, А и АМ су концентрације слободног анализата у *bulk* фази и анализата везаног за мицелу у мицеларном раствору без корастварача, док  $\Delta A$  и  $\Delta AM$  означавају промјену одговарајућих концентрација узроковану присуством корастварача. Константе  $K_{AD}$  и  $K_{MD}$  означавају релативну промјену концентрације анализата у *bulk* фази и мицели у присуству корастварача у односу на мицеларни раствор без корастварача.

Замјеном једначина (37) и (38) у једначину (36), добија се израз:

$$k = \frac{K_{AS} \frac{1}{1+K_{AD}\varphi}}{1+K_{AM} \frac{1+K_{MD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi} [M]} \quad (39)$$

Модел приказан једначином (39) је прикладан за поларне и умјерено хидрофобне анализате, док се за изузетно поларне анализате мора узети у обзир и промјена концентрације анализата везаног за стационарну фазу у присуству корастварача [139, 140]:

$$k = \frac{K_{AS} \frac{1+K_{SD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi}}{1+K_{AM} \frac{1+K_{MD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi} [M]} \quad (40)$$

Замјеном једначина (37) и (38) у једначину (34) добија се израз за ретенциони фактор:

$$k = \frac{\frac{K_{AS}}{1+K_{AD}\varphi} + \frac{K_{HAS}}{1+K_{HAD}\varphi} \kappa K_H h}{1+K_{AM} \frac{1+K_{MD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi} [M] + \frac{K_{HAM}}{1+K_{HAD}\varphi} \kappa K_H h} \quad (41)$$

гдје су  $K_{AS}$  и  $K_{HAS}$  константе везивања непротонованог (базног) и протонованог (киселог) облика анализата за стационарну фазу,  $K_{AM}$  и  $K_{HAM}$  су константе везивања непротонованог и протонованог облика анализата за мицелу,  $K_{MD}$  и  $K_{HMD}$  представљају мјеру релативне промјене концентрације непротонованог и протонованог облика анализата у мицели у присуству корастварача у односу на чист мицеларни раствор,  $K_{AD}$  и  $K_{HAD}$  представљају мјеру релативне промјене концентрације непротонованог и протонованог облика анализата у мобилној фази са корастварачем у односу на чист мицеларни раствор, а  $K_H$  је константа протоновања, док  $\kappa$  може бити представљено једначином:

$$\kappa = \frac{1+K_{HAM} \frac{1+K_{HMD}\varphi}{1+K_{HAD}\varphi} [M]}{1+K_{AM} \frac{1+K_{MD}\varphi}{1+K_{AD}\varphi} [M]} \quad (42)$$



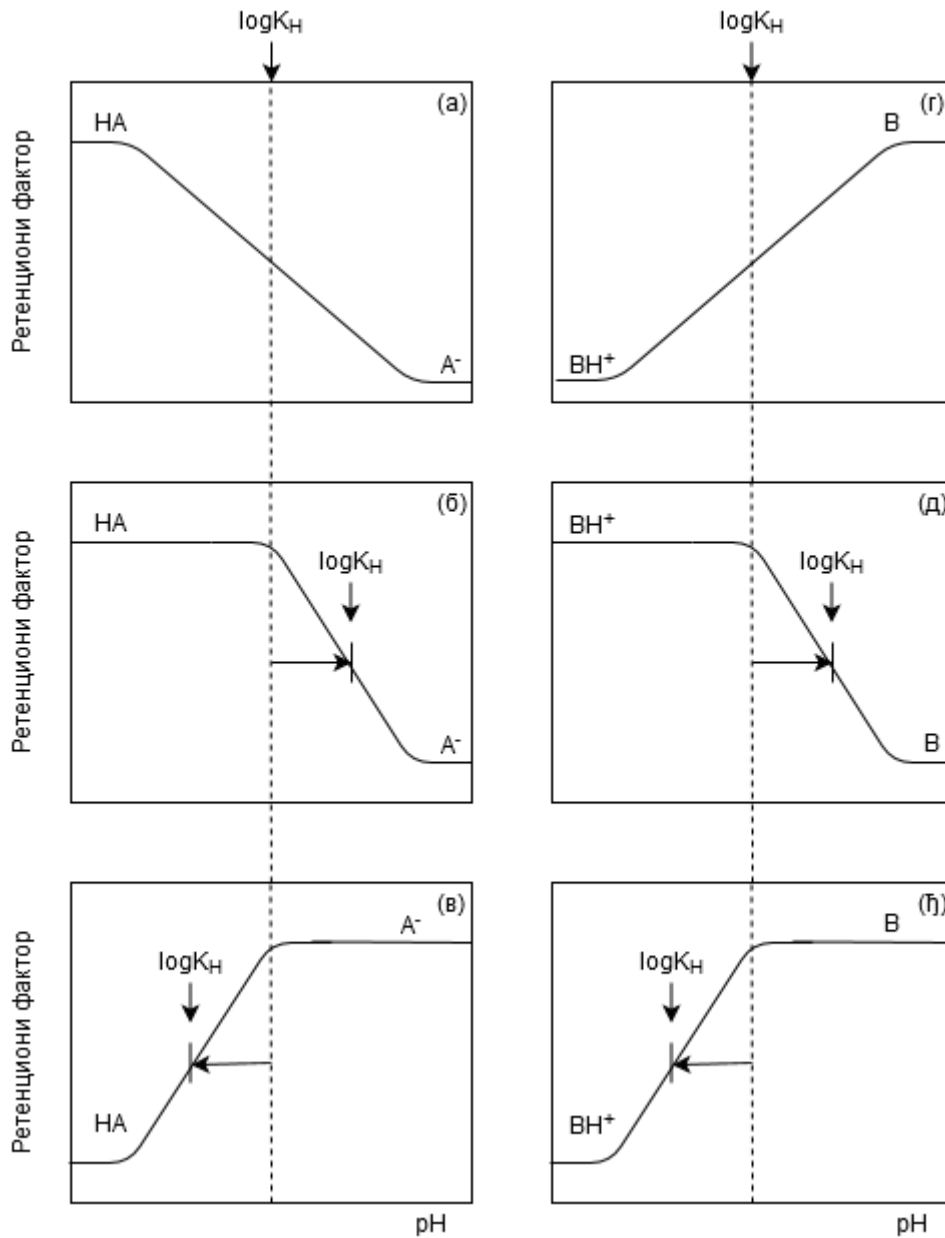
Једначина (41) може се модификовати у:

$$k = \frac{k_A + k_{HA} K_H^{M\varphi} h}{1 + K_H^{M\varphi} h} \quad (43)$$

гдје су  $k_A$  и  $k_{HA}$  ретенциони фактори базног и киселог облика анализата, а  $K_H^{M\varphi}$  је условна константа протоновања која зависи од концентрације сурфактанта и корастварача, као и од способности оба облика анализата (и киселог и базног) да се веже за мицелу. Једначина (41) садржи девет константи и примјеном је могуће предвидјети ретенционо понашање анализата при било којој концентрацији сурфактанта, корастварача и при било којој  $pH$  вредности мобилне фазе. При извођењу једначине (41) није узета у обзир промјена константе протоновања  $K_H$  у присуству корастварача, а што би дати модел ретенционог понашања учинило још комплекснијим. Са друге стране, утврђено је да укључивање  $K_H$  не би значајно побољшало предиктивне особине модела јер он већ садржи велики број параметара, а што омогућава флексибилност у фитовању података [1].

### 1.5.3 Утицај корастварача и сурфактанта на константу протоновања анализата

Утицај  $pH$  на ретенционо понашање анализата уочава се у хроматографским системима реверзних фаза, а тако и у мицеларним системима. Како су најчешће у употреби  $C_{18}$  колоне, утицај  $pH$  на ретенционо понашање анализата на овим колонама и са коришћењем мицеларне мобилне фазе која садржи катјонски, односно анјонски сурфактант, приказан је на слици 12.



**Слика 12.** Утицај  $pH$  на ретенционо понашање и константу протоновања  $K_H$  киселих ( $HA/A^-$ ) и базних анализа ( $BH^+/B$ ); услови:  $C_{18}$  колона; мобилна фаза: водено-органска ((а) и (г)), мицеларна с анјонским сурфактантом ((б) и (д)) и мицеларна с катјонским сурфактантом ((в) и (ђ))

(прилагођено из референце [4]; одобрено за коришћење у докторској дисертацији  
дозволом издавача *John Wiley and Sons*)

Криве зависности ретенционог фактора ( $k$ ) слабих киселина и слабих база од  $pH$  у  $RP$ - $HPLC$  системима,  $k = f(pH)$  међусобно се односе као предмет и лик у огледалу (слике 12а и 12г). Међутим, у мицеларним системима с анјонским сурфактантом, промјена ретенционог фактора је опадајућа функција  $pH$  и за киселине и за базе (слике 12б и

12д), док је у мицеларним системима са катјонским сурфактантом промјена ретенционог фактора растућа функција  $pH$  и за киселине и за базе (слике 12в и 12ђ). Зависност  $k$  од  $pH$  вриједности представљена је изразом [139, 141–143]:

$$k = k_A \frac{1}{1+K_H h} + k_{HA} \frac{K_H h}{1+K_H h} = \frac{k_A + k_{HA} K_H h}{1+K_H h} \quad (44)$$

гдје су  $k_A$  и  $k_{HA}$  ретенциони фактори базног односно киселог облика анализата,  $K_H$  је привидна константа протоновања у мобилној фази, и  $h$  је концентрација  $H^+$  јона. Пошто је ретенционо понашање базног и киселог облика анализата различито, до нагле промјене у ретенционом понашању с промјеном  $pH$  долази при оној вриједности  $pH$  која је приближно једнака  $\log K_H$  анализата у мобилној фази [4].

У хибридном мицеларним системима, равнотежа протоновања је помјерена услед присуства и сурфактанта и корастварача, чиме се модификује поларност фаза, затим услед везивања анализата за мицеле, као и адсорбовања молекула сурфактанта на стационарну фазу. Промјене у киселинско-базном понашању и ретенцији видљиве су и код нејонизујућих, као и код јонизујућих анализата, али су израженије и интересантније за изучавање код јонизујућих анализата због електростатичких интеракција између анализата и мицеле, односно анализата и стационарне фазе. Константа протоновања анализата,  $K_H$  најчешће се смањује с повећањем концентрације корастварача (органиског растварача). Истовремено, код слабих киселина и слабих база,  $K_H$  се повећава с повећањем концентрације анјонског сурфактанта због стабилизујућег ефекта неутралног киселог облика (НА) односно катјонског киселог облика ( $BH^+$ ). Наиме, код слабих киселина, анјонски базни облик анализата ( $A^-$ ) који настаје с повећањем  $pH$  и монослој анјонског сурфактанта адсорбованог на површини стационарне фазе, међусобно се одбијају услед постојања истоименог наелектрисања, док се код слабих база јавља електростатичка сила привлачења између катјонског киселог облика ( $BH^+$ ) и супротно наелектрисаног слоја анјонског сурфактанта адсорбованог на површини стационарне фазе [4].

Управо због тога су у мицеларним системима са анјонским сурфактантом фаворизовани неутрални кисели односно катјонски кисели облик у односу на анјонски кисели, односно неутрални базни облик (В), због чега је вриједност  $K_H$  помјерена удесно. Насупрот томе, код мицеларних система с катјонским сурфактантом  $K_H$  је помјерена улијево, а због фаворизовања анјонског базног облика и неутралног базног

облика. Наведени феномен је од значаја због радног опсега  $pH$  вриједности од 2,5 до 7,5 за конвенционалне  $RP-HPLC$  стационарне фазе. Наиме, ограничен опсег  $pH$  вриједности онемогућава анализу киселина или база са  $\log K_H$  изван овог опсега или  $\log K_H$  које су блиске граничним вриједностима. Управо помјерање  $\log K_H$  под утицајем сурфактанта омогућава проширење опсега у којем је одређени облик анализата доминантан, што даље резултује: постизањем максималне ретенције у оквиру радног опсега стационарне фазе (на примјер, неутрални кисели или катјонски кисели облик слабих киселина, односно слабих база у мицеларном систему са  $SDS$ ), продужењем радног вијека стационарне фазе због смањења изложености стресним условима, као и постизањем веће репродуктивности резултата, с обзиром на то да су добијени у регији константне ретенције гдје доминира само један облик анализата [1, 4].

### 1.6 Анализа квантитативног односа између структуре и својства молекула ( $QSPR$ )

Анализа квантитативног односа између структуре и својства молекула (енг. *quantitative structure property relationship* –  $QSPR$ ) заснована је на идеји да структурно слична једињења имају слична физичкохемијска својства, а бави се квантификавањем односа измеђе молекулске структуре и одређених физичкохемијских својстава коришћењем компјутерског моделовања. Сваки  $QSPR$  модел чине три основне компоненте,: 1) физичкохемијско својство које се моделује, 2) хемијска информација о молекулу (молекулски дескриптор) и 3) алгоритам који повезује претходне двије компоненте. Молекулски дескриптори могу бити различити:

- конститутивни: једноставни и укључују параметре попут молекулске масе, броја атома у молекулу (на примјер, број атома хлора), броја двоструких веза, итд.
- тополошки: указују на везе између атома, односно на разгранатост структуре молекула; ригидни и флексибилни тополошки индекси одражавају молекулску структуру (Вајнеров индекс, Балабанов индекс, итд.)
- електростатички: узимају у обзир наелектрисање одређеног атома и његову поларност (парцијално наелектрисање, парцијално позитивно наелектрисана површина, итд.)
- геометријски: односе се на запремину молекула, површину молекула, итд.
- квантномеханички: односе се на енергију одређене врсте молекулских орбитала, на примјер, НОМО, дескриптор се односи на енергију највише попуњене молекулске орбитале и LUMO, дескриптор се односи на енергију најниже непопуњене молекулске орбитале.

У зависности од врста информација које се желе добити за дати молекул, односно од тога које молекулске дескрипторе је потребно моделовати, молекул се при компјутерском моделовању представља у дводимензионом (2D) или тродимензионом (3D) облику; за моделовање тополошких дескриптора, молекул се представља у 2D облику, док се за моделовање на примјер, квантно-механичких дескриптора, представља у 3D облику. Ипак, чешће су у употреби 2D молекулски дескриптори, а разлог је добијање репродуктивних резултата. Наиме, приликом представљања молекула у 3D облику, велики је број могућих конформера што зависи од ротирања веза и углова између њих. Сваки од конформера је неопходно оптимизовати, што захтијева додатно вријеме, а у зависности од конформације коришћене за моделовање, 3D молекулски дескриптори попут запремине молекула, могу значајно варирати.

Како би се квантификовала веза између одређеног молекулског дескриптора и својства молекула неопходан је низ апроксимација што уноси одређену статистичку грешку у добијене резултате. Међутим, *QSPR* приступ представља одличну алтернативу захтјевним лабораторијским експериментима, а на овај начин се елиминишу и грешке експерименталног поступка.

Интеракције у хибридном мицеларном систему течне хроматографије су интересантне због своје разноврсности која отежава предвиђање ретенционог понашања анализата. *QSPR* анализом могуће је квантификовати везу између одређених молекулских дескриптора и константи равнотежа које егзистирају у хроматографском систему (поглавље 1.5.1) како би се објаснили уочени обрасци ретенционог понашања испитиваних анализата.

## 2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

Циљеви ове докторске дисертације били су:

1. Одређивање критичне мицеларне концентрације (КМК) цетилтриметиламонијум бромида (*СТАВ*-а) у води, као и у бинарним смјешама ацетонитрил-вода, примјеном кондуктометријске методе и различитих математичких метода за добијање прецизних вриједности КМК – Вилијамсова метода, метода првог извода, метода другог извода и Карпенова метода, а у циљу избора оптималне математичке методе за испитивани мицеларни систем.

Прилагођавање Карпенове методе за дефинисање алгоритма елементарних корака ове математичке методе у циљу прецизног одређивања КМК на примјеру *СТАВ*-а у бинарним смјешама ацетонитрила и воде и дефинисање поступка за одређивање КМК сурфактанта фитовањем експериментално добијених података.

2. Испитивање утицаја ацетонитрила на мицелизацију *СТАВ*-а:

- одређивањем Крафтове температуре ( $T_K$ ),
- одређивањем КМК и степена јонизације мицеле ( $\alpha$ ) Карпеновом методом према утврђеном алгоритму,
- одређивањем агрегационог броја ( $N_{ag}$ ), структурних параметара мицеле (површине по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ) и параметра паковања ( $P$ )),
- анализом утицаја температуре на мицелизацију: одређивањем термодинамичких параметара мицелизације (промјене стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије мицелизације ( $\Delta S_m^0$ ), ентропијског доприноса Гибсовој слободној енергији ( $T\Delta S_m^0$ ), слободне енергије трансфера ( $\Delta G_T^0$ ) и компензацијске температуре ( $T_C$ )).

3. Испитивање карактеристика хибридног мицеларног система са *СТАВ*-ом и квантификовање њиховог утицаја на ретенционо понашање одабраних анализата киселих особина, као и квантификовање утицаја структурних особина анализата на ретенционо понашање:

- дефинисањем могућих интеракција система хибридне мицеларне хроматографије са *СТАВ*-ом и модел супстанци киселих особина које се значајно међусобно разликују по структури,

- разматрањем утицаја варирања запреминског удјела ацетонитрила и  $pH$  вриједности мобилне фазе на ретенционо понашање одабраних анализата,
- моделовањем ретенционог понашања јонизованих и нејонизованих облика одабраних анализата како би се квантификовао утицај испитиваних фактора и израчунале константе везивања, које описују кључне процесе, а који детерминишу хроматографско понашање у испитиваним системима,
- испитивањем утицаја структурних карактеристика анализата на његово ретенционо понашање у хибридном мицеларном хроматографском систему са *СТАВ*-ом коришћењем *QSPR* анализе.

### 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДИО

#### 3.1 Апаратура, реагенси и математичко-софтверски системи

##### Апаратура

- **Хроматограф:** *Waters Breeze, Waters Corporation, САД*  
**Пумпа:** *Waters 1525 Binary HPLC Pump, Waters Corporation, САД*  
**Детектор:** *Waters 2487 UV/VIS dual absorbance detector, Waters Corporation, САД*
- **Систем за филтрирање:** *Whatman 47 mm Glass/mesh* мембрански носач и мембрански филтри 0,45  $\mu\text{m}$ , *Whatman International Ltd.*, Енглеска
- **Аналитичке ваге:** *Sartorius, Sartorius Werke GmbH, Њемачка*  
*Mettler electronic balance, Индонезија*
- **рН-метар** са комбинованом рН електродом: *Dolmen, Њемачка*
- **Ултразвучно купатило:** *Fungilab, Шпанија*
- **Системи за добијање воде HPLC квалитета:** *Simplicity 185, Millipore, Њемачка*  
*Milli-Q, Millipore, САД*
- **Кондуктометар:** *HI8820N, Hanna instruments, Португал*  
**Кондуктометријска ћелија:** *HI7684W, Hanna instruments, Португал*  
**Стаклена посуда:** *Model 876-20, Metrohm, Швајцарска*  
**Водено купатило са термостатом:** *Series U, MLW, Њемачка*  
**Магнетна мјешалица:** *IKA-COMBIMAG RET, IKA, Њемачка*
- **Спектрофлуориметар:** *FI3-221 P, JobinYvon, Француска*

##### Реагенси

Сви коришћени реагенси су аналитичког степена чистоће:

- **Цетилтриметиламонијум бромид (СТАВ):** *Sigma-Aldrich, САД*  
*Merck, Њемачка*
- **Ацетонитрил (ACN):** *Fluka, Њемачка*  
*Sigma-Aldrich, САД*  
*J.T. Baker, САД*
- **Пирен,** *Sigma-Aldrich, САД*
- **Цетилпиридинијум хлорид (CPC),** *Krka, Словенија*
- **Калијум хлорид (KCl),** *Merck, Њемачка*



- Хлороводонична киселина (HCl), *Zorka Pharma*, Србија
- Натријум хидроксид (NaOH), *Zorka Pharma*, Србија
- Вода HPLC квалитета, *Milli-Q, Millipore*, САД

*Математичко софтверски системи*

- *STATISTICA, StatSoftInc, Tulsa, OK, САД*: фитовање ретенционих модела
- *OriginPro 9.0, OriginLab Corporation, САД*: графички прикази и фитовање кондуктометријских и спектрофлуориметријских података
- *Microsoft Excel, Microsoft, САД*: обрада података
- *CODESSA, version 2.20., Gainesville, University of Florida, FL, САД [144]*: израчунавање молекулских дескриптора и анализа утицаја структурних карактеристика анализата на њихово ретенционо понашање
- *RDKit: Open source chemoinformatics, Release 2014.09.2 [145]*: припрема молекулских модела, генерисање конформера и молекуларно механичка оптимизација структура
- *MOPAC 7.0 [146]*: семи-емпиријска оптимизација молекулских структура

### 3.2 Активне фармацеутске супстанце

- Ацетилсалицилна киселина, *LGC GmbH*, Немачка
- Бензојева киселина, *LGC GmbH*, Немачка
- Аскорбинска киселина (витамин Ц), *LGC GmbH*, Немачка
- Сулфацетамид, *LGC GmbH*, Немачка
- Пара-аминобензојева киселина (ПАВА), *LGC GmbH*, Немачка
- Ампицилин, *LGC GmbH*, Немачка
- Амоксицилин, *LGC GmbH*, Немачка
- Салицилна киселина, *LGC GmbH*, Немачка
- Фуросемид, *LGC GmbH*, Немачка
- Фенобарбитон, *LGC GmbH*, Немачка
- Антипирин, *LGC GmbH*, Немачка

### 3.3 Кондуктометријско одређивање критичне мицеларне концентрације цетилтриметиламонијум бромида у води и у смјешама воде и ацетонитрила

#### 3.3.1 Припрема раствора СТАВ-а

Раствори СТАВ-а одређених концентрација у води и у смјеши ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V), припремани су непосредно прије коришћења (табела 1).

**Табела 1.** Припрема раствора *СТАВ*-а, температуре и концентрације раствора за кондуктометријско одређивање КМК

Растварач	Температура	Концентрација раствора <i>СТАВ</i> -а
вода	25°C	0,1 – 1,8 mM (инкремент 0,1 mM)
ацетонитрил-вода 10:90, V/V	25°C	0,7 – 3,3 mM (инкремент 0,2 mM)
	30°C	
ацетонитрил-вода 10:90, V/V	18°C	0,2 – 1,8 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	
ацетонитрил-вода 15:85, V/V	25°C	0,6 mM и 0,7 – 3,7 mM (инкремент 0,2 mM)
ацетонитрил-вода 15:85, V/V	18°C	0,6 – 2,6 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	0,6 – 2,8 mM (инкремент 0,2 mM)
ацетонитрил-вода 20:80, V/V	20°C	0,7 – 5,5 mM* (инкремент 0,2 mM)
	25°C	
ацетонитрил-вода 20:80, V/V	18°C	1,8 – 4,0 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	1,8 – 3,8 mM (инкремент 0,2 mM)

\* без 2,9 mM, 3,5 mM и 4,1 mM

### 3.3.2 Експериментални услови и поступак за кондуктометријска мјерења – одређивање КМК

Кондуктометар: HI8820N, Hanna instruments, Португал

Кондуктометријска ћелија: HI7684W, Hanna instruments, Португал

Стаклена посуда: Model 876–20, Metrohm, Швајцарска

Водено купатило са термостатом: Series U, MLW, Њемачка

Магнетна мјешалица: IKA–COMBIMAG RET, IKA, Њемачка

Температура: 18°C, 20°C, 22°C, 25°C или 30°C

У табели 1 у поглављу 3.3.1 наведени су растварачи у којима су одређиване КМК *СТАВ*-а на свакој наведеној температури.

Прије сваке серије мјерења, калибрисати кондуктометар стандардним растворима калијум хлорида специфичне проводљивости 445  $\mu\text{S}/\text{cm}$  и натријум хлорида специфичне проводљивости 1413  $\mu\text{S}/\text{cm}$  на температурама 18°C, 20°C, 22°C, 25°C и 30°C. Константна температура се одржава помоћу воденог купатила са термостатом у опсегу  $\pm 0,2^\circ\text{C}$  у односу на задату температуру. Сва мјерења се изводе у стакленој посуди запремине 100 mL која је повезана са воденим купатилом са термостатом и позиционирана на магнетну мјешалицу.

Кондуктометријска мјерења су извршена за растворе *СТАВ*-а у води и у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V). Раствор *СТАВ*-а пренесе се у стаклену посуду у коју се затим поставе термометар и кондуктометријска ћелија. Затим се раствор термостатира (око 20 min) на испитиваној температури (18°C, 20°C, 22°C, 25°C или 30°C) уз мијешање магнетном мјешалицом (300 rpm) до константне вриједности проводљивости. За сваки од испитиваних раствора мјерење је поновљено три пута. Описани поступак је поновљен за сваки појединачни испитивани раствор *СТАВ*-а.

### **3.4 Кондуктометријско одређивање Крафтове температуре цетилтриметиламонијум бромиде у смјешама воде и ацетонитрила**

#### *3.4.1 Припрема раствора СТАВ-а*

Припремити растворе *СТАВ*-а концентрације 0,6 M ( $\approx 60$  КМК)<sup>4</sup> у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V).

---

<sup>4</sup> При концентрацијама сурфактанта знатно већим од КМК, мијења се облик мицеле из сферног у цилиндрични, што утиче на специфичну проводљивост мицеларног раствора и усљед чега се уочавају промјене мицеларних својстава сурфактанта, те се тако детектује секундарна КМК, хистерезисно понашање је сложеније итд. [89, 147, 148] Стога, код кондуктометријског испитивања мицеларних својстава сурфактанта, потребно је пажљиво одабрати концентрацију раствора сурфатанта како би мицеле задржале сферни облик. За *СТАВ*, установљено је да при концентрацијама већим од 90 КМК мицеле мијењају облик усљед чега се усложњава хистерезисно понашање при кондуктометријским мјерењима [89].

Раствори се затим хладе у фрижидеру на температури од 4°C током најмање 24 часа, све до појаве хидратисаних кристала сурфактанта.

### 3.4.2 Експериментални услови и процедура за кондуктометријска мјерења – одређивање Крафтове температуре

Кондуктометар: HI8820N, Hanna instruments, Португал

Кондуктометријска ћелија: HI7684W, Hanna instruments, Португал

Стаклена посуда: Model 876–20, Metrohm, Швајцарска

Водено купатило са термостатом: Series U, MLW, Њемачка

Магнетна мјешалица: IKA–COMBIMAG RET, IKA, Њемачка

Опсег температура: 5–28°C; брзина загријавања 2°C /10 min

Прије сваке серије мјерења, калибрисати кондуктометар стандардним растворима калијум хлорида специфичне проводљивости 445  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , 1413  $\mu\text{S}/\text{cm}$  и 111,8  $\text{mS}/\text{cm}$ , континуирано мијењајући температуру у опсегу од 5°C до 28°C.

Температура сваког преципитираног раствора најприје се повећава, а онда смањује у опсегу од 28°C до 5°C, брзином од 2°C/10 min уз константно мијешање раствора брзином од  $r = 300$  rpm. Специфична проводљивост се мјери на свакој температури три пута, и то 3 min након што температура достигне стабилну жељену вриједност. Крафтова температура ( $T_K$ ) узета је као тачка у којој крива зависности специфичне проводљивости од температуре показује наглу промјену нагиба.

## 3.5. Одређивање критичне мицеларне концентрације цетилтриметиламонијум бромида у води и у смјешама воде и ацетонитрила методом стационарне флуоресцентне спектроскопије

### 3.5.1 Припрема раствора СТАВ-а

Припремити 10 mM раствор пирена у ацетонитрилу, а потом га разблажити водом, односно смјешом ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V) тако да се добије раствор пирена концентрације 1  $\mu\text{M}$ . Раствори пирена концентрације 1  $\mu\text{M}$  користе се као растварач за припрему основног раствора СТАВ-а концентрације 10 mM како би се добили испитивани раствори одређених концентрација (табела 2).

**Табела 2.** Припрема раствора *СТАВ*-а, температуре и концентрације раствора за спектрофлуориметријско одређивање КМК

<b>Растварач</b>	<b>Температура</b>	<b>Концентрација раствора <i>СТАВ</i>-а</b>
1 $\mu\text{M}$ пирен у води	25°C	0,2 – 1,8 mM (инкремент 0,2 mM)
1 $\mu\text{M}$ пирен у смјеси ацетонитрил-вода 10:90, V/V	25°C	0,2 – 2,8 mM (инкремент 0,2 mM)
1 $\mu\text{M}$ пирен у смјеси ацетонитрил-вода 10:90, V/V	18°C	0,2 – 1,8 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	
1 $\mu\text{M}$ пирен у смјеси ацетонитрил-вода 15:85, V/V	25°C	0,2 – 3,2 mM (инкремент 0,2 mM)
1 $\mu\text{M}$ пирен у смјеси ацетонитрил-вода 15:85, V/V	18°C	0,2 – 1,8 mM и 2,2 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	0,2 – 2,6 mM (инкремент 0,2 mM)
1 $\mu\text{M}$ пирен у смјеси ацетонитрил-вода 20:80, V/V	18°C	0,4 – 5,6 mM (инкремент 0,2 mM)
	22°C	
	25°C	

### 3.5.2 Експериментални услови за мјерења методом стационарне флуоресцентне спектроскопије

Спектрофлуориметар: F13-221 P, JobinYvon, Француска

Извор ексцитације: ксенонска лампа јачине 450W

Детектор: фотомултипликаторска цијев

Ексцитациони и емисиони разрез: 1 nm

Мјерна температура: 18 °C, 22 °C или 25 °C (исто као у табели 2 у поглављу 3.5.1)

Таласна дужина ексцитације: 335 nm

Опсег снимања спектра: 350–500 nm

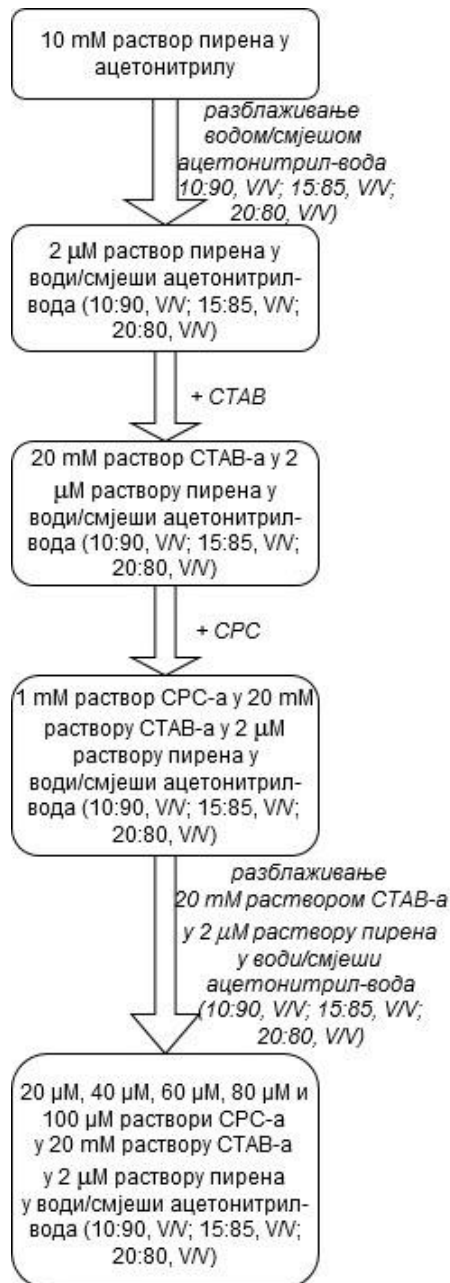
Брзина снимања спектра: 60 nm min<sup>-1</sup>

Мјерења су изведена на константној температури коришћењем Пелтиеровог елемента. Експериментална грешка температуре износила је  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ . Снимљен је флуоресцентни спектар раствора СТАВ-а различитих концентрација у 1  $\mu\text{M}$  раствору пирена у води, односно у 1  $\mu\text{M}$  раствору пирена у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V) на одређеној температури. Прва и трећа вибрациона трака флуоресцентног спектра пирена појављују се на таласним дужинама од 373 nm и 384 nm, а интензитети флуоресценције ових трака ( $I_1$  и  $I_3$ ) користе се за израчунавање КМК.

## 3.6 Одређивање агрегационог броја ( $N_{ag}$ ) цетилтриметиламонијум бромида у води и у смјешама воде и ацетонитрила

### 3.6.1 Припрема раствора СТАВ-а

Припрема раствора за спектрофлуориметријско одређивање  $N_{ag}$  СТАВ-а у води и у смјешама воде и ацетонитрила је вишестепени процес и шематски је приказан на слици 13. Припремити 10 mM раствор пирена у ацетонитрилу, а потом га разблажити водом, односно смјешом ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V) тако да се добије раствор пирена концентрације 2  $\mu\text{M}$ . Овако разблажен раствор пирена користи се за припрему 20 mM раствора СТАВ-а у води, односно у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V). Затим, ови раствори користе се како за припрему основног раствора цетилпиридинијум хлорида (CPC) концентрације 1 mM, тако и за припрему радних раствора CPC концентрација 20  $\mu\text{M}$ , 40  $\mu\text{M}$ , 60  $\mu\text{M}$ , 80  $\mu\text{M}$  и 100  $\mu\text{M}$ .



**Слика 13.** Шематски приказ поступка за припрему радних раствора *CPC*-а за спектрофлуориметријско одређивање агрегационог броја *СТАВ*-а у води и у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V)



### 3.6.2 Експериментални услови за мјерења методом стационарне флуоресцентне спектроскопије (метода гашења флуоресценције)

Спектрофлуориметар: F13-221 P, JobinYvon, Француска

Извор ексцитације: ксенонска лампа јачине 450W

Детектор: фотомултипликаторска цијев

Ексцитациони и емисиони разрез: 1 nm

Мјерна температура: 18,0°C и 22,0°C (за одређивање  $N_{ag}$  CTAB-а у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V)); 25,0°C (за одређивање  $N_{ag}$  CTAB-а у води и у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V))

Таласна дужина ексцитације: 335 nm

Опсег снимања спектра: 350-500 nm

Брзина снимања спектра: 60 nm min<sup>-1</sup>

Мјерења су изведена на константној температури коришћењем Пелтиеровог елемента. Експериментална грешка температуре износила је  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ . Снимљен је флуоресцентни спектар раствора који имају константну концентрацију CTAB-а и пирена и растуће концентрације CPC-а (0  $\mu\text{M}$ , 20  $\mu\text{M}$ , 40  $\mu\text{M}$ , 60  $\mu\text{M}$ , 80  $\mu\text{M}$  и 100  $\mu\text{M}$ ) у води, односно у одговарајућој смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V; 15:85, V/V; 20:80, V/V) на одређеној температури. Прва и трећа вибрациона трака флуоресцентног спектра пирена појављују се на таласним дужинама од 373 nm и 384 nm, а интензитети флуоресценције ових трака ( $I_1$  и  $I_3$ ) користе се за израчунавање агрегационог броја ( $N_{ag}$ ).

### 3.7 Испитивање ретенционог понашања анализата у мицеларном хроматографском систему са цетилтриметиламонијум бромидом у смјешама ацетонитрила и воде

#### 3.7.1 Припрема раствора анализата

Припремити-основне растворе анализата: ацетилсалицилне киселине, бензојеве киселине, аскорбинске киселине, сулфацетамида, пара-аминобензојеве киселине, ампицилина, амоксицилина, салицилне киселине, фуросемида, фенобарбитона и референтног једињења антипирина, концентрације  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  у смјеши 80% воденог раствора 3 mM СТАВ-а и 20% ацетонитрила. Истим растварачем растворе разблажити како би се добили радни раствори анализата и референтног једињења антипирина концентрације  $100 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ .

#### 3.7.2 Хроматографски услови

Хроматограф: *Waters Breeze, Waters Corporation, САД*

Пумпа: *Waters 1525 Binary HPLC Pump, Waters Corporation, САД*

Детектор: *Waters 2487 UV/VIS dual absorbance detector, Waters Corporation, САД*

Колона: *Hypersil GOLD™ C18 column* (величина честица износи  $5 \text{ } \mu\text{m}$ , димензије колоне износе  $150 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ )

Запремина инјекционе петље:  $20 \text{ } \mu\text{L}$  (инјектовање у дупликату)

Температура колоне:  $25 \text{ } ^\circ\text{C}$

Проток мобилне фазе:  $1 \text{ mL/min}$

Таласна дужина детекције:  $254 \text{ nm}$

Мобилне фазе:

А: смјеша ацетонитрила и воденог раствора СТАВ-а концентрације 20 mM и 40 mM (10:90, V/V), рН вриједност 2,5, 3,5, 4,5, 5,5, 6,5 и 7,5 подешена концентрованом хлороводоничном киселином и 10 M калијум-хидроксидом

В: смјеша ацетонитрила и воденог раствора СТАВ-а концентрације 20 mM и 40 mM (20:80, V/V), рН вриједност 2,5, 3,5, 4,5, 5,5, 6,5 и 7,5 подешена концентрованом хлороводоничном киселином и 10 M калијум-хидроксидом.

#### 3.7.3 *In silico* анализа структурних карактеристика молекула које утичу на њихово хроматографско понашање

Анализа структурних карактеристика анализата које утичу на њихово ретенционо понашање спроведена је у програму CODESSA [144]. За свако једињење у протониваном облику генерисано је 300 случајних конформера чија геометрија

задовољава ограничења међуатомске удаљености, алгоритмом имплементираним у *RDKit* библиотекама [145]. Геометрија сваког конформера итеративно је оптимизирана до конвергенције енергије у *MMFF94s* пољу сила. Конформер са најнижом енергијом је затим оптимизиран примјеном *MOPAC 7.0* [146], *AM1* семи-емпиријском методом, и коришћен за израчунавање преко 400 молекуларних дескриптора у програму *CODESSA*. Почетни број дескриптора смањен је изостављањем међусобно високо корелираних дескриптора ( $R > 0,9$ ), затим, дескриптора са малом вриједношћу варијансе ( $< 5\%$ ), као и дескриптора за које програм *CODESSA* није дао вриједности приликом израчунавања. Статистички најзначајнији дескриптори идентификовани су линеарном регресијом у програму *CODESSA*.

## 4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### 4.1 Математичке методе за одређивање КМК СТАВ-а у води и у смјеси ацетонитрил-вода из кондуктометријски добијених података

У овом поглављу разматрана је примјена различитих математичких метода: Вилијамсове (класичне) методе, методе диференцирања (методе првог извода и Филипсове методе) и методе интегралања (Карпенове методе) за одређивање КМК СТАВ-а у води и у смјешама ацетонитрила и воде. Дати су резултати одређивања КМК, као и степен јонизације мицеле ( $\alpha$ ) СТАВ-а у води на температури  $t = 25,0^\circ\text{C}$  и СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 20,0^\circ\text{C}$ , као репрезентативних примјера за поређење различитих математичких метода примијењених на експерименталне податке,  $\kappa$ - $c_S$ , који се добијају из кондуктометријских мјерења.

#### 4.1.1 Одређивање КМК СТАВ-а у води

*Вилијамсова метода.* На слици 14(а) приказана је експериментално добијена зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације СТАВ-а у води,  $c_S$  на температури  $t = 25,0^\circ\text{C}$ . График зависности  $\kappa = f(c_S)$  је дисконтинуална крива, која се састоји из два сегмента – предмицеларног и постмицеларног. Тачка пресека правих добијених линеаризацијом  $\kappa$ - $c_S$  података који припадају овим сегментима (поглавље 1.3.1.1), одређује вриједност КМК [104, 108, 149–153].

Експериментални подаци, који припадају предмицеларном сегменту (испод КМК) и постмицеларном сегменту (изнад КМК), фитовани су методом најмањих квадрата у двије линеарне једначине:

предмицеларни сегмент,

$$\kappa = 3,0 (\pm 0,81) + 123,8 (\pm 1,45) c_S \quad (45)$$

$$(r^2 = 0,9995, p < 0,001)$$

постмицеларни сегмент,

$$\kappa = 72,4 (\pm 0,66) + 47,3 (\pm 0,49) c_S \quad (46)$$

$$(r^2 = 0,9996, p < 0,001)$$

Примијењена линеарна регресиона анализа експерименталних података, показује да се добија одлична линеарност у испитиваном опсегу концентрација сурфактанта ( $r^2 \geq 0,9995$ ). Рјешавањем једначина (45) и (46) по концентрацији сурфактанта  $c_S$ , добијена је

тачка пресека (сингуларна тачка), која одговара КМК и износи 0,907 mM. Прецизност одређивања КМК дата је стандардном грешком и износи 0,04 mM.

Такође, одређен је степен јонизације  $\alpha$  мицеле из количника нагиба постмицеларног и предмицеларног сегмента и добијена је вриједност 0,38, док стандардна грешка одређивања  $\alpha$  износи 0,01.

*Метода првог извода.* На слици 14(б) приказан је први извод специфичне проводљивости по концентрацији СТАВ-а,  $dk/dc_s$  у функцији концентрације СТАВ-а,  $c_s$ . Према овој методи [73], експериментални подаци су фитовани у сигмоидну криву описану једначином Болцмановог типа (једначина 9, поглавље 1.3.1.1), а добијена вриједност КМК износи 0,900 mM, док је  $\alpha$  0,37.

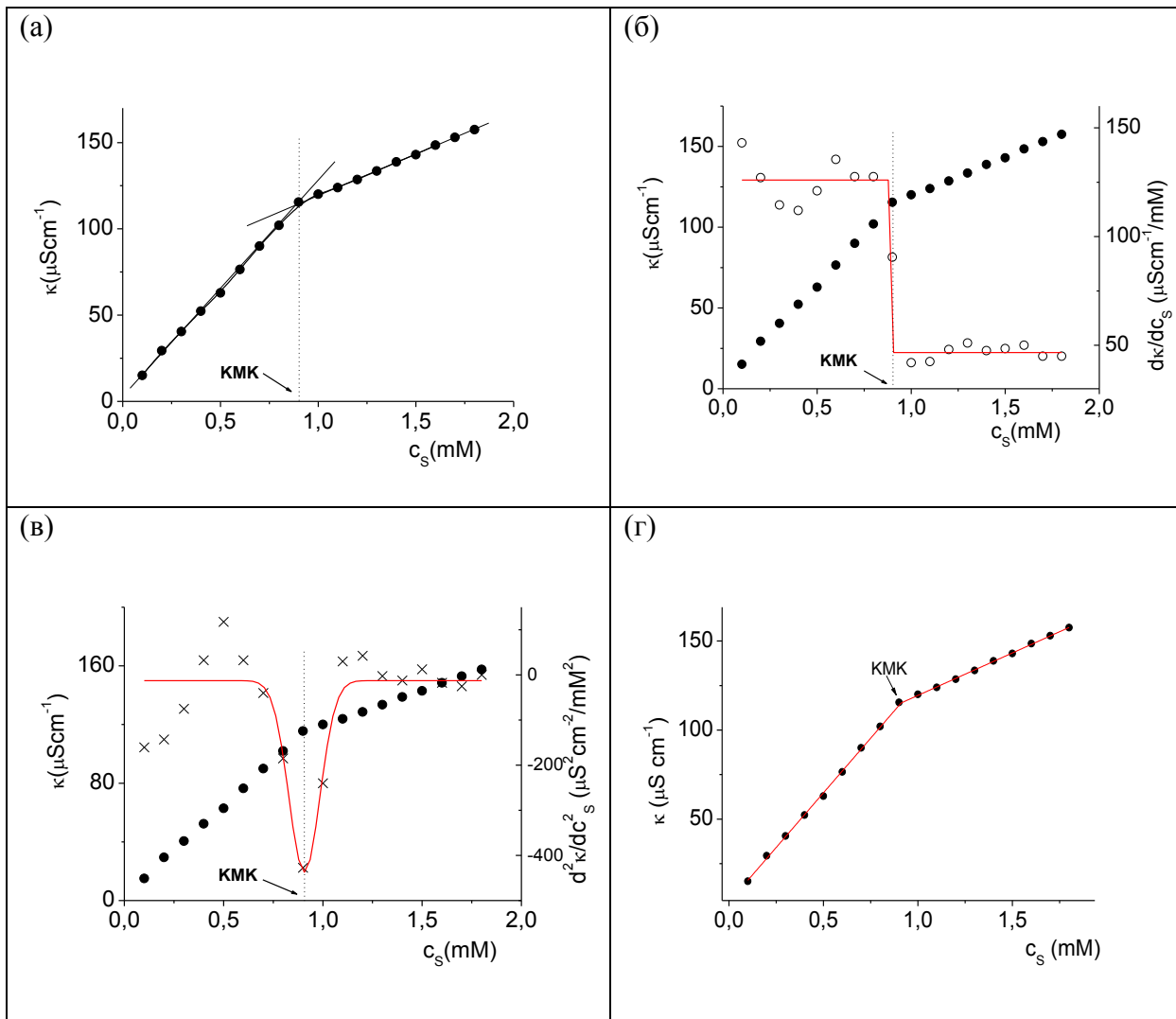
*Метода другог извода* (Филипсова метода). На слици 14(в) приказан је други извод специфичне проводљивости по концентрацији СТАВ-а,  $d^2k/dc_s^2$  у функцији концентрације СТАВ-а,  $c_s$ . Према овој методи [106, 154, 155], добијени експериментални подаци,  $k-c_s$  фитују се у Гаусову једначину (једначина 12, поглавље 1.3.1.1), а добијена вриједност КМК износи 0,907 mM, док је стандардна грешка одређивања КМК 0,016 mM.

*Карпенова метода.* На слици 14(г) приказана је крива добијена фитовањем експериментално добијених података  $k-c_s$  у једначину (13), поглавље 1.3.1.1.

Према овој методи [107], уколико први извод,  $dk/dc_s$ , добијених експерименталних података, одговара сигмоидној функцији Болцмановог типа, онда ће експериментално добијени подаци,  $k-c_s$ , одговарати интегралном облику сигмоидне криве. Овако добијена КМК износи 0,911 mM, док је стандардна грешка одређивања КМК 0,013 mM. Степен јонизације мицеле  $\alpha$  износи 0,39, а стандардна грешка одређивања  $\alpha$  је 0,01.

Водени раствор СТАВ-а на  $t = 25,0$  °C, јесте примјер мицеларног система код кога се, захваљујући великој промјени специфичне проводљивости на прелазу из предмицеларног у постмицеларни опсег концентрација СТАВ-а, тј. великој разлици у нагибима правих које припадају овим сегментима, КМК и  $\alpha$  могу прецизно одредити

класичном (Вилијамсовом) методом, као и примјеном сложенијих математичких метода (методе диференцирања и интеграљења). Такође, КМК *СТАВ*-а у води на  $t = 25,0^{\circ} \text{C}$  добијена из кондуктометријских мјерења одговара вриједностима КМК објављеним у литератури, а које се у зависности од применијене методе одређивања налазе у опсегу 0,88–1,02 mM [58, 107, 115, 116, 124, 149, 156–160].



**Слика 14.** Зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације воденог раствора *СТАВ*-а,  $c_s$  ( $t = 25,0$  °C) и одређивање КМК различитим методама анализе  $\kappa$ - $c_s$  података: (а) Вилијамсова метода, (б) метода првог извода (крива Болцмановог типа), (в) Филипсова метода (крива Гаусовог облика), (г) Карпенова метода (интегрални облик сигмоидне криве Болцмановог типа); ● означава експериментално добијене податке, ○ означава први извод  $\kappa$ - $c_s$  података, × означава други извод  $\kappa$ - $c_s$  података.

На основу резултата добијених примјеном различитих математичких метода, запажа се да нема значајне разлике између КМК вриједности одређених помоћу ове четири методе што показује релативна стандардна девијација (*RSD*) од 0,5%.

## 4.1.2 Одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V)

*Вилијамсова метода.* На слици 15(a), приказана је експериментално добијена зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације СТАВ-а у бинарној смјеси ацетонитрил-вода,  $c_S$  на  $t = 20,0^\circ\text{C}$ .

Експериментални подаци  $\kappa$ - $c_S$ , који припадају предмицеларном сегменту (испод КМК) и постмицеларном сегменту (изнад КМК), фитују се методом најмањих квадрата у двије линеарне једначине:

предмицеларни сегмент,

$$\kappa = -8,5 (\pm 1,10) + 80,5 (\pm 0,53) c_S \quad (47)$$

$$(r^2 = 0,9997, p < 0,001)$$

постмицеларни сегмент,

$$\kappa = 67,8 (\pm 7,41) + 59,9 (\pm 1,61) c_S \quad (48)$$

$$(r^2 = 0,9978, p < 0,001)$$

Примјеном линеарне регресионе анализе експерименталних података добијена је одлична линеарност у испитиваном опсегу концентрација сурфактанта ( $r^2 \geq 0,9995$ ). Рјешавањем једначина (47) и (48) по концентрацији сурфактанта  $c_S$ , добијена је тачка пресјека (сингуларна тачка), која одговара КМК и износи 3,706 mM (означена као КМК<sub>1</sub> на слици 15a), док је стандардна грешка одређивања КМК 0,789 mM. Степен јонизације мицеле износи 0,74, а стандардна грешка одређивања  $\alpha$  износи 0,03.

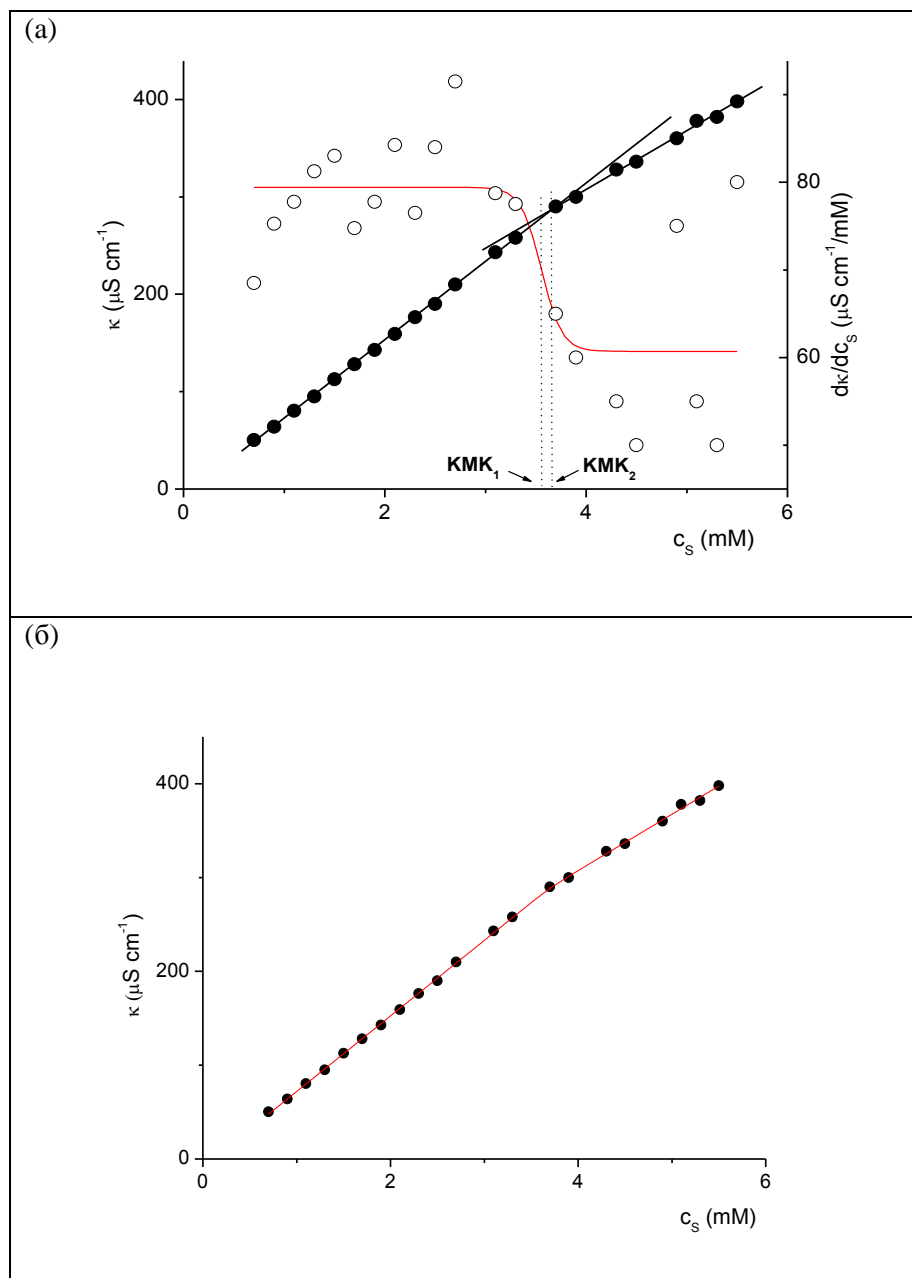
*Метода првог извода.* На слици 15(a) такође је приказан први извод специфичне проводљивости по концентрацији СТАВ-а,  $d\kappa/dc_S$  у функцији концентрације СТАВ-а,  $c_S$ . Добијени експериментални подаци фитовани су у сигмоидну криву дефинисану једначином Болцмановог типа (једначина 9, поглавље 1.3.1.1), а добијена вриједност КМК износи 3,556 mM (означена као КМК<sub>2</sub> на слици 15a), док је стандардна грешка одређивања КМК 0,319 mM. Степен јонизације мицеле износи 0,76, а стандардна грешка одређивања  $\alpha$  је 0,07.

*Метода другог извода.* Ова математичка процедура не може се применијени за одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода, с обзиром на малу промјену специфичне проводљивости овог мицеларног система на прелазу из предмицеларног у



постмицеларни опсег концентрација СТАВ-а, тј. малу разлику у нагибима правих које припадају овим сегментима.

*Карпенова метода.* Добијени експериментални подаци  $\kappa-c_S$  директно су фитовани у једначину (13), поглавље 1.3.1.1, те је добијена крива приказана на слици 15(б). КМК добијена овом методом износи 3,699 mM, док је стандардна грешка одређивања КМК 0,125 mM. Степен јонизације мицеле износи 0,75, док је стандардна грешка одређивања овог параметра 0,03.



**Слика 15.** Зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације *СТАВ*-а,  $c_S$  у бинарној смјеси ацетонитрил–вода (20:80,  $V/V$  на  $t = 20,0$  °C) и одређивање КМК различитим математичким методама анализе  $\kappa$ – $c_S$  података: (а) Вилијамсова метода и метода првог извода (крива Болцмановог типа) и (б) Карпенова метода (интегрални облик сигмоидне криве Болцмановог типа); ● означава експериментално добијене податке, ○ означава први извод  $\kappa$ – $c_S$  података;  $\text{КМК}_1$  – критична мицеларна концентрација одређена Вилијамсовом методом,  $\text{КМК}_2$  – критична мицеларна концентрација одређена методом првог извода.

Насупрот воденом раствору *СТАВ*-а на  $t = 25,0$  °C, раствор *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0$  °C не показује велику промјену специфичне проводљивости на прелазу између предмицеларног и постмицеларног сегмента. Код одређивања КМК *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0$  °C, уочена је значајна разлика између КМК одређених Вилијамсовом, методом првог извода и Карпеновом методом, која изражена кроз релативну стандардну девијацију износи 2,32% у поређењу са 0,5% колико износи овај параметар за одређивање КМК *СТАВ*-а у води Вилијамсовом, методом првог извода, методом другог извода и Карпеновом методом. Такође је уочено да је релативна стандардна грешка одређивања КМК *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0$  °C најмања за КМК одређену Карпеновом методом (3,0%), док овај параметар износи 21,3% и 9,0% за КМК одређену Вилијамсовом методом, односно методом првог извода.

За одређивање КМК сурфактанта из експериментално добијених података  $\kappa-c_S$  може се примјенити било која од претходно описаних метода уколико постоји велика разлика између нагиба који одговарају предмицеларном и постмицеларном сегменту криве  $\kappa-c_S$ , као што је то случај код воденог раствора *СТАВ*-а. Међутим, ријетко се користе водени раствори једног сурфактанта како у научном истраживању, тако и у пракси. Чешћи су испитивање и примјена вишекомпонентних система као што су фармацеутски и козметички препарати код којих су формулације мицеларних система много сложеније због додатка различитих ексципијенаса [161–163]. У овим сложеним мицеларним системима, често се граде мицеле са малим агрегационим бројем (великим степеном јонизације мицеле), тако да је мала промјена специфичне проводљивости са промјеном концентрације сурфактанта на прелазу из предмицеларног у постмицеларни сегмент. Стога се код вишекомпонентних мицеларних система за одређивање КМК користе или метода диференцирања (метода првог и метода другог извода) или метода интеграљења. Код мицеларног система *СТАВ*-а у бинарној смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t = 20,0$  °C, који не показује нагли прелаз између предмицеларног и постмицеларног сегмента, показано је да је метода интеграљења (Карпенова метода) најпогоднија за прецизно одређивање КМК. Предност Карпенове методе у односу на методу диференцирања је то што се КМК одређује директним фитовањем експерименталних података тако да грешка одређивања КМК потиче од

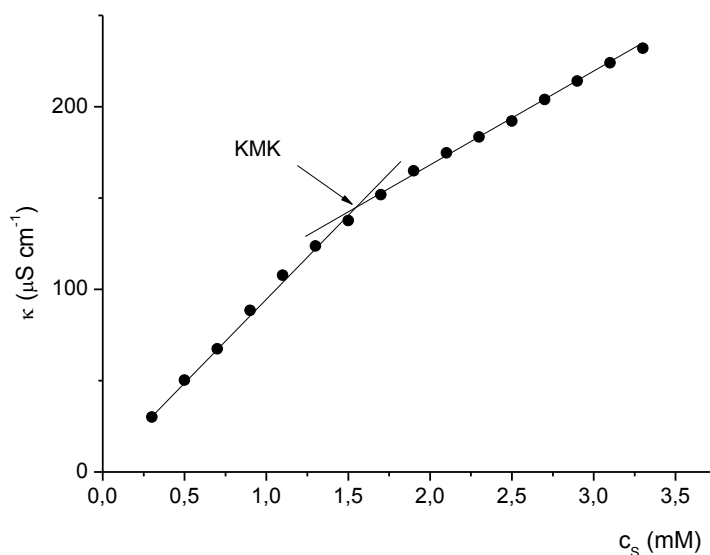
експерименталне грешке  $\kappa$ - $c_S$ , за разлику од методе диференцирања код које се експериментална грешка увећава диференцирањем експерименталних података [107].

#### 4.2 Одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода методом интегралнења (Карпенова метода)

Иако се у литератури могу наћи резултати примјене Карпенове методе за одређивање КМК неких мицеларних система [118, 164–167], до сада није дат опис свих елементарних корака за примјену ове математичке методе. Стога је у овој докторској дисертацији на примјеру СТАВ-а у смјешама ацетонитрил-вода дефинисан алгоритам за одређивање КМК из кондуктометријски добијених података за мицеларне, односно хибридне мицеларне системе код којих се мицелизација дешава у релативно широком опсегу концентрација сурфактанта.

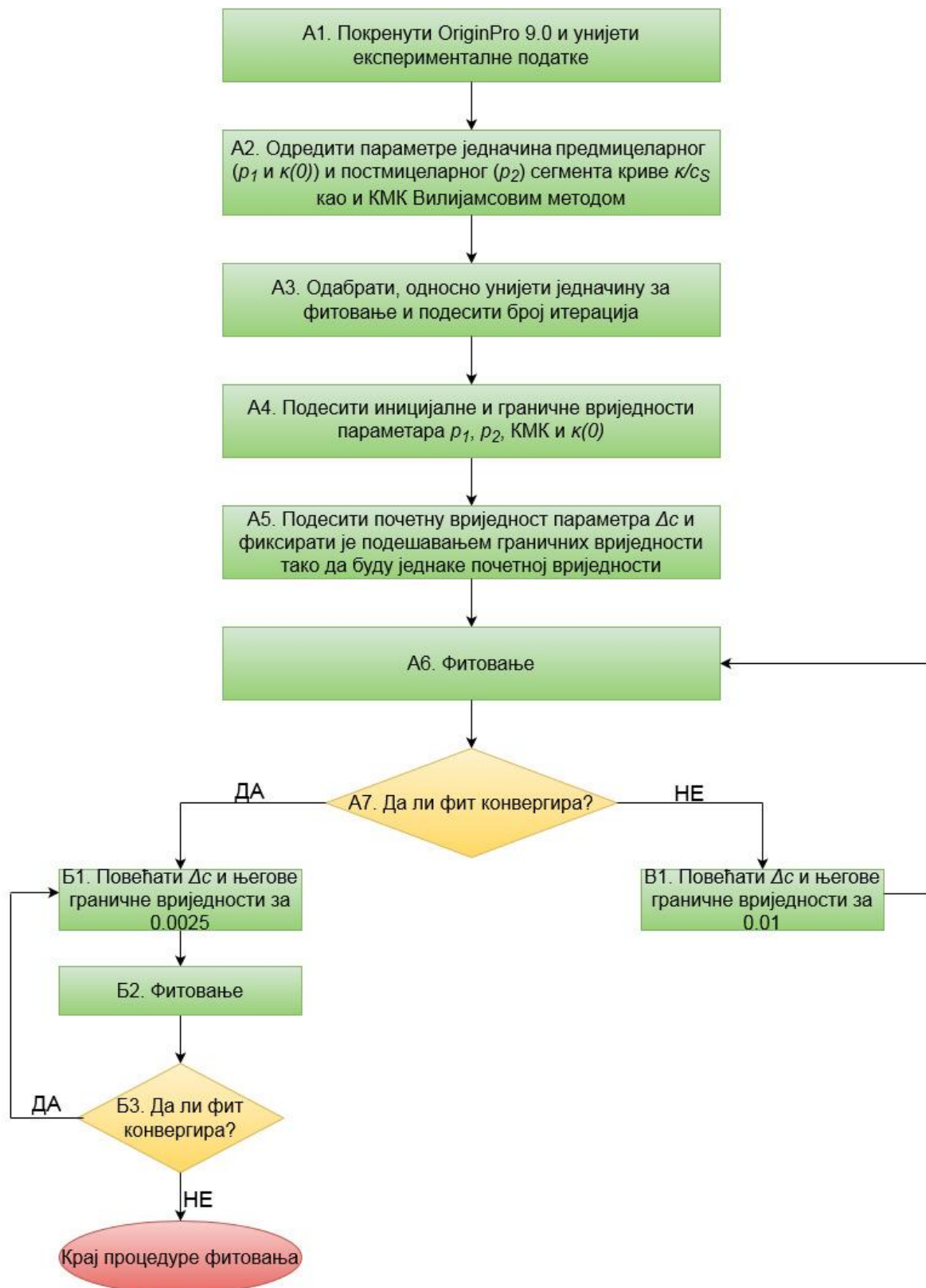
##### 4.2.1 Карпенова метода – елементарни кораци

За дефинисање алгоритма одабран је хибридни мицеларни систем СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 30,0^\circ\text{C}$ . На слици 16 приказана је зависност специфичне проводљивости,  $\kappa$  од концентрације СТАВ-а,  $c_S$ .



**Слика 16.** Зависност специфичне проводљивости ( $\kappa$ ) од концентрације СТАВ-а ( $c_S$ ) у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 30,0^\circ\text{C}$ ; КМК – критична мицеларна концентрација одређена Вилијамсовом методом (означена стрелицом)

Након детаљне разраде Карпенове методе, коришћењем математичког програма *OriginPro 9.0*, одређена је КМК из кондуктометријски добијених података за хибридни мицеларни систем, а утврђени алгоритам приказан је на слици 17.



Слика 17. Алгоритам за елементарне кораке одређивања КМК Карпеновом методом коришћењем математичког програма *OriginPro 9.0*

Експериментално добијени подаци унијети су у *OriginPro 9.0* (корак А1, слика 17) и примијењена је Вилијамсова метода како би се одредила КМК (корак А2, слика 17).

Добијене су двије линеарне једначине:

предмицеларни сегмент криве  $\kappa-c_S$ ,

$$\kappa = 4,55 (\pm 2,29) + 91,04 (\pm 2,32) c_S \quad (49)$$

$$(r^2 = 0,9984, p < 0,001)$$

постмицеларни сегмент криве  $\kappa-c_S$ ,

$$\kappa = 69,01 (\pm 2,05) + 49,78 (\pm 0,80) c_S \quad (50)$$

$$(r^2 = 0,9991, p < 0,001)$$

Рјешавањем ових једначина по  $c_S$ , добија се КМК  $1,56 (\pm 0,23)$  mM. Корак А3 (слика 17) састоји се од одабира адекватне једначине у коју се фитију подаци (једначина 13, поглавље 1.3.1.1) или уноса једначине уколико није интегрисана у *OriginPro 9.0*, као и подешавања броја итерација за фитовање на максималну вриједност. Сљедећи корак (А4, слика 17) јесте подешавање почетних и граничних вриједности параметара једначине 13 (поглавље 1.3.1.1):  $p_1$ ,  $p_2$ , КМК и  $\kappa(0)$  како би се омогућило фитовање. Почетне вриједности за фитовање одговарају вриједностима параметара добијених Вилијамсовом методом у кораку А2, које за овај мицеларни систем износе:  $p_1 = 91,04$ ,  $p_2 = 49,78$ , КМК =  $1,56$  mM и  $\kappa(0) = 4,55$ ; граничне вриједности подешавају се тако да су у опсегу  $\pm 10\%$  у односу на почетну вриједност одговарајућег параметра. Гранични опсег вриједности подешен за ове параметре једначине (13), може бити и шири с обзиром на то да је емпиријски утврђено да проширење опсега не утиче на вриједности добијеног фита. Пошто је приликом фитовања установљено да за разлику од осталих параметара једначине (13), параметар  $\kappa(0)$  трпи велике релативне промјене са сваком сљедећим циклусом фитовања, његове граничне вриједности треба да буду постављене у широком опсегу, од негативне до позитивне вриједности. Почетне вриједности параметара  $p_1$ ,  $p_2$ , КМК и  $\kappa(0)$  немају значајан утицај на вриједност КМК добијену фитовањем, што није случај са  $\Delta c$  [168]. Из тог разлога почетне вриједности  $p_1$ ,  $p_2$ , КМК и  $\kappa(0)$  остају исте за сваки циклус фитовања, док се вриједност  $\Delta c$  мијења по принципу један циклус фитовања – једна вриједност  $\Delta c$  (корак А5, слика 17). Вриједност овог параметра се фиксира у сваком циклусу фитовања, подешавањем једнаких граничне и почетне вриједности, тако да се добија серија фитова, по један за сваку фиксирану вриједност  $\Delta c$ . Потребно је анализирати што већи број фитова за различите  $\Delta c$  вриједности како би се пронашао један, који одговара кривој на слици 16. За мицеларни систем СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 30,0^\circ\text{C}$  најмања вриједност

$\Delta c$  са којом је имало смисла почети фитовање (корак А6, слика 17) била је 0,01. Даље је процес фитовања настављен повећавањем  $\Delta c$  за одређени инкремент, пратећи кораке Б1, односно В1 са слике 17. У зависности од тога да ли фит конвергира или не, постоје двије могућности за даље фитовање: (1) уколико фит конвергира, онда се за наредни фит  $\Delta c$  повећава за мањи инкремент, а у овом случају 0,0025 (корак Б1, слика 17) и (2) уколико фит не конвергира, онда се за сљедећи фит  $\Delta c$  повећава за већи инкремент, а у овом случају за 0,01 (корак В1, слика 17). У оба случаја наставља се са фитовањем након што се подеси и фиксира нова  $\Delta c$  вриједност. Након сваког циклуса фитовања, установи се да ли фит конвергира или не (кораци Б3 и А7, слика 17) и у зависности од тога поступа се према алгоритму – наставља се фитовање повећавајући  $\Delta c$  за одређени инкремент, или се обуставља поступак фитовања.

Након већег броја циклуса фитовања, уочен је опсег вриједности  $\Delta c$  у којем су добијени фитови који не конвергирају,  $0,01 \leq \Delta c \leq 0,20$ , и поред тога што је током фитовања број итерација подешен на максимални, као и опсег у којем конвергирају,  $0,21 \leq \Delta c \leq 0,32$ . Почетне вриједности  $\Delta c$  су повећаване сукцесивно све до поновног достизања вриједности за коју фит не конвергира ( $\Delta c = 0,3225$ ).

#### 4.2.2 Поступак избора одговарајућег фита

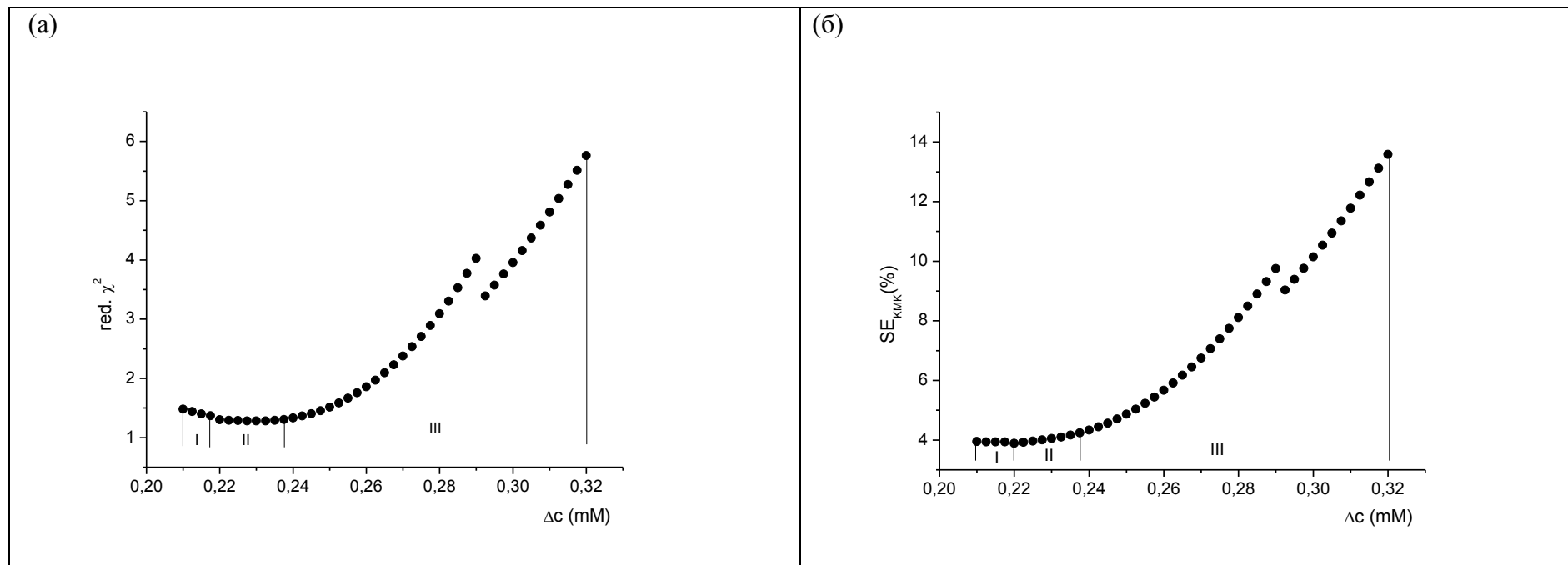
Након бројних, претходно описаних циклуса, добија се серија фитова, те се поставља питање који од њих најбоље описује функционалну зависност  $\kappa = f(c_s)$ . У ову сврху неопходно је анализирати добијене параметре за сваки фит: коефицијент корелације ( $r^2$ ), редуковану "ши" квадратну вриједност (енг. *reduced chi-square* - *red.  $\chi^2$* ) и стандардну грешку одређивања КМК ( $SE_{КМК}$ ). Како је  $r^2 > 0,999$  за сваки фит, било да конвергира или не, овај параметар није даље разматран као релевантан за одабир одговарајућег фита. С друге стране, од значаја је параметар *red.  $\chi^2$*  [169], јер управо он одражава слагање између „улазних“ и „излазних“ података, односно експерименталних података и података добијених фитовањем:

$$red. \chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N [\kappa_i - \kappa_i^{approx}]^2}{N} \quad (51)$$

гдје је:  $N$  – број експериментално добијених тачака,  $\kappa_i$  – специфична проводљивост добијена експериментално и  $\kappa_i^{approx}$  – апроксимирана вриједност специфичне проводљивости за дате концентрације сурфактанта. Статистички параметри фитовања



*red.*  $\chi^2$  и  $SE_{KMK}$ , исказана као релативна стандардна грешка одређивања КМК  $SE_{KMK}(\%)$ , приказани су у функцији почетних фиксираних вриједности  $\Delta c$  на слици 18.



**Слика 18.** Зависност параметра  $red. \chi^2$  (а) и релативне стандардне грешке одређивања КМК ( $SE_{KMK}(\%)$ ) (б) од почетних фиксираних вриједности ширине прелаза ( $\Delta c$ ). I, II, III означавају области са различитим трендом промјене  $red. \chi^2$  и  $SE_{KMK}(\%)$ .

У циљу одређивања КМК, анализирана је зависност  $red. \chi^2$  од  $\Delta c$  у интервалу у којем фитови конвергирају ( $0,21 \leq \Delta c \leq 0,32$ ). Запажена су три сегмента на графику  $red. \chi^2 - \Delta c$  зависности (слика 18а): први (I), у којем се  $red. \chi^2$  незнатно смањује са повећањем  $\Delta c$  ( $0,2100 \leq \Delta c \leq 0,2175$ ), други (II), у којем  $red. \chi^2$  има приближно константну вриједност ( $0,2200 \leq \Delta c \leq 0,2375$ ), и трећи (III), у којем се  $red. \chi^2$  повећава са повећањем  $\Delta c$  ( $\Delta c > 0,2375$ ).

За тачно одређивање КМК, неопходно је размотрити и зависност  $SE_{КМК} - \Delta c$  (слика 18б) у опсегу у којем фитови конвергирају ( $0,21 \leq \Delta c \leq 0,32$ ). Вриједности  $SE_{КМК}$ , изражене као релативна стандардна грешка  $SE_{КМК}(\%)$ , прихватљиве су уколико износе  $\pm 5\%$  вриједности КМК добијене за одређени фит. Ове вриједности  $SE_{КМК}$  добијене су у сегменту II за опсег  $0,2200 \leq \Delta c \leq 0,2375$ , док се за  $\Delta c > 0,2375$ , вриједности  $SE_{КМК}$  повећавају. Сегмент II (слика 18б) јесте опсег избора, у којем треба испитати релативну стандардну девијацију одређивања КМК ( $RSD_{КМК}$ ) и релативну стандардну девијацију одређивања  $\alpha$  ( $RSD_\alpha$ ) јер су управо КМК и  $\alpha$  параметри зависни од  $\Delta c$ . Добијена  $RSD_{КМК}$  је  $0,05\%$ , а  $RSD_\alpha$  износи  $0,14\%$  (табела 3) што значи да у опсегу  $0,2200 \leq \Delta c \leq 0,2375$ , може бити изабрана било која вриједност КМК и  $\alpha$ .

**Табела 3.** Одабрани параметри фита добијени за вриједности ширине прелаза ( $\Delta c$ ) из опсега II  $0,2200 \leq \Delta c \leq 0,2375$  (слика 18)

$\Delta c$ (mM)	КМК (mM)	$\alpha$ ( $p_2/p_1$ )	$red.$ $\chi^2$	$SE_{КМК}$ (%)
0,2200	1,450	0,493	1,301	3,89
0,2225	1,449	0,492	1,293	3,92
0,2250	1,449	0,492	1,288	3,96
0,2275	1,448	0,492	1,284	4,00
0,2300	1,448	0,491	1,282	4,05
0,2325	1,448	0,491	1,283	4,10
0,2350	1,448	0,491	1,290	4,16
0,2375	1,449	0,492	1,307	4,24
	$RSD_{КМК}=0,05\%$	$RSD_\alpha=0,14\%$		

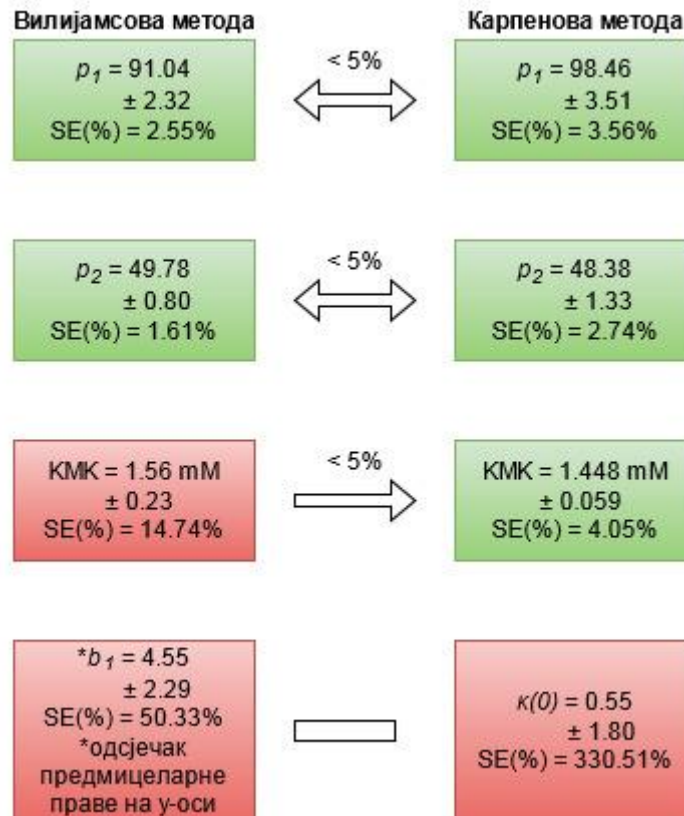
#### 4.2.3 Додатна разматрања

Иако Карпенова једначина (једначина 13, поглавље 1.3.1.1) у коју се фитују експериментално добијени подаци садржи пет параметара за фитовање ( $\kappa(0)$ ,  $p_1$ ,  $p_2$ ,  $c_0$  (КМК) и  $\Delta c$ ), препоручује се фитовање четири параметра тако што се  $\Delta c$  фиксира за сваки фит. Наиме, ширина прелаза  $\Delta c$  је једини параметар чија се вриједност не може предвидјети неком једноставнијом методом, за разлику од остала четири параметра чије се почетне вриједности за фитовање могу одредити Вилијамсовом методом. Осим тога, емпиријски је показано да уколико  $\Delta c$  вриједност није фиксирана, већ подешена као и остали параметри, математички програм *OriginPro* даје само један фит, односно једну КМК, те се на тај начин смањује поузданост методе. Насупрот томе, уколико се омогући добијање што већег броја фитова, односно вриједности КМК, може се одабрати узак опсег КМК у којем се овај параметар утврђује са прихватљивом поузданошћу дефинисаном преко статистичких параметара фитовања: *red.  $\chi^2$* , који има минималне и приближно константне вриједности у одређеном опсегу  $\Delta c$ , и  $SE_{\text{КМК}}(\%)$ , која је у опсегу  $\pm 5\%$  од вриједности КМК.

С обзиром на то да се не може тачно предвидјети вриједност  $\Delta c$ , али и да су вриједности  $\Delta c$  за *СТАВ* у води и *СТАВ* у смјеси ацетонитрил-вода различите, поставља се питање коју вриједност одабрати за мицеларне системе у води. Како зависност  $\kappa-c_s$  за водене мицеларне растворе показује такозвани оштар прелаз између предмицеларног и постмицеларног сегмента, препоручује се да се при одређивању КМК Карпеновом методом помоћу алгоритма на слици 17, фитовање почне са вриједности  $\Delta c$  која је мања од  $\Delta c$  предложеног за претходно дискутован примјер мицеларног система *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V); на примјер, почети фитовање са  $\Delta c = 0,0025$ .

Једно од питања је и да ли је параметар *red.  $\chi^2$*  заиста најбољи индикатор за поуздан одабир фита. Чињеница је да коришћење овог статистичког параметра за тумачење поузданости одабраног фита има недостатке који се односе на број степена слободe за нелинеарне моделе, као и то да на вриједност овог параметра може утицати величина узорка. Међутим, на примјеру примјене Карпенове методе на систем *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) показано је да, за разлику од  $r^2$  које се не мијења кроз процедуру фитовања, *red.  $\chi^2$*  зависи од  $\Delta c$  и показује најбоље слагање (конвергенцију) у одређеном опсегу  $\Delta c$ .

Предности примјене Карпенове методе у односу на Вилијамсову методу показане су на примјеру *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, *V/V*) на  $t = 30,0^{\circ}\text{C}$ . У циљу поређења ове двије методе, одабрани параметри фитовања добијени Вилијамсовом, односно Карпеновом методом приказани су са одговарајућим релативним стандардним грешкама ( $SE(\%)$ ) на слици 19.



**Слика 19.** Упоредни приказ одабраних параметара ( $p_1$ ,  $p_2$ , КМК и  $b_1$ , односно  $\kappa(0)$ ) и одговарајућих релативних стандардних грешака ( $SE(\%)$ ) добијених примјеном Вилијамсове и Карпенове методе за одређивање КМК *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, *V/V*); за одређену вриједност датог параметра, прихватљиву грешку одређивања: а) дају обје методе (означено  $\longleftrightarrow$ ), б) даје Карпенова метода (означено  $\longrightarrow$ ) и в) не даје ни Вилијамсова ни Карпенова метода (означено  $\square$ );  $p_1$  - нагиб предмицеларног сегмента криве  $\kappa=f(c_S)$ ,  $p_2$  - нагиб постмицеларног сегмента криве  $\kappa=f(c_S)$ , КМК - критична мицеларна концентрација,  $b_1$  - одсјечак праве која одговара предмицеларном сегменту криве  $\kappa=f(c_S)$  на у-оси,  $\kappa(0)$  - константа интегралања.

Грешке одређивања нагиба правих добијених линеаризацијом  $\kappa-c_s$  података који припадају предмицеларном и постмицеларном опсегу концентрација *СТАВ*-а, изражене као  $SE(\%)$ , а добијене Вилијамсовом и Карпеновом методом, су у границама прихватљивости; обје методе дају  $SE(\%)$  мање од 5%. С друге стране, посматрајући  $SE(\%)$  за КМК добијене овим двјема методама, мора се дати предност Карпеновој методи јер је грешка одређивања КМК Карпеновом методом мања од 5%, док је  $SE(\%)$  за КМК добијену Вилијамсовом методом већа од 5%. За обје методе добијена је вриједност  $SE(\%)$  вишеструко већа од 5%, колико износи прихватљива грешка одређивања, за одсјечак предмицеларне праве на у-оси (параметар  $b_1$  за Вилијамсову методу), односно за вриједност специфичне проводљивости када је концентрација сурфактанта једнака нули (параметар  $\kappa(0)$  за Карпенову методу) (слика 19). Велика вриједност грешке  $SE(\%)$  добијена у случају Вилијамсове методе, може се објаснити чињеницом да вриједност одсјечка на у-оси, зависи од броја тачака изабраних за линеарно фитовање  $\kappa-c_s$  података, који припадају предмицеларном сегменту. С друге стране, у случају Карпенове методе, иако неки аутори [107, 169] сугеришу да  $\kappa(0)$  физички представља специфичну проводљивост при концентрацији сурфактанта једнакој нули, мора се узети у обзир да је једначина 13 (поглавље 1.3.1.1), добијена интеграљењем, те стога  $\kappa(0)$  представља константу интеграљења, а као таква подложна је значајним промјенама. Такође, емпиријски је утврђено да  $\kappa(0)$  за разлику од осталих параметара, подлијеже већим промјенама у сваком сљедећем циклусу фитовања, тако да то може бити узрок мале поузданости у одређивању овог параметра.

## 4.2.4 Верификација предложеног алгоритма

а) Мицеларни систем 1: СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 18,0^{\circ}\text{C}$

- Примјена Вилијамсове методе:

једначина предмицеларног сегмента криве  $\kappa-c_S$ :

$$\kappa = 4,9 (\pm 0,75) + 75,9 (\pm 1,37) c_S \quad (52)$$

$$(r^2 = 0,9990, p < 0,001)$$

једначина постмицеларног сегмента криве  $\kappa-c_S$ :

$$\kappa = 54,9 (\pm 1,08) + 20,1 (\pm 1+0,76) c_S \quad (53)$$

$$(r^2 = 0,9943, p < 0,001)$$

$$\text{КМК} = 0,89 \pm 0.067 \text{ mM}$$

- Почетне вриједности за фитовање Карпеновом методом:

$$p_1 = 75,9$$

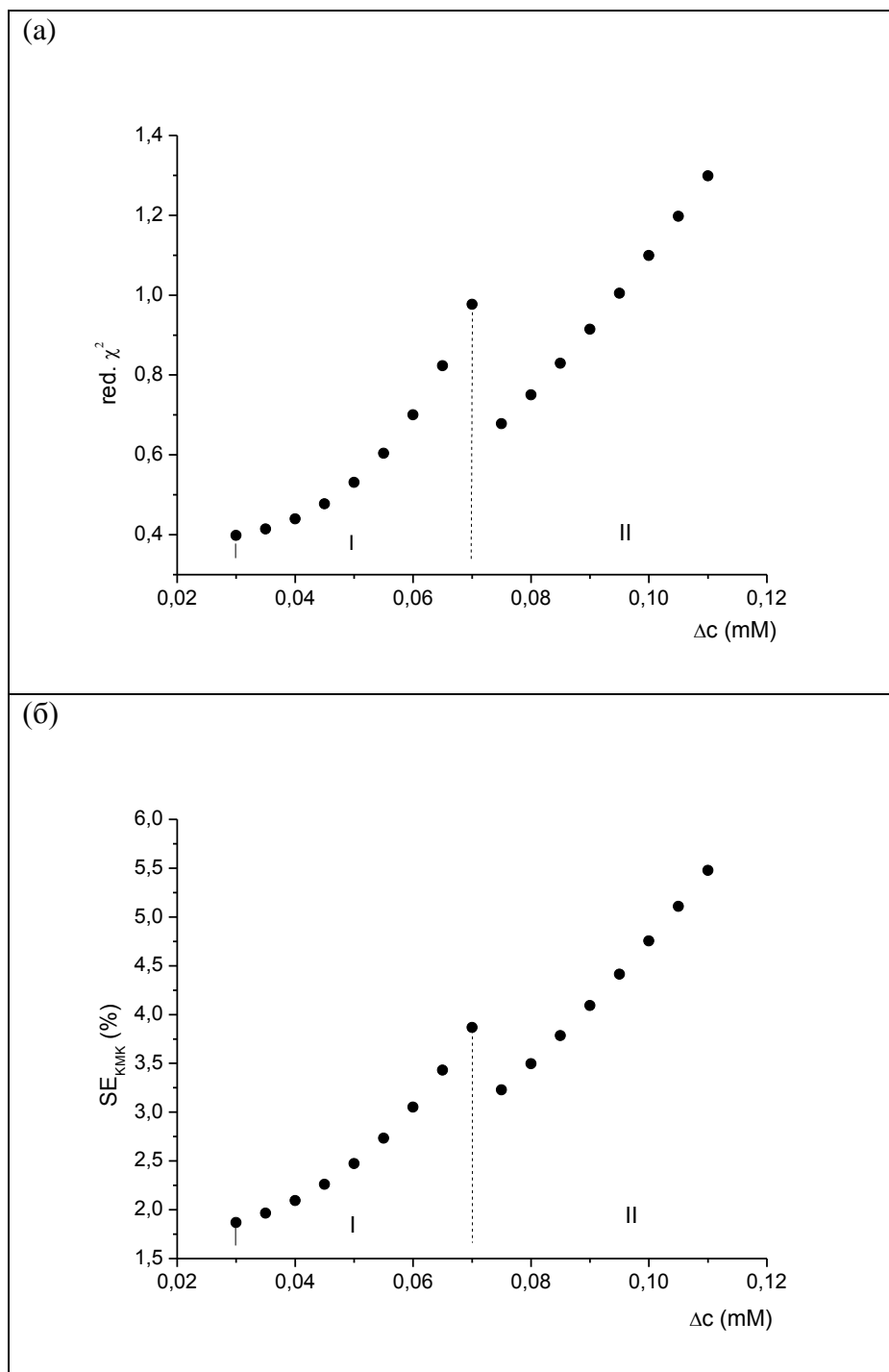
$$p_2 = 20,1$$

$$\text{КМК} = 0,89$$

$$\kappa(0) = 4,9$$

- Резултати фитовања Карпеновом методом

У складу с поступком предложеним у поглављу 4.2.2, испитана је зависност  $red. \chi^2$ , односно  $SE_{\text{КМК}}(\%)$  од  $\Delta c$  (слике 20а и 20б) за сваки фит добијен примјеном предложеног алгоритма (слика 17). Као што је приказано на сликама 20(а) и 20(б), добијају се двије раздвојене области  $\Delta c$ , једна у којој фитови конвергирају (I) и друга област у којој фитови не конвергирају (II). Као што је претходно поменуто, КМК се одређује у области у којој фитови конвергирају.



**Слика 20.** Зависност  $red. \chi^2$  од  $\Delta c$  (а) и релативне стандардне грешке одређивања КМК ( $SE_{КМК}$  (%)) од  $\Delta c$  (б), добијених примјеном Карпенове методе за одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ ; I - опсег конвергенције фитова ( $0,03 \leq \Delta c \leq 0,07$  mM), II - опсег  $\Delta c$  у коме фитови не конвергирају

Са слике 20, одређен је опсег конвергенције фитова ( $0,03 \leq \Delta c \leq 0,07$  mM), а добијени параметри КМК,  $\alpha$ ,  $red. \chi^2$  и  $SE_{КМК}(\%)$  за свако  $\Delta c$ , дати су у табели 4. Вриједности

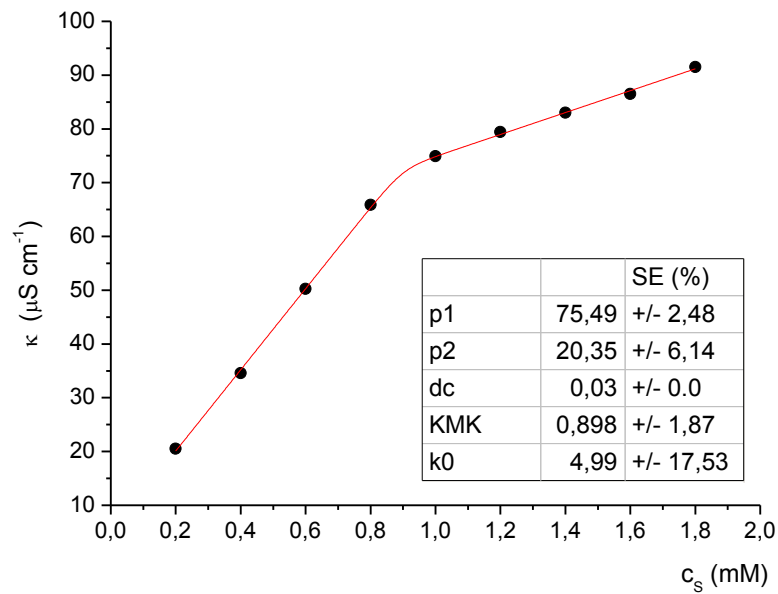


$SE_{\text{КМК}}$  (%) су  $< 5\%$  за сваки фит из  $\Delta c$  опсега конвергенције фитова, а релативна стандардна девијација одређивања КМК износи 0,11% што указује на то да се може одабрати било која вриједност КМК из датог опсега.

**Табела 4.** Резултати фитовања Карпеновом методом у опсегу конвергенције фитова,  $0,03 \leq \Delta c \leq 0,07$  mM за СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$

$\Delta c$ (mM)	КМК (mM)	$\alpha$	red. $\chi^2$	$SE_{\text{КМК}}$ (%)
0,03	0,8986	0,270	0,398	1,87
0,035	0,8988	0,269	0,414	1,96
0,04	0,8991	0,269	0,440	2,09
0,045	0,8995	0,269	0,478	2,26
0,05	0,8998	0,269	0,531	2,47
0,055	0,9003	0,269	0,604	2,73
0,06	0,9007	0,269	0,700	3,05
0,065	0,9011	0,269	0,823	3,43
0,07	0,9015	0,269	0,977	3,87
	$RSD = 0,11\%$			

Упркос томе што не постоји значајна разлика између вриједности КМК добијених за  $0,03 \leq \Delta c \leq 0,07$  mM, као и томе што је вриједност  $SE_{\text{КМК}}$  (%) мања од 5% за сваку КМК из датог опсега, уочава се да је  $\text{red. } \chi^2$  најмања за  $\Delta c = 0,03$  mM. Како  $\text{red. } \chi^2$  указује на слагање између експериментално добијених и апроксимираних података, на слици 21 приказан је репрезентативан фит добијен управо за  $\Delta c = 0,03$  mM, фит коме одговара најмања  $\text{red. } \chi^2$ .



**Слика 21.** Репрезентативни фит  $\kappa$ - $c_s$  добијен Карпеновом методом за  $\Delta c = 0,03$  mM (мицеларни систем 1: *СТАВ* у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ )

б) Мицеларни систем 2: *СТАВ* у смјеси ацетонитрил-вода (15:85, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$

- Примјена Вилијамсове методе:

једначина предмицеларног сегмента криве  $\kappa$ - $c_s$ :

$$\kappa = 6,2 (\pm 0,88) + 77,9 (\pm 0,76) c_s \quad (54)$$

$$(r^2 = 0,9995, p < 0,001)$$

једначина постмицеларног сегмента криве  $\kappa$ - $c_s$ :

$$\kappa = 35,3 (\pm 3,67) + 60,4 (\pm 1,66) c_s \quad (55)$$

$$(r^2 = 0,9970, p < 0,001)$$

$$\text{КМК} = 1,66 \pm 0,490 \text{ mM}$$

- Почетне вриједности за фитовање Карпеновом методом:

$$p_1 = 77,9$$

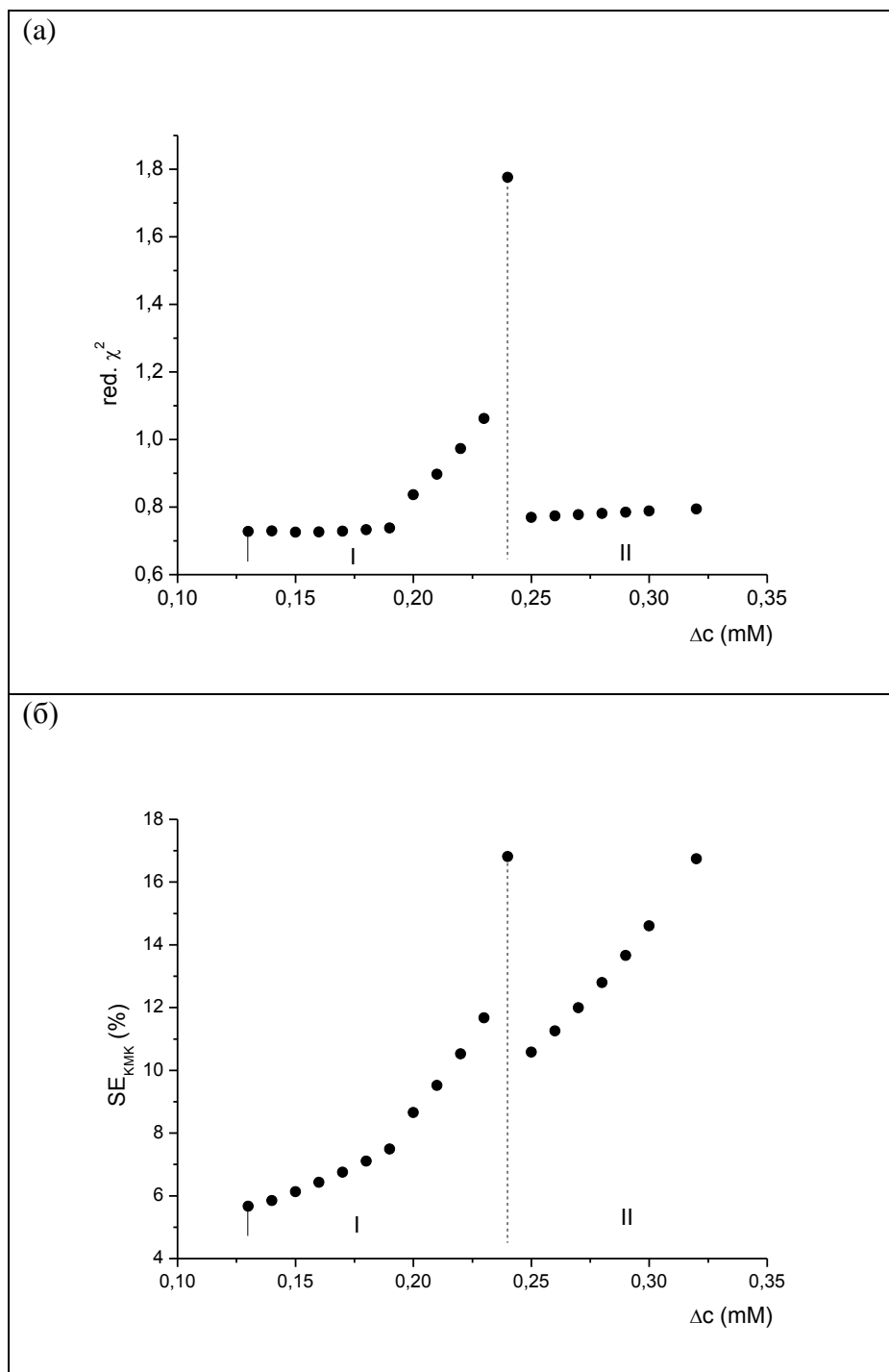
$$p_2 = 60,4$$

$$\text{КМК} = 1,66$$

$$\kappa(0) = 6,2$$

- Резултати фитовања Карпеновом методом

Као и код мицеларног система 1, и у случају *CTAB*-а у смјеси ацетонитрил-вода (15:85, *V/V*) на  $t = 18,0^{\circ}\text{C}$  (мицеларни систем 2), а у складу са предложеним поступком (поглавље 4.2.2), испитана је зависност *red.  $\chi^2$* , односно *SE<sub>КМК</sub>(%)* од *Δc* (слике 22а и 22б) за сваки фит добијен примјеном предложеног алгоритма (слика 17). Као што је приказано на сликама 22(а) и 22(б), и код мицеларног система 2, област *Δc* у којој фитови конвергирају (I) и област у којој фитови не конвергирају (II), јасно су раздвојене; КМК се одређује у области у којој фитови конвергирају.



**Слика 22.** Зависност  $red. \chi^2$  од  $\Delta c$  (а) и релативне стандардне грешке одређивања КМК ( $SE_{KMK}$  (%)) од  $\Delta c$  (б), добијених примјеном Карпенове методе за одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (15:85, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ ; I - опсег конвергенције фитова ( $0,13 \leq \Delta c \leq 0,24$  mM), II – опсег  $\Delta c$  у коме фитови не конвергирају

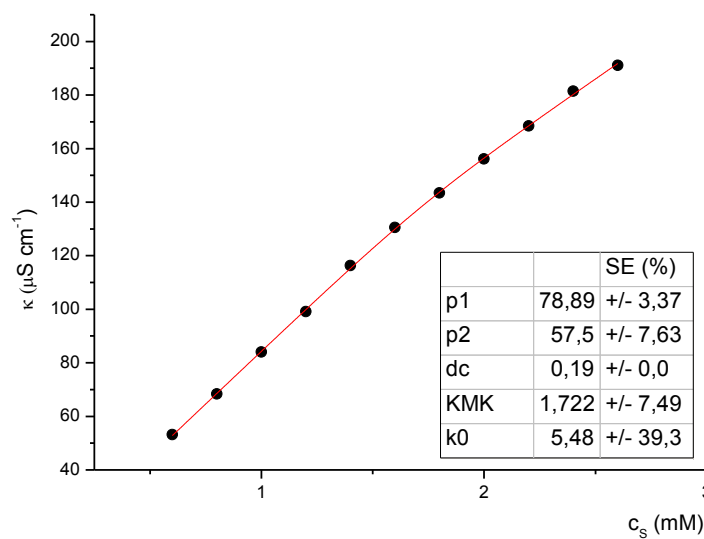
Са слике 22, одређен је опсег конвергенције фитова (I), који износи  $0,13 \leq \Delta c \leq 0,24$  mM, а добијени параметри, КМК,  $\alpha$ ,  $red. \chi^2$  и  $SE_{KMK}$  (%) за свако  $\Delta c$ , дати су у табели 5.

Прецизност одређивања КМК изражена релативном стандардном девијацијом је задовољавајућа ( $RSD = 1,04\%$ ). Међутим,  $SE_{КМК}(\%)$  су веће од 5% за сваки фит из  $\Delta c$  опсега конвергенције фитова, а  $red. \chi^2$  се повећава с повећањем  $\Delta c$ . Све ово на извјестан начин олакшава одабир КМК, тј. сужава опсег адекватних вриједности КМК.

**Табела 5.** Резултати фитовања Карпеновом методом у опсегу конвергенције фитова,  $0,13 \leq \Delta c \leq 0,24$  mM за *СТАВ* у смјеси ацетонитрил-вода (15:85, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$

$\Delta c$ (mM)	КМК (mM)	$\alpha$	red. $\chi^2$	$SE_{КМК}$ (%)
0,13	1,6855	0,750	0,727	5,67
0,14	1,6921	0,745	0,729	5,85
0,15	1,6975	0,743	0,725	6,13
0,16	1,7035	0,740	0,726	6,43
0,17	1,7096	0,736	0,729	6,75
0,18	1,7159	0,733	0,733	7,10
0,19	1,7224	0,729	0,738	7,49
0,20	1,7233	0,734	0,836	8,66
0,21	1,7283	0,732	0,897	9,52
0,22	1,7334	0,730	0,973	10,52
0,23	1,7387	0,727	1,062	11,67
0,24	1,7353	0,739	1,776	16,82
	$RSD = 1,04\%$			

Фит  $k-c_S$  података добијен за  $\Delta c = 0,19$  mM дат је на слици 23 као репрезентативни фит.



**Слика 23.** Репрезентативни фит  $\kappa$ - $c_s$  добијен Карпеновом методом за  $\Delta c = 0,19$  mM (мицеларни систем 2: СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (15:85, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ )

в) Мицеларни систем 3: СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$

- Примјена Вилијамсове методе:

једначина предмицеларног сегмента криве  $\kappa$ - $c_s$ :

$$\kappa = 19,1 (\pm 8,51) + 72,5 (\pm 3,25) c_s \quad (56)$$

$$(r^2 = 0,9919, p < 0,001)$$

једначина постмицеларног сегмента криве  $\kappa$ - $c_s$ :

$$\kappa = 107,8 (\pm 3,24) + 44,5 (\pm 0,90) c_s \quad (57)$$

$$(r^2 = 0,9984, p < 0,001)$$

$$\text{КМК} = 3,16 \pm 0.89 \text{ mM}$$

- Почетне вриједности за фитовање Карпеновом методом:

$$p_1 = 72,5$$

$$p_2 = 44,5$$

$$\text{КМК} = 3,16$$

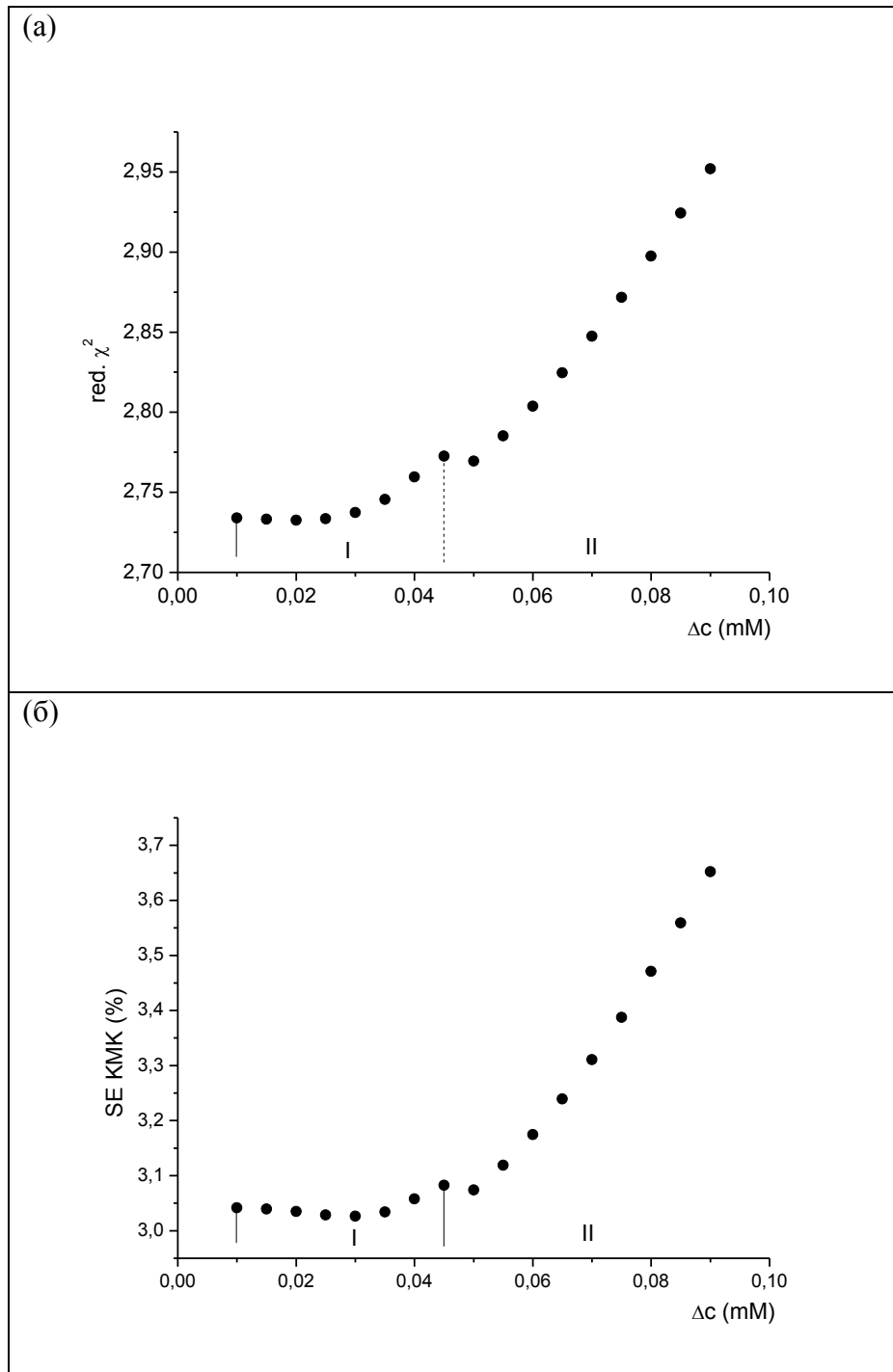
$$\kappa(0) = 19,1$$

- Резултати фитовања Карпеновом методом

За одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$  (мицеларни систем 3), примијењен је поступак описан у поглављу 4.2.2, као и код

мицеларних система 1 и 2. На основу зависности  $red. \chi^2$ , односно  $SE_{КМК}(\%)$  од  $\Delta c$  (слике 24а и 24б), одређена је област у којој фитови конвергирају.

Са слике 24, одређен је опсег конвергенције фитова, који износи  $0,010 \leq \Delta c \leq 0,045$  mM, а добијени параметри КМК,  $\alpha$ ,  $red. \chi^2$  и  $SE_{КМК}(\%)$  за свако  $\Delta c$ , дати су у табели 6. Вриједности  $SE_{КМК}(\%)$  су мање од 5% за сваки фит из  $\Delta c$  опсега конвергенције фитова. Прецизност одређивања КМК изражена релативном стандардном девијацијом ( $RSD$ ) је 0,01%, што указује на то да се може одабрати било која вриједност КМК добијена за  $\Delta c$  из датог опсега.



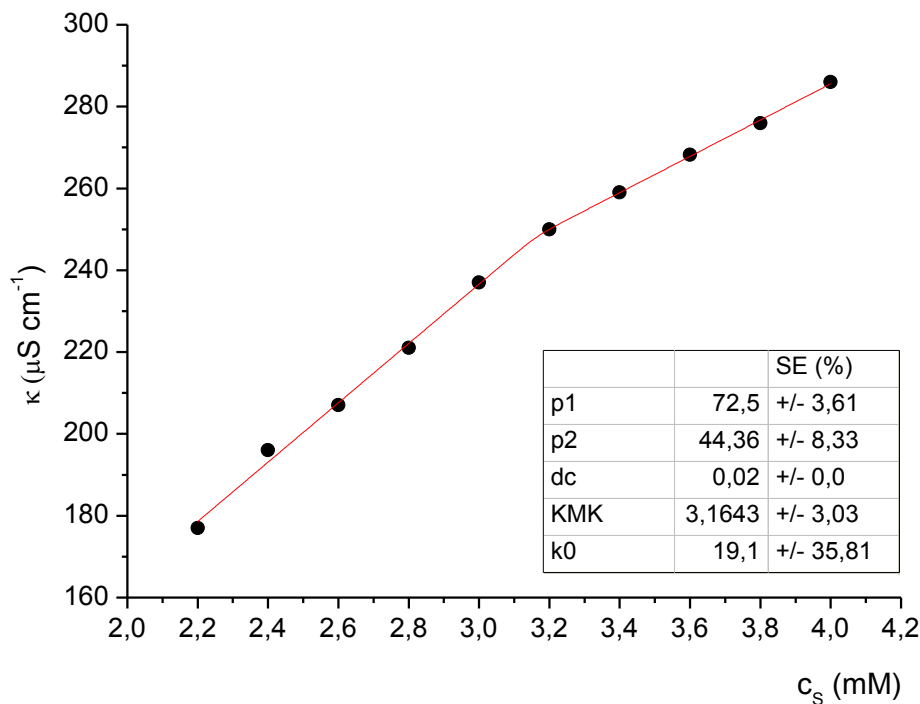
**Слика 24.** Зависност  $red. \chi^2$  од  $\Delta c$  (а) и релативне стандардне грешке одређивања КМК ( $SE_{KMK} (\%)$ ) од  $\Delta c$  (б), добијених примјеном Карпенове методе за одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ ; I - опсег конвергенције фитова ( $0,010 \leq \Delta c \leq 0,045$  mM), II – опсег  $\Delta c$  у коме фитови не конвергирају



**Табела 6.** Резултати фитовања Карпеновом методом у опсегу конвергенције фитова,  $0,010 \leq \Delta c \leq 0,045$  mM за СТАВ у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$

$\Delta c$ (mM)	КМК (mM)	$\alpha$	red. $\chi^2$	$SE_{\text{КМК}}$ (%)
0,01	3,1641	0,612	2,734	3,04
0,015	3,1642	0,612	2,733	3,04
0,02	3,1643	0,612	2,733	3,03
0,025	3,1642	0,612	2,733	3,03
0,03	3,1641	0,612	2,737	3,03
0,035	3,1641	0,613	2,746	3,03
0,04	3,1643	0,614	2,760	3,06
0,045	3,1654	0,613	2,773	3,08
	$RSD = 0,01\%$			

У случају анализе  $\kappa$ - $c_S$  података добијених за мицеларни систем 3, може се изабрати било који фит из опсега конвергенције фитова ( $0,010 \leq \Delta c \leq 0,045$  mM) јер се добија веома мала релативна стандардна девијација одређивања КМК ( $RSD=0,01\%$ ), а вриједности red.  $\chi^2$  и  $SE_{\text{КМК}}$  (%) су приближно константне у датом  $\Delta c$  опсегу (табела 6). Сходно томе, на слици 25, приказан је фит  $\kappa$ - $c_S$  података добијен за  $\Delta c = 0,02$  mM.



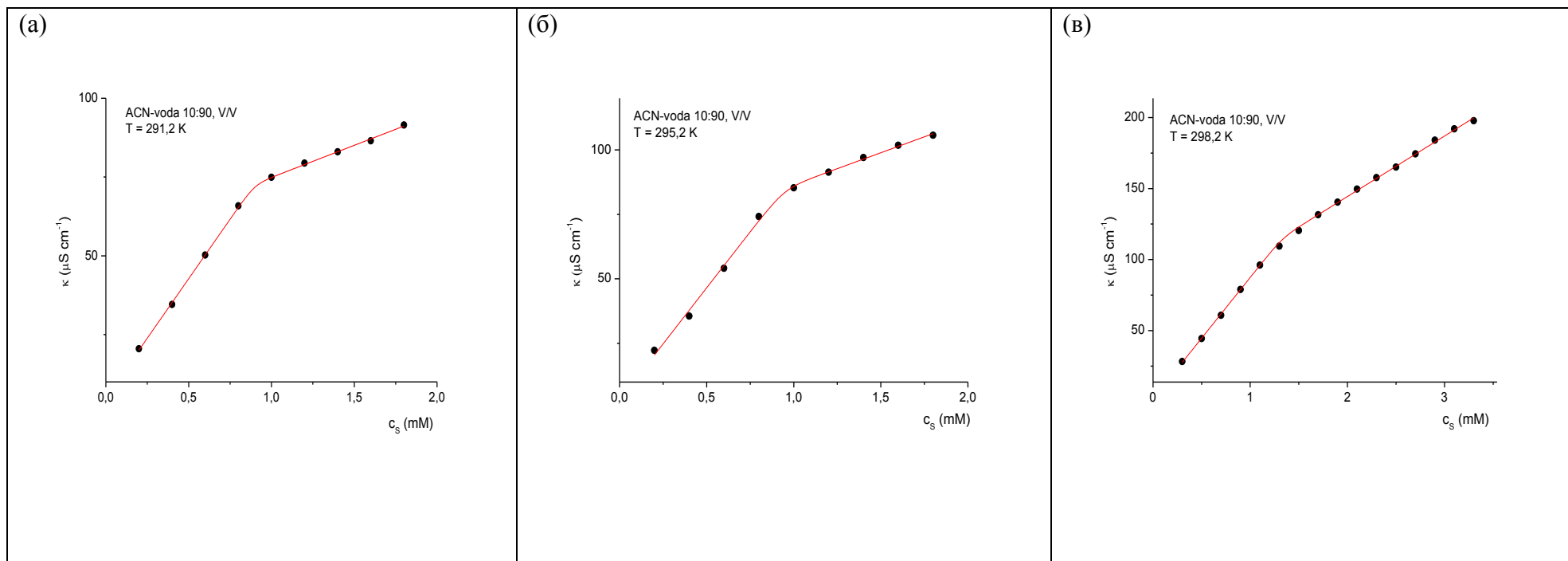
**Слика 25.** Репрезентативни фит  $\kappa$ - $c_s$  добијен Карпеновом методом за  $\Delta c = 0,02$  mM (мицеларни систем 3: *СТАВ* у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, V/V) на  $t = 18,0^\circ\text{C}$ )

#### 4.3 Карактеризација мицеларног система *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода

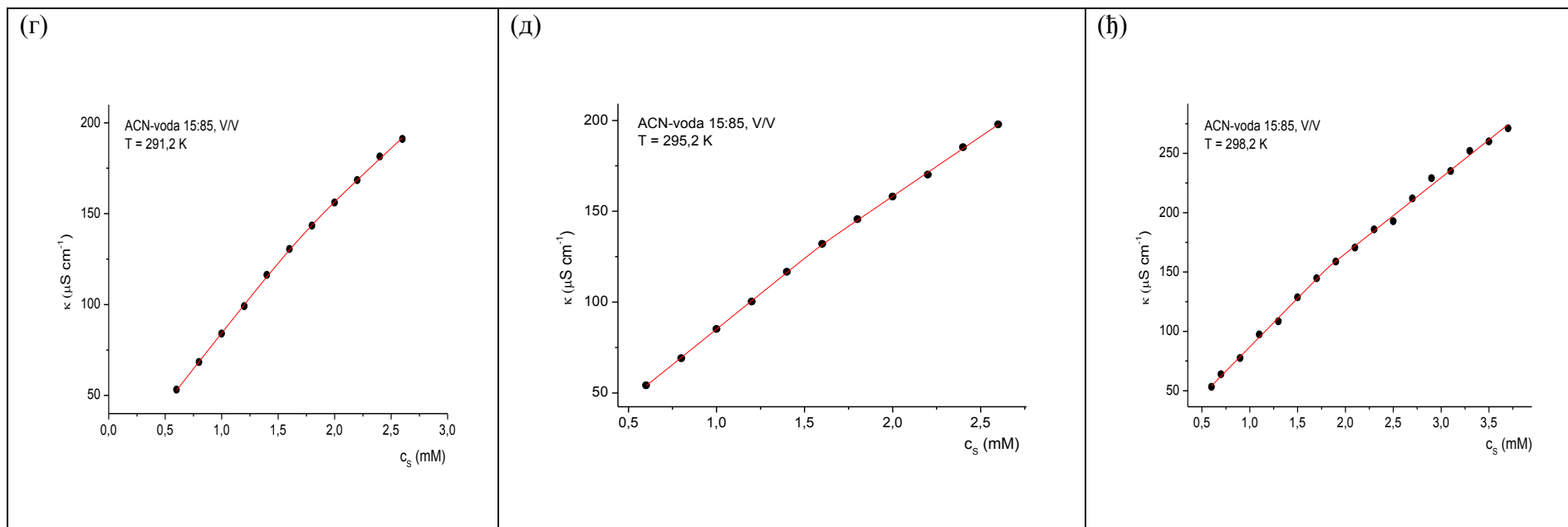
У циљу детаљнијег испитивања утицаја ацетонитрила на мицелизацију *СТАВ*-а, одређена је КМК примјеном Карпенове методе према утврђеном алгоритму (поглавље 4.2.2) у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80, V/V) на различитим температурама:  $18,0^\circ\text{C}$  (291,2 K),  $22,0^\circ\text{C}$  (295,2 K) и  $25,0^\circ\text{C}$  (298,2 K). Такође, за неке од испитиваних мицеларних система, КМК је одређена и примјеном флуоресцентне спектрометрије. Из зависности КМК и  $\alpha$  од температуре одређени су термодинамички параметри мицелизације, промјена стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), промјена енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и промјена ентропије ( $\Delta S_m^0$ ), као и удио ентропије у Гибсовој слободној енергији ( $T\Delta S_m^0$ ). Карактеризација анализираних мицеларних система обухватала је и одређивање агрегационог броја мицеле ( $N_{ag}$ ), коришћењем флуоресцентне спектрометрије (енг. *steady-state fluorescence measurements*), и то методом гашења флуоресценције (енг. *static fluorescence quenching method*). Карактеризацију наведених мицеларних система употпунило је одређивање Крафтове температуре ( $T_K$ ) примјеном кондуктометрије.

*4.3.1 Одређивање КМК СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода*

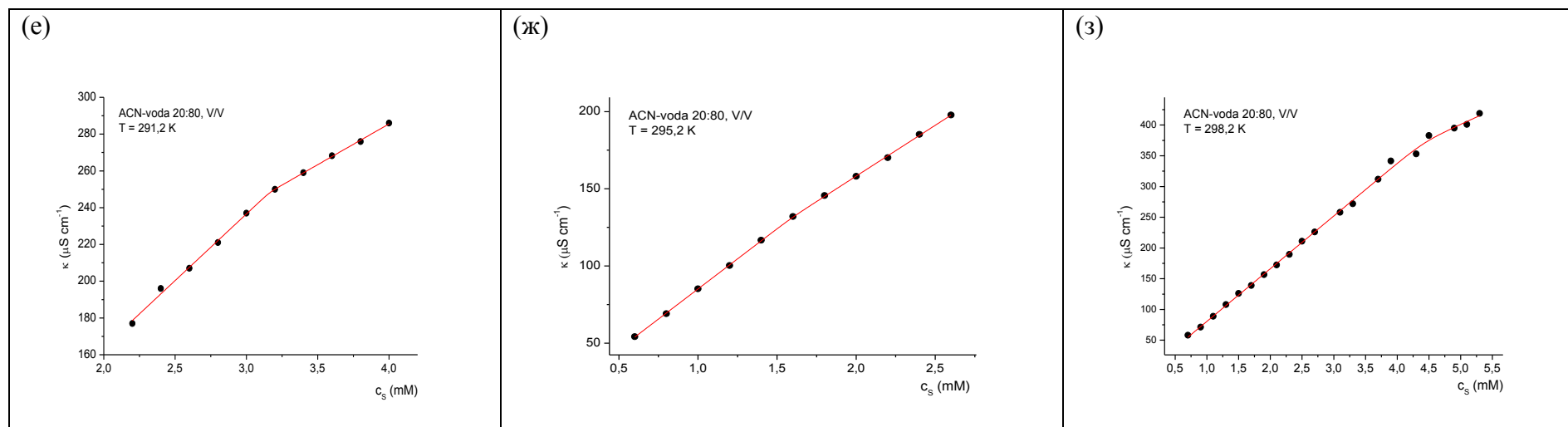
Карпеновом методом одређена је КМК СТАВ-а у бинарним смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80, V/V) из кондуктометријских мјерења на температурама 291,2 К, 295,2 К и 298,2 К (слика 26).



Наставак слике 26 на сљедећој страни.



Наставак слике 26 на следећој страни.



**Слика 26.** Зависност специфичне проводљивости ( $\kappa$ ) од концентрације *СТАВ*-а ( $c_s$ ) на различитим температурама (291,2 К, 295,2 К и 298,2 К) у смјешама ацетонитрил-вода: 10:90, V/V (а-в), 15:85, V/V (г-ђ) и 20:80, V/V (е-з). Приказана крива представља најбољи фит  $\kappa$ - $c_s$  података добијен примјеном Карпенове методе.

Криве приказане на слици 26(а-з), добијене су фитовањем  $\kappa$ - $c_s$  података Карпеновим поступком, подешавањем параметара за које се добија најбоље слагање између експериментално добијених и апроксимираних података. Добијене вриједности КМК и  $\alpha$  анализираних мицеларних система, дате су у табели 7.

**Табела 7.** Критична мицеларна концентрација (КМК) и степен јонизације мицеле ( $\alpha$ ) на различитим температурама (291,2 К, 295,2 К и 298,2 К) у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V, 15:85, V/V и 20:80, V/V) и при различитим диелектричним константама ( $\epsilon$ ) ових мицеларних система

Ацетонитрил (V/V) (%)	Температура (К)	$\epsilon^a$	КМК (mM)		$\alpha^b$
			Кондуктометрија	Флуориметрија	
0	298,2	78,33	0,91	1,06	0,39
	291,2	78,23	0,90	1,18	0,27
	295,2	76,80	0,95	–	0,28
10	298,2	75,28	1,33	–	0,50
	291,2	76,53	1,72	1,53	0,73
15	295,2	75,14	1,60	–	0,84
	298,2	74,11	1,82	–	0,78
	291,2	74,61	3,16	3,41	0,61
20	295,2	73,25	3,10	–	0,55
	298,2	72,25	4,42	–	0,55

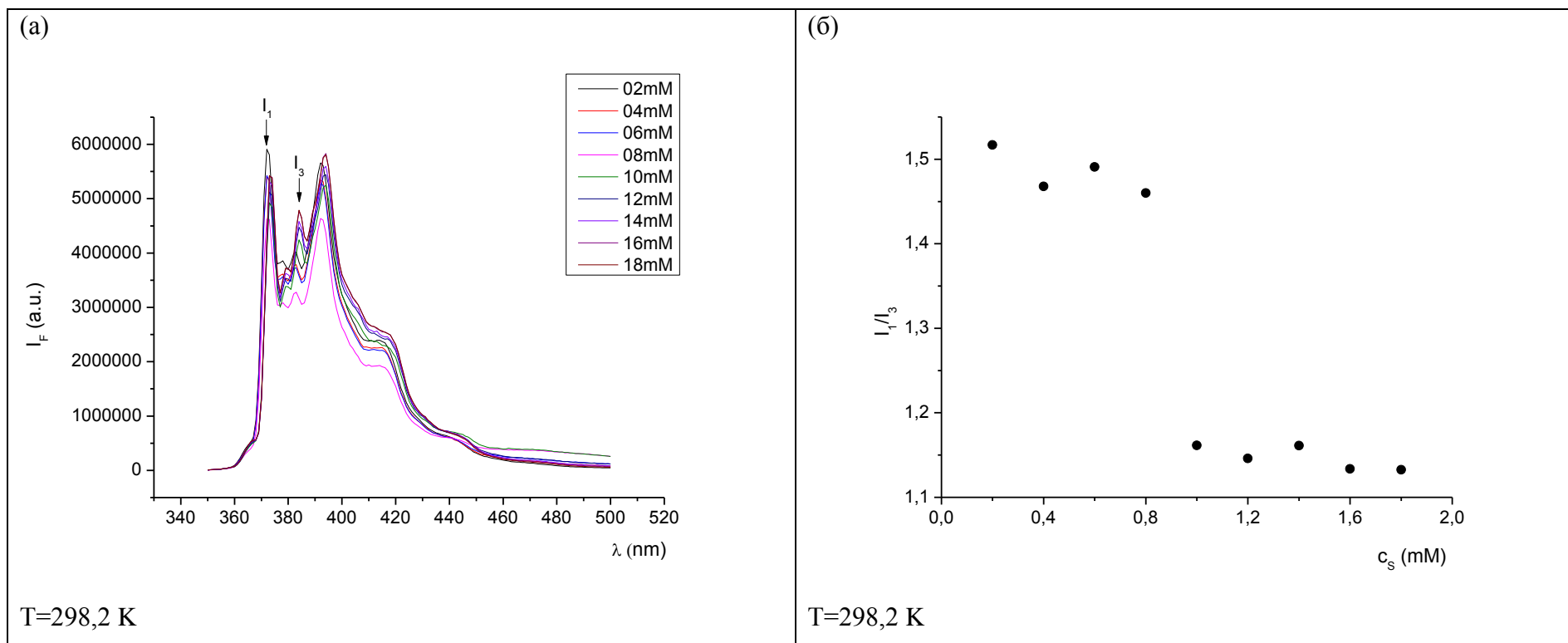
<sup>a</sup>Вриједности диелектричне константе израчунате су из емпиријске једначине дате у литератури [170]

<sup>b</sup> $\alpha = p_2/p_1$

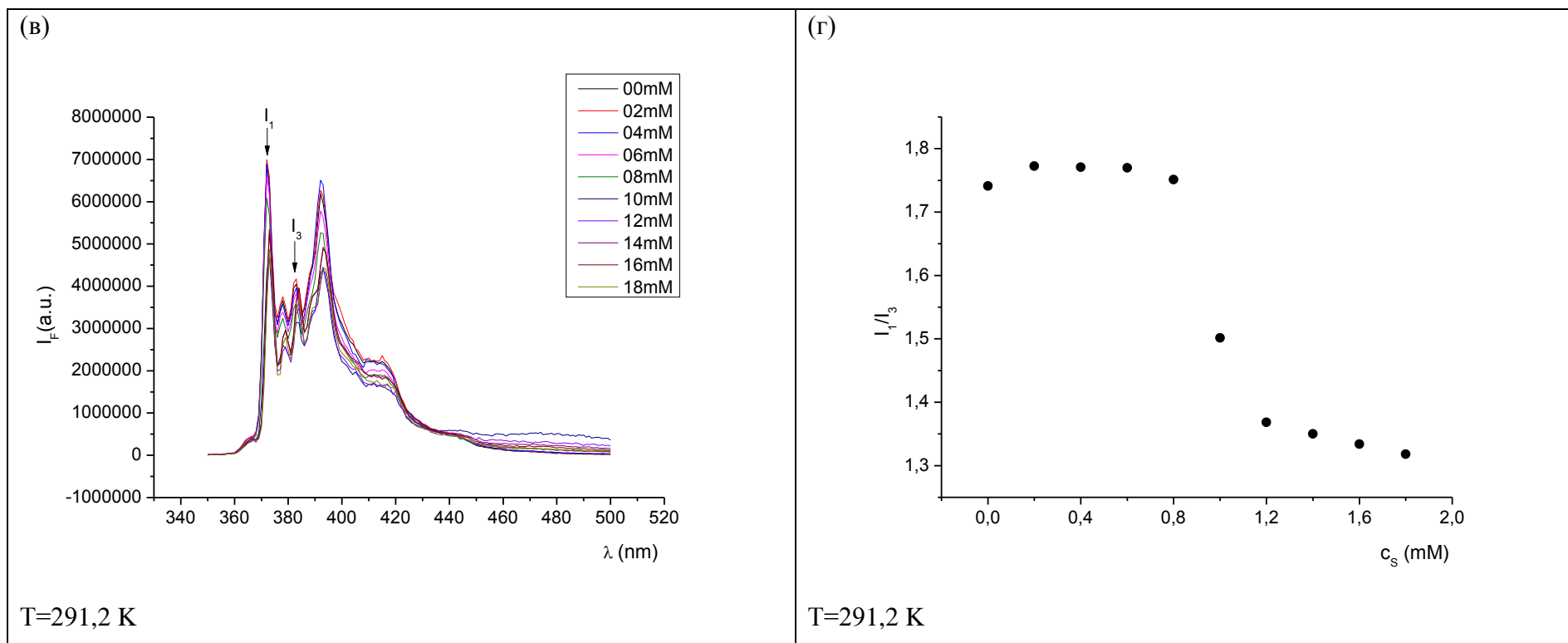
Као референтна метода за поређење добијених КМК, коришћена је молекулска флуоресцентна спектрометрија. Као што је истакнуто у поглављу 1.3.2, ова метода тзв. метода пирен 1:3 односа (енг. *pyrene 1:3 ratio method*) заснива се на мјерењу интензитета флуоресценције ( $I_F$ ) пирена солубилизованог у води и  $I_F$  пирена солубилизованог у анализираном мицеларном систему. Добијени флуоресцентни спектри пирена (1  $\mu$ M) у води и испитиваним мицеларним системима, приказани су на слици 27(а, в, д, е). Однос интензитета флуоресценције прве и треће вибрационе траке,  $I_1/I_3$  у функцији концентрације СТАВ-а у испитиваним мицеларним системима: СТАВ у

води на  $T=298,2$  К и *СТАВ* у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, *V/V*, 15:85, *V/V* и 20:80, *V/V*) на  $T = 291,2$  К, приказан је на слици 27(б, г, ђ, ж). На основу добијених КМК (табела 7), може се закључити да између вриједности КМК испитиваних мицеларних система на  $T=291,2$  К добијених коришћењем молекулске флуоресцентне спектроскопије и кондуктометрије постоји релативно добро слагање.

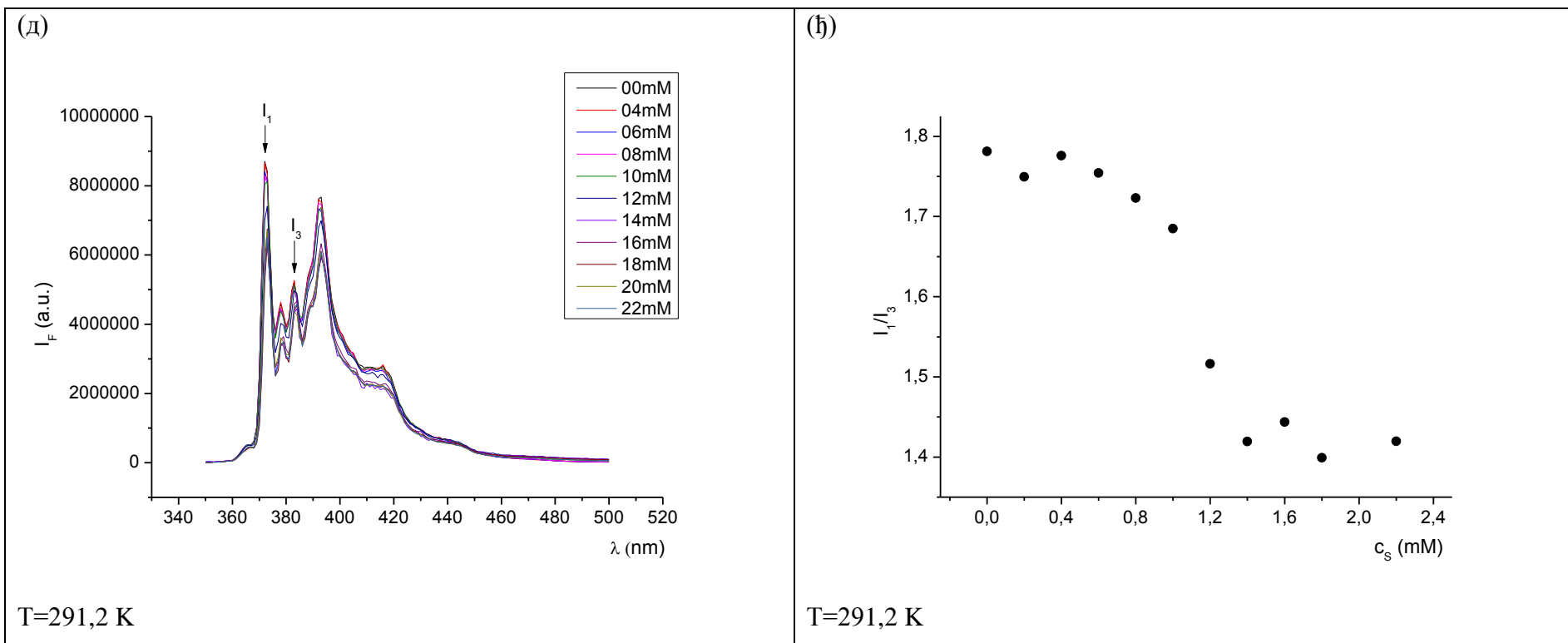




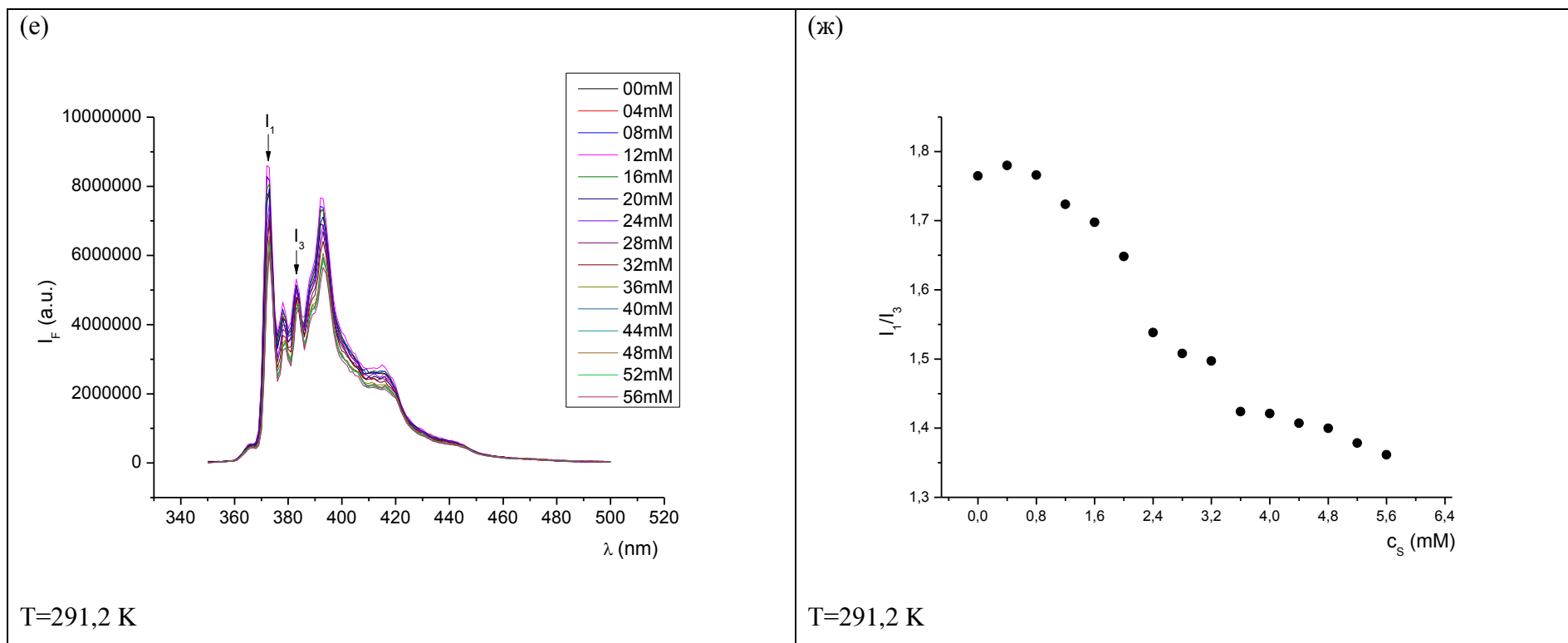
Наставак слике 27 на следећој страни.



Наставак слике 27 на сљедећој страни.



Наставак слике 27 на следећој страни.



**Слика 27.** Флуоресцентни емисиони спектри пирена (1 μM) у воденом раствору *CTAB*-а на T=298,2 K (а) и смјешама ацетонитрил-вода (10:90, V/V, 15:85, V/V и 20:80, V/V) (в, д, е) на T=291,2 K, добијени при одређеним концентрацијама *CTAB*-а (c<sub>s</sub>), као и одговарајуће зависности I<sub>1</sub>/I<sub>3</sub> од концентрације *CTAB*-а (б, г, ђ, ж)

Вриједности КМК и  $\alpha$  за *СТАВ* у води на  $T=298,2$  К одређене кондуктометријски (табела 7) показују добро слагање са вриједностима објављеним у литератури [59, 61, 64, 72, 94, 171]. На основу добијених резултата (табела 7), може се закључити да се, на константној температури у испитиваним мицеларним системима, КМК повећава с повећањем запреминског удјела ацетонитрила, што је генерални тренд уочен и код мицелизације сурфактаната у бинарним смјешама различитих поларних органских растварача и воде, као и код утицаја ацетонитрила на мицелизацију неких сурфактаната [62–64, 73 172, 173]. Уочени тренд промјене КМК може се објаснити смањењем поларности воде у присуству ацетонитрила, чиме се повећава растворљивост угљоводоничног ланца мономера *СТАВ*-а. Смањењем диелектричне константе растварача (табела 7) фаворизује се електростатичко одбијање између јонизованих глава сурфактанта у мицели. Све ово заједно доводи до одлагања мицелизације, односно до повећања КМК.

Такође, запажени су и одређени трендови промјене КМК с порастом температуре, а при константном запреминском удјелу ацетонитрила у бинарној смјеши. При повећању температуре за *СТАВ* у смјеши ацетонитрил–вода (10:90, *V/V*) повећава се и КМК, док за смјеше ацетонитрил–вода 15:80, *V/V* и 20:80, *V/V* унутар испитиваног опсега температура, КМК има минимум на  $T_m=295,2$  К (табела 7). Овакав тренд, такозвани *U*-облик понашања (енг. *U-shaped behavior*), показује већина сурфактаната, као и *СТАВ* за одређене температуре [81, 91, 101, 174]. Тако, за водени раствор *СТАВ*-а, Кумар и сарадници добили су  $T_m=293\pm 0,5$  К из кондуктометријских мјерења [91], док су Ноуда и сарадници добили  $T_m=297,5$  К из тензиометријских мјерења [81]. Међутим, утицај температуре на КМК сурфактанта у воденим срединама, као и у смјешама воде и поларних органских растварача је комплексан: повећањем температуре у одређеном опсегу, КМК се може повећати или смањити у зависности од релативног односа два супротна ефекта, и то једног који фаворизује мицелизацију (смањења хидратације хидрофилних група мономера) и другог који се супротставља мицелизацији, односно који је одлаже (разрушавање „уређене структуре“ воде која окружује хидрофобне групе мономера) [101].

На основу добијених вриједности  $\alpha$  представљених у табели 7, може се закључити да, при константној температури, с повећањем удјела ацетонитрила од 0 до 15% *V/V*, долази до наглог пораста  $\alpha$ , након чега, с даљим повећањем удјела ацетонитрила,  $\alpha$

опада. С друге стране, при константном удјелу ацетонитрила, а с порастом температуре долази до повећања  $\alpha$  у бинарној смјеси са удјелом ацетонитрила 10% V/V, док за бинарне смјеше са удјелом ацетонитрила 15% V/V и 20% V/V, није уочен правилан тренд (табела 7). Степен јонизације мицеле,  $\alpha$  зависи од тзв. површине по глави мономера сурфактанта (енг. *surface area per head group*),  $a_0$  јонске мицеле [101]; што је веће  $a_0$ , веће је и  $\alpha$ . Наиме, степен јонизације мицеле зависи од удјела контрајона који окружују мицелу, а што зависи од поларности растварача, затим од густине наелектрисања на површини мицеле (величина која је обрнуто пропорционална површини по глави мономера сурфактанта,  $a_0$ ), као и јонске јачине растварача [73, 78, 175, 169]. Код неких јонских сурфактаната укључујући СТАВ у воденим бинарним смјешама с различитим органским растварачима (формаид, ацетонитрил, итд.),  $\alpha$  се повећава с повећањем удјела органског растварача [63, 78], без обзира на то да ли растварач узрокује смањење или повећање диелектричне константе. Ово се може објаснити чињеницом да смањење агрегационог броја,  $N_{ag}$  (поглавље 4.3.3) усљед додатка органског растварача, доводи до смањења електростатичког одбијања, а тај ефекат превазилази ефекте које проузрокује промјена поларности растварача, односно доводи до смањења густине наелектрисања на површини мицеле (повећање површине по глави мономера сурфактанта).

#### 4.3.2 Крафтова температура СТАВ-а у смјеси ацетонитрил-вода

Значајна карактеристика јонских сурфактаната у контексту формирања мицела, као и њихове примјене, јесте Крафтова тачка (температура),  $T_K$ , која представља минималну температуру на којој долази до формирања мицела, тј. температуру на којој је растворљивост сурфактанта једнака КМК (поглавље 1.2.6.1). С обзиром на то да за одређени сурфактант  $T_K$  зависи од концентрације сурфактанта, као и од присуства различитих адитива (електролит, корастварач, итд.) [90, 176, 177], овај параметар се за дати мицеларни систем одређује експериментално, нпр. кондуктометријски, мјерењем електричне проводљивости раствора сурфактанта на различитим температурама (поглавље 3.4). Одређивање  $T_K$  кондуктометријски заснива се на чињеници да су на релативно ниским температурама мономерни сурфактанта нерастворљиви у води (кристалишу из раствора као хидратисани кристали), тако да је проводљивост раствора сурфактанта мала. С постепеним повећањем температуре, долази до јонизације мономера сурфактанта што резултује порастом растворљивости, те тако долази до постепеног повећања проводљивости раствора сурфактанта. С даљим порастом

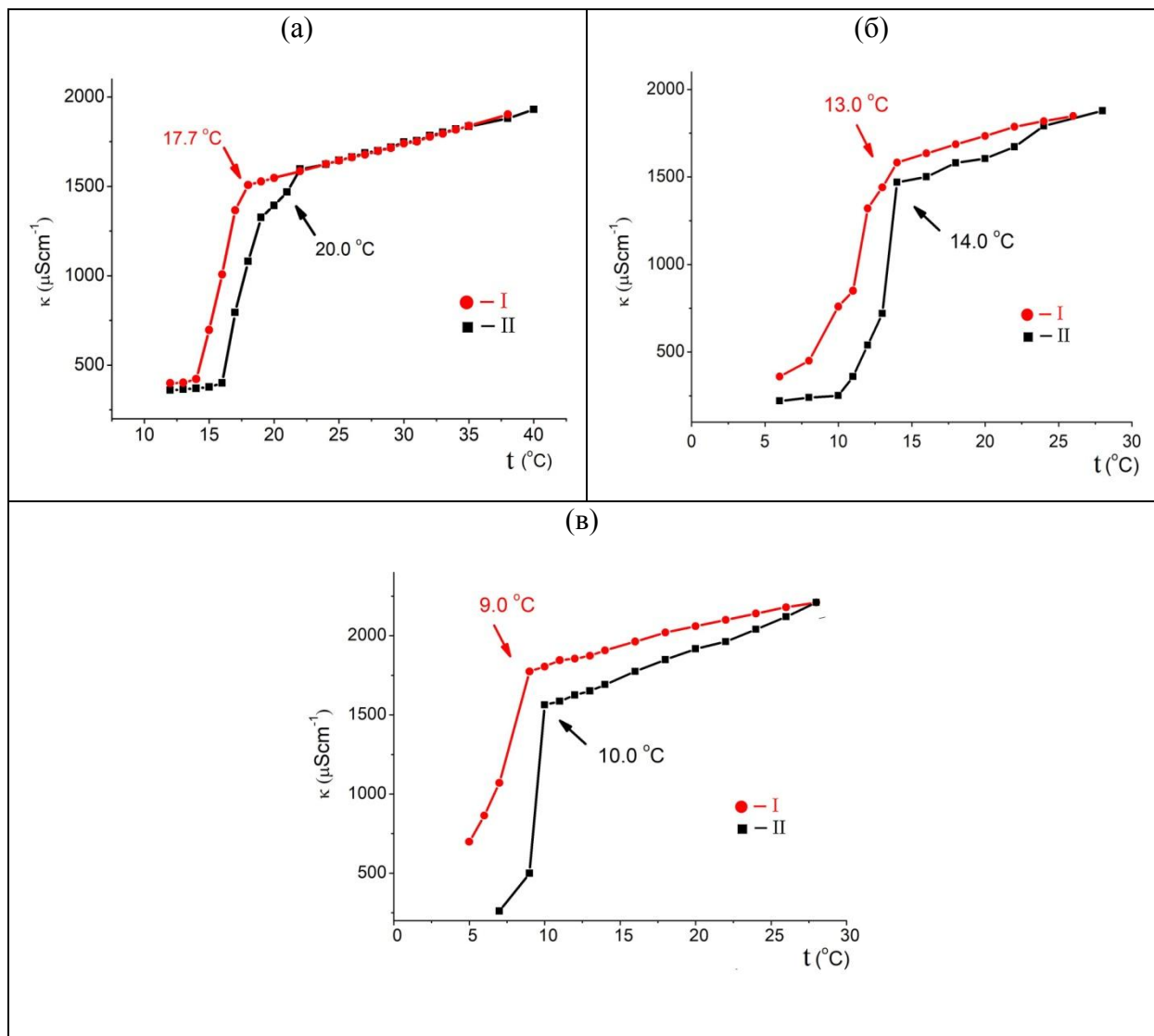
температуре, а у непосредној околини  $T_K$ , долази до значајног повећања проводљивости услед наглог пораста растворљивости сурфактанта, тј. формирања мицела. На температурама већим од  $T_K$ , даље повећање специфичне проводљивости зависи од деликатне равнотеже између ефеката који имају топлотно кретање јона мицеларног система и вискозност раствора [83, 178].

У циљу одређивања Крафтове температуре анализираних мицеларних система, испитана је зависност специфичне проводљивости *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80,  $V/V$ ) у опсегу температура  $285,2 \leq T \leq 313,2$  К (слика 28 I (а-в)) и  $313,2 \leq T \leq 285,2$  К (слика 28 II (а-в)). За испитивање зависности специфичне проводљивости од температуре, анализирани су мицеларни раствори *СТАВ*-а концентрације  $c_S = 0,06$  М ( $\approx 60$  КМК), а експериментална процедура описана је у поглављу 3.4.

Крафтова температура одређује се као инфлексiona тачка криве  $\kappa = f(t)$  [179] (слика 28 (а-в)), што се може визуелно запазити као избистравање суспензије *СТАВ*-а. Добијене су слџедеће вриједности  $T_K$ : 293,2 К (10% *АСН*, слика 28, Ia), 287,2 К (15% *АСН*, слика 28, Ib) и 283,2 К (20% *АСН*, слика 28, Ib). Запажа се да се с порастом запреминског удјела ацетонитрила у бинарној смјеши ацетонитрил-вода,  $T_K$  смањује, и то нарочито за *СТАВ* у 15% и 20% ацетонитрила. Добијене вриједности  $T_K$  *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода су ниже од  $T_K$  воденог раствора *СТАВ*-а, која износи  $T_K=299$  К [91], односно  $T_K \approx 300$  К [92]. Међутим, иако је концепт одређивања Крафтове температуре јасно дефинисан, вриједности  $T_K$  воденог раствора *СТАВ*-а, које се могу наћи у доступној научној литератури, значајно се разликују и припадају опсегу од 293,2 К до 300,2 К [92, 180, 181]. Кључни разлог за добијање овако релативно широког опсега  $T_K$  јесте коришћење различитих метода, односно експерименталних протокола за одређивање  $T_K$ .

Поред тога, анализирани мицеларни раствор *СТАВ*-а концентрације  $c_S=0,06$  М ( $\approx 60$  КМК), показују хистерезисно понашање. Овај феномен испитан је кондуктометријски (поглавље 3.4), мјерењем специфичне проводљивости на различитим температурама које се сукцесивно повећавају од 285,2 К до 313,2 К (слика 28 I (а-в)), а затим сукцесивно смањују од 313,2 К до 285,2 К (слика 28 II (а-в)). Промјеном температуре у

оба смјера, најприје повећањем, а потом смањењем температуре, добијају се различите вриједности  $T_K$ , а у зависности од смјера промјене температуре, тако да испитивани мицеларни систем показује хистерезис. Хистерезисно понашање уочено је и код водених раствора *СТАВ*-а [89, 182], при чему се добијају различити облици хистерезисних петљи, од релативно једноставних до комплексних, а што зависи од испитиваног опсега температура, концентрације *СТАВ*-а, као и брзине загријавања/хлађења.



**Слика 28.** Крафтова температура ( $T_K$ ) 0,06 М раствора *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода: (а) 10:90, V/V, (б) 15:85, V/V и (в) 20:80, V/V; криве I и II одговарају специфичној проводљивости добијеној сукцесивним повећавањем (I) и снижавањем (II) температуре

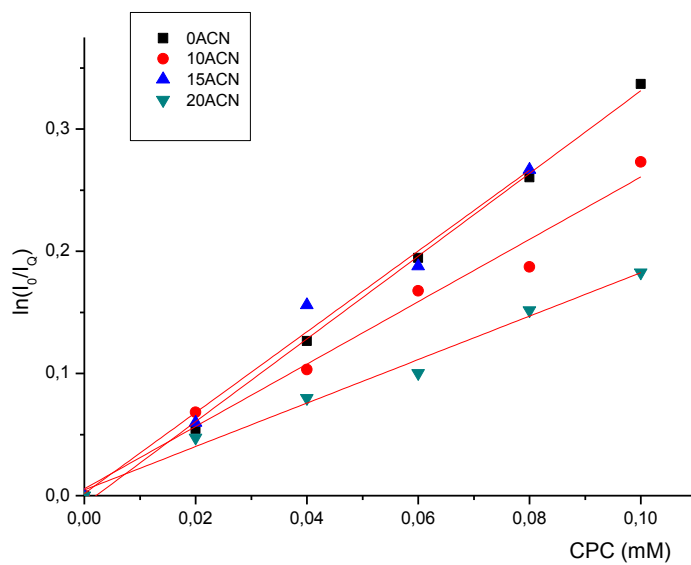


Иако се сматра да постојање хистерезисних петљи може имати значајну примјену нпр. у области нанотехнологије, код дизајнирања система за испоруку лијекова или веома осјетљиве контроле анестетичког дјеловања [183], осим феноменолошког разматрања хистерезисног понашања испитиваних мицеларних система, циљ ове докторске дисертације није разматрање узрока нити посљедица хистерезисног понашања. Свакако, разумијевање овог феномена је веома значајно, нарочито ако се узме у обзир да је мицелизација суштински нелинеаран термодинамички процес, што имплицира да мицеларни системи могу испољавати различита динамичка понашања (стационарно, осцилаторно, хистерезис и сл.), а у зависности од експерименталних услова [183, 184].

#### 4.3.3 Структурне карактеристике мицеларног система са СТАВ-ом

Кондуктометријска мјерења коришћена су за одређивање вриједности КМК и  $\alpha$  испитиваних мицеларних система на различитим температурама, док је флуоресцентна спектроскопија коришћена за одређивање неколико КМК у циљу поређења резултата (табела 7, поглавље 4.3.1) и агрегационог броја мицеле  $N_{ag}$ . Агрегациони број мицеле карактеристичан је параметар за одређени сурфактант у одређеном растварачу/смјеси растварача који даје увид у структурне особине формираних агрегата сурфактанта.

Утицај ацетонитрила на  $N_{ag}$  СТАВ-а у бинарним смјешама ацетонитрила и воде испитан је методом гашења флуоресценције (енг. *steady-state fluorescence quenching – SSFQ*) [58, 127, 185] (експериментална процедура описана у поглављу 3.6). Према овој методи, зависност логаритма количника интензитета флуоресценције пирена у анализираном мицеларном систему када није присутан гасилац, и интензитета флуоресценције у присуству гасиоца,  $\ln(I_0/I_Q)$ , од концентрације гасиоца  $[Q]$ , је права линија, из чијег нагиба се одеђује агрегациони број мицела у анализираним мицеларним системима (једначина 17, поглавље 1.3.2). На слици 29 приказан је репрезентативан график зависности  $\ln(I_0/I_Q) = f([Q])$ , пирена у испитиваним мицеларним растворима (СТАВ у води и СТАВ у смјешама ацетонитрил-вода) на 384 nm и на  $T=295,2$  K. Сличне зависности добијене су и на другим температурама из испитиваног опсега. Добијени агрегациони бројеви мицела дати су у табели 8. Грешка одређивања  $N_{ag}$ , дата као стандардна девијација, добијена је из три поновљена мјерења. За испитиване мицеларне системе, стандардне девијације су биле мање од 6%.

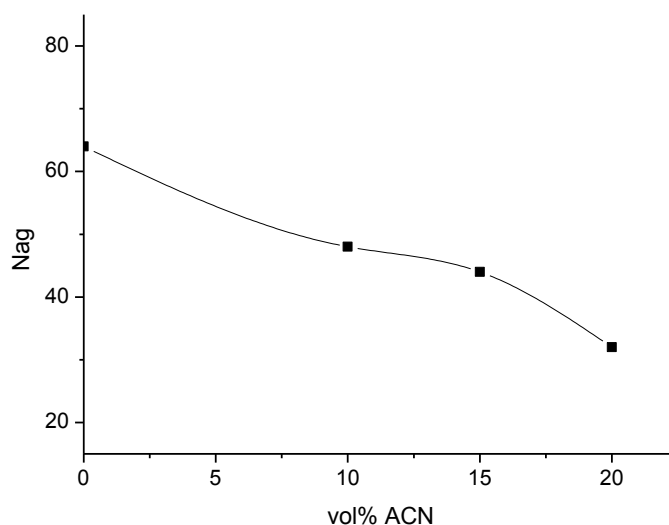


**Слика 29.** Зависности  $\ln(I_0/I_Q)$  пирена у испитиваним мицеларним растворима (CTAB у води и CTAB у смјешама ацетонитрил-вода) на 384 nm од концентрације гасиоца ( $[Q]$ ); концентрација CTAB-a је 20 mM; T=295,2 K

**Табела 8.** Агрегациони број мицеле ( $N_{ag}$ ), радијус мицеле ( $R_0$ ), површина по глави сурфактанта ( $a_0$ ) и параметар паковања ( $P = v/a_0l_c$ ) мицеле *СТАВ*-а у води и у смјеси ацетонитрил-вода са различитим запреминским удјелом ацетонитрила ( $V/V$ ) на различитим температурама

Ацетонитрил ( $V/V$ ) (%)	$T$ (К)	$N_{ag}$	$R_0(\text{nm})$	$a_0$ ( $\text{nm}^2$ )	$P$ ( $v/a_0l_c$ )
0	298,2	77	2,03	0,675	0,31
10	291,2	61	1,88	0,730	0,29
	295,2	48	1,73	0,790	0,27
	298,2	41	1,65	0,833	0,25
15	291,2	46	1,71	0,802	0,26
	295,2	44	1,69	0,814	0,26
	298,2	44	1,69	0,814	0,26
20	291,2	27	1,44	0,957	0,22
	295,2	32	1,52	0,905	0,23
	298,2	24	1,38	0,996	0,21

Агрегациони број *СТАВ*-а у води на  $T = 298,2$  К је у сагласности са вриједностима добијеним *SSFQ* методом коришћењем цетилпиридијум хлорида (*CPC*) као гасиоца [61, 186, 187]. Како је приказано у табели 8, присуство ацетонитрила у воденом раствору *СТАВ*-а, доводи до промјене  $N_{ag}$ : са повећањем удјела ацетонитрила на константној температури, долази до смањења  $N_{ag}$ . Репрезентативан график зависности  $N_{ag}$  *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода 10:90, 15:85 и 20:80,  $V/V$ , приказан је на слици 30.



**Слика 30.** Зависност  $N_{ag}$  од запреминског удјела ацетонитрила (ACN, % V/V) у смјеси ацетонитрил-вода на  $T=295,2$  К.; концентрација CTAB-а је 20 mM

Сличан тренд промјене агрегационог броја, утврђен је код CTAB-а у бинарним смјешама воде и неких других органских растварача, на примјер етанола [58] и глицерола [186]. Поједностављено, добијени резултати могу се објаснити утицајем ацетонитрила на „структуру“ воде успостављену око мицела CTAB-а; ацетонитрил „замјењује“ молекуле воде и тако нарушава успостављени распоред молекула воде око мицела. То може довести до пораста електростатичког одбијања између поларних хидрофилних глава мономера CTAB-а, а тако и до повећања површине по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ) и посљедишно до смањења  $N_{ag}$ . Овај ефекат је више изражен при већим запреминским удјелима ацетонитрила у бинарној смјеси ацетонитрил-вода. Иако на температури од 298,2 К није запажен одређени тренд  $N_{ag}$  вриједности са промјеном запреминског удјела ацетонитрила од 0 до 20% у смјеси са водом, може се уочити нагло смањење  $N_{ag}$  са порастом удјела ацетонитрила, и то за CTAB у смјеси са 10% ацетонитрила у односу на CTAB у води, као и за CTAB у смјеси са 20% ацетонитрила у односу на CTAB у смјеси са 15% ацетонитрила.

Утицај ацетонитрила на мицелизацију CTAB-а може се разматрати и преко сљедећих параметара: површине коју заузимају хидрофилне групе мономера сурфактанта (енг. *cross-sectional area*) на међуповршини мицела-раствор ( $a_0$ ) (даље у тексту, површина по глави мономера сурфактанта) и критични агрегациони параметар ( $P$ ) (даље у тексту,

параметар паковања) [188, 189]. Површина по глави мономера сурфактанта  $a_0$ , односно њему реципрочан параметар - густина површинског наелектрисања ( $1/a_0$ ), одређују величину мицеле, док параметар паковања,  $P$  одређује облик мицеле [58, 185].

Параметар паковања ( $P$ ) одређује се из израза:

$$P = \frac{v}{l_c a_0} \quad (58)$$

гдје је  $v$  – запремина коју заузимају хидрофобне групе у језгру мицеле (запремина угљоводоничног ланца мономера сурфактанта) и  $l_c$  - дужина хидрофобног ланца сурфактанта.

Вриједности  $v$  ( $\text{nm}^3$ ) и  $l_c$  ( $\text{nm}$ ) могу се израчунати уз помоћ Танфордових емпиријских једначина [130]:

$$v = (0.0274 + 0.0269 n) \quad (59)$$

$$l_c = (0,154 + 0,1265 n) \quad (60)$$

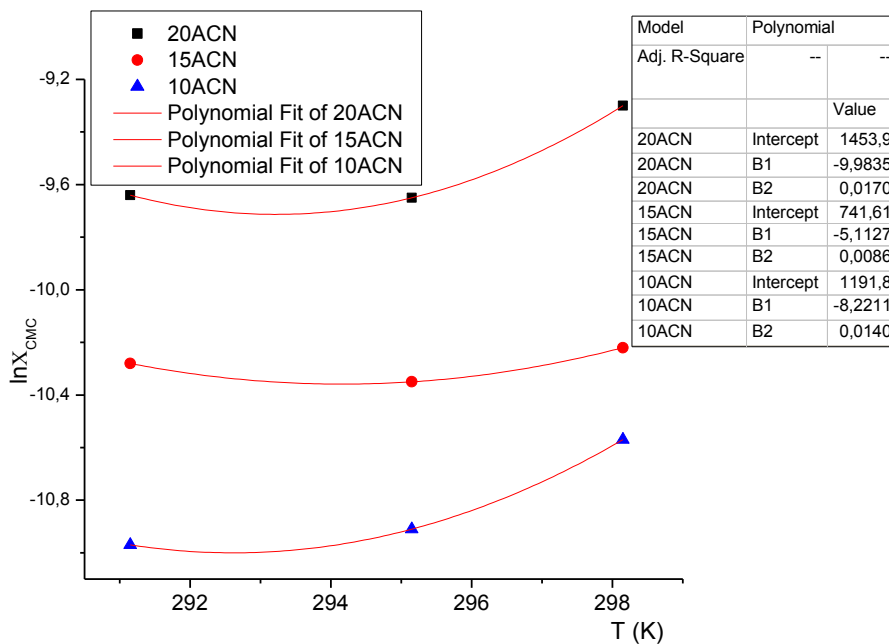
гдје  $n$  представља број атома угљеника у угљоводоничном ланцу мономера сурфактанта и износи 16 за *СТАВ*.

Под претпоставком да су мицеле *СТАВ*-а сферног облика, процијењени су радијус мицеле ( $R_0$ ) и површина по глави мономера сурфактанта ( $a_0$ ). Вриједности ових параметара мицеле дате су у табели 8. С повећањем удјела ацетонитрила у бинарној смјеси долази до изразитог повећања  $a_0$ , што је узроковано смањењем  $N_{ag}$ . С друге стране, с повећањем удјела ацетонитрила долази до благог смањења параметра паковања  $P$ , док је промјена овог параметра с промјеном температуре, при константном удјелу ацетонитрила, незнатна. За *СТАВ* у води и у смјешама ацетонитрил-вода,  $P < 0,333$  на свакој од испитиваних температура, што упућује на то да у овим мицеларним системима настају мицеле сферног облика [189].

#### 4.3.4 Термодинамика процеса мицелизације *СТАВ*-а

Утицај ацетонитрила на процес мицелизације *СТАВ*-а разматран је и одређивањем слободних термодинамичких параметара: промјене стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије ( $\Delta S_m^0$ ), као и енталпијско-ентропијског компензационог ефекта, коришћењем равнотежног модела, који описује процес мицелизације [67].

Промјена стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије ( $\Delta S_m^0$ ) мицелизације одређују се из једначина 20, 21 и 24 (поглавље 1.4). На слици 31, приказана је зависност  $\ln X_{КМК}$  од  $T$  испитиваних мицеларних система. Добијене зависности представљају полиноме другог реда, а добијени параметри ових полиномских зависности дати су у табели на слици 31. Пошто се за испитиване мицеларне системе  $\alpha$  незнатно мијења са промјеном температуре, може се занемарити други члан у једначини (21), те се  $\Delta H_m^0$  израчунава из нагиба добијених полиномских зависности  $\left(\frac{\partial \ln X_{КМК}}{\partial T}\right)_p$  и познатог  $\alpha$  према једначини 22 (поглавље 1.4).



Слика 31. Зависност  $\ln X_{КМК}$  од температуре мицелизације *CTAB*-а у смјешама ацетонитрил-вода (10:90, 15:85 и 20:80, *V/V*)

Термодинамички параметри мицелизације *CTAB*-а ( $\Delta G_m^0$ ,  $\Delta H_m^0$  и  $\Delta S_m^0$ ) испитиваних мицеларних система на различитим температурама (291,2 К, 295,2 К и 298,2 К), добијени из једначина 20, 22 и 24 (поглавље 1.4), дати су у табели 9. Код ових одређивања, потребно је узети у обзир да се једначина (20) може користити за израчунавање  $\Delta G_m^0$  само у случајевима настајања мицела са великим агрегационим бројем [67], тако да у мицеларним системима са великим концентрацијама ацетонитрила и малим  $N_{ag}$  (табела 8),  $\Delta G_m^0$  одређена из једначине (20) има приближну вриједност. Осим тога, бројне су апроксимације које се примјењују при израчунавању термодинамичких параметара мицелизације [131]. Ипак, ови подаци могу бити корисни

у расвјетљавању појединих аспеката мицелизације *СТАВ*-а у испитиваним смјешама растварача.

**Табела 9.** Термодинамички параметри мицелизације *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода на различитим температурама: промјена Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије ( $\Delta S_m^0$ ), као и ентропијски допринос Гибсовој слободној енергији ( $T\Delta S_m^0$ )

Ацетонитрил (V/V) (%)	T (°C)	$\Delta G_m^0$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H_m^0$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_m^0$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$T \Delta S_m^0$ (K kJ mol <sup>-1</sup> )
0	298,2	-44,10	/	/	/
10	291,2	-45,94	84,13	0,447	130,07
	295,2	-46,05	-53,57	-0,025	-7,49
	298,2	-39,30	-140,79	-0,340	-101,49
15	291,2	-31,60	-114,57	-0,285	-82,97
	295,2	-29,46	-168,03	-0,469	-138,57
	298,2	-30,91	-229,02	-0,664	-198,11
20	291,2	-32,44	83,27	0,397	115,71
	295,2	-34,34	-53,56	-0,065	-19,22
	298,2	-33,43	-163,96	-0,438	-130,53

На основу добијених резултата (табела 9), може се закључити да је мицелизација *СТАВ*-а у води и у смјешама ацетонитрил-вода на свим температурама спонтан процес који резултује формирањем термодинамички стабилних агрегата ( $\Delta G_m^0 < 0$ ). Такође, при константном удјелу ацетонитрила у смјеши ацетонитрил-вода, у испитиваном температурном опсегу,  $\Delta G_m^0$  има готово константну вриједност, осим за смјешу са најмањим удјелом ацетонитрила (10:90, V/V). С друге стране, с повећањем удјела ацетонитрила, а на константној температури,  $\Delta G_m^0$  се повећава (постаје мање негативна), што указује на то да је мицелизација *СТАВ*-а у присуству ацетонитрила термодинамички неповољнија.

Добијене вриједности  $\Delta H_m^0$  показују да овај термодинамички параметар зависи и од температуре и од удјела ацетонитрила у смјеши ацетонитрил-вода (табела 9). Мицелизација *СТАВ*-а у испитиваним системима је егзотерман процес ( $\Delta H_m^0 < 0$ ), осим за смјеше са 10% и 20% *ACN* на T=291,2 K ( $\Delta H_m^0 > 0$ ). Осим тога, при константном удјелу ацетонитрила у смјеши ацетонитрил-вода, с повећањем температуре,  $\Delta H_m^0$  се



смањује (табела 9). С друге стране, при константној температури, с повећањем удјела ацетонитрила у смјеси ацетонитрил-вода,  $\Delta H_m^0$  има минималну вриједност за 15% *ACN*. Промјена  $\Delta S_m^0$  на сличан начин прати промјену  $\Delta H_m^0$ , тј. вриједности оба параметра се повећавају или смањују (табела 9). Такође, вриједности  $\Delta H_m^0$  су мање од  $T\Delta S_m^0$  на свакој од испитиваних температура и за све испитиване мицеларне системе, те се може закључити да је мицелизација *CTAB*-а термодинамички процес условљен превасходно промјеном енталпије. Како  $\Delta G_m^0$  (Гибс-Хелмхолцова једначина, поглавље 1.4), представља збир два доприноса – енталпијског ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропијског ( $T\Delta S_m^0$ ), из односа ова два доприноса ( $\Delta H_m^0/T\Delta S_m^0$ ) може се закључити при којим условима је мицелизација *CTAB*-а термодинамички најповољнија. Тако, осим за мицелизацију *CTAB*-а у 10% и 20% *ACN* на  $T = 291,2$  К, код које је ентропијски допринос већи од енталпијског, тј.  $\Delta H_m^0/T\Delta S_m^0 = 0,65$  (10% *ACN*) и  $0,72$  (20% *ACN*), за све остале мицеларне системе, енталпијски допринос је већи од ентропијског ( $\Delta H_m^0/T\Delta S_m^0$  је у опсегу 1,16 - 7,12), али се он смањује са порастом температуре, као и са повећањем удјела ацетонитрила у смјеси ацетонитрил-вода. На основу добијених резултата, може се закључити да је за сваки од испитиваних запреминских удјела ацетонитрила (10%, 15% и 20%) у смјеси ацетонитрил-вода, мицелизација *CTAB*-а термодинамички најповољнија на  $T=295,2$  К.

Између  $\Delta H_m^0$  и  $\Delta S_m^0$  добијених за мицелизацију *CTAB*-а у испитиваним бинарним смјешама ацетонитрил-вода утврђена је линеарна зависност (слика 32), која одражава такозвану енталпијско-ентропијску компензацију, а која је карактеристична за мицелизацију различитих сурфактаната у различитим растварачима и њиховим смјешама [71, 79, 174, 190], па тако и код *CTAB*-а у другим поларним органским растварачима, као што су *N*-метилацетамид, *N,N*-диметилформаид, формаид, диметил сулфоксид и пропилен гликол [71, 191].

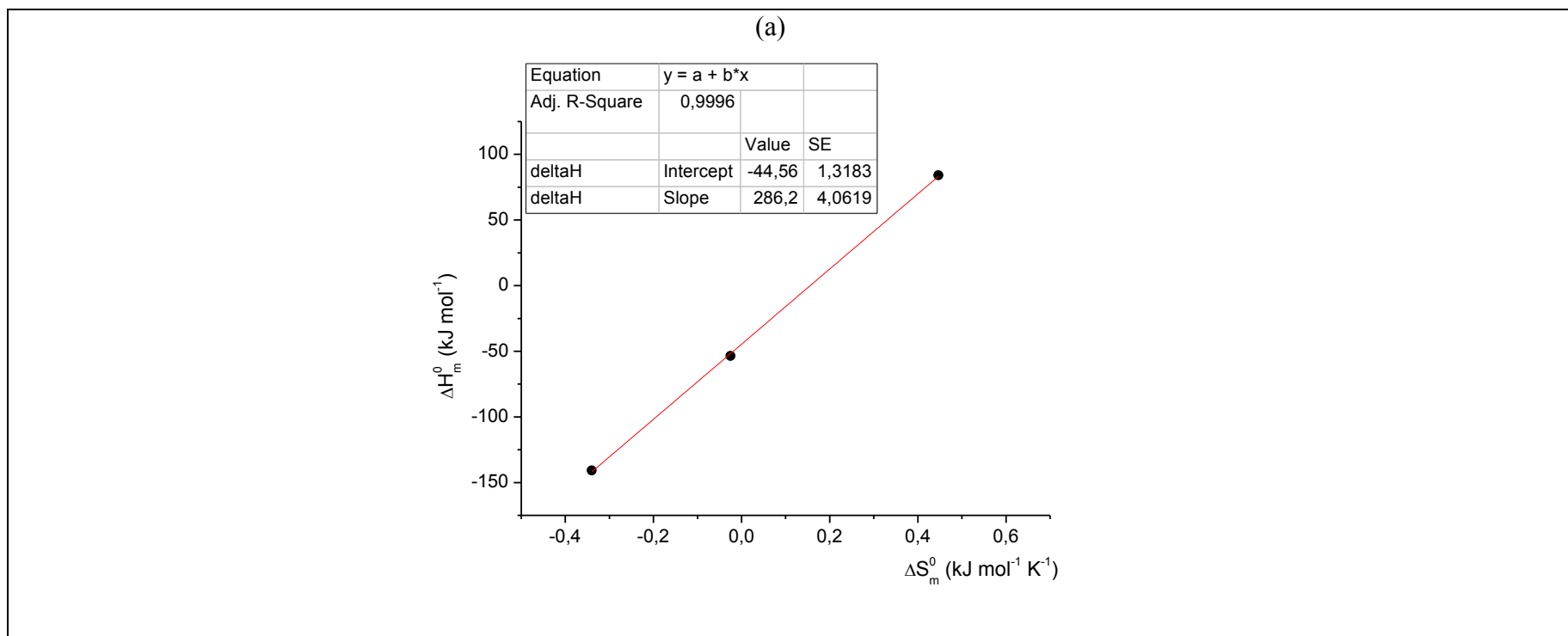
Енталпијско-ентропијска компензација описује се компензационим графиком (слика 32), односно једначином:

$$\Delta H_m^0 = \Delta H_m^* + T_c \Delta S_m^0 \quad (61)$$

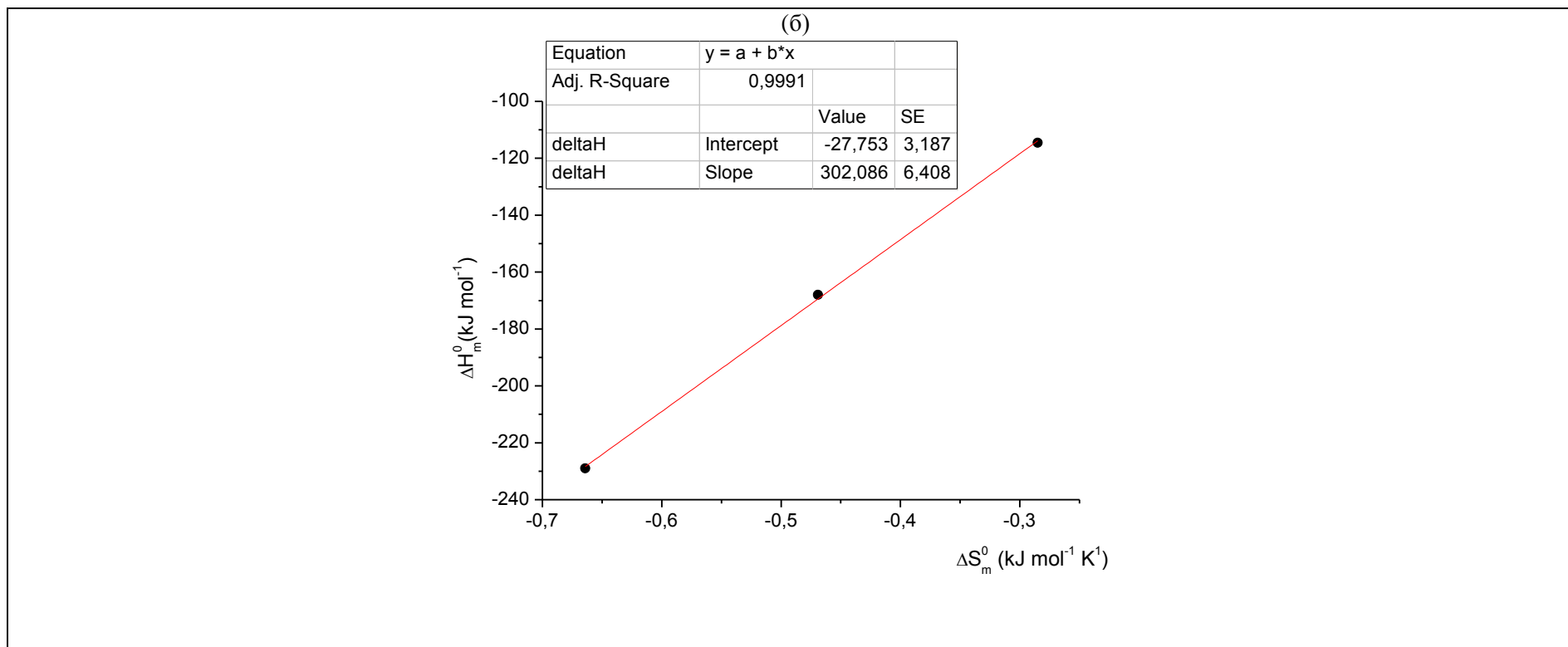
У једначини (61),  $T_c$  (нагиб праве) је компензациона температура која представља мјеру десолватације, тј. дехидратације угљоводоничног низа (репа) мономера сурфактанта. Одсјечак праве (једначина 61),  $\Delta H_m^*$  сматра се „хемијском“ компонентом мицелизације

и односи се на агрегацију угљоводоничних ланаца молекула сурфактанта који формирају мицеле [192]. Према томе,  $T_C$  карактерише интеракцију растворена супстанца-растварач, док  $\Delta H_m^*$  одражава интеракцију између молекула растворене супстанце. Према једначини (61),  $\Delta H_m^*$  представља енталпијски допринос мицелизацији сурфактанта када је ентропијски допринос једнак нули, те указује на стабилност мицеле.

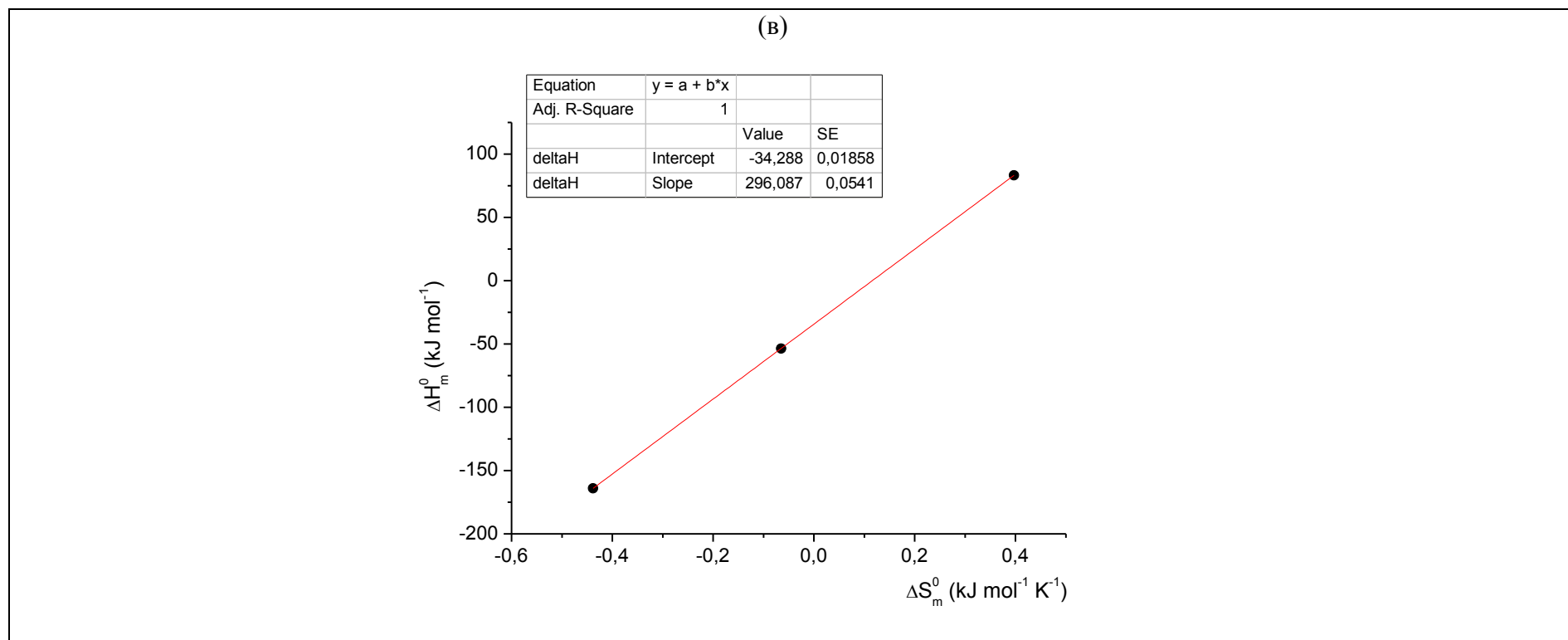
За испитиване мицеларне системе *СТАВ*-а у смјешама ацетонитрил-вода, добија се одлична линеарност између  $\Delta H_m^0$  и  $\Delta S_m^0$  ( $r^2 = 0,999$ ), слика 32. Добијене вриједности  $T_C$  износе: 286,3 К (10% *АСН*), 302,1 К (15% *АСН*) и 294,8 К (20% *АСН*). Компензациона температура добијена за 10% *АСН* одговара оној добијеној за мицелизацију *СТАВ*-а у чистој води [90], што упућује на то да се у овом мицеларном систему мицелизација *СТАВ*-а одвија под истим „структурним“ условима као и у чистој води. Међутим,  $T_C$  за мицелизацију *СТАВ*-а у смјешама са већим удјелом ацетонитрила (15% и 20% *АСН*) већа је од  $T_C$  за мицелизацију *СТАВ*-а у чистој води, што указује на слабљење солвофобних интеракција усљед чега је мицелизација мање фаворизована. Такође, са повећањем удјела ацетонитрила долази до повећања  $\Delta H_m^*$  (постаје мање негативно) што одговара смањењу стабилности мицела и повећању КМК усљед слабљења „хемијске“ компоненте мицелизације.



Наставак слике 32 на следећој страни.



Наставак слике 32 на следећој страни.



Слика 32. Енталпијско-ентропијске компензације *CTAB*-а у смјеси ацетонитрил-вода: (а) 10:90, V/V, (б) 15:85, V/V и (в) 20:80, V/V

Утицај ацетонитрила на мицелизацију *CTAB*-а у испитиваним условима може се анализирати преко такозване слободне енергије трансфера ( $\Delta G_T^0$ ) [67], дате једначином:

$$\Delta G_T^0 = (\Delta G_m^0)_{ACN-W} - (\Delta G_m^0)_W \quad (62)$$

гдје  $(\Delta G_m^0)_{ACN-W}$  и  $(\Delta G_m^0)_W$  представљају промјену стандардне моларне Гибсове енергије мицелизације *CTAB*-а у смјеси ацетонитрил-вода, односно у води. При одређеном удјелу ацетонитрила, добијају се сљедеће вриједности  $(\Delta G_m^0)_T$ : 4,80 kJ mol<sup>-1</sup> (10% *ACN*), 13,20 kJ mol<sup>-1</sup> (15% *ACN*) и 10,67 kJ mol<sup>-1</sup> (20% *ACN*). Добијене позитивне вриједности  $(\Delta G_m^0)_T$  указују то да је трансфер хидрофобних репова сурфактанта из *bulk* фазе у мицелу мање фаворизован за *CTAB* у смјешама ацетонитрил-вода у односу на *CTAB* у води [193], а усљед повећања растворљивости мономера сурфактанта због додатка ацетонитрила. Слично понашање је запажено и код мицелизације тетрадецилтриметиламонијум бромида у смјеси етиленгликол-вода [79] и *CTAB*-а у смјеси пропиленгликол-вода [71].

#### 4.4 Фактори који утичу на ретенцију слабих киселина у хибридном мицеларном систему са *CTAB*-ом

Ретенционо понашање слабих киселина у испитиваном систему *HMLC* са *CTAB*-ом и ацетонитрилом, представља одраз комплексности ове врсте хроматографских система. Додатком ацетонитрила у мицеларни систем *CTAB*-а у води, долази до промјене параметара карактеристичних за мицеларни систем, и то, критичне мицеларне концентрације, Крафтове температуре, агрегационог броја мицела, као и структурних параметара који указују на геометрију и величину мицела (поглавља 4.3.1. и 4.3.3). Познавање вриједности ових параметара значајно је с аспекта анализе ретенционог понашања слабих киселина у испитиваном хибридном мицеларном систему, јер расвјетљава нека од запажених неочекиваних понашања испитиваних анализата. С обзиром на то да је ретенционо понашање одабраних слабих киселина испитивано у експерименталним условима промјене не само садржаја ацетонитрила, него и промјене *pH* мобилне фазе, могуће је добити цјеловиту слику о утицају карактеристика испитиваног *HMLC* система на ретенцију јонизованог и нејонизованог облика анализата.

Ретенциони фактори анализата су одређени коришћењем референтног једињења [194, 195] како би се обезбиједила конзистентност експерименталних резултата. У овом

истраживању је коришћен антипирин због његовог неретенционог понашања при испитиваним експерименталним условима. Овакво понашање антипирина објашњава се његовим базним особинама услед којих постоји електростатичко одбијање између антипирина и мономера СТАВ-а било да су адсорбовани на стационарној фази [1], било да су организовани у мицеле. Ретенциони фактор антипирина одређује се из једначине [194]:

$$k_r = \frac{t_r - t_0}{t_0 - t_{ext}} \quad (63)$$

гдје је  $k_r$  ретенциони фактор антипирина,  $t_r$  је ретенционо вријеме антипирина,  $t_0$  је вријеме до појаве пика мобилне фазе (енг. *column void time*) и  $t_{ext}$  је вријеме кашњења услед мртве запремине система (енг. *extra-column time*), и добија се читавањем ретенционог времена пика када се умјесто колоне стави наставак без запремине.

За хроматографски систем у овим испитивањима  $t_{ext}$  је одређена експериментално и износи 0,164 min. Ретенциони фактор сваког анализата одређен је из једначине:

$$k = \frac{t}{t_r} (1 + k_r) - 1 \quad (64)$$

гдје  $k$  представља ретенциони фактор анализата, а  $t$  његово ретенционо вријеме.

#### 4.4.1 Моделовање ретенционог понашања

Како би се описало ретенционо понашање испитиваних анализа, ретенциони фактор ( $k$ ), концентрација протона ( $h$ ) и запремински удио корастварача ( $\varphi$ ) фитовани су у ретенциони модел (једначина 41, поглавље 1.5.2) који су предложили Торес-Лапасио и сарадници [139] уз помоћ програма *STATISTICA 7.0*.

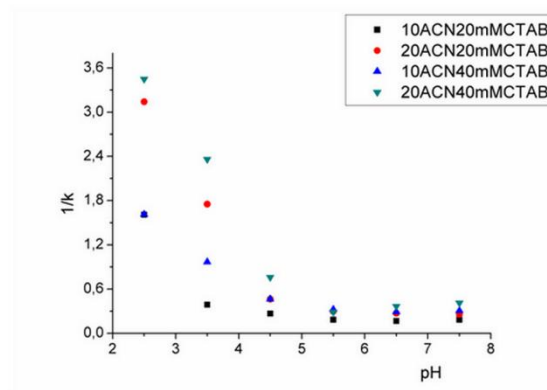
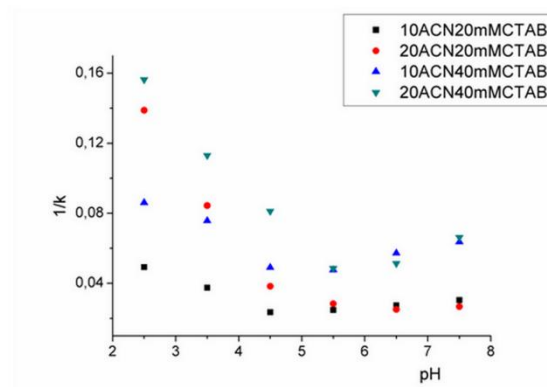
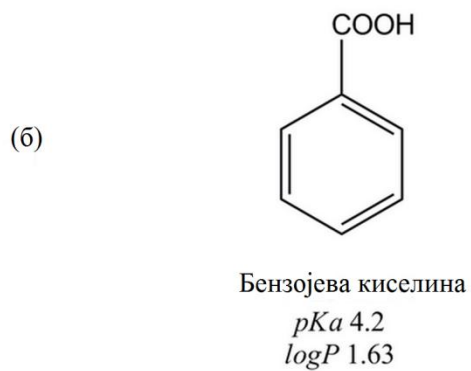
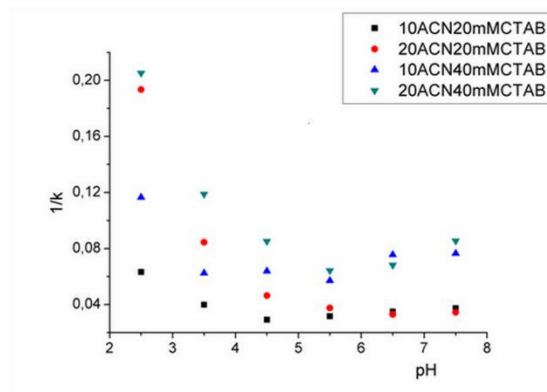
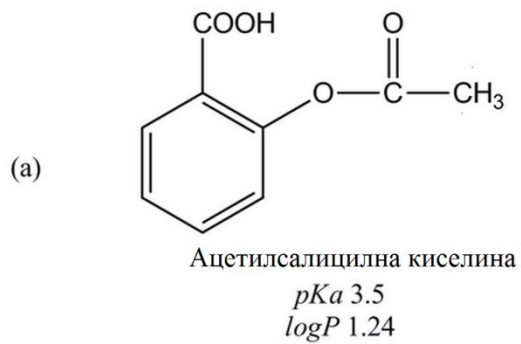
Модел је развијен на примјеру ретенционог понашања слабих база у мицеларном систему са анјонским сурфактантом натријум додецилсулфатом (енг. *sodium dodecylsulfate* - *SDS*). С обзиром на то да се у овој докторској дисертацији испитује ретенционо понашање слабих киселина, ради јасноће и једноставности, биће коришћени термини јонизовани и нејонизовани облик анализа умјесто протоновани (кисели) и непротоновани (базни).

Коришћена су два сета експериментално добијених података како би се добиле вриједности  $k$  према једначини (64) за различите мицеларне системе, и то, један сет података за мицеларне системе са 10% *ACN* и други за мицеларне системе са 20% *ACN*, а потом су ова два сета одвојено фитована у једначину (41) (поглавље 1.5.2) како би се окарактерисало ретенционо понашање анализа у испитиваним системима. За сваки аналит, једначина (41) је прилагођена изостављањем једног или више коефицијената модела. Коефицијенти су изостављени онда када није било оправдано да остану дио модела, нпр. у случају да се фитовањем добијају негативне вриједности неког од коефицијената, потом уколико се коефицијент корелације повећава изостављањем неког коефицијента и сл. Када би утицај одређене константе био окарактерисан као занемарљив [196], та константа би била изостављена из једначине приликом фитовања података за одређени аналит. Међутим, први корак код моделовања ретенционог понашања анализа је свакако фитовање у модел који садржи све константе ретенционог понашања како би се одредиле почетне вриједности ових константи, које треба подесити при њиховом коначном фитовању, али и како би се закључило које од њих могу бити изостављене из коначног модела за дати аналит. За већину анализа почетна вриједност константе  $KAS$  је била реда величине  $10^1$ . На основу пропорционалног односа између експериментално добијених вриједности  $k$  за нејонизовани облик анализа (при  $pH$  2,5) и јонизовани облик анализа (при  $pH$  7,5), постављене су и почетне вриједности  $KAS$  и  $KHAS$  тако да се очува постојећа пропорционалност. Ипак, за поједине анализе било је могуће искључити  $KHAS$  из модела због неретенционог

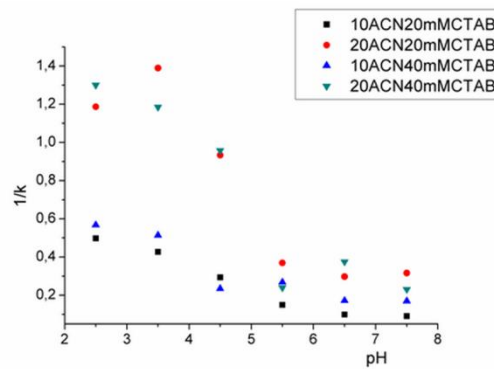
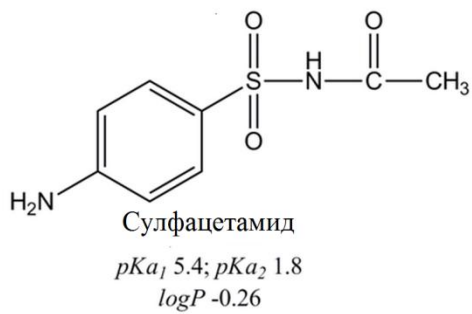


понашања при  $pH$  2,5. Почетне вриједности  $K_{AM}$  и  $K_{HAM}$  нису могле бити процијењене на основу експерименталних резултата, па су подешене тако да буду реда величине  $10^2$ , док су почетне вриједности  $K_{AD}$ ,  $K_{HAD}$ ,  $K_{MD}$  и  $K_{HMD}$  биле реда величине  $10^1$ . Што се тиче почетне вриједности  $K_H$ , емпиријски је утврђено да промјена реда величине од  $10^1$  до  $10^3$  има утицај на број константи које могу бити укључене у модел ретенционог понашања анализата, тако да у зависности од анализата, промјена овог фактора на описани начин доводи до коначног модела који је коришћен за описивање ретенционог понашања анализата.

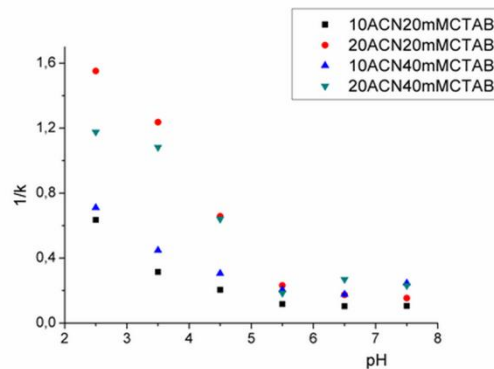
Након што су одређене константе ретенционог понашања за сваки аналит, израчунати су и молекулски дескриптори на начин описан у поглављу 3.7.3. Како би се одредио главни фактор који утиче на ретенционо понашање слабих киселина у испитиваним хибридном мицеларним системима, варирани су запремински удио ацетонитрила и концентрација *СТАВ*-а, при  $pH$  у опсегу од 2,5 до 7,5. Анализати су према уоченом ретенционом понашању подијељени у три групе: 1) монопротонске слабе киселине (ацетилсалицилна киселина (слика 33а), бензојева киселина (слика 33б) и аскорбинска киселина (слика 33в), 2) анализати који имају и киселе и базне функционалне групе (сулфацетамид (слика 33г), *p*-аминобензојева киселина (слика 33д), ампицилин (слика 33ђ) и амоксицилин (слика 33е) и 3) салицилна киселина (слика 33ж) и фуросемид (слика 33з). Фенобарбитон (слика 33и), који је у испитиваном опсегу  $pH$  вриједности у највећој мјери нејонизован, одабран је као контролна супстанца јер се не очекује да на његово ретенционо понашање утичу одабрани експериментални услови. Ретенционо понашање анализата из групе 1 и групе 3 шематски је приказано на слици 34, док су анализати из групе 2 изостављени због уочене сложености ретенционог понашања (слика 33).



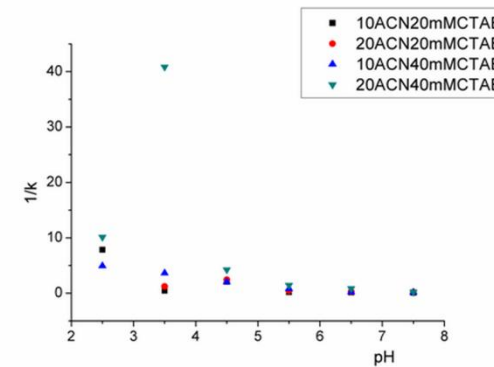
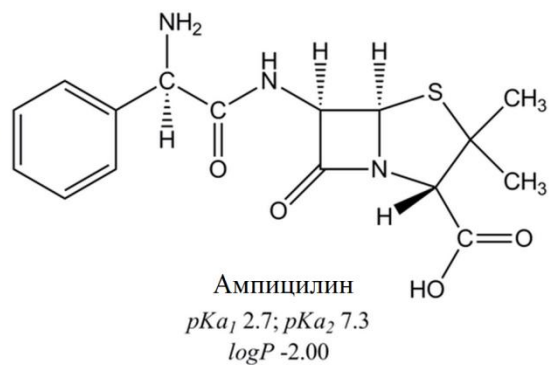
(г)



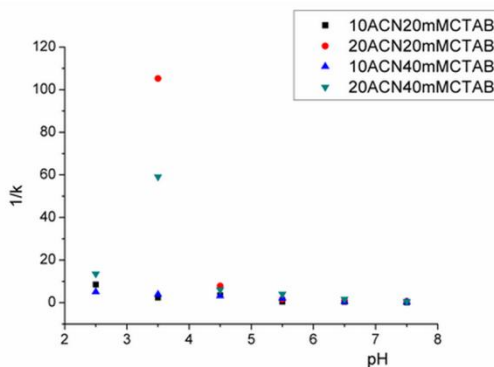
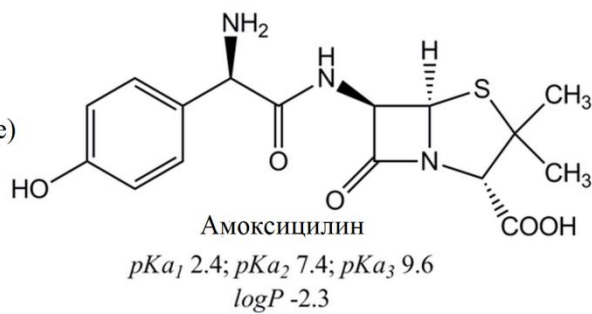
(д)

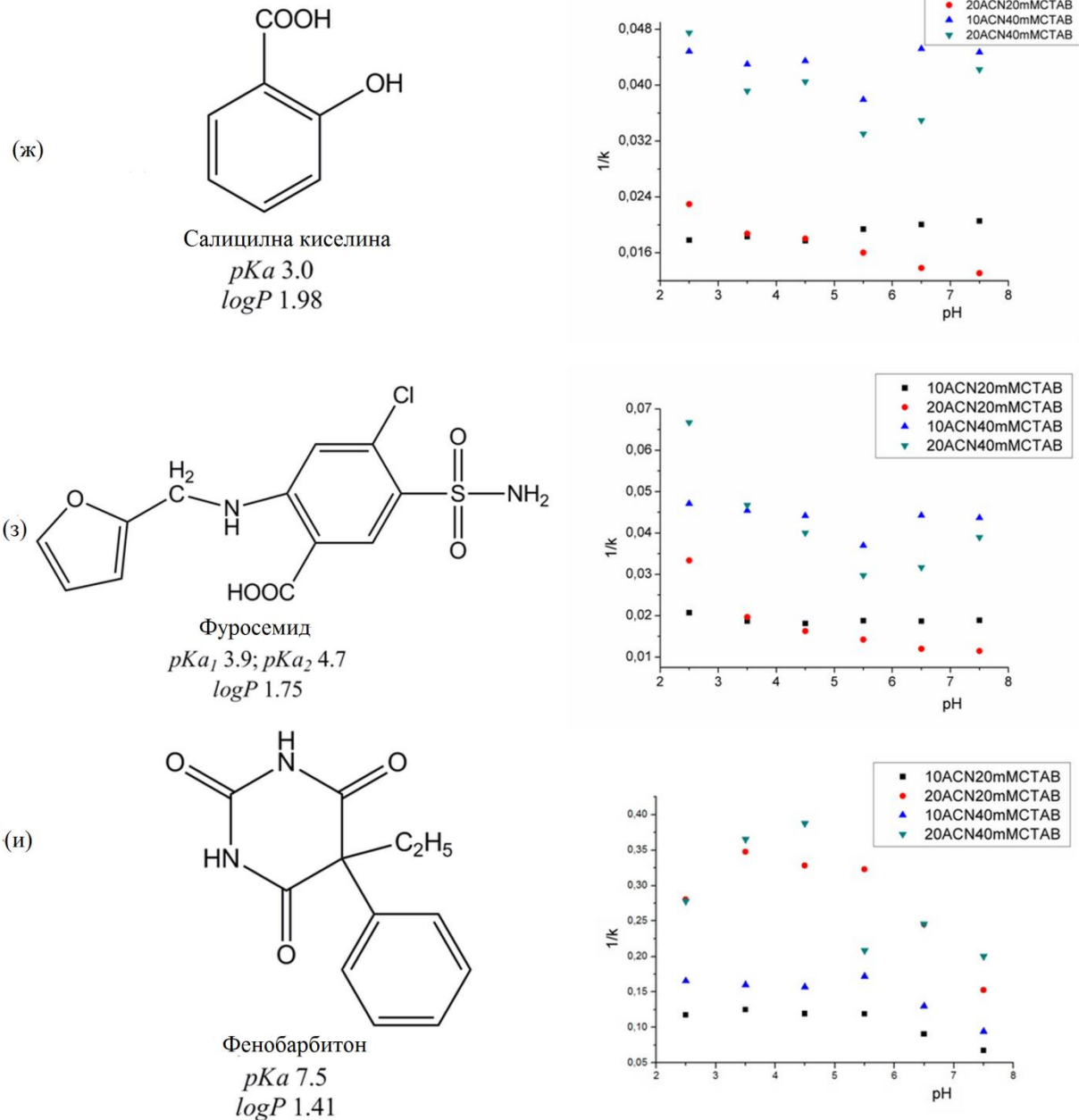


(ђ)

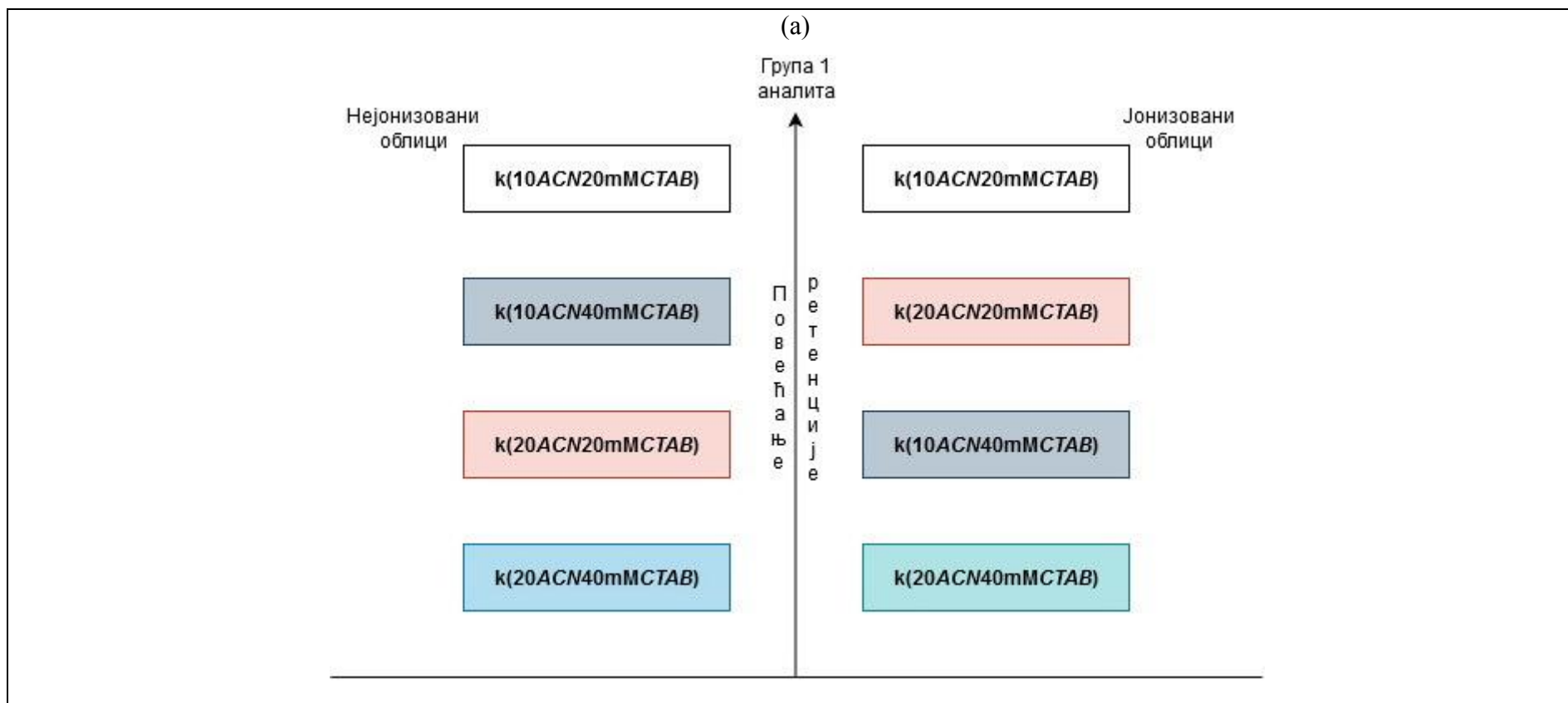


(е)

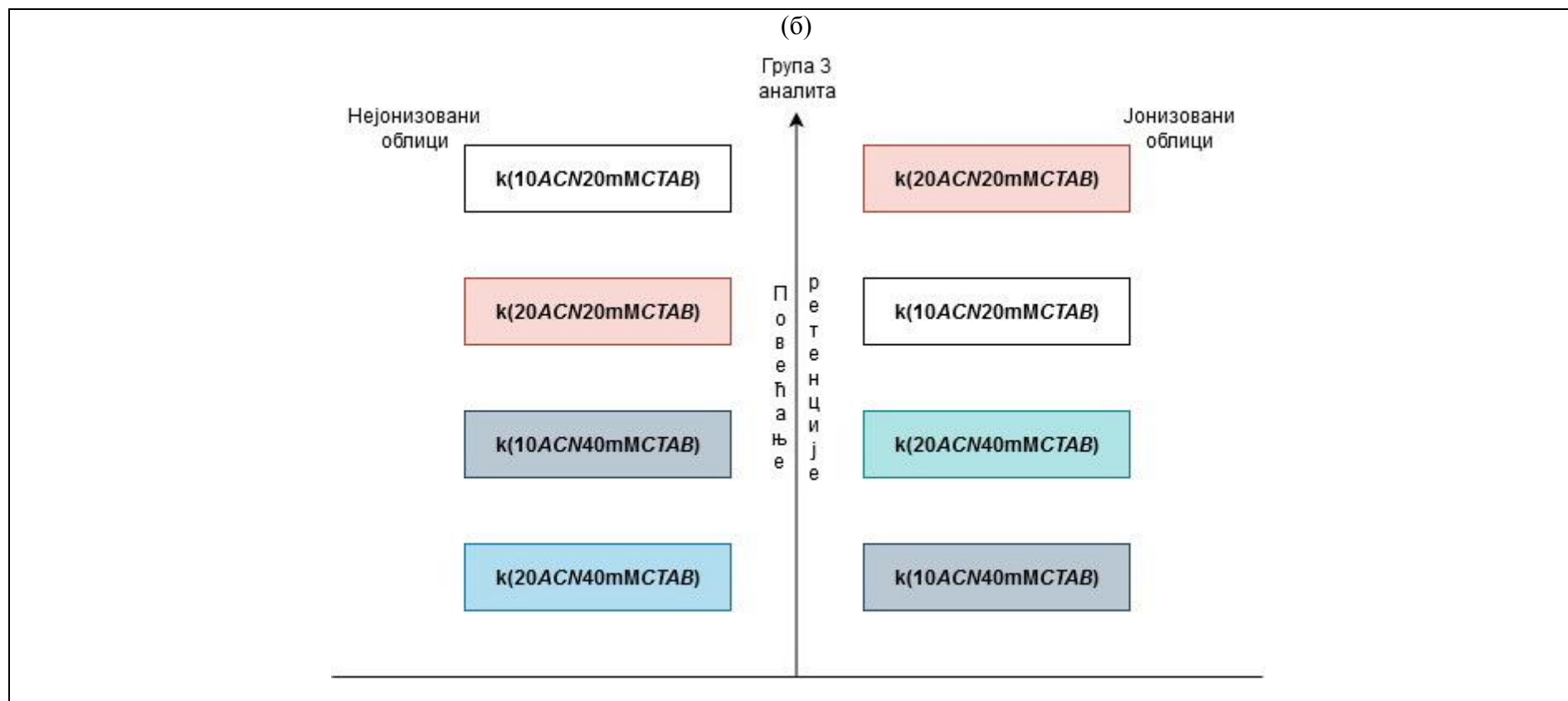




**Слика 33:** Хемијска структура и ретенционо понашање (а) ацетилсалицилне киселине, (б) бензојеве киселине, (в) аскорбинске киселине, (г) сулфацетамида, (д) *p*-аминобензојеве киселине (*РАВА*), (ђ) ампицилина, (е) амоксицилина, (ж) салицилне киселине, (з) фуросемида и (и) фенобарбитона, представљено као зависност  $1/k$  од  $pH$  вриједности за четири мобилне фазе: 10% *ACN* - 90% 20 mM *CTAB* у воденом дијелу мобилне фазе (■), 20% *ACN* - 80% 20 mM *CTAB* у воденом дијелу мобилне фазе (●), 10% *ACN* - 90% 40 mM *CTAB* у воденом дијелу мобилне фазе (▲) и 20% *ACN* - 80% 40 mM *CTAB* у воденом дијелу мобилне фазе (▼)



Наставак слике 34 на сљедећој страни.



**Слика 34.** Промјене ретенционог фактора ( $k$ ) јонизованих и нејонизованих облика анализата (а) групе 1 и (б) групе 3 у четири различите мобилне фазе: 10% ACN - 90% 20 mM CTAB у воденом дијелу мобилне фазе, 20% ACN - 80% 20 mM CTAB у воденом дијелу мобилне фазе, 10% ACN - 90% 40 mM CTAB у воденом дијелу мобилне фазе и 20% ACN - 80% 40 mM CTAB у воденом дијелу мобилне фазе

За монопротонске слабе киселине смјештене у групу 1 запажено је да до  $pH$  3,5, нејонизовани облици ових анализа показују ретенционо понашање као у *RP-HPLC* систему, те повећање удјела ацетонитрила доводи до смањења ретенције. Ово потврђује и примјер фенобарбитона за који је најмања  $k$  вриједност добијена за два система са највећим удјелом ацетонитрила (● и ▼ на слици 33и). Са друге стране, при  $pH$  вриједностима већим од  $pK_a$  анализа, концентрација *СТАВ*-а постаје доминантни фактор који утиче на ретенционо понашање јонизованог облика ових монопротонских слабих киселина. При константној  $pH$  вриједности мобилне фазе најниже  $k$  вриједности добијене су управо за два мицеларна система са највећом концентрацијом *СТАВ*-а (▲ и ▼ слика 33а, б, в) и обратно. Међутим, важно је нагласити да чак и при већим  $pH$  вриједностима, када се анализ налази у јонизованом облику, за два хибридна мицеларна система са једнаком концентрацијом *СТАВ*-а,  $k$  је ипак мање за систем који садржи већи удјел ацетонитрила.

Ретенционо понашање анализа који имају и киселе и базне функционалне групе, попут оних сврстаних у групу 2, изузетно је тешко предвидјети. Ипак, експериментално је установљено да су за анализе из групе 2, вриједности  $k$  мање у хибридном мицеларним системима који садрже већу концентрацију ацетонитрила (● и ▼ налазе се изнад ■ и ▲ на слици 33г, д, ђ, е). Како се ампицилин и амоксицилин у мицеларном систему 20% *АСН* - 80% 20 mM *СТАВ* у воденом дијелу мобилне фазе при  $pH = 2,5$  понашају неретенционо, добијени ретенциони фактор има негативну вриједност, те је та експериментална тачка изостављена са слике 33(ђ) и 33(е).

Насупрот претходно описаном ретенционом понашању монопротонских слабих киселина из групе 1, салицилна киселина и фуросемид имају најмањи ретенциони фактор у мицеларним системима са највећом концентрацијом *СТАВ*-а и обратно (слика 33ж и 33з) за цијели испитивани опсег  $pH$  вриједности, те су стога ова два анализа издвојена у групу 3. Ипак, уочено је да је за нејонизовани облик ових анализа (при  $pH$  2,5 за салицилну киселину, односно при  $pH$  2,5 и  $pH$  3,5 за фуросемид) очуван претходно запажени утицај запреминског удјела ацетонитрила. У системима са једнаким концентрацијама *СТАВ*-а, вриједност  $k$  је мања за систем са 20% *АСН* у односу на систем са 10% *АСН*. Код јонизованог облика (при  $pH \geq 3,5$  за салицилну киселину, односно при  $pH \geq 4,5$  за фуросемид) доминантан је утицај концентрације *СТАВ*-а, што је у сагласности са претходно описаним ретенционим понашањем анализа

из групе 1. Међутим, за исту  $pH$  вриједност, добијена је мања вриједност  $k$  јонизованих облика у хибридним мицеларним системима с мањим запреминским удјелом ацетонитрила што је карактеристично за салицилну киселину и фуросемид (слика 34).

Утврђене „обрасце“ ретенционог понашања могуће је објаснити и квантификовати одговарајућим ретенционим моделом и испитивањем утицаја структуре анализата. Добијене  $k$  вриједности фитоване су у једначину 41 (табела 10), а потом су израчунати молекулски дескриптори (табела 11а и 11б) како би се објаснила запажена ретенциона понашања нејонизованих и јонизованих облика анализата.



**Табела 10.** Прилагођени модели ретенционог понашања у односу на запремински удио ацетонитрила. За све представљене моделе коефицијент корелације ( $r^2$ ) је већи од 0,90.

Аналит	% ACN (V/V)	KAS	KAD	KAM	KMD	KHAS	KHAD	KHAM	KHMD	logK <sub>H</sub>
Ацетилсалицилна киселина	10%	379,5	-	164,8	31,205	14,7	-	54,8	-	3,58
	20%	115,5	-	91,4	6,78	3,2	-	-	-	0,55
Бензојева киселина	10%	7787,2	-	755,8	147,0	77,3	-	192,6	-	5,14
	20%	1523,5	-	70,1	179,4	11,9	-	0,2	891	5,75
Аскорбинска киселина	10%	26,8	5,1	198,6	-	-	-	1745,3	862,7	0,82
	20%	16,3	10,6	56,7	2,11	-	-	11,9	18,8	4,23
Фенобарбитон	10%	37,5	3,7	18,9	18,53	12,8	-	2,5	118,2	6,86
	20%	11	-	3	48	3	-	-	-	7,15
Сулфацетамид	10%	79,1	-	137,0	16,47	2,3	-	-	-	6,33
	20%	10,7	9,9	-	-	0,7	-	-	-	4,94
p-аминобензојева киселина	10%	83,1	-	114,9	29,21	70,8	267,0	437,5	-	5,51
	20%	12,9	2,4	7,2	24,6	4,3	27,9	-	-	5,18
Ампицилин	10%	47,1	-	186,9	-	-	71903,0	365468,08	48390,4	2,85
	20%	4,9	-	-	-	-	-	2005,1	2000,1	2,00
Амоксицилин	10%	30,5	-	28,2	-	-	-	8541,6	121526,4	1,22
	20%	1,6	-	-	-	-	-	2093,3	2090,4	1,97
Салицилна киселина	10%	100816,3	-	122973,1	-	899552,6	-	4521,4	2141,5	4,90
	20%	723295,9	-	4420,9	763,2	693555,2	-	1957,8	2415,4	5,00
Фуросемид	10%	233693,7	-	259117,2	-	199291,6	-	2021,3	1612,9	2,10
	20%	537080,2	-	4777,3	476,3	65834,0	-	796,4	784,7	4,80

KAS и KHAS – константе везивања јонизованог и нејонизованог облика за стационарну фазу

*KAM* и *KHAM* - константе везивања јонизованог и нејонизованог облика за мицелу

*KMD* и *KHMD* – мјера релативне промјене концентрације јонизованог и нејонизованог облика анализата у мицели у присуству корастварача у односу на чист мицеларни раствор

*KAD* and *KHAD* - мјера релативне промјене концентрације јонизованог и нејонизованог облика анализата у воденом дијелу мобилне фазе у присуству корастварача у односу на чист мицеларни раствор

*K<sub>H</sub>* - константа протоновања

**Табела 11а.** Молекулски дескриптори који корелирају са *KAS* и *KHAS* за мицеларне системе са *CTAB*-ом у смјеси ацетонитрил-вода 10% *ACN* и 20% *ACN*

<b><i>KAS</i> (10% <i>ACN</i>)</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b><i>KAS</i> (20% <i>ACN</i>)</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b><i>KHAS</i> (10% <i>ACN</i>)</b>	<b><math>R^2</math></b>	<b><i>KHAS</i> (20% <i>ACN</i>)</b>	<b><math>R^2</math></b>
<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,5101	<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,5061	<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,7887	<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,8624
<i>WNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4733	<i>WNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4726	<i>WNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,8563	<i>WNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,8657
<i>IX GAMMA polarizability (DIP)</i>	0,4475	<i>IX GAMMA polarizability (DIP)</i>	0,5196	<i>IX GAMMA polarizability (DIP)</i>	0,781	<i>IX GAMMA polarizability (DIP)</i>	0,8303
<i>WNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,4001	<i>WNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,4151	<i>WNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,9081	<i>WNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,9205
<i>PNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4318	<i>PNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4014	<i>PNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,8648	<i>PNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,856
<i>Min (&gt;0.1) bond order of a H atom</i>	0,3967	<i>Min (&gt;0.1) bond order of a H atom</i>	0,3785	<i>WPSA-3 Zefirov's PC</i>	0,8633	<i>WPSA-3 Zefirov's PC</i>	0,8545
<i>Relative number of Cl atoms</i>	0,3911	<i>WNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,3688	<i>Max nucleoph. React. Index for a C atom</i>	0,844	<i>Max nucleoph. React. Index for a C atom</i>	0,8481
<i>DPSA-3 Zefirov's PC</i>	0,3841			<i>WPSA-2 Zefirov's PC</i>	0,8306	<i>WPSA-2 Zefirov's PC</i>	0,8278
				<i>XY Shadow</i>	0,8077	<i>XY Shadow</i>	0,8632
				<i>WNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,8021	<i>WNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,8688

**Табела 116.** Молекулски дескриптори који корелирају са *KAM* и *KHAM* за мицеларне системе са *CTAB*-ом у смјеси ацетонитрил-вода 10% *ACN* и 20% *ACN*

<b>KAM (10% ACN)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>KAM (20% ACN)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>KHAM (10% ACN)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>KHAM (20% ACN)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,5115	<i>PNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,8128	<i>Min atomic state energy for a C atom</i>	0,4263	<i>Min. Electroph. React. Index for C atom</i>	0,8345
<i>WNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4947	<i>Min 1-electron react. Index for a C atom</i>	0,8421	<i>Polarity parameter/square distance</i>	0,4134	<i>Relative number of N atoms</i>	0,8131
<i>IX GAMMA polarizability (DIP)</i>	0,526	<i>Number of rings</i>	0,8244	<i>Min total interaction for a C-H bond</i>	0,3922	<i>Final heat of formation/# of atoms</i>	0,7757
<i>WNSA-2 Zefirov's PC</i>	0,4443	<i>Min (&gt;0,1) bond order of a O atom</i>	0,7846	<i>Avg valency of a O atom</i>	0,3666	<i>Max bonding contribution of a MO</i>	0,6835
<i>Min (&gt;0,1) bond order of a H atom</i>	0,4664	<i>Min (&gt;0,1) bond order of a H atom</i>	0,7859	<i>Min n-n repulsion for a C-O bond</i>	0,4589	<i>Max nucleoph. React. Index for a O atom</i>	0,6821
<i>PNSA-3 Zefirov's PC</i>	0,4363	<i>Average complementary information content (order 0)</i>	0,7365	<i>Min e-n attraction for a C atom</i>	0,4270	<i>HOMO energy</i>	0,6618
<i>DPSA-3 Zefirov's PC</i>	0,401	<i>Max nucleoph. React. Index for a C atom</i>	0,7063	<i>Avg 1-electron react. Index for a C atom</i>	0,5768	<i>Principal moment of inertia B/ # of atoms</i>	0,6410
<i>Min partial charge for a O atom Zefirov's PC</i>	0,3774	<i>Number of C atoms</i>	0,7099	<i>IX BETA polarizability (DIP)</i>	0,5495	<i>Relative number of O atoms</i>	0,6358
		<i>WNSA-1 Zefirov's PC</i>	0,681	<i>Relative number of rings</i>	0,5396	<i>Max valency of a H atom</i>	0,6349

Емпиријски је утврђено да није оправдано искључити константу *KAS* из модела ретенционог понашања приликом фитовања, што указује на значај интеракције између аниона анализата и позитивно наелектрисаних молекула *CTAB*-а који се адсорбују на стационарну фазу. Резултати приказани у табели 10 указују на то да *KAS* и *KHAS* имају веће вриједности за мицеларне системе са мањим садржајем ацетонитрила. Додатак органског растварача утиче на особине стационарне фазе, тако што дјелимично раствара молекуле сурфактанта адсорбоване на стационарној фази [38], а што има за последицу смањено везивање анализата за стационарну фазу с повећањем запреминског удјела ацетонитрила. За анализите који садрже и киселе и базне функционалне групе у својој структури није било могуће установити „образац“ ретенционог понашања нејонизованог и јонизованог облика, али је запажено да повећање запреминског удјела ацетонитрила са 10% на 20% *ACN* узрокује смањење *KAS* десет или више пута, док је за остале анализите ово смањење било у опсегу од 1,5 до 5 пута. Осим тога, за све испитиване анализите, осим за салицилну киселину у мицеларном систему са 10% *ACN*, *KHAS* је мање од *KAS*.

Анализа молекулских дескриптора показује да дескриптори који су повезани с негативним наелектривањем површине молекула (*PNSA-1*, *PNSA-3*, *WNSA-2* и *WNSA-3*) високо корелирају с *KAS* и *KHAS* (табела 11а). Негативно наелектрисана површина молекула омогућава електростатичке интеракције и јонизованог и нејонизованог облика анализата с позитивно наелектрисаним молекулима *CTAB*-а адсорбованим на стационарној фази. Вриједности *KAS* које су веће од *KHAS* могу се објаснити постојањем додатних јаких електростатичких интеракција између негативно наелектрисаних јонизованих облика анализата и стационарне фазе супротног наелектривања. С обзиром на то да нису сви адсорбовани молекули *CTAB*-а на стационарној фази на исти начин оријентисани према *bulk* фази [1], електростатичке интеракције нису једини вид интеракције између анализата и *CTAB*-а на стационарној фази. Доказ за то је корелација параметра *KHAS* са дескриптором *XY-shadow* који описује геометрију молекула, тако код нејонизованих облика анализата, геометрија молекула утиче на његову способност да интерагује са стационарном фазом. У овом случају величина и облик молекула анализата могу бити ограничавајући фактори за пролазак кроз слој адсорбованих молекула *CTAB*-а на стационарној фази, а на интеракције анализата и стационарне фазе може утицати и оријентација молекула према силанолним групама смјештеним нешто дубље у овом слоју.

Како је приказано на слици 34, салицилна киселина и фуросемид показују већу ретенцију у мицеларном систему са већим садржајем ацетонитрила, што се одражава и на вриједност *KAS* која је већа за ове системе. За оба мицеларна система, константа *KAS* показује високу корелацију са дескрипторима који указују на електростатичке интеракције и водоничне везе, као код везивања јонизованог облика анализата за стационарну фазу. Ово указује на то да *o*-хидрокси група која је присутна у структури салицилне киселине може формирати водоничне везе са слободним силанолним групама на  $C_{18}$  стационарној фази. У мицеларном систему са 10% *ACN*, стационарна фаза је у већој мјери „прекривена“ *CTAB*-ом, те су силанолне групе засићене и недоступне за формирање водоничне везе са анализатом. Како је фуросемид једини међу испитиваним анализатима који у својој структури садржи атом хлора, молекулски дескриптор *Релативни број Cl атома (Relative number of Cl atoms)*, који је у корелацији искључиво са *KAS* за мицеларне системе са 10% *ACN*, објашњава његово ретенционо понашање. Атоми хлора су изразито електронегативни, имају снажан негативни индуктивни ефекат (*-I* ефекат), те смањују густину електрона у бензеновом прстену, што објашњава мању ретенцију фуросемида у систему са 10% *ACN*: због присуства атома хлора директно везаног за бензенов прстен, код фуросемида је смањена могућност везивања за монослој *CTAB*-а адсорбованог на стационарној фази.

Интересантно је поменути да су вриједности и *KAM* и *KHAM* веће за мицеларне системе са мањим удјелом ацетонитрила. Ово се може објаснити чињеницом да повећање запреминског удјела ацетонитрила доводи до смањења агрегационог броја мицеле [197], што за последицу има смањење капацитета мицеле за везивање анализата. Молекулски дескриптори који описују електростатичке интеракције (*PNSA-1*, *WNSA-2*, *WNSA-3*) добро корелирају са *KAM* с обзиром на то да анализат остварује исти тип интеракције са *CTAB*-ом, било да су молекули *CTAB*-а адсорбовани на стационарну фазу или инкорпорирани у мицелу. Такође, може се претпоставити да липофилност (слика 33) испитиваних анализата утиче на афинитет анализата за стационарну фазу, односно мицелу, те константе *KAS* или *KAM* имају већу вриједност код липофилнијих једињења (табела 10). Међутим, у системима са 20% *ACN*, осим *PNSA-1*, *WNSA-1* и *Min (>0.1) bond order of a H atom*, молекулски дескриптори *Number of rings* и *Number of C atoms* такође корелирају са *KAM*. Ово указује да у мицеларним системима са 20% *ACN*, када је капацитет мицеле за електростатичке интеракције смањен усљед смањења

агрегационог броја, величина и геометрија анализата су фактори који могу утицати на интеракцију између мицеле и анализата, тако да и то морамо узети у обзир.

Са друге стране, у системима са 20% ACN, KHAM је у веома доброј корелацији са дескрипторима *Principal moment of inertia B/ # of atoms*, *Relative number of O atoms* и *Relative number of N atoms*. Ово потврђује да геометрија анализата има утицај на везивање анализата за мицеле, јер и мицеле имају измијењену геометрију усљед смањења агрегационог броја узрокованог повећањем запреминског удјела ацетонитрила.

## 5. ЗАКЉУЧАК

1. Одређена је КМК катјонског сурфактанта *СТАВ*-а у води на  $t = 25,0^{\circ}\text{C}$ , као и у смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*) на  $t=20,0^{\circ}\text{C}$ , примјеном различитих математичких метода: Вилијамсове методе, метода диференцирања (методе првог извода и другог извода (Филипсове методе)) и методе интегралења (Карпенове методе) на податке добијене мјерењем специфичне проводљивости,  $\kappa$  у функцији укупне концентрације *СТАВ*-а,  $c_S$ . Установљено је да не постоји значајна разлика између КМК вриједности добијених сваком од наведених метода ( $\text{RSD}=0,5\%$ ) уколико се  $\kappa$  значајно мијења са промјеном концентрације сурфактанта у околини КМК, тј. на прелазу из предмицеларног у постмицеларни сегмент дисконтинуалне криве  $\kappa=f(c_S)$ , што је добијено у случају анализе воденог раствора *СТАВ*-а. Међутим, уколико је промјена  $\kappa$  мала са промјеном концентрације сурфактанта на прелазу између ових сегмената, оптимална математичка метода за анализу  $\kappa$ - $c_S$  података је Карпенова метода, што је и утврђено у случају *СТАВ*-а у бинарној смјеси ацетонитрил-вода (20:80, *V/V*).

Разрађена је Карпенова метода, односно дат је поступан опис ове методе у циљу дефинисања алгоритма за елементарне кораке одређивања КМК на репрезентативном примјеру *СТАВ*-а у смјеси ацетонитрил-вода (10:90, *V/V*) на  $t = 30^{\circ}\text{C}$ . Установљено је да је ширина прелаза  $\Delta c$ , односно опсег концентрација сурфактанта ( $c_S$ ) који одговара дисконтинуитету криве  $\kappa=f(c_S)$ , кључни параметар од кога зависи вриједност КМК добијена у процесу фитовања експериментално добијених,  $\kappa$ - $c_S$  података Карпеновом методом. С обзиром на значај и комплексност Карпенове методе, предложен је алгоритам за извођење овог математичког поступка, који се може примијенити на  $\kappa$ - $c_S$  податке добијене за сваки мицеларни систем карактеристика сличних онима које има *СТАВ* у смјеси ацетонитрила и воде. Примјеном дефинисаног алгоритма добија се велики број сетова података који садрже КМК и параметре за израчунавање степена јонизације мицеле ( $\alpha$ ). Како би се на најпоузданији начин из добијених сетова података одредили КМК и  $\alpha$ , анализирани су релативна стандардна грешка одређивања КМК,  $SE_{\text{КМК}}$  (%) и параметар  $red. \chi^2$ , који указује на слагање између експерименталних и података добијених фитовањем, тј. зависности  $SE_{\text{КМК}}$ , као и  $red. \chi^2$  од ширине прелаза,  $\Delta c$ . Закључено је да се најбољи резултати добијају одабиром сетова података из регије  $SE_{\text{КМК}}(\%)-\Delta c$ , као и  $red. \chi^2-\Delta c$  у којој су вриједности  $SE_{\text{КМК}}(\%)$  и  $red. \chi^2$  минималне и приближно константне.



2. Утицај ацетонитрила на мицелизацију *СТАВ*-а испитан је кондуктометријским одређивањем КМК, степена јонизације мицеле ( $\alpha$ ) и Крафтове температуре, док је флуоресцентна спектроскопија коришћена за одређивање неколико КМК (за поређење резултата), агрегационог броја мицеле ( $N_{ag}$ ) и структурних параметара мицеле (површина по глави мономера сурфактанта,  $a_0$  и параметар паковања,  $P$ ). Анализирани су мицеларни системи *СТАВ*-а у смјешама са различитим запреминским удјелом ацетонитрила (10%, 15% и 20%,  $V/V$ ) на различитим температурама (291,2 К, 295,2 К и 298,2 К). Вриједности КМК и  $\alpha$  одређене су Карпеновом методом према утврђеном алгоритму. Уочено је да се у испитиваном мицеларном систему, на константној температури, са повећањем запреминског удјела ацетонитрила, повећава КМК и смањује  $N_{ag}$ . Такође, са повећањем температуре, у испитиваном опсегу температура, КМК се повећава у случају *СТАВ*-а у смјеши ацетонитрил-вода (10:90,  $V/V$ ) док је у смјешама ацетонитрил-вода са већим удјелом ацетонитрила (15:85 и 20:80,  $V/V$ ), утицај температуре на КМК комплексан, те КМК имају минималне вриједности на  $T=295,2$  К. Одређена је и Крафтова температура ( $T_K$ ) анализираних мицеларних система, из температурне зависности специфичне проводљивости. Са порастом запреминског удјела ацетонитрила у смјеши ацетонитрил-вода,  $T_K$  опада, а добијене вриједности (293,2 К (10:90,  $V/V$ ), 287,2 К (15:85,  $V/V$ ) и 283,2 К (20:80,  $V/V$ )) су ниже од  $T_K$  воденог раствора *СТАВ*-а ( $T_K \approx 298$  К), што помјера температурну границу испитивања утицаја ацетонитрила на мицелизацију *СТАВ*-а ка значајно нижим температурама. Поред тога, уочено је да испитивани мицеларни системи показују хистерезис, али осим феноменолошког аспекта, предмет изучавања у овој докторској дисертацији нису узроци ни посљедице његовог постојања.

Одређивањем термодинамичких параметара мицелизације *СТАВ*-а у анализираним мицеларним системима (промјене стандардне моларне Гибсове слободне енергије ( $\Delta G_m^0$ ), енталпије ( $\Delta H_m^0$ ) и ентропије ( $\Delta S_m^0$ ), као и енталпијско-ентропијског компензационог ефекта), из температурне зависности КМК и  $\alpha$ , може се закључити да је процес мицелизације *СТАВ*-а у води, као и у смјешама ацетонитрил-вода на свим температурама спонтан ( $\Delta G_m^0 < 0$ ) и егзотерман ( $\Delta H_m^0 < 0$ ), осим за *СТАВ* у смјеши са удјелом 10% и 20% ацетонитрила на  $T=291,2$  К ( $\Delta H_m^0 > 0$ ). Такође, одређивањем односа енталпијског и ентропијског доприноса процесу мицелизације ( $\Delta H_m^0/T\Delta S_m^0$ ), за различите удјеле ацетонитрила у смјеши ацетонитрил-вода, и на различитим

температурама, може се закључити да је за све удјеле ацетонитрила (10%, 15% и 20%, V/V), мицелизација *СТАВ*-а термодинамички најповољнија на  $T=295,2$  К.

3. Дефинисане су могуће интеракције система хибридне мицеларне хроматографије са *СТАВ*-ом и модел супстанци киселих особина анализом њихове молекулске структуре и испитивањем физичкохемијских параметара мицелизације. Нејонизовани облици слабих киселина показују понашање типично за *RP-HPLC* систем, те им се ретенција смањује са повећањем запреминског удјела ацетонитрила у мобилној фази. Ретенционо понашање њихових јонизованих облика првенствено зависи од концентрације *СТАВ*-а и смањује им се ретенција са повећањем концентрације *СТАВ*-а. Такође, запажено је да јонизовани облик анализата има већу ретенцију у односу на нејонизовани облик анализата. Међутим, за анализите који садрже и базне и киселе функционалне групе, није уочен „образац“ ретенционог понашања као код слабих киселина. Са аспекта *QSPR* анализе, салицилна киселина и фуросемид се везују за стационарну фазу јаким везама, захваљујући присуству *o*-хидрокси групе и атома хлора, те под испитиваним експерименталним условима не долази до значајне промјене њиховог ретенционог понашања. Претпоставка о доминантности електростатичких интеракција у мицеларним/хибридним мицеларним системима са јонским сурфактантом у односу на хидрофобне и интеракције засноване на водоничним везама, није оправдана. Величина анализата, његова геометрија, али и агрегациони број мицела препознати су као важни параметри, који се морају узети у обзир при разматрању ретенционог понашања анализата.

## 6. ЛИТЕРАТУРА

- [1] M.J. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, J.R. Torres-Lapasío, M.C. García-Álvarez-Coque, Retention mechanisms in micellar-liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1798–1814.
- [2] A. Berthod, C. García-Álvarez-Coque, *Micellar Liquid Chromatography*, first ed., Marcel Dekker, New York, 2000.
- [3] Н. Пејић, М. Алексић, Одабрана поглавља колоидне хемије, друго допуњено издање, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, Београд, 2018.
- [4] M.C. García-Álvarez-Coque, M.J. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, *Micellar Liquid Chromatography: Fundamentals*, in: J. L. Anderson, A. Berthod, V. Pino Estévez, A.M. Stalcup (Eds.), *Analytical Separation Science*, first ed., Wiley-VCH, Weinheim, 2015, pp. 371–406.
- [5] D.G. Herries, W. Bishop, F.M. Richards, The partitioning of solutes between micellar and aqueous phases: measurement by gel filtration and effect on the kinetics of some bimolecular reactions, *J. Phys. Chem.* 68 (1964) 1842–1852.
- [6] D.W. Armstrong, J.H. Fendler, Differential Partitioning of tRNAs between micellar and aqueous phases: a convenient gel filtration method for separation of tRNAs, *Biochim. Biophys. Acta* 478 (1977) 75–80.
- [7] D.W. Armstrong, M. McNeely, Use of micelles in the thin layer chromatography separation of polynuclear aromatic compounds and amino-acids, *Anal. Lett.* 12 (1979) 1285–1291.
- [8] D.W. Armstrong, R.Q. Terrill, Thin layer chromatographic separation of pesticides, decachlorobiphenyl, and nucleosides with micellar solutions, *Anal. Chem.* 51 (1979) 2160–2163.
- [9] E.P. Melo, M.R. Aires-Barros, J.M.S. Cabral, Reverse micelles and protein biotechnology, *Biotechnol Annu. Rev.* 7 (2001) 87–129.
- [10] D.W. Armstrong, S.J. Henry, Use of an aqueous micellar mobile phase for separation of phenols and polynuclear aromatic hydrocarbons via HPLC, *J. Liq. Chromatogr.* 3 (1980) 657–662.

- [11] R. Weinberger, P. Yarmchuk, L.J. Cline Love, Liquid chromatographic phosphorescence detection with micellar chromatography and postcolumn detection modes, *Anal. Chem.* 54 (1982) 1552–1558.
- [12] L.J. Cline Love, J.G. Dorsey, J.G. Habarta, The micelle-analytical chemistry interface, *Anal. Chem.* 56 (1984) 1132A–1148A.
- [13] E. Pramauro, E. Pelizzetti, The use of a micellar mobile phase in the high-performance liquid chromatographic separation of hydroxybenzene derivatives, *Anal. Chim. Acta* 154 (1983) 153–158.
- [14] Z. Mao, Q. Zhang, Studies on micellar solutions as mobile phase in liquid chromatography, *Fenxi-Huaxue* 12 (1984) 455–458.
- [15] A. Berthod, I. Girard, C. Gonnet, Micellar liquid chromatography. Retention study of solutes of various polarities, *Anal. Chem.* 58 (1986) 1359–1362.
- [16] P. Yarmchuk, R. Weinberger, R.T. Hirsch, L.J. Cline Love, Effects of restricted mass transfer on the efficiency of micellar chromatography, *J. Chromatogr. A* 283 (1984) 47–60.
- [17] J.G. Dorsey, M.T. DeEchegaray, J.S. Landy, Efficiency enhancements in micellar liquid chromatography, *Anal. Chem.* 55 (1983) 924–928.
- [18] M.F. Borgerdin, W.L. Hinze, L.D. Stafford, G.W. Fulp, W.C. Hamlin, Investigations of stationary phase modification by the mobile phase surfactant in micellar liquid chromatography, *Anal. Chem.* 61 (1989) 1353–1358.
- [19] K. Sagara, K. Suto, Y. Ito, Y. Nagai, H. Suzuki, M. Satake, Determination of alkaloids in ephedra herb by high-performance liquid chromatography, *Iyakuin Kenkyu* 27 (1996) 255–261.
- [20] H. Nishi, Pharmaceutical applications of micelles in chromatography and electrophoresis, *J. Chromatogr. A* 780 (1997) 243–264.
- [21] R. Gonzalo-Lumbreras, R. Izquierdo-Hornillos, Conventional and micellar liquid chromatography method development for danazol and validation in capsules, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32 (2003) 433–439.
- [22] R. Izquierdo-Hornillos, R. Gonzalo-Lumbreras, Optimization of the separation of a complex mixture of natural and synthetic anabolic steroids by micellar liquid chromatography, *J. Chromatogr. B* 798 (2003) 69–77.

- [23] J.J. Fernández-Navarro, M.J. Ruiz-Ángel, M.C. García-Álvarez-Coque, Reversed-phase liquid chromatography without organic solvent for determination of tricyclic antidepressant, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 1303–1309.
- [24] M.J. Ruiz-Ángel, E. Peris-García, M.C. García-Álvarez-Coque, Reversed-phase liquid chromatography with mixed micellar mobile phases of Brij-35 and sodium dodecyl sulphate: a method for the analysis of basic compounds, *Green Chem.* 17 (2015) 3561–3570.
- [25] R.N. El-Shaheny, N.M. El-Enany, F.F. Belal, Analysis of ofloxacin and fleroxate HCl either individually or in combination via a green chromatographic approach with a pharmacokinetic study of ofloxacin in biological samples, *Anal. Methods* 7 (2015) 4629–4639.
- [26] R.W. Williams, Z.S. Fu, W.L. Hinze, Micellar bile salt mobile phases for the liquid chromatographic separation of routine compounds and optical, geometrical, and structural isomers, *J. Chromatogr. Sci.* 28 (1990) 292–302.
- [27] W. Hu, T. Takeuchi, H. Haraguchi, Retention behaviour of binaphthyl compounds in enantiomeric separation by microcolumn liquid chromatography with micellar bile-salt mobile phases, *Chromatographia* 33 (1992) 58–62.
- [28] W. Hu, T. Takeuchi, H. Haraguchi, Retention mechanism of enantiomeric separation by liquid chromatography with micellar bile-salt mobile phases, *Chromatographia* 33 (1992) 63–66.
- [29] L.J. Cline Love, J.J. Fett, Optimization of selectivity in micellar chromatographic procedures for the determination of drugs in urine by direct injection, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 9 (1991) 323–333.
- [30] I.P. Martinez, S. Sagrado, M.J.M. Hernandez, A rapid procedure for the determination of caffeine, theophylline and theobromine in urine by MLC and direct sample injection, *Anal. Chim. Acta* 304 (1995) 195–201.
- [31] J. Reynolds, S.J. Albazi, Simultaneous determination of nicotine and cotinine in untreated human urine by micellar liquid chromatography, *J. Liq. Chromatogr.* 18 (1995) 537–552.
- [32] D. Habel, S. Guermouche, M.H. Guermouche, Direct determination of theophylline in human serum by high-performance liquid chromatography using zwitterionic micellar mobile

phase. Comparison with an enzyme multiplied immunoassay technique, *Analyst* 118 (1993) 1511–1513.

[33] M.C. García-Álvarez-Coque, J.R. Torres-Lapasió, Secondary chemical equilibria in reversed-phase liquid chromatography, in: S. Fanali, P. Haddad, C.F. Poole, P.J. Schoenmakers, and D. Lloyd (Eds.), *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*, first ed., Elsevier, Amsterdam, 2013, pp. 87–104.

[34] G.S. Hartley, Ion Aggregation in Solutions of Salts with Long Paraffin Chains, *Kolloid Z.* 88 (1939) 22–40.

[35] M.J. Ruiz-Ángel, J.R. Torres-Lapasió, S. Carda-Broch, M.C. García-Álvarez-Coque, Improvement of peak shape and separation performance of  $\beta$ -blockers in conventional reversed-phase columns using solvent modifiers, *J. Chromatogr. Sci.* 41 (2003) 350–358.

[36] A. Berthod, Causes and remediation of reduced efficiency in micellar liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 780 (1997) 191–206.

[37] M.J. Ruiz-Ángel, M.C. García-Álvarez-Coque, A. Berthod, New insights and recent developments in micellar liquid chromatography, *Sep. Purif. Rev.* 38 (2009) 45–96.

[38] M.J. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, M.C. García-Álvarez-Coque, Peak half-width plots to study the effect of organic solvents on the peak performance of basic drugs in micellar liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 1786–1798.

[39] E. Peris-García, M.J. Ruiz-Ángel, S. Carda-Broch, M.C. García-Álvarez-Coque, Analysis of basic drugs by liquid chromatography with environmentally friendly mobile phases in pharmaceutical formulations, *Microchem. J.* 134 (2017) 202–210.

[40] J. Albiol-Chiva, J. Peris-Vicente, D. García-Ferrer, J. Esteve-Romero, Micellar liquid chromatography determination of rivaroxaban in plasma and urine. Validation and theoretical aspects, *J. Chromatogr. B* 1120 (2019) 8–15.

[41] D. Terrado-Campos, K. Tayeb-Cherif, J. Peris-Vicente, S. Carda-Broch, J. Esteve-Romero, Determination of oxolinic acid, danofloxacin, ciprofloxacin, and enrofloxacin in porcine and bovine meat by micellar liquid chromatography with fluorescence detection, *Food Chem.* 221 (2017) 1277–1284.

[42] C. Martínez-Algaba, J.M. Bermúdez-Saldaña, R.M. Villanueva-Camañas, S. Sagrado, M.J. Medina-Hernández, Analysis of pharmaceutical preparations containing antihistamine drugs by micellar liquid chromatography, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40 (2006) 312–321.

- [43] J.M. Bermúdez-Saldaña, C. Quiñones-Torrelo, S. Sagrado, M.J. Medina-Hernández, A micellar liquid chromatographic method for quality control of pharmaceutical preparations containing tricyclic antidepressants, *Chromatographia* 56 (2002) 299–306.
- [44] K.E. Stępnik, I. Malinowska, Determination of binding properties of ampicillin in drug-human serum albumin standard solution using N-vinylpyrrolidone copolymer combined with the micellar systems, *Talanta* 162 (2017) 241–248.
- [45] A. López García, E. Blanco González, A. Sanz-Medel, Determination of tetramethylthiuram disulfide (Thiram) in river water by high-performance liquid chromatography: micellar versus conventional reversed phase chromatography, *Chromatographia* 43 (1996) 607–611.
- [46] X. Li, J.S. Fritz, Mixed surfactants as mobile Phase additives for the separations of organic compounds by HPLC, *Anal. Chem.* 68 (1996) 4481–4488.
- [47] T.E. Burchfield, E.M. Woolley, Model for thermodynamics of ionic surfactant solutions. 1. Osmotic and activity coefficients, *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 2149–2155.
- [48] R.F. Kamrath, E.I. Franses, Mass-action model of mixed micellization, *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 1642–1648.
- [49] E. Matijević, B.A. Pethica, The heats of micelle formation of sodium dodecyl sulphate, *Trans. Faraday Soc.* 54 (1958) 587–592.
- [50] C.A. Bunton, F. Nome, F.H. Quina, L.S. Romsted, Ion binding and reactivity at charged aqueous interfaces, *Acct. Chem. Res.* 24 (1991) 357–364.
- [51] B. Jonsson, B. Lindman, K. Holmberg, B. Kronberg, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, first ed., John Wiley & Sons, Chichester, 1998.
- [52] N. Nishikido, Estimation of micellar charge or aggregation number from conductivity and counterion-activity measurement, *J. Colloid Interface Sci.* 92 (1983) 588–591.
- [53] B.L. Bales, An aggregation number-based definition of the ionization of a micelle, in: J. Fraissard, O. Lapina (Eds.), *Magnetic Resonance in Colloid and Interface Science*, NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry Vol. 76, Springer, Dordrecht, 2002, pp. 277–284.
- [54] Kabir-ud-Din, P.A. Koyaa, Z.A. Khan, Conductometric studies of micellization of gemini surfactant pentamethylene-1,5-bis(tetradecyldimethylammonium bromide) in water and water-organic solvent mixed media, *J. Colloid Interface Sci.* 342 (2010) 340–347.

- [55] A.D. Fenta, Surface and thermodynamic studies of micellization of surfactants in binary mixtures of 1,2-ethanediol and 1,2,3-propanetriol with water, *Int. J. Phys. Sci.* 10 (2015) 276–288.
- [56] Deepti, K.K. Ghosh, Micellization of cetyldiethylethanolammonium bromide in mixed aqueous organic solvents, *J. Disper. Sci Technol.* 31 (2010) 1249–1253.
- [57] G. Kumar, M.S. Chauhan, A. Kumar, S. Suvercha, R. Kumar, A study on solution behaviour of sodiumdodecyl sulphate and cetyltrimethylammonium bromide in water-alcohol mixed media, *Der Chemica Sinica* 3 (2012) 628–635.
- [58] W. Li, Y.-C. Han, J.-L. Zhang, B.-G. Wang, Effect of ethanol on the aggregation properties of cetyltrimethylammonium bromide surfactant, *Colloid J.* 67 (2005) 159–163.
- [59] N. Nazir, M.S. Ahanger, A. Akbar, Micellization of cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide in mixed water-alcohol media, *J. Dispersion Sci. Technol.* 30 (2009) 51–55.
- [60] K. Shinoda, B. Tamamushi, T. Isemura, *Colloidal Surfactants*, first ed., Academic Press, New York, 1963.
- [61] N. Dubey, CTAB aggregation in solutions of higher alcohols: thermodynamic and spectroscopic studies, *J. Mol. Liq.* 184 (2013) 60–67.
- [62] P.K. Misra, B.K. Mishra, G.B. Behera, Micellization of ionic surfactants in tetrahydrofuran-water and acetonitrile-water mixed-solvent systems, *Colloids Surf.* 57 (1991) 1–10.
- [63] F. Jalali, A. Gerandaneh, Micellization of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) in mixed solvents and in the presence of potassium bromide, *J. Dispersion Sci. Technol.* 32 (2011) 659–666.
- [64] G. Kumar, M.S. Chauhan, Conductometric investigations of surfactant behavior in aqueous polar aprotic organic additives, *J. Mol. Liq.* 249 (2018), 710–715.
- [65] R. Zana, Ionization of cationic micelles: effect of the detergent structure, *J. Colloid Interface Sci.* 78 (1980) 330–337.
- [66] M.J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, first ed., Wiley-Interscience Publication, New York, 1978.



- [67] D. Atwood, A.T. Florence, *Surfactant Systems*, first ed., Chapman & Hall, London, 1983.
- [68] M.L. Corrin, W.D. Harkins, The effects of salts on the CMC of colloidal electrolytes, *J. Am. Chem. Soc.* 69 (1947) 683–688.
- [69] G.C. Krescheck, Surfactants, in: F. Franks (Ed.), *Water a Comprehensive Treatise*, Springer, Boston, 1975, pp. 95–167.
- [70] P. Becher, Non ionic surface active compounds. V. Effect of electrolytes, *J. Colloid Sci.* 17 (1962) 325–333.
- [71] A. Janošević Ležaić, N. Paunović, N. Pejić, Thermodynamics of micellization of hexadecyltrimethylammonium bromide in propylene glycol-water mixture: a conductivity study, *FU Phys Chem Tech*, 12 (2014) 17–26.
- [72] S.E. Olaseni, N.A. Oladoja, I.A. Ololade, C.O. Aboluwoye, M.O. Osundiya, Micellisation of cetyltrimethyl ammonium bromide in aqueous-organic media, *Chem. Sci. J.* 2012: CSJ-52.
- [73] Kabir-ud-Din, P.A. Koya, Effect of acetonitrile on the micellization and thermodynamic parameters of tetradecyltrimethylammonium bromide: conductometric and fluorimetric studies, *J. Mol. Liq.* 158 (2011) 111–116.
- [74] J. Aguiar, J.A. Molina-Bolívar, J.M. Peula-García, C. Carnero Ruiz, Thermodynamics and micellar properties of tetradecyltrimethylammonium bromide in formamide-water mixtures, *J. Colloid Interface Sci.* 255 (2002) 382–390.
- [75] J.P. Marcolongo, M. Mirenda, Thermodynamics of sodium dodecyl sulfate (SDS) micellization: an undergraduate laboratory experiment, *J. Chem. Educ.* 88 (2011) 629–633.
- [76] J.E. Desnoyers, Structural effects in aqueous solutions: a thermodynamic approach, *Pure Appl. Chem.* 54 (1982) 1469–1478.
- [77] S.K. Mehta, S. Chaudhary, K.K. Bhasin, R. Kumar, M. Aratono, Conductometric and spectroscopic studies of sodium dodecyl sulfate in aqueous media in the presence of organic chalcogen, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 304 (2007) 88–95.
- [78] A. Rodríguez, M.M. Graciani, M.L. Moyá, Effects of addition of polar organic solvents on micellization, *Langmuir* 24 (2008) 12785–12792.

- [79] C. Carnero Ruiz, Thermodynamics of micellization of tetradecyltrimethylammonium bromide in ethylene glycol-water binary mixtures, *Colloid. Polym. Sci.* 277 (1999) 701–707.
- [80] H. Akbaş, Ç. Kartal, Conductometric studies of hexadecyltrimethylammonium bromide in aqueous solutions of ethanol and ethylene glycol, *Colloid J.* 68 (2006) 125–130.
- [81] G.D. Noudeh, M. Housaindokht, B.S.F. Bazzaz, The effect of temperature on thermodynamic parameters of micellization of some surfactants, *J. Appl. Sci.* 7 (2007) 47–52.
- [82] K.-H. Kang, H.-U. Kim, K.-H. Lim, Effect of temperature on critical micelle concentration and thermodynamic potentials of micellization of anionic ammonium dodecyl sulfate and cationic octadecyl trimethyl ammonium chloride, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 189 (2001) 113–121.
- [83] S.K. Mehta, K.K. Bhasin, R. Chauhan, S. Dham, Effect of temperature on critical micelle concentration and thermodynamic behavior of dodecyldimethylethylammonium bromide and dodecyltrimethylammonium chloride in aqueous media, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 255 (2005) 153–157.
- [84] E. Mohajeri, G.D. Noudeh, Effect of temperature on the critical micelle concentration and micellization thermodynamic of nonionic surfactants: polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters, *J. Chem.* 9 (2012) 2268–2274.
- [85] L.-J. Chen, S.-Y. Lin, C.-C. Huang, E.-M. Chen (1998). Temperature dependence of critical micelle concentration of polyoxyethylenated non-ionic surfactants, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 135 (1998) 175–181.
- [86] F. Krafft, H. Wiglow, Ueber das Verhalten der fettsauren Alkalien und der Seifen in Gegenwart von Wasser, III Die Seifen als Krystalloide, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 28 (1895) 2566–2573.
- [87] Y. Nakama, Surfactants, in: K. Sakamoto, R.Y. Lochhead, H.I. Maibach, Y. Yamashita (Eds.), *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*, first ed., Elsevier, Amsterdam, 2017, pp. 231–244.
- [88] D.J. Shaw, *Introduction to Colloid and Surface Chemistry*, third ed., Butterworths, London, 1980.
- [89] J.Ž. Manojlović, The Krafft temperature of surfactant solutions, *Therm. Sci.* 16 (2012) S631–S640.

- [90] J.C. Roy, Md.N. Islam, G. Aktaruzzaman, The effect of NaCl on the Krafft temperature and related behavior of cetyltrimethylammonium bromide in aqueous solution, *J. Surfactants Deterg.* 17 (2013) 231–242.
- [91] S. Kumar, K. Parikh, Influence of spacer on association behavior and thermodynamic parameters of dimeric cationic surfactants, *J. Surfactants Deterg.* 16 (2013) 739–749.
- [92] C. Vautier-Giongo, C., B.L. Bales, Estimate of the ionization degree of ionic micelles based on Krafft temperature measurements, *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 5398–5403.
- [93] J.W. McBain, Mobility of highly charged micelles, *Trans. Faraday Soc.* 9 (1913), 99–101.
- [94] A. Rodríguez, M. Muñoz, M.M. Graciani, M.L. Moyá, Role of counterion in the effects of added ethylene glycol to aqueous alkyltrimethylammonium micellar solutions, *J. Colloid Interface Sci.* 298 (2006) 942–951.
- [95] S. Chauhan, S. Kumari, K. Singh, Conductometric and fluorescence probe analysis on molecular interactions between cationic surfactants in aqueous medium of glycyl dipeptide: concentration and temperature effect, *J. Chem. Thermodynamics* 105 (2017) 337–344.
- [96] L. Zhai, J. Zhang, Q. Shi, W. Chen, M. Zhao, Transition from micelle to vesicle in aqueous mixtures of anionic/zwitterionic surfactants studied by fluorescence, conductivity, and turbidity methods, *J. Colloid Interface Sci.* 284 (2005) 698–703.
- [97] A. Bhattarai, K. Pathak, B. Dev, Cationic and anionic surfactants interaction in water and methanol-water mixed solvent media, *J. Mol. Liq.* 229 (2017) 153–160.
- [98] M. Bielawska, A. Chodzińska, B. Jańczuk, A. Zdziennicka, Determination of CTAB CMC in mixed water + short-chain alcohol solvent by surface tension, conductivity, density and viscosity measurements, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 424 (2013) 81–88.
- [99] C.H. Tan, Z.J. Huang, X.G. Huang, Rapid determination of surfactant critical micelle concentration in aqueous solutions using fiber-optic refractive index sensing, *Anal. Biochem.* 401 (2010) 144–147.
- [100] K. Nesměrák, I. Němcová, Determination of critical micelle concentration by electrochemical means, *Anal. Lett.* 39 (2006) 1023–1040.
- [101] M.J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, third ed., John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, 2004.

- [102] A. Domínguez, A. Fernández, N. González, E. Iglesias, L. Montenegro, Determination of critical micelle concentration of some surfactants by three techniques, *J. Chem. Educ.* 74 (1997) 1227–1231.
- [103] D. López-Díaz, M.M. Velázquez, Variation of the critical micelle concentration with surfactant structure: a simple method to analyze the role of attractive-repulsive forces on micellar association, *Chem. Educ.* 12 (2007) 327–330.
- [104] R.J. Williams, J.N. Phillips, K.J. Mysels, The critical micelle concentration of sodium lauryl sulphate at 25 °C, *Trans. Faraday Soc.* 51 (1955) 728–737.
- [105] J. Goroња, A. Janošević Ležaić, B. Dimitrijević, A. Malenović, D. Stanisavljev, N. Pejić, Determination of critical micelle concentration of cetyltrimethylammonium bromide: different procedures for analysis of experimental data, *Hem. Ind.* 70 (2016) 485–492.
- [106] J.N. Phillips, The energetics of micelle formation, *Trans. Faraday Soc.* 51 (1955) 561–569.
- [107] P. Carpena, J. Aguiar, P. Bernaola-Galván, C. Carnero Ruiz, Problems associated with the treatment of conductivity-concentration data in surfactant solutions: simulations and experiments, *Langmuir* 18 (2002) 6054–6058.
- [108] M. Pérez-Rodríguez, G. Prieto, C. Rega, L.M. Varela, F. Sarmiento, V. Mosquera, A comparative study of the determination of the critical micelle concentration by conductivity and dielectric constant measurements, *Langmuir* 14 (1998) 4422–4426.
- [109] O. Owoyomi, J. Ige, O. Soriyan, Thermodynamics of micellization of n-alkyltriphenylphosphonium bromides: a conductometric study, *Chem. Sci. J.* 2011: CSJ-25.
- [110] H.C. Evans, 117. Alkyl sulphates. Part I. Critical micelle concentrations of the sodium salts, *J. Chem. Soc.* 78 (1956) 579–586.
- [111] P. Lianos, J. Lang, Static and dynamic properties of sodium p-(1-propylnonyl)benzenesulfonate micelles, *J. Colloid Interface Sci.* 96 (1983) 222–228.
- [112] R. Zana, H. Lévi, D. Danino, Y. Talmon, K. Kwetkat, Mixed micellization of cetyltrimethylammonium bromide and an anionic dimeric (gemini) surfactant in aqueous solution, *Langmuir* 13 (1997) 402–408.

- [113] C. Carnero Ruiz, Micelle formation and microenvironmental properties of sodium dodecyl sulfate in aqueous urea solutions, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 147 (1999) 349–357.
- [114] A.T. Tyowua, S.G. Yiase, R.A. Wuanna, Manipulation of concentration-conductivity data of sodium dodecyl sulphate and sodium dodecylbenzene sulphonate in KCl solution in relation to micellisation parameters, *Chem. Sci. J.* 2012: CSJ-79.
- [115] I. García-Mateos, M. Mercedes Velázquez, L.J. Rodríguez, Critical micelle concentration determination in binary mixtures of ionic surfactants by deconvolution of conductivity/concentration curves, *Langmuir* 6 (1990) 1078–1083.
- [116] W. Al-Soufi, L. Piñeiro, M. Novo, A model for monomer and micellar concentrations in surfactant solutions: application to conductivity, NMR, diffusion and surface tension data, *J. Colloid Interface Sci.* 370 (2012) 102–110.
- [117] M.E. Moro, L.J. Rodriguez, Application of phase separation and mass action models to low aggregation number micelles: a comparative study, *Langmuir* 7 (1991) 2017–2020.
- [118] G. Castro, P.F. Garrido, A. Amigo, P. Brocos, Boosting the use of thermoacoustimetry in micellization thermodynamics studies by easing an objective determination of the cmc, *Fluid Phase Equilib.* 478 (2018) 1–13.
- [119] K. Kalyanasundaram, J.K. Thomas, Environmental effects on vibronic band intensities in pyrene monomer fluorescence and their application in studies of micellar systems, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 2039–2044.
- [120] K. Thalberg, J. Van Stam, C. Lindblad, M. Almgren, B. Lindman, Time-resolved fluorescence and self-diffusion studies in systems of a cationic surfactant and an anionic polyelectrolyte, *J. Phys. Chem.* 95 (1991) 8975–8982.
- [121] A. Galameau, D. Lemer, M.F. Ottaviani, F. Di Renzo, F. Fajua, EPR and UV-visible fluorescence spectroscopic evidences for intermediate phases during the formation of micelle-templated silicas, *Stud. Surf. Sci. Catal.* 117 (1998) 405–412.
- [122] S.J. Traina, Applications of luminescence spectroscopy to studies of colloid-solution interfaces, in: B.A Stewart (Ed.), *Advances in Soil Science*, vol. 14, Springer New York, 1990, pp. 167–190.
- [123] K. Kalyanasundaram, Pyrene fluorescence as a probe of fluorocarbon micelles and their mixed micelles with hydrocarbon surfactants, *Langmuir* 4 (1988) 942–945.

- [124] J. Aguiar, P. Carpena, J.A. Molina-Bolívar, C. Carnero Ruiz, On the determination of the critical micelle concentration by the pyrene 1:3 ratio method, *J. Colloid Interface Sci.* 258 (2003) 116–122.
- [125] M. Frindi, B. Michels, R. Zana, Ultrasonic absorption studies of surfactant exchange between micelles and bulk phase in aqueous micellar solutions of nonionic surfactants with a short alkyl chain. 3. Surfactants with a sugar head group, *J. Phys. Chem.* 96 (1992) 8137–8141.
- [126] R. Zana, H. Lévy, K. Kwetkat, Mixed micellization of dimeric (gemini) surfactants and conventional surfactants. I. Mixtures of an anionic dimeric surfactant and of the nonionic surfactants C<sub>12</sub>E<sub>5</sub> and C<sub>12</sub>E<sub>8</sub>, *J. Colloid Interface Sci.* 197 (1998) 370–376.
- [127] N.J. Turro, A. Yekta, Luminescent probes for detergent solutions. A simple procedure for determination of the mean aggregation number of micelles, *J. Am. Chem. Soc.* 100 (1978) 5951–5952.
- [128] H. Wennerström, B. Lindman, Micelles. Physical chemistry of surfactant association, *Phys. Rep.* 52 (1979) 1–86.
- [129] F. Reiss-Husson, V. Luzzati, The structure of the micellar solutions of some amphiphilic compounds in pure water as determined by absolute small-angle X-ray scattering techniques, *J. Phys. Chem.* 68 (1964) 3504–3511.
- [130] C. Tanford, *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, second ed., John Wiley, New York, 1980.
- [131] D.F. Evans, H. Wennerström, *The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry and Biology Meet*, first ed., VCH Publishers, New York, 1994.
- [132] D.W. Armstrong, F. Nome, Partitioning behavior of solutes eluted with micellar mobile phases in liquid chromatography, *Anal. Chem.* 53 (1981) 1662–1666.
- [133] M.C. García-Alvarez-Coque, J.R. Torres-Lapasío, J.J. Baeza-Baeza, Modelling of retention behaviour of solutes in micellar liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 780 (1997) 129–148.
- [134] M. Arunyanart, L.J. Cline Love, Influence of micelles on partitioning equilibria of ionizable species in liquid chromatography: pH and ionic strength effects, *Anal. Chem.* 57 (1985) 2837–2843.

- [135] A.H. Rodgers, J.K. Strasters, M.G. Khaledi, Simultaneous optimization of pH and micelle concentration in micellar liquid chromatography, *J. Chromatogr.* 636 (1993) 203–212.
- [136] A.H. Rodgers, M.G. Khaledi, Influence of pH on retention and selectivity in micellar liquid chromatography: consequences of micelle-induced shifts of ionization constants, *Anal. Chem.* 66 (1994) 327–334.
- [137] M. Arunyanart, L.J. Cline Love, Model for micellar effects on liquid chromatography capacity factors and for determination of micelle-solute equilibrium constants, *Anal. Chem.* 56 (1984) 1557–1561.
- [138] J.P. Foley, Critical compilation of solute-micelle binding constants and related parameters from micellar liquid chromatographic measurements, *Anal. Chim. Acta* 231 (1990) 237–247.
- [139] J.R. Torres-Lapasío, J.J. Baeza-Baeza, M.C. García-Alvarez-Coque, Description of the retention behaviour in micellar liquid chromatography as a function of pH, surfactant and modifier, *J. Chromatogr. A* 769 (1997) 155–168.
- [140] M.C. García-Alvarez-Coque, J.R. Torres-Lapasío, J.J. Baeza-Baeza, Description of the partitioning behaviour of solutes and data treatment in micellar liquid chromatography with modifiers, *Anal. Chim. Acta* 324 (1996) 163–173.
- [141] S. Carda-Broch, J.R. Torres-Lapasío, J.S. Esteve-Romero, M.C. García-Álvarez-Coque, Use of a three-factor interpretive optimisation strategy in the development of an isocratic chromatographic procedure for the screening of diuretics in urine samples using micellar mobile phases, *J. Chromatogr. A* 893 (2000) 321–337.
- [142] S. Pous-Torres, J.R. Torres-Lapasío, J.J. Baeza-Baeza, M.C. García-Álvarez-Coque, Combined effect of solvent content, temperature and pH on the chromatographic behaviour of ionisable compounds, *J. Chromatogr. A* 1163 (2007) 49–62.
- [143] M.J. Ruiz-Ángel, J.R. Torres-Lapasío, M.C. Garcia-Alvarez-Coque, Effects of pH and the presence of micelles on the resolution of diuretics by reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1022 (2004) 51–65.
- [144] A.R. Katritzky, M. Karelson, V.S. Lobanov, CODESSA, version 2.20. Gainesville, University of Florida, Florida, 1996.
- [145] RDKit: Open-source cheminformatics; <http://www.rdkit.org>

- [146] J. Stewart, MOPAC 7. 1996. Available from: <http://openmopac.net>
- [147] E. Cappelaere, R. Cressely, J.P. Decruppe, Linear and non-linear rheological behaviour of salt-free aqueous CTAB solutions, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 104 (1995) 353–374.
- [148] T. Shikata, H. Hirata, T. Kotaka, Micelle formation of detergent molecules in aqueous media: viscoelastic properties of aqueous cetyltrimethylammonium bromide solutions, *Langmuir* 3 (1987) 1081–1086.
- [149] A. Rodriguez, M.M. Graciani, M. Muñoz, L. Moyá, Water-ethylene glycol alkyltrimethylammonium bromide micellar solutions as reaction media: study of spontaneous hydrolysis of phenyl chloroformate, *Langmuir* 19 (2003) 7206–7213.
- [150] H.I. Tantry, F.A. Sheikh, P.A. Bhat, Micellization behavior of dodecylethyldimethylammonium bromide as a function of temperature and concentration, *J. Mol. Liq.* 183 (2013) 79–84.
- [151] A. Ali, F. Nabi, N.A. Malik, S. Tasneem, S. Uzair, Study of micellization of sodium dodecyl sulfate in non-aqueous media containing lauric acid and dimethylsulfoxide, *J. Surfactants Deterg.* 17 (2014) 151–160.
- [152] S.T. Huerta-Marcial, E.B. Figueroa-Ochoa, L.C. Rosales-Rivera, M.V. Ramallo, J.M. Ruso, J.F.A. Soltero, Changes in thermodynamic and structural characteristics of polymerized and monomer surfactants induced by introduction of a hydrotrope, *J. Mol. Liq.* 246 (2017) 197–207.
- [153] K. Szymczyk, A. Taraba, Properties of aqueous solutions of nonionic surfactants, Triton X-114 and Tween 80, at temperatures from 293 to 318K: spectroscopic and ultrasonic studies, *Chem. Phys.* 483–484 (2017) 96–102.
- [154] M.A. Cheema, P. Taboada, S. Barbosa, M. Siddiq, V. Mosquera, Effect of molecular structure on the hydration of structurally related antidepressant drugs, *Mol. Phys.* 104 (2006) 3203–3212.
- [155] G. Savaroglu, L. Genc, Determination of micelle formation of ketorolac tromethamine in aqueous media by acoustic measurements, *Thermochim. Acta* 552 (2013) 5–9.
- [156] M.M. Graciani, A. Rodríguez, M. Muñoz, M.L. Moyá, Water-ethylene glycol alkyltrimethylammonium bromide micellar solutions as reaction media: study of the reaction methyl 4-nitrobenzenesulfonate + Br<sup>-</sup>, *Langmuir* 19 (2003) 8685–8691.



- [157] N. Jiang, P. Li, Y. Wang, J. Wang, H. Yan, R.K. Thomas, Aggregation behavior of hexadecyltrimethylammonium surfactants with various counterions in aqueous solution, *J. Colloid Interface Sci.* 286 (2005) 755–760.
- [158] L. Moyá, A. Rodríguez, M.M. Graciani, G. Fernández, Role of the solvophobic effect on micellization, *J. Colloid Interface Sci.* 316 (2007) 787–795.
- [159] P.K. Sansanwal, Effect of co-solutes on the physico-chemical properties of surfactant solutions, *J. Sci. Ind. Res.* 65 (2006) 57–64.
- [160] K. Manna, A.K. Panda, Physicochemical studies on the interfacial and micellization behavior of CTAB in aqueous polyethylene glycol media, *J. Surfactants Deterg.* 14 (2011) 563–576.
- [161] R. Schmucker, M. Sugár, Method of preparing particularly skin-compatible cosmetic or dermatological cleansing preparations, U.S. Patent No. 6,703,427, 2004.
- [162] Y. Katsunori, T. Yanaki, I. Kaneda, Cosmetic composition, U.S. Patent No. 6,440,431, 2002.
- [163] M. Filipović, M. Lukić, V. Krstonošić, S. Đorđević, I. Pantelić, A. Gledović, G. Vuleta, S. Savić, Feasibility of a natural surfactant as a stabilizer for cosmetics with liposome-encapsulated plant stem cells: pre-formulation and formulation through stability studies, *Tenside Surfact. Det.* 53 (2016) 214–226.
- [164] V.I. Martín, P. López-Cornejo, M. López-López, D. Blanco-Arévalo, A.J. Moreno-Vargas, M. Angulo, A. Laschewsky, M.L. Moyá, Influence of the surfactant degree of oligomerization on the formation of cyclodextrin: surfactant inclusion complexes, *Arabian J. Chem.* 13 (2020) 2318–2330.
- [165] R.A. Shah, R. Masrat, M.S. Lone, S. Afzal, U. Ashraf, G.M. Rather, A.A. Dar, Solution properties and micellization behavior of binary mixtures of sodium salts of N-tetradeconyl alanine and N-tetradeconyl phenylalanine surfactants, *J. Mol. Liq.* 284 (2019) 569–576.
- [166] A. Bhadani, A. Kafle, S. Koura, K. Sakai, H. Sakai, M. Abe, Physicochemical evaluation of micellar solution and lyotropic phases formed by self-assembled aggregates of morpholinium geminis, *ACS Omega* 2 (2017) 5324–5334.
- [167] Z. Yan, L. Ma, S. Shen, J. Li, Studies on the interactions of some small biomolecules with antibacterial drug benzethonium chloride and its active pharmaceutical ingredient ionic

liquid (API-IL) benzethonium L-proline at varying temperatures, *J. Mol. Liq.* 255 (2018) 530–540.

[168] A. Kroflič, B. Šarac, M. Bešter-Rogač, What affects the degree of micelle ionization: conductivity study of alkyltrimethylammonium chlorides, *Acta Chim. Slov.* 59 (2012) 564–570.

[169] Kabir-ud-Din, U.S. Siddiqui, S. Kumar, A.A. Dar, Micellization of monomeric and dimeric (gemini) surfactants in polar nonaqueous-water-mixed solvents, *Colloid Polym. Sci.* 284 (2006) 807–812.

[170] L.G. Gagliardi, C.B. Castells, C. Ràfols, M. Rosés, E. Bosch, Static dielectric constants of acetonitrile/water mixtures at different temperatures and Debye-Hückel A and  $a_0B$  parameters for activity coefficients, *J. Chem. Eng. Data* 52 (2007) 1103–1107.

[171] A. Bhattarai, A.K. Yadav, S.K. Sah, A. Deo, Influence of methanol and dimethyl sulfoxide and temperature on the micellization of cetylpyridinium chloride, *J. Mol. Liq.* 242 (2017) 831–837.

[172] A. Shrivastava, K.K. Ghosh, Micellization of cetyl triphenyl phosphonium bromide surfactant in binary aqueous solvents, *J. Surfactants Deterg.* 11 (2008) 287–292.

[173] H.J.Y. El-Aila, Conductometry and thermodynamic study of micellization of cetyltrimethylammonium bromide in mixed solvents containing dilute electrolyte solutions, *Tenside Surfact. Det.* 48 (2011) 312–317.

[174] L.-J. Chen, S.-Y. Lin, C.-C. Huang, Effect of hydrophobic chain length of surfactants on enthalpy-entropy compensation of micellization, *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 4350–4356.

[175] A.K. Sood, R. Kaur, T.S. Banipal, Influence of organic solvents, head-groups and temperature on the micellization behavior of some cationic surfactants, *Indian J. Chem.* 55 (2016) 34–43.

[176] R.A. Abdel-Rahem, Influence of glycerol and temperature on the phase behavior and micellization of CTAB and SDS in aqueous solutions, *J. Dispersion Sci. Technol.* 34 (2013) 932–940.

[177] A. Lattes, E. Perez, I. Rico-Lattes, Organized molecular systems in structured non-aqueous solvents. Is formamide a water like solvent? *C. R. Chim.* 12 (2009) 45–53.

- [178] H. Chen, Z. Ye, L. Han, P. Luo, L. Zhang, Temperature-induced micelle transition of gemini surfactant in aqueous solution, *Surf. Sci.* 601 (2007) 2147–2151.
- [179] J. Luczak, C. Jungnickel, M. Joskowska, J. Thöming, J. Hupka, Thermodynamics of micellization of imidazolium ionic liquids in aqueous solutions, *J. Colloid Interface Sci.* 336 (2009) 111–116.
- [180] I. Rico, A. Lattes, Formamide, a water substitute. 12. Krafft temperature and micelle formation of ionic surfactants in formamide, *J. Phys. Chem.* 90 (1986) 5870–5872.
- [181] R.M. Pashley, M.E. Karaman, *Applied Colloid and Surface Chemistry*, first ed., Wiley & Sons, Chichester, 2004.
- [182] J.Ž. Manojlović, Hysteresis of conductivity in a micellar surfactant solution near the Krafft point, *J. Serb. Chem. Soc.* 85 (2020) 67–78.
- [183] R. Ball, A.D.J. Haymet, Bistability and hysteresis in self-assembling micelle systems: phenomenology and deterministic dynamics, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 3 (2001) 4753–4761.
- [184] R.V. Ball, G.M. Eckert, F. Gutman, D.K.Y. Wong, Electrochemical study of amiodarone charge-transfer complexes, *Anal. Chem.* 66 (1994) 1198–1203.
- [185] J. Van Stam, S. Depaemelaere, F.C. De Schryver, Micellar aggregation numbers – a fluorescence study, *J. Chem. Educ.* 75 (1998) 93–98.
- [186] G. D’Errico, D. Ciccarelli, O. Ortona, Effect of glycerol on micelle formation by ionic and nonionic surfactants at 25 °C, *J. Colloid Interface Sci.* 286 (2005) 747–754.
- [187] A. Pal, A. Pillania, Thermodynamic and micellization properties of aqueous cetyltrimethylammonium bromide solution in presence of 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium bromide, *Fluid Phase Equilib.* 412 (2016) 115–122.
- [188] J.N. Israelachvili, D.J. Mitchell, B.W. Ninham, Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* 72 (1976) 1525–1568.
- [189] R. Nagarajan, Molecular packing parameter and surfactant self-assembly: the neglected role of the surfactant tail, *Langmuir* 18 (2002) 31–38.
- [190] G. Sugihara, M. Hisatomi, Enthalpy-entropy compensation phenomenon observed for different surfactants in aqueous solution, *J. Colloid Interface Sci.* 219 (1999) 31–36.

- [191] H.N. Singh, S.M. Saleem, R.P. Singh, K.S. Birdi, Micelle formation of ionic surfactants in polar nonaqueous solvents, *J. Phys. Chem.* 84 (1980) 2191–2194.
- [192] R. Lumry, S. Rajender, Enthalpy-entropy compensation phenomena in water solutions of proteins and small molecules: a ubiquitous property of water, *Biopolymers* 9 (1970) 1125–1127.
- [193] A. Rodríguez, M.M. Graciani, G. Fernández, M.L. Moyá, Effects of glycols on the thermodynamic and micellar properties of TTAB in water, *J. Colloid Interface Sci.* 338 (2009) 207–215.
- [194] J.M. Bermúdez-Saldaña, L. Escuder-Gilabert, R.M. Villanueva-Camañas, M.J. Medina-Hernández, S. Sagrado, Emerging approaches to estimate retention factors in high performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1094 (2005) 24–33.
- [195] L. Escuder-Gilabert, J.M. Bermúdez-Saldaña, R.M. Villanueva-Camañas, M.J. Medina-Hernández, Reliability of the retention factor estimations in liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1033 (2004) 247–255.
- [196] T. Cecchi, F. Pucciarelli, P. Passamonti, Extended thermodynamic approach to ion interaction chromatography, *Anal. Chem.* 73 (2001) 2632–2639.
- [197] A. Janošević Ležaić, L. Pavun, D. Đikanović, J. Goronja, A. Malenović, N. Pejić, Fluorimetric studies of micellar properties of cetyltrimethylammonium bromide in acetonitrile-water mixture, 14<sup>th</sup> International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Belgrade, 2018, pp. 867–870.

## БИОГРАФИЈА АУТОРА

Јелена Гороња рођена је 1. јануара 1987. године у Зеници, Босна и Херцеговина. Основну школу и гимназију завршила је у Добоју, као носилац Вукове дипломе и ученик генерације. Интегрисане академске студије на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду, смјер магистар фармације, уписала је академске 2006/07. године и завршила новембра 2011. године са просјечном оцјеном 9,43.

Докторске академске студије, модул Фармацеутска хемија уписала је академске 2012/13. године.

Од маја 2012. године до октобра 2015. године била је ангажована као асистент у настави на Фармацеутском факултету Универзитета Бијељина, гдје је учествовала у извођењу практичне наставе из Аналитике лијекова, Физичке хемије са инструменталним методама и Токсикологије. Приправнички стаж за магистра фармације обављала је током 2012. године, те положила стручни испит марта 2013. године, а почевши од маја 2012. године до јануара 2015. године била је ангажована и у апотеци. Потом је радила на позицијама сарадника за фармаковигиланцу и вишег сарадника за фармаковигиланцу у компанији *PrimeVigilance* у Београду у периоду од новембра 2015. године до јануара 2018. године. У фебруару 2018. године запошљава се у компанији *PPD SERBIA DOO* на позицији специјалисте за добијање одобрења, те у фебруару 2021. године бива унапријеђена у вишег специјалисту за добијање одобрења, а од септембра 2021. године ради на позицији клиничког менаџера – сарадника.

До сада је објавила четири научна рада у часописима међународног значаја. Учествовала је на два скупа међународног значаја са по једним научним радом штампаним у изводу. Рецензент је часописа Хемијска индустрија и *Journal of Chemical Education*.

Говори енглески језик.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора      Јелена Гороња  
Број индекса                29/12

### Изјављујем

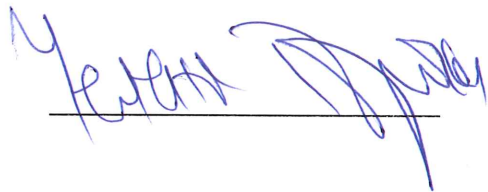
да је докторска дисертација под насловом

*Карактеризација система хибридне мицеларне течне хроматографије са катјонским сурфактантом цетил триметил амонијум бромидом*

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

Потпис аутора

У Београду, 15. септембра 2021. године



# Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора	Јелена Гороња
Број индекса	29/12
Студијски програм	Фармацеутска хемија
Наслов рада	Карактеризација система хибридне мицеларне течне хроматографије са катјонским сурфактантом цетил триметил амонијум бромидом
Ментор	др Анђелија Маленовић, редовни професор

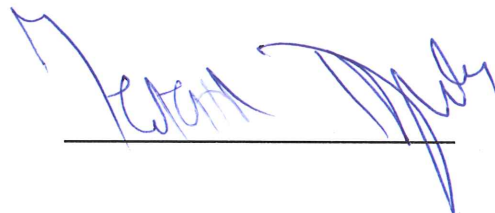
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

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

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

**Потпис аутора**

У Београду, 15. септембра 2021. године



---

## Изјава о коришћењу

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

*Карактеризација система хибридне мицеларне течне хроматографије са катјонским сурфактантом цетил триметил амонијум бромидом*

која је моје ауторско дело.

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

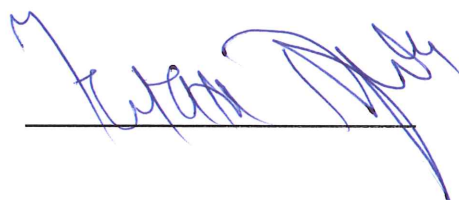
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.  
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

**Потпис аутора**

У Београду, 15. септембра 2021. године





1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.