

UNIVERZITET U BEOGRADU  
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Tamara T. Tadić

**DISPERZIVNA MIKROEKSTRAKCIJA  
PRIMARNIH AROMATIČNIH AMINA  
MOLEKULSKI OTISNUTIM POLIMEROM NA  
BAZI GLICIDIL-METAKRILATA I  
MAGNETITA**

doktorska disertacija

Beograd, 2024

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Tamara T. Tadić

**DISPERSIVE MICROEXTRACTION OF  
PRIMARY AROMATIC AMINES USING  
MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER  
BASED ON GLYCIDYL METHACRYLATE  
AND MAGNETITE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2024

**Mentori:**

---

**Dr Antonije Onjia, redovni profesor**  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

**Dr Bojana Marković, naučni saradnik**  
Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i  
metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

**Članovi komisije:**

---

**Dr Aleksandra Perić-Grujić, redovni profesor**  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko metalurški fakultet

---

**Dr Aleksandar Marinković, redovni profesor**  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

**Dr Marija Nikolić, vanredni profesor**  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

**Dr Aleksandra Nastasović, naučni savetnik**  
Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i  
metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

---

**Dr Milan Momčilović, viši naučni saradnik**  
Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

## ZAHVALNICA

Mom mentoru, dr Antoniju Onjii, redovnom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, zahvalna sam na ukazanom poverenju od samog početka i na svakoj, kako životnoj, tako i poslovnoj lekciji. Vaše znanje i saveti su za mene neprocenjivi i od velikog su značaja za moj budući naučni rad.

Mom mentoru, a pre svega prijatelju, dr Bojani Marković, naučnom saradniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerziteta u Beogradu, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, dugujem ogromnu zahvalnost na neizmernoj podršci i veri u mene tokom svih ovih godina, kao i na nesebičnoj pomoći u svakom segmentu izrade ove doktorske disertacije. Ne postoje adekvatne reči kojim bih opisala zahvalnost za sve što je učinila za mene.

Dr Aleksandri Nastasović, naučnom savetniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerziteta u Beogradu, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, posebno se zahvaljujem na prenetom znanju, svim korisnim savetima i podršci. Hvala Vam što sam deo Vašeg tima.

Zahvaljujem se dr Aleksandru Marinkoviću, rednom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, dr Mariji Nikolić, vanrednom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i dr Aleksandri Perić-Grujić, redovnom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu na korisnim savetima i sugestijama tokom izrade ove doktorske disertacije.

Srdačno se zahvaljujem i dr Milanu Z. Momčiloviću, višem naučnom saradniku Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu, na komentorskom doprinosu mojoj disertaciji koji je rukovodio radnim zadatkom od velikog značaja za dizajn sorpcionih procesa.

Veliku zahvalnost dugujem dr Zorici Vuković, naučnom savetniku Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerziteta u Beogradu, Instituta od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, na velikom broju merenja urađenih na sorptomatu i živinom porozimetru, kao i na korisnim savetima i sugestijama pri izradi ove doktorske disertacije.

Posebno se zahvaljujem kolegini i prijateljici Jeleni Stojaković (rođena Lukić) na pomoći tokom eksperimentalnog rada koji se odnosi na disperzivnu mikroekstrakciju, kao i na savetima i podršci tokom izrade doktorske disertacije.

Mojim koleginicama i prijateljima, dr Sandri Bulatović, msc Nataliji Nedić, dr Ljiljani Suručić i dr Zvezdani Sandić zahvalna sam na velikoj podršci, pomoći, korisnim savetima i deljenju iskustava tokom izrade ove disertacije.

Ekperimentalni deo doktorske disertacije koji se odnosi na sintezu realizovan je u laboratoriji Grupe za polimere, dok je deo koji se odnosi na disperzivnu mikroekstrakciju urađen u laboratoriji Anahem d.o.o. Veliku zahvalnost dugujem laboratoriji Anahem d.o.o., a pre svega Jeleni Radulović i Teodori Pavlović na mnogobrojnim merenjima na HPLC-u i pomoći tokom izvođenja eksperimenata.

Neizmerno sam zahvalna mojoj porodici, mami Aleksandri, tati Tomislavu i bratu Aleksu na ljubavi i podršci! Hvala vam što ste uvek verovali u mene, što ste prošli sa mnom kroz svaki segment školovanja i bili bezuslovna podrška. Pored njih, najveću zahvalnost dugujem i dečku Petru, na čiji nagovor sam i upisala doktorske studije i bez čije podrške, razumevanja i ljubavi ova disertacija ne bi bila potpuna. Ovaj uspeh je i vaš, zbog čega vam i posvećujem ovu doktorsku disertaciju!



# DISPERZIVNA MIKROEKSTRAKCIJA PRIMARNIH AROMATIČNIH AMINA MOLEKULSKI OTISNUTIM POLIMEROM NA BAZI GLICIDIL-METAKRILATA I MAGNETITA

## SAŽETAK

Primarni aromatični amini (PAA) su organske zagađujuće materije koje nastaju u velikom broju industrijskih proizvoda, npr. u sintezi azo-boja, proizvodnji lekova, poliuretana, pesticida, guma, plastike, lakova, pigmenata. Njihova koncentracija u realnim uzorcima može biti veoma niska, stoga je korak pretkoncentrisanja uzorka jako bitan kako bi se dostigli nivoi koncentracije relevantni za detekciju na instrumentu. Poslednjih godina, zbog mogućnosti kontrolisanja morfoloških svojstava, kao i visoke selektivnosti za ciljane analite molekulski otisnuti polimeri (MIP) se sve češće koriste za pretkoncentrisanje ove vrste zagađujućih materija.

Predmet doktorske disertacije odnosi se na sintezu i karakterizaciju MIP-a na bazi glicidil-metakrilata (GMA) i nanočestica magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), kao i na razvoj i optimizaciju disperzivne mikroekstrakcije na ovoj vrsti polimera za detekciju i pretkoncentrisanje PAA iz vodenog rastvora.

Prvi deo doktorske disertacije odnosi se na sintezu, optimizaciju uslova sinteze i karakterizaciju polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , *mPGE60*, u cilju dobijanja čestica odgovarajuće veličine i oblika. Polimerni nosač sintetisan je postupkom suspenzione kopolimerizacije preko slobodnih radikala sa dodatkom obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Nakon toga, metodom površinskog otiskivanja sintetisana su tri MIP-a (MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha), gde je kao polimerni nosač korišćen prethodno sintetisan i okarakterisan *mPGE60*, kao šablon izabran je predstavnik PAA – anilin, a kao ligandi su korišćeni etilendiamin (eda), trietilentetraamin (teta) i pentaetilenheksamin (peha). Dobijeni MIP-ovi su detaljno okarakterisani različitim tehnikama karakterizacije u pogledu strukturnih i morfoloških svojstava. Na osnovu rezultata sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenih rastvora pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha, kao i uticaja pH na sorpcioni kapacitet, u daljim istraživanjima za optimizaciju i validaciju disperzivne mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (DSPME) za pretkoncentrisanje anilina korišćen je MIP-peha kao čvrsta faza.

Razvoj DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi u cilju pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora izveden je primenom eksperimentalnog dizajna. Cilj optimizacije DSPME metode bio je da se identifikuju eksperimentalni uslovi pri kojima će se postići maksimalna efikasnost pomenute metode. Za selekciju faktora koji najviše utiču na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora korišćen je Plaket-Burman dizajn (PBD). Svi analizirani faktori (količina sorbenta, pH, jonska jačina, način mešanja pri ekstrakciji, vreme ekstrakcije, temperatura ekstrakcije, zapremina eluenta, temperatura desorpcije, način mešanja pri desorpciji, vreme desorpcije, vrsta desorpcionog sredstva) ispitani su na dva nivoa  $-1$  (nizak nivo) i  $+1$  (visok nivo). Izvedena je serija od 12 eksperimenata u tri ponavljanja. Nakon toga, izvođenjem serije od 15 eksperimenata u tri ponavljanja optimizovana su tri faktora koja su se pokazala kao najznačajniji u koraku selekcije (zapremina eluenta, pH i temperatura ekstrakcije) korišćenjem Boks-Benken dizajna (BBD). Za razvijenu DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi dobijena je LoD vrednost od 1 ng/ml, RSD od 18 %, dok je efikasnost DSPME metode bila 62 %. Na kraju ovog poglavlja prikazani su rezultati ispitivanja zelenosti razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi primenom tri alata za ocenu zelenosti: Analitička Eko-Skala, indeks zelene analitičke procedure (GAPI) i analitička zelenost (AGREE). Rezultat srednje vrednosti svih 12 segmenata AGREE piktograma (0,62), kao i broj poena dobijen Analitičkom Eko-Skalom (91) pokazuje da je razvijena metoda za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora u skladu sa principima zelene hemije.

Na osnovu rezultata u okviru ove doktorske disertacije može se zaključiti da je dobijen efikasan sorbent na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , kao i da je razvijena pouzdana i, na osnovu 12 GAC principa, zelena, DSPME metoda za pretkoncentrisanje PAA iz vodenih rastvora.

**Ključne reči:** molekularni otisni polimeri, MIP, glicidil-metakrilat, primarni aromatični amini, eksperimentalni dizajn, sinteza

**Naučna oblast:** Hemijske nauke

**Uža naučna oblast:** Analitička hemija

# DISPERSIVE MICROEXTRACTION OF PRIMARY AROMATIC AMINES USING MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER BASED ON GLYCIDYL METHACRYLATE AND MAGNETITE

## ABSTRACT

Primary aromatic amines (PAA) are organic pollutants generated in a significant number of industrial products, such as in the synthesis of azo dyes, production of pharmaceuticals, polyurethanes, pesticides, rubbers, plastics, varnishes, and pigments. Their concentration in real samples can be very low; hence, the sample preconcentration step is crucial to achieve concentration levels relevant for instrument detection. In recent years, due to the ability to control morphological properties and high selectivity for target analytes, molecularly imprinted polymers (MIP) are increasingly used for preconcentration of these pollutants.

The subject of this doctoral dissertation involves the synthesis and characterization of MIP based on glycidyl methacrylate (GMA) and magnetite nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), as well as the development and optimization of dispersive microextraction on this type of polymer for the detection and preconcentration of PAA from aqueous solutions.

The first part of the doctoral dissertation relates to the synthesis, optimization of synthesis conditions, and characterization of the polymer carrier based on GMA and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , *m*PGE60, to obtain particles of appropriate size and shape. The polymer carrier was synthesized by the suspension copolymerization method through free radicals with the addition of coated  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles. Subsequently, using the surface imprinting method, three MIPs (MIP-eda, MIP-teta, and MIP-peha) were synthesized, where the previously synthesized and characterized *m*PGE60 was used as the polymer carrier, aniline was chosen as the template, and ethylenediamine (eda), triethylenetetramine (teta), and pentaethylenhexamine (peha) were used as ligands. The obtained MIPs were thoroughly characterized using various characterization techniques concerning structural and morphological properties. Based on the results of the sorption extraction of aniline from aqueous solutions using MIP-eda, MIP-teta, and MIP-peha, as well as the influence of pH on the sorption capacity, MIP-peha was used in further research for optimization and validation of dispersive solid-phase microextraction (DSPME) for the preconcentration of aniline as the solid phase.

The development of the DSPME method with MIP-peha as the solid phase for the preconcentration of aniline from aqueous solutions was conducted using experimental design. The aim of DSPME method optimization was to identify the experimental conditions under which maximum efficiency of the mentioned method would be achieved. The Plackett-Burman design (PBD) was used for the selection of factors that most significantly affect the efficiency of the DSPME method on MIP-peha as the solid phase for the preconcentration of aniline from aqueous solutions. All analyzed factors (the amount of sorbent, pH, ionic strength, the method of mixing during extraction, extraction time, extraction temperature, eluent volume, desorption temperature, method of mixing during desorption, desorption time, type of desorption solvent) were examined at two levels: -1 (low level) and +1 (high level). A series of 12 experiments was conducted in triplicates. Following that, a series of 15 experiments in triplicates was carried out to optimize the three most significant factors in the selection step (eluent volume, pH, and extraction temperature) using the Box-Behnken design (BBD). The developed DSPME method on MIP-peha as the solid phase yielded a LoD value of 1 ng/ml, RSD of 18 %, and an efficiency of 62 %. At the end of this chapter, the results of the green assessment of the developed DSPME method on MIP-peha as the solid phase were presented using three green assessment tools: Analytical Eco-Scale, Green Analytical Procedure Index (GAPI), and Analytical GREENess (AGREE). The average score of all 12 segments of the AGREE pictogram (0.62) and the number of points obtained using the Analytical Eco-Scale (91) indicate that the developed method for the preconcentration of aniline from aqueous solutions complies with the principles of green chemistry.

Based on the results within this doctoral dissertation, it can be concluded that an efficient sorbent based on GMA and  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  has been obtained, and a reliable and green DSPME method for the preconcentration of PAA from aqueous solutions, in accordance with the 12 principles of green chemistry, has been developed.

**Keywords:** molecularly imprinted polymers, MIP, glycidyl methacrylate, primary aromatic amines, experimental design, synthesis

**Scientific field:** Chemistry

**Scientific subfield:** Analytical chemistry

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DEO .....	4
2.1. Mikroekstrakcione metode .....	5
2.1.1. Mikroekstrakcija u tečnoj fazi.....	5
2.1.2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi.....	6
2.1.3. Disperzivna mikroekstrakcija na čvrstoj fazi.....	7
2.1.4. Eksperimentalni dizajn.....	8
2.1.5. Ispitivanje zelenosti analitičkih metoda.....	11
2.1.5.1. Analitička Eko-Skala .....	11
2.1.5.2. AGREE.....	13
2.1.5.3. GAPI.....	15
2.2. Molekulski otisnuti polimeri .....	17
2.2.1. Razvoj MIP kroz istoriju.....	17
2.2.2. Opšte karakteristike MIP-a .....	18
2.2.2.1. Glicidil-metakrilat u sintezi MIP-a.....	20
2.2.3. Načini vezivanja šablona i funkcionalnog monomera .....	21
2.2.4. Načini pripreme MIP-ova .....	22
2.2.4.1. Površinsko otiskivanje .....	23
2.2.5. Primena MIP-ova .....	24
2.2.5.1. MIP-ovi na bazi magnetita.....	26
2.3. Primarni aromatični amini.....	27
3. EKSPERIMENTALNI DEO .....	31
3.1. Korišćene hemikalije.....	32
3.2. Dvostepeni postupak oblaganja magnetita .....	32
3.2.1. Oblaganje Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> TEOS-om .....	32
3.2.2. Oblaganje Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @TEOS MPS-om.....	32
3.3. Priprema polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	33
3.3.1. Optimizacija uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	33
3.3.2. Sintaza polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	33
3.4. Priprema MIP-a .....	34
3.5. Metode karakterizacije .....	35
3.5.1. Sito analiza.....	35
3.5.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR) .....	35
3.5.3. Elementarna analiza .....	35
3.5.4. Određivanje amino grupa.....	35
3.5.5. Tačka nultog naelektrisanja, pH <sub>PZC</sub> .....	36
3.5.6. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS).....	36
3.5.7. Živina porozimetrija.....	36
3.5.8. Niskotemperaturne adsorpciono-desorpcione izoterme azota .....	37
3.5.9. SQUID magnetometar.....	37
3.6. Sorpciona ekstrakcija anilina na MIP-u .....	38
3.7. DSPME na MIP kao čvrstoj fazi .....	39
3.7.1. Procedura DSPME .....	39
3.7.2. Eksperimentalni dizajn DSPME metode.....	40
3.7.3. Ispitivanje zelenosti DSPME .....	41
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	42
4.1. Karakterizacija obloženih Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanočestica .....	43
4.2. Priprema polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	45
4.2.1. Optimizacija uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	46

4.2.2.	Karakterizacija polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	50
4.2.2.1.	Određivanje granulometrijskog sastava mPGE60 .....	50
4.2.2.2.	Određivanje hemijske strukture mPGE60 .....	51
4.2.2.3.	Određivanje morfoloških i teksturalnih svojstava mPGE60 .....	51
4.2.2.4.	Određivanje magnetnih svojstava mPGE60 .....	56
4.3.	Sinteza i karakterizacija MIP-ova .....	57
4.3.1.	Optimizacija odnosa ligand:šablon pri sintezi MIP-a .....	58
4.3.2.	Karakterizacija MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha .....	58
4.3.2.1.	Određivanje hemijske strukture MIP-ova .....	58
4.3.2.2.	Određivanje morfoloških i teksturalnih svojstava MIP-ova .....	61
4.3.2.3.	Određivanje tačke nultog naelektrisanja MIP-ova .....	65
4.4.	DSPME na MIP kao čvrstoj fazi .....	66
4.4.1.	Sorpciona ekstrakcija anilina iz vodenog rastvora pomoću MIP-ova .....	66
4.4.2.	Optimizacija i validacija DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora .....	69
4.4.2.1.	Selekcija značajnih faktora DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi .....	69
4.4.2.2.	Optimizacija značajnih faktora DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi ..	71
4.4.2.3.	Validacija DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi .....	75
4.4.3.	Ispitivanje zelenosti razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi .....	75
5.	ZAKLJUČAK .....	82
6.	LITERATURA .....	86
7.	BIOGRAFIJA AUTORA .....	104
	Izjava o autorstvu .....	106
	Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada .....	107
	Izjava o korišćenju .....	108
	Ocena izveštaja o proveru originalnosti doktorske disertacije .....	110

## SPISAK SLIKA

<b>Slika 2.1.</b> Princip LPME.....	6
<b>Slika 2.2.</b> Princip SPME.....	6
<b>Slika 2.3.</b> Princip DSPME.....	7
<b>Slika 2.4.</b> Ključni koraci u eksperimentalnom dizajnu.....	10
<b>Slika 2.5.</b> Primer AGREE piktograma.....	13
<b>Slika 2.6.</b> Primer GAPI piktograma.....	15
<b>Slika 2.7.</b> Razvoj MIP kroz istoriju.....	18
<b>Slika 2.8.</b> Opšti postupak sinteze MIP-a.....	19
<b>Slika 2.9.</b> Primena MIP-ova.....	25
<b>Slika 2.10.</b> Mogući izvori PAA.....	28
<b>Slika 3.1.</b> Sinteza polimernog nosača <i>mPGE60</i> (a) i izgled reakcione smeše nakon sinteze polimernog nosača (b).....	34
<b>Slika 3.2.</b> Izgled reakcione smeše nakon pripreme MIP-a (a) i ekstrakcija šablona (anilina) pomoću Sokslet aparata (b).....	34
<b>Slika 3.3.</b> Izgled FTIR instrumenta (a) i CHN(S) analizatora (b).....	35
<b>Slika 3.4.</b> Izgled SEM instrumenta (a) i uređaja za naparavanje zlatom (b).....	36
<b>Slika 3.5.</b> Izgled živinog porozimetra (a) i sorptomata (b).....	37
<b>Slika 3.6.</b> Izgled SQUID magnetometra.....	37
<b>Slika 3.7.</b> Šema sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenog rastvora na MIP-u.....	38
<b>Slika 3.8.</b> Šematski prikaz DSPME na MIP-peha kao čvrstoj fazi.....	39
<b>Slika 4.1.</b> FTIR spektri nanočestica $Fe_3O_4$ i $Fe_3O_4@TEOS$ .....	44
<b>Slika 4.2.</b> FTIR spektri nanočestica $Fe_3O_4@TEOS$ i $Fe_3O_4@TEOS@MPS$ .....	45
<b>Slika 4.3.</b> SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 1PVA- <i>mPGE</i> (a) i 1PVP- <i>mPGE</i> (b) pri uvećanju od $100\times$ .....	47
<b>Slika 4.4.</b> SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 1PVP- <i>mPGE</i> (a), 5PVP- <i>mPGE</i> (b) i 7PVP- <i>mPGE</i> (c) pri uvećanju od $100\times$ .....	47
<b>Slika 4.5.</b> Uticaj masenog udela PVP-a na veličinu čestica polimernog nosača prečnika $0,15\text{ mm} < d < 0,25\text{ mm}$ .....	48
<b>Slika 4.6.</b> SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 400- <i>mPGE</i> (a) i 600- <i>mPGE</i> (b) pri uvećanju od $250\times$ .....	49
<b>Slika 4.7.</b> Uticaj brzine mešanja na veličinu čestica polimernog nosača prečnika $0,15\text{ mm} < d < 0,25\text{ mm}$ .....	49
<b>Slika 4.8.</b> Raspodela veličine čestica polimernog nosača <i>mPGE60</i> .....	50
<b>Slika 4.9.</b> FTIR spektar polimernog nosača <i>mPGE60</i> .....	51
<b>Slika 4.10.</b> SEM mikrografije polimernog nosača <i>mPGE60</i> : izgled čestice pri uvećanju $250\times$ (a), površina čestice pri uvećanju $3000\times$ (b) i poprečni presek čestice pri uvećanju $10000\times$ (c).....	52
<b>Slika 4.11.</b> SEM mikrografija skeniranog dela (a), SEM-EDS spektar, EDS mape elemenata C (c), O (d), Fe (e) i Si (f) površine čestica <i>mPGE60</i> .....	53
<b>Slika 4.12.</b> SEM mikrografija skeniranog dela (a), SEM-EDS spektar, EDS mape elemenata C (c), O (d), Fe (e) i Si (f) poprečnog preseka čestica <i>mPGE60</i> .....	54
<b>Slika 4.13.</b> Integralna kriva raspodele zapremine pora po prečnicima pora (a) i histogram raspodele zastupljenosti pora u određenom opsegu prečnika pora (b) za <i>mPGE60</i> .....	54
<b>Slika 4.14.</b> Adsorpciono-desorpcione izoterme azota <i>mPGME60</i> .....	55
<b>Slika 4.15.</b> Izotermalna kriva magnetizacije za <i>mPGE60</i> snimljena na 300 K. Umetak gore levo prikazuje uvećanu izotermalnu krivu magnetizacije na nižim vrednostima jačine magnetnog polja. Umetak dole desno prikazuje ponašanje <i>mPGE60</i> u prisustvu spoljašnjeg magnetnog polja.....	56
<b>Slika 4.16.</b> Sorpcija anilina pomoću MIP 1:1, 2:1, 4:1 iz vodenih rastvora ( $C_0 = 100\text{ mg/l}$ , doza sorbenta = $1\text{ g/l}$ , $t = 90\text{ min}$ , $T = 25 \pm 0,2\text{ }^\circ\text{C}$ , $\text{pH} = 6$ ).....	58

<b>Slika 4.17.</b> FTIR spektri MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>59</b>
<b>Slika 4.18.</b> SEM mikrografije MIP-eda: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).....	<b>61</b>
<b>Slika 4.19.</b> SEM mikrografije MIP-teta: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).....	<b>61</b>
<b>Slika 4.20.</b> SEM mikrografije MIP-peha: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).....	<b>62</b>
<b>Slika 4.21.</b> EDS mape elemenata MIP-eda.....	<b>62</b>
<b>Slika 4.22.</b> EDS mape elemenata MIP-teta.....	<b>63</b>
<b>Slika 4.23.</b> EDS mape elemenata MIP-peha.....	<b>63</b>
<b>Slika 4.24.</b> Integralne krive raspodele zapremine pora po prečnicima pora (a) i histogrami raspodele zastupljenosti pora u određenom opsegu prečnika pora (b) za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>64</b>
<b>Slika 4.25.</b> Adsorpciono-desorpcione krive za MIP-eda (a), MIP-teta (b) i MIP-peha (c).....	<b>65</b>
<b>Slika 4.26.</b> Zavisnost $pH_f$ od $pH_i$ za: MIP-eda (a), MIP-teta (b) i MIP-peha (c).....	<b>66</b>
<b>Slika 4.27.</b> Uticaj početne pH na kapacitet sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>67</b>
<b>Slika 4.28.</b> Desopcija anilina adsorbovanog na MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>67</b>
<b>Slika 4.29.</b> Mogućnost ponovne upotrebe MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha sorbenata za uklanjanje anilina iz vodenog rastvora.....	<b>68</b>
<b>Slika 4.30.</b> Pareto dijagram standardizovanih efekata.....	<b>70</b>
<b>Slika 4.31.</b> Grafik glavnih efekata za efikasnost DSPME metode.....	<b>71</b>
<b>Slika 4.32.</b> Grafik zavisnosti predviđenih i eksperimentalno dobijenih <i>ER</i> vrednosti DSPME metode za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora.....	<b>73</b>
<b>Slika 4.33.</b> Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija zapremine desorpcionog sredstva i pH vrednosti vodenog rastvora anilina na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj temperaturi ekstrakcije od 25 °C.....	<b>73</b>
<b>Slika 4.34.</b> Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija zapremine desorpcionog sredstva i temperature ekstrakcije na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6... 74	<b>74</b>
<b>Slika 4.35.</b> Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija pH vrednosti vodenog rastvora anilina i temperature ekstrakcije na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj zapremini desorpcionog sredstva od 450 $\mu$ l... 74	<b>74</b>
<b>Slika 4.36.</b> GAPI piktogram razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi..... 76	<b>76</b>
<b>Slika 4.37.</b> AGREE piktogram razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi..... 77	<b>77</b>
<b>Slika 4.38.</b> GAPI piktogram korišćene HPLC-MS tehnike..... 79	<b>79</b>
<b>Slika 4.39.</b> AGREE piktogram korišćene HPLC-MS tehnike..... 80	<b>80</b>



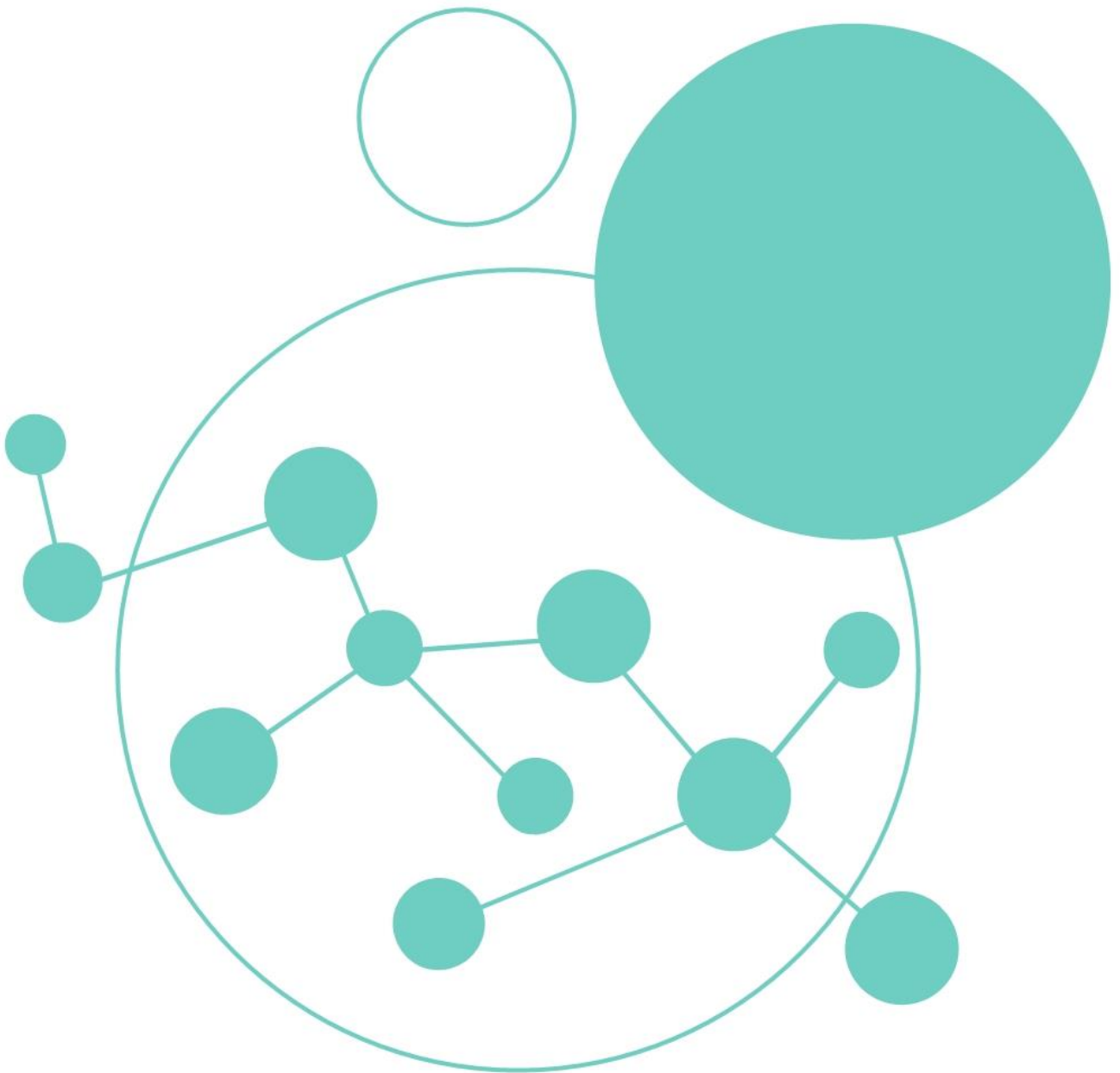
## SPISAK SHEMA

<b>Shema 4.1.</b> Oblaganje nanočestica magnetita TEOS-om.....	<b>43</b>
<b>Shema 4.2.</b> Oblaganje nanočestica Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @TEOS MPS-om.....	<b>44</b>
<b>Shema 4.3.</b> Sinteza polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	<b>46</b>
<b>Shema 4.4.</b> Priprema MIP-ova metodom površinskog otiskivanja.....	<b>57</b>
<b>Shema 4.5.</b> Hemijska struktura MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>59</b>
<b>Shema 4.6.</b> Metodologija ispitivanja zelenosti razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi.....	<b>75</b>

## SPISAK TABELA

<b>Tabela 2.1.</b> Kazneni poeni za izračunavanje Analitičke Eko-Skale.....	<b>12</b>
<b>Tabela 2.2.</b> Kriterijumi za određivanje zelenosti prema GAPI.....	<b>16</b>
<b>Tabela 3.1.</b> Sastav reakcione smeše i reakcioni uslovi sinteze polimernog nosača na bazi GMA i Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> .....	<b>33</b>
<b>Tabela 3.2.</b> Faktori koji utiču na DSPME na MIP-peha kao čvrstoj fazi.....	<b>40</b>
<b>Tabela 3.3.</b> Matrica za PBD eksperimente.....	<b>40</b>
<b>Tabela 4.1.</b> Elementarni sastav, procenat konverzije epoksidnih grupa, koncentracija liganda i koncentracija amino grupa za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>60</b>
<b>Tabela 4.2.</b> Parametri poroznosti za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>64</b>
<b>Tabela 4.3.</b> Adsorpciono-desorpcioni parametri za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.....	<b>65</b>
<b>Tabela 4.4.</b> Plan eksperimenta za PBD sa realnim vrednostima promenljivih i dobijenim vrednostima odgovora sistema.....	<b>69</b>
<b>Tabela 4.5.</b> Plan eksperimenta za BBD sa realnim vrednostima faktora i vrednostima odgovora sistema.....	<b>72</b>
<b>Tabela 4.6.</b> Rezultati Analitičke Eko-Skale razvijene DSPME metode.....	<b>76</b>
<b>Tabela 4.7.</b> Rezultati Analitičke Eko-Skale korišćene HPLC-MS tehnike.....	<b>79</b>

# 1. UVOD



Od druge polovine 18. veka dogodile su se brojne promene na društvenom, ekonomskom i tehnološkom nivou, prelazeći iz ruralne ekonomije u ekonomiju zasnovanu na industrijalizaciji i mehanizaciji procesa. Antropogene aktivnosti značajno su uticale na životnu sredinu na različite načine. Zagađenje može imati fizičko, hemijsko, biološko ili radiološko poreklo, prouzrokujući štetne efekte na vazduh, vodu, zemljište i živa bića. Posebno, zagađenje usled uvođenja hemikalija iz različitih hemijskih procesa u životnu sredinu stvorilo je potrebu za njihovim identifikovanjem i kvantifikovanjem. Većina zagađujućih materija ulazi u životnu sredinu pretežno iz industrije, poljoprivrede, sagorevanja fosilnih goriva i potrošačkih proizvoda. Među njima, amini čine veliku grupu koja je rasprostranjena u životnoj sredini zbog njihove široke upotrebe u proizvodnji lekova, boja, kozmetike... Takođe treba uzeti u obzir da, kao i mnoge druge supstance, oni mogu nastati kao rezultat hemijske ili biološke transformacije, čime se stvaraju jedinjenja koja mogu biti štetna po životnu sredinu. Amini su organska jedinjenja izvedena iz amonijaka, karakteristična po prisustvu osnovnog atoma azota sa slobodnim parom elektrona povezanog sa organskim supstituentima, kao što su alkil i aril grupe. Kada je jedan ili više tih supstituenata aril grupa, oni se mogu klasifikovati kao aromatični amini (*eng. Aromatic amines, AA*), pri čemu su primarni aromatični amini (*eng. Primary aromatic amines, PAA*) oni sa jednim aril supstituentom. Većina AA su toksični i potencijalno kancerogeni. Njihova funkcija u smislu mehanizama delovanja i toksičnosti zavisi od položaja i strukture amino grupe i aromatičnog prstena. Posebno, većina AA pronađenih u životnoj sredini su zapravo PAA. Iz tog razloga, raste zabrinutost zbog njihovog stalnog uvođenja u životnu sredinu, čime se formira grupa zagađujućih materija vode, vazduha i zemljišta. Tekstilna industrija, kao najveći izvor PAA, vitalan je i brzo rastući industrijski segment širom sveta i kao takva jedna je od glavnih izvora otpadnih voda zbog velike potrošnje vode za različite operacije. U smislu uticaja na životnu sredinu, tekstilna industrija se procenjuje kao industrija koja globalno koristi više vode nego bilo koja druga, a skoro sve otpadne vode koje se ispuštaju su visoko zagađene. Prosečne tekstilne fabrike troše oko 200 litara vode po kilogramu obrađene tkanine dnevno, a bojenje i završna obrada tkanina generišu oko 17 do 20 procenata industrijskih otpadnih voda. PAA u otpadnim vodama ozbiljno utiču na vodeni život zbog smanjene penetracije svetlosti i potrošnje kiseonika, kao i na fotosintetsku funkciju biljaka. Komplikovana i stabilna struktura PAA predstavlja veliki izazov za njihovu degradaciju u otpadnim vodama tekstilne industrije

Određivanje PAA u životnoj sredini predstavlja izazov za analitičke hemičare zbog njihovih hemijskih karakteristika i niske koncentracije u životnoj sredini. Za njihovo određivanje najčešće se koriste gasna hromatografija (*eng. Gas Chromatography, GC*) i tečna hromatografija visokih performansi (*eng. High-Performance Liquid Chromatography, HPLC*) sa masenom spektrometrijom (*eng. Mass spectrometry, MS*) ili ultra-ljubičastom spektroskopijom (*eng. Ultra-Violet spectroscopy, UV*). Međutim, uobičajene instrumentalne tehnike često nisu dovoljno osetljive da precizno identifikuju i kvantifikuju PAA u složenim matricama životne sredine. Stoga, da bi se postigao odgovarajući nivo detekcije i pojačao konačni instrumentalni signal, javila se potreba za različitim strategijama pripreme uzoraka sa ciljem pretkoncentracije PAA. S tim u vezi, predložene su tehnike ekstrakcije zasnovane na sorbentu (*eng. Solid phase extraction, SPE*) gde se ciljani analiti prenose na čvrstu fazu (sorbent), tu se zadržavaju i naknadno se regenerišu eluiranjem sa pogodnim eluentom. SPE je najčešće korišćena metoda ekstrakcije za pripremu uzoraka zbog svoje jednostavnosti, raznovrsnosti sorbenata i ograničene količine organskih rastvarača koji se koriste. Pored toga, metode ekstrakcije zasnovane na čvrstim sorbentima omogućavaju postizanje visoke efikasnosti ekstrakcije velikog broja jedinjenja iz širokog spektra uzoraka, sa preciznim i ponovljivim rezultatima, pri čemu prevazilaze nedostatke tečne ekstrakcije, kao što su velika potrošnja rastvarača i nezadovoljavajuće razdvajanje faza. SPE metoda je kroz godine značajno evoluirala, dovodeći do novih, minijaturizovanih i ekološki prihvatljivijih analitičkih strategija. Disperzivna mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (*eng. Dispersive solid phase microextraction, DSPME*) omogućava da se male količine analita izoluju i koncentrišu iz velikih zapremina uzoraka, čime se omogućava njihova pouzdana analiza čak i pri vrlo niskim koncentracijama. Ova metoda koristi minimalne količine rastvarača i sorbenta koji se direktno disperguje u rastvor, što je čini i ekološki

prihvatljivom. Pored toga, DSPME je kompatibilna sa savremenim analitičkim instrumentima, tako da ovako kombinovane metode omogućavaju visoku osetljivost i specifičnost u detekciji PAA, omogućavajući analitičarima da precizno kvantifikuju ova toksična i potencijalno kancerogena jedinjenja u različitim ekološkim uzorcima.

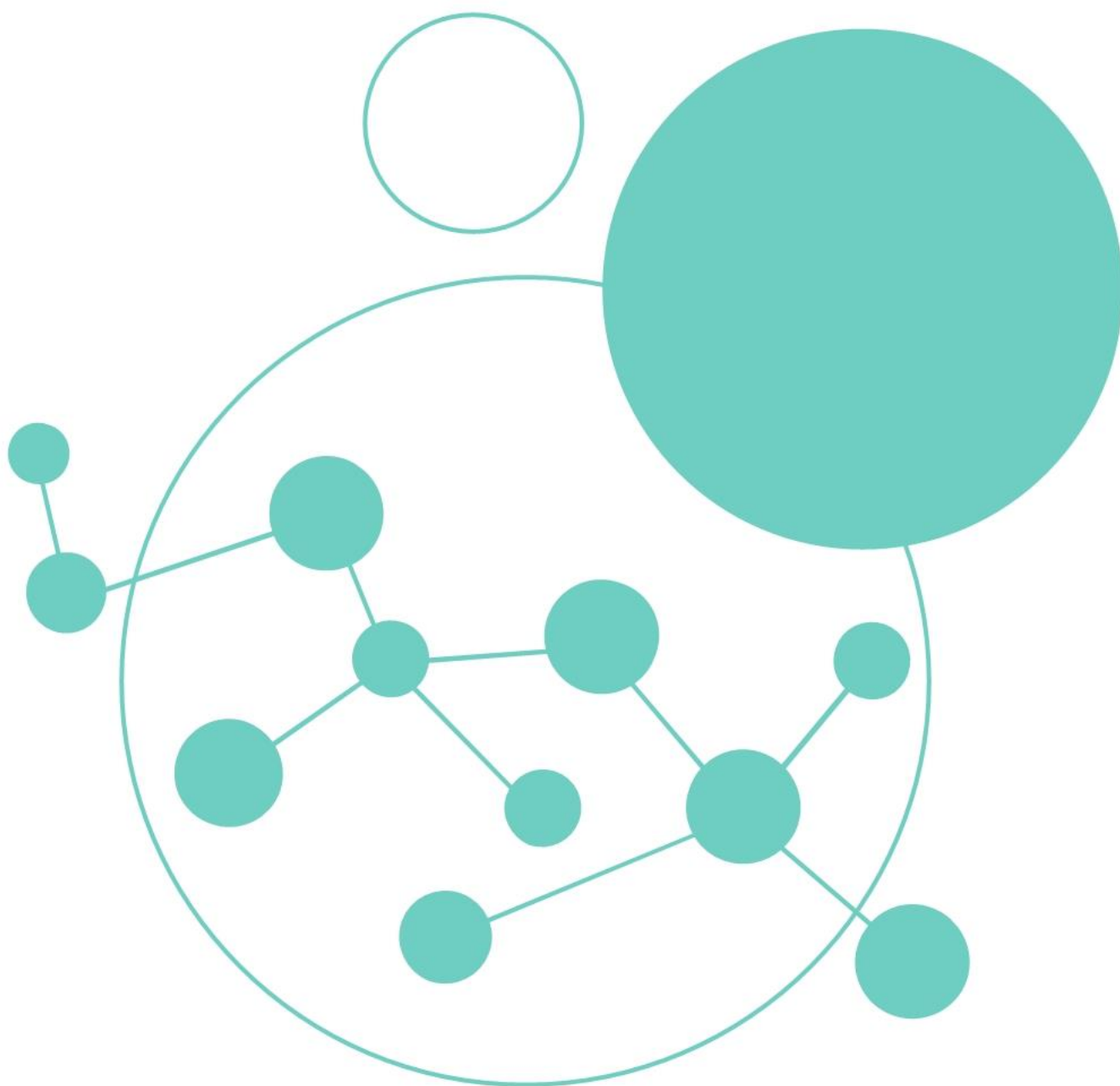
Napredak u tehnologiji i industriji zahteva sorbente koji su efikasniji, ekonomičniji i ekološki prihvatljiviji, a raznolikost problema zagađenja i drugih analitičkih izazova zahteva inovativne pristupe i materijale koji mogu efikasno odgovoriti na specifične zahteve analitičkih procedura. Postojeći sorbenti često pokazuju ograničenu selektivnost i efikasnost u ekstrakciji ciljnih analita iz složenih matrica uzoraka. Razvoj novih sorbenata sa specifičnim svojstvima, kao što su visoka stabilnost, jednostavna regeneracija i prilagođavanje različitim vrstama analita i matrica uzoraka ima za cilj poboljšanje selektivnosti kako bi se omogućila preciznija analiza uzoraka. Molekulski otisnuti polimeri (*eng. Molecularly Imprinted Polymers, MIP*) su sintetički polimeri sa visokospecifičnim mestima za prepoznavanje ciljnih molekula, napravljeni od monomera koji imaju sposobnost da formiraju kompleks sa šablonom, putem kovalentnih ili nekovalentnih interakcija koji se zatim polimerizuju u prisustvu umrežavača formirajući stabilan umreženi polimer. Uklanjanje molekula šablona iz umreženog polimera rezultira formiranjem vezivnih mesta koja su komplementarna šablonu po veličini, obliku i funkcionalnim grupama. Prednosti ove vrste polimera ogledaju se u niskoj ceni i jednostavnosti pripreme, visokoj stabilnosti, i odličnoj ponovljivosti. Korišćenjem MIP umesto konvencionalnih sorbenata može se značajno poboljšati selektivnost ekstrakcionih metoda, zbog čega su ove metode bazirane na MIP našle široku primenu u separaciji, čišćenju i/ili pretkoncentraciji ciljnih analita u raznim vrstama stvarnih uzoraka.

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije je dobijanje efikasnog sorbenta, kao i razvoj pouzdane metode mikroekstrakcije na sintetisanom sorbentu (MIP) za detekciju aromatičnih amina iz vodenih rastvora, pre instrumentalnog merenja na HPLC-MS.

Očekivani rezultati ove doktorske disertacije obuhvataju:

- Sintezu polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$
- Karakterizaciju polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$
- Sintezu MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha metodom površinskog otiskivanja
- Kompletnu karakterizaciju MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha
- Optimizaciju DSPME metode na MIP-peha primenom eksperimentalnog dizajna
- Validaciju optimizovane DSPME metode za detekciju primarnih aromatičnih amina u vodenim rastvorima.

## 2. TEORIJSKI DEO



## 2.1. Mikroekstrakcione metode

Kako bi se smanjilo korišćenje opasnih hemikalija, omogućilo uzorkovanje i priprema vrlo malih količina uzoraka, kao i unapredila i poboljšala kompatibilnost sa savremenim analitičkim instrumentima, razvijene su različite mikroekstrakcione metode (OcañaGonzález et al., 2016). Iako su analitički instrumenti poslednjih godina mnogo napredovali u pogledu bržeg i osetljivijeg merenja, suštinski izazov za analitičare predstavlja određivanje analita sa visokom tačnošću i preciznošću u realnim uzorcima (Alahmad et al., 2021; Silva et al., 2015). Generalno, analitičke metode uključuju procese kao što su prikupljanje, priprema, odvajanje i analiza uzoraka (Smith, 2003). Priprema uzorka je kritičan korak, jer analiti mogu biti izgubljeni ako se koristi neodgovarajući metod (Pawliszyn, 2013; Yamini et al., 2019). Još jedan problem predstavlja nemogućnost direktnog merenja mnogih realnih uzoraka (zbog vrste i fizičkog stanja uzorka), što zahteva prethodnu pripremu. Takođe, većina matrica realnih uzoraka nije poznata, a efekti ometajućih vrsta moraju biti ispitani pre same analize. Ovaj korak oduzima mnogo vremena, zahteva veliku količinu realnog uzorka. Dakle, korak pripreme uzorka, kao korak između uzorkovanja i analize, od suštinskog je značaja za postizanje najboljeg rezultata sa najmanje grešaka. Izbor postupka pripreme uzorka zavisi od vrste medijuma (čvrsta, tečna i gasovita faza), količine uzorka, vrste instrumenta (HPLC, GC, atomska spektroskopija), vrste analize (kvalitativna ili kvantitativna analiza), prirode analita i njegove početne koncentracije u uzorku. Zbog toga, tehnika pripreme uzorka treba da bude jednostavna, brza, jeftina, automatizovana i ponovljiva sa visokom osetljivošću i tačnošću (Plotka et al., 2015; Ghorbani et al., 2018).

Minimalna koncentracija analita u realnim uzorcima koja se može detektovati zavisi od tipa instrumenta i njegovog detektora. Koncentracija analita u realnim uzorcima može biti vrlo mala, stoga je korak pretkoncentrisanja uzorka jako bitan kako bi se dostigli nivoi koncentracije relevantni za detekciju analita na instrumentu (Ghorbani et al., 2019). U cilju pripreme uzoraka mogu se koristiti najrazličitije metode. Klasične metode ekstrakcije troše velike količine opasnih rastvarača i drugih reagenasa što nije u skladu sa principima zelene analitičke hemije. Glavni nedostaci klasičnih metoda ekstrakcije su složenost metode, dugotrajan proces, velika potrošnja uzorka i rastvarača, visoko zagađenje životne sredine, nemogućnost automatizacije, visoka cena i ograničen izbor rastvarača i sorbenta (Sarafraz-Yazdi & Amiri, 2010). Poslednjih decenija razvijen je veliki broj mikroekstrakcionih tehnika koje se koriste za ispitivanja širokog opsega realnih uzoraka. Ove minijaturizovane metode, koje se generalno nazivaju metode mikroekstrakcije, uvedene su kako bi se smanjila ograničenja i nedostaci konvencionalnih pristupa ekstrakciji, a istovremeno iskoristile njihove prednosti (Yamini et al., 2019; Sajid et al., 2021). Generalno, metode mikroekstrakcije se mogu podeliti u dve kategorije:

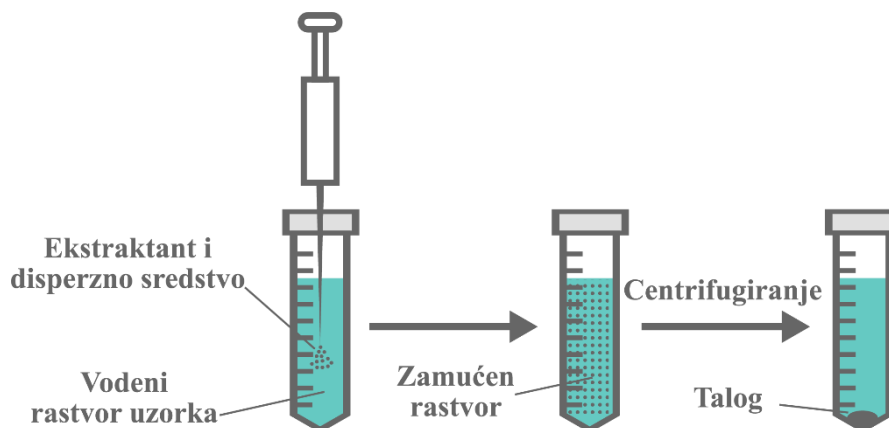
1. Mikroekstrakcija u tečnoj fazi
2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi.

Ove metode mikroekstrakcije se zasnivaju na minijaturizaciji klasične ekstrakcije, gde se analiti iz uzoraka velike zapremine ekstrahuju u male zapremine (Lukić et al., 2023). U skladu sa principima zelene hemije, ove tehnike nude prednosti kao što su veća efikasnost ekstrakcije, kratko vreme analize, mogućnost automatizacije, smanjena potrošnja rastvarača i upotreba ekološki prihvatljivijih rastvarača (Jalili et al., 2019).

### 2.1.1. Mikroekstrakcija u tečnoj fazi

Mikroekstrakcija u tečnoj fazi (*eng. Liquid phase microextraction, LPME*) predstavlja minijaturizovanu tečno-tečnu ekstrakciju i karakteriše je minimalna potrošnja rastvarača. Kod ove vrste mikroekstrakcije zapremina ekstrakcione faze je manja od 100  $\mu$ l (Fernández i Vidal, 2014). Princip ove vrste mikroekstrakcije se zasniva na razdvajanju komponenti na osnovu rastvorljivosti analita u dve tečnosti koje se ne mešaju. Na taj način dolazi do ekstrakcije analita iz jedne tečne faze u drugu. Ekstrakcija se postiže disperzijom smeše organskih rastvarača u vodenu fazu. Smešu

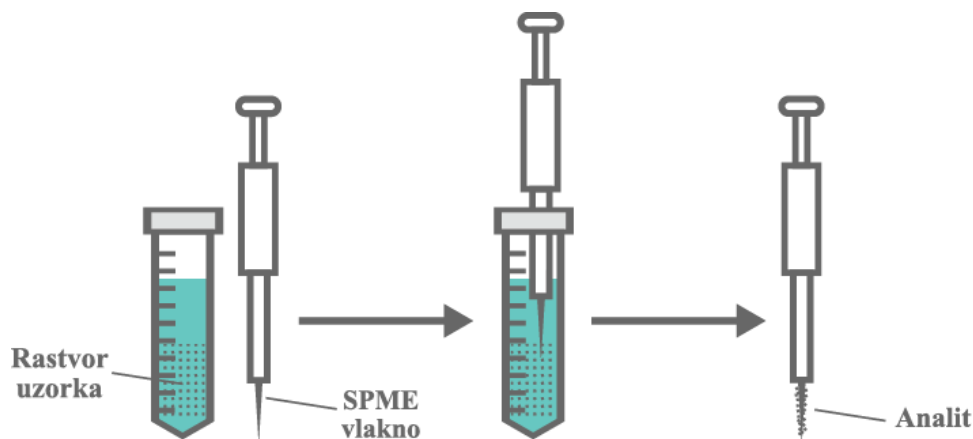
organskih rastvarača čine ekstraktant - rastvarač koji se ne meša sa vodom i disperzno sredstvo - rastvarač koji se meša sa vodom. Na ovaj način dolazi do prelaska analita iz vodene faze u organsku fazu. Princip mikroekstrakcije u tečnoj fazi prikazan je na Slici 2.1.



Slika 2.1. Princip LPME.

### 2.1.2. Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi

Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (*eng. Solid phase microextraction, SPME*) je savremena metoda pripreme uzoraka u kojoj se uzorkovanje, pretkoncentracija i ekstrakcija vrše u jednom koraku, a analiti se mogu direktno snimiti na analitičkim instrumentima. Ova tehnika je modifikovana verzija ekstrakcije na čvrstoj fazi (*eng. Solid phase extraction, SPE*) koja koristi manju količinu adsorbensa i omogućava ekstrakciju analita iz vrlo malih zapremina uzoraka. Osnovni SPME uređaj se sastoji od vlakna obloženog tankim slojem medijuma za ekstrakciju; vlakno je fiksirano unutar igle uređaja nalik na špric (Merkle et al., 2015). Analit se direktno ekstrahuje i koncentriše na čvrstoj fazi SPME vlakna (Slika 2.2.). Nakon koraka ekstrakcije, vlakno se postavlja unutar injektora mernog uređaja, odnosno najčešće u GC i HPLC (Jalili et al., 2019).



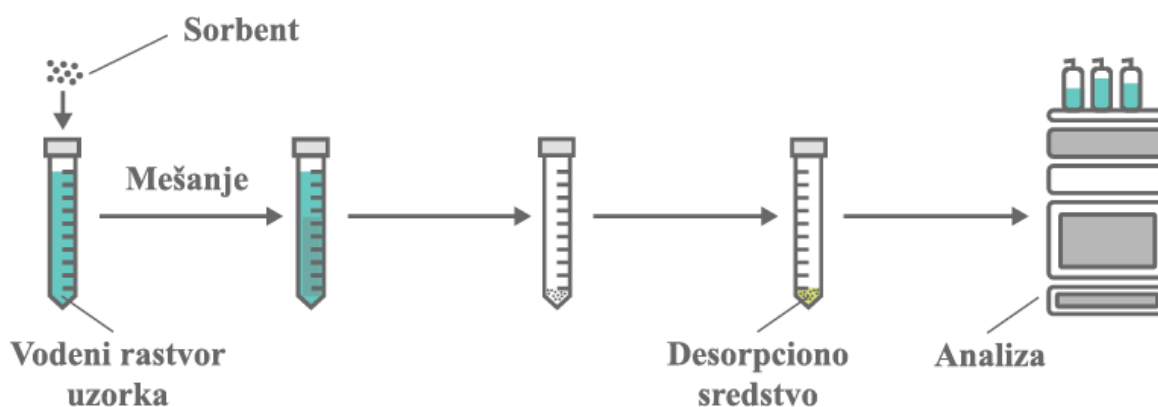
Slika 2.2. Princip SPME.

Krajem 20. veka Pavlizin (*Pawliszyn*) i saradnici su prvi put uveli ovu metodu mikroekstrakcije kako bi se odgovorilo na potrebu za brзом pripremom uzoraka bez rastvarača, koja bi obezbedila istovremeno odvajanje i pretkoncentraciju isparljivih i neisparljivih analita u složenim uzorcima (Spiegel et al., 2013). Prednosti ove tehnike ogledaju se u jednostavnosti, brzini, kao i maloj potrošnji organskih rastvarača, čime se značajno skraćuje vreme trajanja analize, a poseduje i potencijal za automatizaciju procesa (Boyaci et al., 2015; Reyes-Garcés et al., 2018).



### 2.1.3. Disperzivna mikroekstrakcija na čvrstoj fazi

Budući da su metode mikroekstrakcije površinski zavisni procesi, predložene su tehnike disperzivne mikroekstrakcije, kao što je disperzivna mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (*eng. Dispersive solid phase microextraction, DSPME*), gde se sorbent (čvrsta faza) direktno disperguje u rastvor kako bi se povećala kontaktna površina između rastvora uzorka i sorbenta i time značajno smanjilo vreme ekstrakcije i desorpcije, kao i potrošnja sorbenta. DSPME je dalji napredak u mikroekstrakciji, koja kombinuje prednosti SPE i SPME sa dodatnom efikasnošću i jednostavnošću. Cilj je poboljšati osetljivost procesa dodavanjem sorbenta u rastvor uzorka, pri čemu se na njemu zadržavaju analiti, koji se mogu eluirati termički ili rastvaračem. DSPME se koristi za ekstrakciju, čišćenje i pretkoncentrisanje različitih analita u realnim uzorcima (Ghorbani et al., 2019). Sam proces uključuje sledeće: mala količina čvrstog sorbenta se dodaje direktno u tečni uzorak. Mešanje uzorka omogućava brzu disperziju sorbenta, čime se povećava površina kontakta između analita i sorbenta, što dovodi do ekstrakcije i obogaćivanja analita na sorbentu. Nakon određenog vremena, sorbent se uklanja iz tečne faze centrifugiranjem, filtracijom ili, ukoliko poseduje magnetna svojstva, jednostavnim uklanjanjem pomoću spoljašnjeg magnetnog polja. Konačno, analiti se eluiraju iz sorbenta u relativno malu zapreminu odgovarajućeg rastvarača i analiziraju pomoću odgovarajuće analitičke tehnike. Visoka efikasnost, mala količina sorbenta (opseg mg ili  $\mu\text{g}$ ), minimiziranje potrebe za velikom količinom rastvarača, jednostavnost i brzina, mogućnost analize velikog broja uzoraka su neke od prednosti ove tehnike (Sajid et al., 2021). Princip DSPME metode prikazan je na Slici 2.3.



Slika 2.3. Princip DSPME.

Generalno, DSPME metoda može se podeliti u tri kategorije: tradicionalna DSPME metoda, DSPME metoda potpomognuta vorteksom i DSPME metoda potpomognuta ultrazvukom. Učestalost primene ultrazvučno i vorteksom pomognute DSPME je veća od učestalosti primene tradicionalne DSPME. Vreme ekstrakcije i desorpcije se značajno smanjuje korišćenjem ultrazvuka ili vorteksa. Pored minijaturizacije, primena različitih metoda mikroekstrakcije u analizi raznih jedinjenja zahteva automatizaciju kako bi analitičke procedure bile ekološki prihvatljivije (Lemos et al., 2022). Prednosti ovakvih analitičkih metoda bi, pored sistema automatizacije, podrazumevale smanjenje vremena analize, brže uzorkovanje, smanjenje grešaka prilikom uzorkovanja i veću osetljivost i ponovljivost. Vak (*Vakh*) i saradnici su primenili fluidizovani reaktor u automatizovanoj DSPME proceduri za određivanje fluorokinolona u uzorcima hrane za bebe koristeći kao čvrstu fazu magnetni sorbent (Vakh et al., 2018).

Izbor odgovarajućeg sorbenta je bitan faktor za postizanje dobre preciznosti i visoke efikasnosti u postupku mikroekstrakcije. Sumirano, DSPME metoda nudi brojne prednosti. Prvo, metoda se ističe visokom osetljivošću, omogućavajući određivanje supstanci na ppt nivou. Pored toga, DSPME zahteva vrlo malu zapreminu uzorka, što je čini ekonomičnom i praktičnom. Takođe, metoda je jednostavna i brza, jer ne zahteva upotrebu složene opreme, alata ili uređaja.

Dodatno, upotreba toksičnih rastvarača se izbegava, što je ekološki prihvatljivije i sigurnije za korisnika. Metoda omogućava *in situ* uzorkovanje, što znači da se uzorci mogu uzeti direktno iz izvornog okruženja bez potrebe za dodatnim koracima pripreme.

Važni faktori koji utiču na efikasnost DSPME su (Dil et al., 2021; Dozein et al., 2021):

- količina sorbenta;
- pH vrednost uzorka;
- vreme ekstrakcije;
- temperatura ekstrakcije;
- vreme desorpcije;
- temperatura desorpcije;
- zapremina eluenta;
- dodatak soli i
- korišćenje ultrazvuka ili vorteksa.

Mikroekstrakcione metode zahtevaju rukovanje malim količinama medijuma za ekstrakciju pod strogo definisanim uslovima ekstrakcije. Veliki broj varijabilnih parametara (vreme ekstrakcije, temperatura, pH, koncentracija soli, zapremina eluenta, način mešanja) i odnosi između njih često zahtevaju udaljavanje od klasičnog pristupa izvođenja eksperimenata koji podrazumeva ispitivanje uticaja jedne promenljive na ponašanje sistema, dok se ostale promenljive ne menjaju (Dozein et al., 2021; Dil et al., 2021; Ansari & Masoum, 2018a). Na ovaj način, izvođenjem velikog broja eksperimenata, nije moguće utvrditi eventualno postojanje interakcija između promenljivih. Hemometrija nudi nekoliko planova eksperimentalnog dizajna koji se mogu lako koristiti za pronalaženje optimalnih uslova i potvrđivanje eksperimentalne procedure. Hemometrijski alati omogućavaju istovremenu procenu velikog broja faktora koji utiču na sistem korišćenjem minimalnog seta eksperimenata, uz istovremeno dobijanje dovoljno informacija o međusobnim interakcijama i njihovom značaju (Perić-Grujić, 2012).

#### 2.1.4. Eksperimentalni dizajn

Izvođenje eksperimenata omogućava način da se analiziraju karakteristike nekog procesa. Ti procesi uzrokovani su nizom faktora i za njihovo razumevanje neophodno je ispitati uzajamne veze između faktora i odgovora sistema. Postoje dva pristupa koja se koriste u ovu svrhu: klasični (tradicionalni) i hemometrijski (planirani). Kod klasičnog pristupa menja se samo jedan faktor uz uslov da su svi ostali faktori konstantni. Pri ovakvom izvođenju eksperimenata obično se svi faktori, izuzev jednog, održavaju na niskom nivou, dok se odgovor sistema procenjuje na visokom i niskom nivou faktora čiji se uticaj ispituje. Ovakav pristup dovodi do definisanja individualnog optimuma samo tog faktora čime se otežava pronalaženje pravog optimuma sistema i nije moguće uočiti interakcije između različitih faktora. Sa druge strane, hemometrijski pristup podrazumeva primenu eksperimentalnog dizajna. Britanski naučnik Fišer (*Fisher*) započeo je razvoj pouzdane i efikasne metode utvrđivanja povezanosti uzroka i efekata, u cilju proučavanja i analiziranja uticaja različitih faktora na prihode žetve. Metoda je kasnije usavršena radovima naučnika kao što su Boks (*Box*), Koks (*Cox*), Tagučić (*Taguchi*) i drugi, tako da one danas predstavljaju izvanredan alat za bilo kakav zadatak optimizacije. Poslednjih godina se sve veća pažnja usmerava na razvijanje analitičkih procesa dizajniranih za istraživanje velike količine podataka u potrazi za doslednim obrascima i/ili sistematskim vezama između promenljivih u nekom procesu i primenu ovih modela na nove podatke u cilju procene očekivanog ishoda (Janković et al., 2021). Osnovna ideja planiranog eksperimenta je da definiše minimalan set eksperimenata u kojima će svaki faktor biti variran na sistematski način. Ovaj set se obično sastoji od 10 do 20 eksperimenata. Analiziranjem podataka planiranog eksperimenta utvrđuju se najznačajniji faktori koji utiču na odgovor sistema kao i oni koji nisu značajni za isti, interakcije između faktora, sinergizam, optimalni uslovi, itd. Ovakvim procesima se nastoji da se osmisli mali skup eksperimenata u kojima se svi relevantni faktori

istovremeno i sistematski variraju i obezbeđuju domenski specifičan matematički okvir za naknadne analiza dobijenih podataka. Razvoj računarskih strategija i naprednih algoritama uticao je na analitičku hemiju i razvoj hemometrije.

Ova metodologija je našla primenu u industriji za empirijsku analizu veze između polaznih varijabli i finalnog proizvoda, za optimizaciju uslova u različitim oblastima kao što su: analitička hemija, organska hemija, farmacija, forenzička toksikologija, hemija životne sredine, nano materijali; pri analiziranju uticaja različitih parametara sinteze na svojstva materijala, zatim u ispitivanju i optimizaciji različitih sorpcionih procesa, među kojima i sorpcije teških metala i radionuklida iz vodenih rastvora. Metod planiranja eksperimenata je moćan alat za postizanje efikasnog procesa i poboljšanja kvaliteta proizvoda (Mutihac & Mutichac, 2008). Eksperimentalni dizajn se sastoji od nekoliko ključnih komponenti (Slika 2.4):

1. **Identifikacija ciljeva:** Definisane svrhe eksperimenta.
2. **Odabir faktora:** Identifikacija nezavisnih promenljivih (faktora) koje se proučavaju i određivanje njihovih nivoa (različitih vrednosti koje faktori mogu imati). Pod pojmom faktor podrazumeva se bilo koji aspekt eksperimentalnih uslova koji utiče na dobijene rezultate. Faktori mogu biti *kontrolisani* (kada se mogu menjati od strane eksperimentatora), *nekontrolisani* (ne mogu se menjati tokom eksperimenta, potrebno je svesti ih na minimum), *kvantitativni* (mogu se izraziti numeričkim vrednostima), *kvalitativni* (ne mogu se izraziti numeričkim vrednostima). Različite vrednosti faktora predstavljaju različite nivoe faktora. Izbor eksperimentalnog dizajna uslovljen je brojem faktora. Najčešće se nivo označava kao visok (+1) i nizak (-1). Kod kvantitativne promenljive +1 označava najveću vrednost zadanog opsega, dok -1 označava najnižu vrednost zadanog opsega, dok kod kvalitativnih promenljivih ovi nivoi označavaju prisustvo (+1) ili odsustvo (-1) ispitivanog faktora. Odabir faktorskih nivoa veoma je bitan korak u metodologiji eksperimentalnog dizajna, jer ako se definišu previše uski intervali variranja faktora, oblast eksperimentalnog prostora koji se pretražuje biće sužen, pa nije realno očekivati da će se eksperimentalnim dizajnom pronaći mnogo bolji optimum od onoga do koga se došlo u toku preliminarnih ispitivanja, jer će sva definisana pomeranja voditi samo malim promenama posmatranih odgovora. Sa druge strane, što je interval variranja faktora širi, to je kompleksnost funkcionalne zavisnosti odgovora od tog faktora veća.
3. **Odabir odgovora:** Definisane izlaznih promenljivih (odgovora) koje će se meriti kako bi se procenio uticaj faktora. Odgovori su zavisne promenljive i zavise od definisanog cilja eksperimenta. Njihove vrednosti zavise od nivoa faktora.
4. **Eksperimentalni plan:** Odabir odgovarajućeg dizajna eksperimenta, koji omogućavaju istraživanje efekata faktora i njihovih interakcija. Pravilno dizajniranje eksperimenta podrazumeva dva koraka: selekciju faktora koji značajno utiču na odgovor sistema i optimizaciju značajnih faktora. Odgovarajući eksperimentalni dizajn i analiza rezultata dobijaju se korišćenjem statističkog softvera (Minitab, Design Expert, itd).
5. **Randomizacija:** Nasumično raspoređivanje eksperimenata kako bi se minimizirali efekti nepoznatih ili nekontrolisanih promenljivih.
6. **Replikacija:** Ponovno izvođenje eksperimenata pod istim uslovima kako bi se procenila varijabilnost i poboljšala pouzdanost rezultata.
7. **Analiza podataka:** Primena statističkih (na osnovu dobijenih rezultata za odgovore sistema vrši se izračunavanje vrednosti koeficijenata odgovarajućeg matematičkog modela i vrši se procena da li dobijeni matematički model adekvatno opisuje sistem) i grafičkih (konstruišu se 2D grafikoni, 3D grafikoni, Pareto dijagrami) metoda za analizu rezultata i procenu značajnosti efekata faktora i njihovih interakcija.
8. **Verifikacija:** Potvrđivanje dobijenih rezultata dodatnim eksperimentima ili upoređivanjem sa teoretskim modelima. (Ferreira et al., 2007; Vanajaand Shobha., 2007; Perić-Grujić, 2012).



Slika 2.4. Ključni koraci u eksperimentalnom dizajnu.

Za selekciju faktora koji značajno utiču na odgovor sistema najčešće se koristi Plaket-Burman dizajn (*eng. Plackett-Burman Design*, PBD) frakcioni faktorski dizajn (Smičiklas et al., 2005). PBD se koristi u ranim fazama istraživanja kada je potrebno identifikovati ključne faktore koji će se kasnije detaljno istraživati. Ova vrsta dizajna pruža brze i efikasne rezultate koji mogu usmeriti dalje istraživanje i optimizaciju procesa. Pripada grupi nepotpunog faktorskog dizajna i zasniva se na izvođenju  $4n$  eksperimenata ( $n=1, 2, 3\dots$ ). Cilj je brzo i efikasno utvrditi koji faktori imaju najveći uticaj na odgovore, uz minimalan broj eksperimenata. Prednosti ovog tipa eksperimentalnog dizajna uključuju istovremeno ispitivanje svih promenljivih umesto variranja jedne promenljive sa drugim konstantnim uslovima i dobijanje informacija o dvosmernim interakcijama faktora, koristeći mali broj eksperimenata (Beres and Hawkins, 2001).

Izbor odgovarajućeg dizajna zavisi od specifičnih potreba istraživanja, broja faktora i raspoloživih resursa. Za optimizaciju značajnih faktora koristi se Boks-Benken dizajn (*eng. Box-Behnken Design*, BBD). BBD je efikasan i precizan metod za optimizaciju hemijskih procesa koji omogućava analizu kvadratnih i interakcijskih efekata uz minimalan broj potrebnih eksperimenata i izbegavanje ekstremnih eksperimentalnih uslova. Ovaj dizajn je vrsta rotirajućeg dizajna koji omogućava izgradnju kvadratnog modela bez potrebe za ekstremnim uslovima koji mogu biti skupi ili opasni. Rotirajući dizajn znači da eksperimentalne tačke u dizajnu imaju jednaku varijansu u svim pravcima, što omogućava ravnomerno procenjivanje faktora u svim smerovima u prostoru. To povećava preciznost i pouzdanost modela. Takođe, ova vrsta dizajna ima sposobnost da modeluje kvadratne efekte (drugog reda) faktora, što znači da može da kvantifikuje ne samo linearne odnose već i zakrivljenosti (kvadratne termine) u odgovoru na promene u faktorima. Dalje, svaki faktor u dizajnu može imati tri različite vrednosti ili nivoa, obično označene kao niske ( $-1$ ), srednje ( $0$ ) i visoke vrednosti ( $+1$ ). Ovaj trostepeni pristup omogućava procenu linearnih i kvadratnih efekata, kao i interakcije između faktora. BBD je vrsta nepotpunog faktorskog dizajna jer ne uključuje kombinacije gde su svi faktori istovremeno na svojim ekstremnim vrednostima. To smanjuje broj potrebnih eksperimentalnih tačaka, čime se povećava efikasnost eksperimenta, ali i dalje omogućava dovoljno informacija za procenu efekata i interakcija (Czyrski and Sznura, 2019). Ključna prednost BBD je njegova efikasnost u pogledu broja eksperimenata potrebnih za dobijanje statistički značajnih podataka. Dizajn kombinuje srednje tačke sa kombinacijama faktora na njihovim srednjim vrednostima i na niskim i visokim nivoima, omogućavajući preciznu procenu interakcija između faktora i kvadratnih efekata, što je posebno korisno za razvoj novih hemijskih procesa i optimizaciju postojećih (Haque, 2022, Ferreira et al., 2007).

Pareto grafik i grafik glavnih efekata se mogu koristiti za grafički prikaz podataka i pronalaženje odnosa između faktora i odgovora sistema. Pareto grafik je jednostavna grafička slika uticaja faktora koja pojednostavljuje proučavanje efekata svakog od njih i njihovo poređenje na odgovore. Rezultati u Pareto grafiku pokazuju promenljive sortirane prema uticaju na odgovor. Ovaj grafik analizira važnost svake promenljive, a dužina bara je proporcionalna standardizovanom efektu (procenjen efekat podeljen sa njegovom standardnom greškom). Grafik glavnih efekata pokazuje na koji način promenljive utiču na odgovor sistema. Što je veći stepen odstupanja od horizontalne linije (nagib), to je efekat posmatrane promenljive jači. Za razliku od Pareto grafika koji upoređuje apsolutne vrednosti efekata, grafik glavnih efekata daje dodatne informacije o tome

da li se promenom nivoa promenljive smanjuje ili povećava odgovor sistema (Smičiklas et al., 2005).

Za vizuelizaciju podataka optimizacije procesa i bolje razumevanje odnosa između više promenljivih, kao i identifikaciju optimalnih uslova za različite hemijske procese koristi se trodimenzionalni dijagram odgovora površine i konturni dijagram. Trodimenzionalni dijagram odgovora površine prikazuje zavisnost jedne zavisne promenljive (odgovor sistema) od dve nezavisne promenljive (faktori). Na ovom grafikonu, na x i y osi su predstavljene nezavisne promenljive, dok je na z osi predstavljena zavisna promenljiva. Površina koja se formira između ovih tačaka može pomoći u identifikaciji trendova, maksimuma, minimuma i drugih važnih karakteristika u eksperimentalnim podacima. Vizuelizacijom ovih podataka u trodimenzionalnom prostoru, mogu se lako identifikovati optimalni uslovi zadatog procesa. Konturni dijagram je dvodimenzionalni grafik koji prikazuje linije jednake vrednosti zavisne promenljive. U ovom grafikonu, x i y osa takođe predstavljaju nezavisne promenljive, dok linije (konture) predstavljaju konstantne vrednosti zavisne promenljive. Konturni grafik omogućava brzu identifikaciju područja sa sličnim vrednostima zavisne promenljive.

### 2.1.5. Ispitivanje zelenosti analitičkih metoda

Pojam zelenosti se definiše korišćenjem metoda i tehnika kojima se smanjuju ili eliminišu velike količine reagenasa i rastvarača koji mogu biti opasni po ljude i životnu sredinu (Gionfriddo, 2020; Nowak et al., 2021; Ražić et al., 2023). Akcenat se stavlja na korišćenje sigurnijih, bezopasnijih i čistijih rastvarača ili potpuno eliminisanje rastvarača i smanjenje upotrebe toksičnih reagenasa. Uvođenje blažih uslova reakcije, smanjenje potrošnje energije i pronalaženje alternativnih i ekološki prihvatljivijih reagenasa još su neki od ciljeva zelene analitičke hemije. Dvanaest principa zelene analitičke hemije su glavna smernica za ispitivanje zelenosti analitičkih metoda (Gałuszka et al., 2013; de Marco et al., 2019). Najnoviji trendovi u razvoju analitičkih metoda fokusiraju se na razvoj metoda ekstrakcije bez rastvarača ili sa minimalnom količinom rastvarača i smanjenim brojem koraka i utrošene energije (Ferreira et al., 2022). Razvijeno je nekoliko alata za ocenu zelenosti analitičkih procedura (Imam & Abdelrahman, 2023; Kannaiah et al., 2021; Vakh & Tobiszewski, 2023). Analitička Eko-Skala, indeks zelene analitičke procedure (eng. *Green Analytical Procedures Index*, GAPI) i analitička zelenost (eng. *Analytical GREENness Metric Approach and Software*, AGREE) su najčešće korišćeni alati za ocenu zelenosti analitičkih metoda zbog njihove primenljivosti na većinu analitičkih procedura (Ražić et al., 2023; Pena-Pereira et al., 2020).

#### 2.1.5.1. Analitička Eko-Skala

Analitička Eko-skala kategorizuje metodu oduzimanjem poena od 100 za svaku komponentu koja je čini manje ekološki prihvatljivom. U zavisnosti od konačnog rezultata, metoda može biti odlična, prihvatljiva ili neadekvatna (Gałuszka et al., 2012). Osnova koncepta Analitičke Eko-Skale je da idealna zelena analiza ima vrednost od 100. Idealna zelena analiza može se okarakterisati minimalnom upotrebom reagenasa, minimalnom potrošnjom energije i generisanja otpada. Za svaki od parametara analitičkog postupka (količina reagensa, moguće opasnosti, potrošnja energije i otpad), dodeljuju se kazneni poeni ako se odstupa od idealne zelene analize. Pošto uticaj opasnih hemikalija zavisi od njihove količine, ukupni kazneni poeni izračunavaju se množenjem kaznenih poena za određenu količinu i opasnost. Rezultat izračunavanja se rangira na skali, gde rezultat: >75 predstavlja odličnu zelenu analizu, >50 predstavlja prihvatljivu zelenu analizu, <50 predstavlja neadekvatnu zelenu analizu. Opasnost korišćenih reagenasa koji se koriste u Analitičkoj Eko-Skali procenjuje se na osnovu Globalno harmonizovanog sistema klasifikacije i obeležavanja hemikalija (eng. *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*, GHS), koji je, prema mišljenju tvorca ovog koncepta, najobuhvatnija i najnovija klasifikacija hemikalija. Svaki

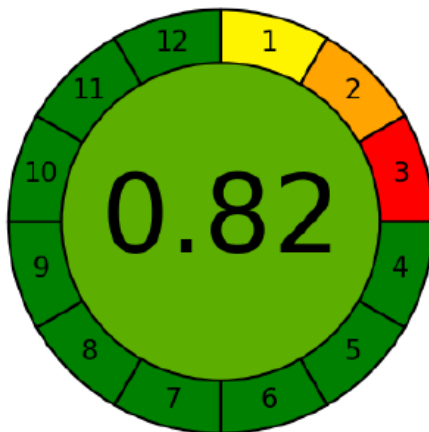
reagens može biti okarakterisan sa jednim ili više piktograma koji ukazuju na određenu opasnost i za svaki piktogram se dodeljuju kazneni poeni na sledeći način: nema piktograma = 0 kaznenih poena, manja opasnost = 1 kazneni poen, ozbiljnija opasnost = 2 kaznena poena. Kada su u pitanju moguće opasnosti, ukoliko je analitički proces hermetički zatvoren i nema mogućnosti isparenja ne dobijaju se kazneni poeni, dok se za postojanje mogućnosti emisije para i gasova u vazduh dobija 3 kaznena poena. Kazneni poeni u zavisnosti od količine generisanog otpada i tretmana otpada nakon analitičkog procesa klasifikuju na sledeći način: nema otpada = 0 kaznenih poena, za analitičke procese koji generišu <1 ml (g) = 1 kazneni poen, 1-10 ml (g) = 3 kaznena poena, >10 ml (g) = 5 kaznenih poena. Ukoliko postoji mogućnost recikliranja otpada = 0 kaznenih poena, dok se za nepostojanje bilo kakvog tretmana dobija 3 kaznena poena. Najmanje energetski zahtevne su one laboratorijske prakse i instrumenti koji troše <0,1 kWh po uzorku (npr. titracija, isparavanje rastvarača na grejnoj ploči (<10 min), UV-Vis spektrofotometar), dok su energetski najzahtevnije tehnike one koje troše >1,5 kWh po uzorku (npr. GC-MS, LC-MS, rendgenska difrakcija, isparavanje rastvarača na grejnoj ploči (>2,5 h)) (Gałuszka et al., 2012; Tobiszewski et al., 2015). Primeri kaznenih poena dodeljenih reagensima i analitičkim tehnikama za upotrebu energije dati su u Tabeli 2.1.

**Tabela 2.1.** Kazneni poeni za izračunavanje Analitičke Eko-Skale

	Reagensi	Međuzbir kaznenih poena	Ukupni kazneni poeni	
<b>Količina</b>	< 10 ml (g)	1	Količina * Opasnost	
	10-100 ml (g)	2		
	> 100 ml (g)	3		
<b>Opasnost (fizička, ekološka, zdravstvena)</b>	Ne postoji	0		
	Manje ozbiljna opasnost	1		
	Velika opasnost	2		
<b>Instrumentacija</b>				
<b>Energija</b>	≤ 0,1 kWh po uzorku		0	
	≥ 1,5 kWh po uzorku		1	
	> 1,5 kWh po uzorku		2	
<b>Rizik tokom rada na instrumentu</b>	Hermetički zatvoren analitički proces		0	
	Mogućnosti isparenja para i gasova u vazduh		3	
<b>Otpad</b>	Ne postoji		0	
	< 1 ml (g)		1	
	1-10 ml (g)		3	
	> 10 ml (g)		5	
	Recikliranje		0	
	Degradacija		1	
	Pasivizacija		2	
	Bez tretmana		3	
<b>Zaključak</b>		<50	>50	>75
		neadekvatna zelena analiza	prihvatljiva zelena analiza	odlična zelena analiza

### 2.1.5.2. AGREE

AGREE je direktan i sveobuhvatan pristup ispitivanju zelenosti zasnovan na 12 GAC principa transformisanih u skalu od 0 do 1. Na AGREE skali, zelenost svakog principa je ocenjena od 0 do 1, gde 0 predstavlja najmanje zelenu metodu, dok 1 predstavlja najzeleniju opciju. Vrednosti na skali odgovaraju određenoj boji (nijansa se pomera od zelene do crvene, tj od 1 do 0), a rezultat zelenosti je jasno prikazan u sredini piktograma AGREE, dok boja vizuelno prikazuje rezultat zelene metode (Slika 2.5) (Pena-Pereira et al., 2020).



Slika 2.5. Primer AGREE piktograma.



Prema Principu 1 (P1), korak pripreme uzorka treba izbegavati korišćenjem direktnih analitičkih tehnika. Ova metoda omogućava neposredno merenje *in situ* i eliminiše potrebu za pripremom uzoraka, čime se obično smanjuje upotreba opasnih reagensa, rastvarača, kao i energije. Vreme i broj analitičkih faza potrebnih za analizu u velikoj meri se smanjuju direktnim merenjem. Ipak, direktna analiza nije uvek moguća zbog prirode analita, složenosti matrice uzorka i karakteristika analitičke tehnike koje zahtevaju veću osetljivost ili selektivnost.



U skladu sa Principom 2 (P2), minimalna količina uzorka dovodi do manje generisanja otpada, što je u skladu sa zelenom hemijom. Manji broj uzoraka može se dobiti korišćenjem neinvazivnih metoda terenskog ispitivanja, kao i korišćenjem statističkih proračuna za izbor mesta uzorkovanja. Pouzdani rezultati minijaturizovanih metoda mogu se dobiti čak i uz značajno smanjenje veličine uzorka. Međutim, previše mali broj uzoraka i mala količina uzorka mogu dovesti do nepouzdanih rezultata, što bi moglo ugroziti reprezentativnost uzorka.



Prema Principu 3 (P3), merenja treba vršiti *in situ*, a instrumenti treba da budu što bliže mestu uzorkovanja. Minijaturizovani analitički sistemi i prenosivi terenski instrumenti predstavljaju najbolje rešenje za zeleniju analizu. Na ovaj način se eliminišu skupi i dugotrajni transport, koji doprinosi zagađenju vazduha, i eliminiše se trošenje energije za skladištenje uzoraka. Priprema uzorka se svodi na minimum, potrošnja reagensa je minimizovana, a vreme između dve analize je kraće. Postoje četiri moguća načina uzorkovanja na osnovu udaljenosti između instrumenta i mesta uzorkovanja: *in-line*, *on-line*, *at-line* i *off-line* uzorkovanje.





Princip 4 (P4) odnosi se na integraciju analitičkih procesa. Smanjenje broja analitičkih koraka dovodi do uštede energije, smanjenja upotrebe reagensa i vremena. Broj pojedinačnih koraka u analitičkom postupku može se smanjiti integracijom, kao i obavljanjem nekih operacija simultano. Najzeleniji pristup uključuje tri ili manje koraka, dok veći broj koraka odstupa od zelenog pristupa.



Na osnovu Principa 5 (P5), automatizovane metode su u skladu sa zelenom hemijom jer smanjuju rizik od izloženosti parama rastvarača, čime se povećava sigurnost operatera, dok minijaturizovane metode troše manje energije i reagensa.



Derivatizacija se odnosi na Princip 6 (P6). Upotreba reagensa u procesu derivatizacije rezultira stvaranjem toksičnog otpada. U slučajevima kada je derivatizacija neophodna (radi poboljšanja odgovora analita), poželjno je koristiti ekološki prihvatljivije reagense.



Otpad i upravljanje otpadom pripadaju Principu 7 (P7). Mogući načini smanjenja otpada ogledaju se u smanjenju broja koraka u analitičkom postupku, kao i količine korišćenih rastvarača i reagensa. Pravilno upravljanje analitičkim otpadom uključuje reciklažu, degradaciju ili pasivizaciju kako bi se smanjila toksičnost.



Princip 8 (P8) odnosi se na mogućnost analize više analita i procene više parametara odjednom u poređenju sa metodama koje koriste jedan analit u isto vreme. Multianalitne ili multiparametarske metode značajno smanjuju vreme, količinu reagensa i rastvarača u poređenju sa metodama koje koriste jedan analit u isto vreme.



Prema Principu 9 (P9), glavni cilj je minimizirati količinu energije koja se koristi. Cilj je smanjiti svaki izvor energije (energija potrebna za pripremu uzorka, analitičko merenje, transport, skladištenje, očuvanje) na minimum.



U skladu sa Principom 10 (P10), prednost treba dati biološkim reagensima i reagensima dobijenim iz obnovljivih izvora. Upotreba hemikalija dobijenih iz obnovljivih izvora je veoma obećavajuća, tako da je upotreba bioloških hemikalija najzeleniji pristup.



Eliminacija ili zamena toksičnih reagensa odgovara Principu 11 (P11). Ovaj princip podrazumeva uklanjanje ili zamenu toksičnih reagensa zelenijim alternativama kad god je to moguće.

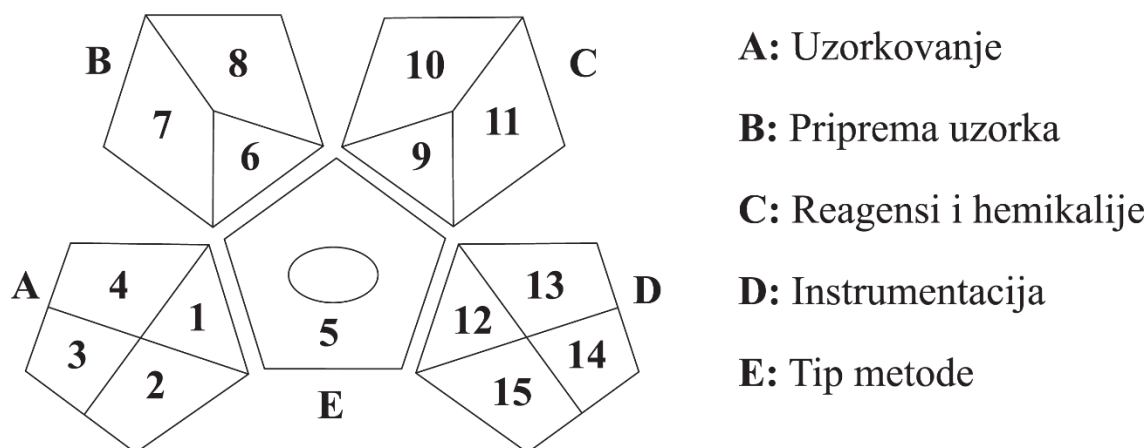




Bezbednost operatera uzima se u obzir u Principu 12 (P12). Operativne opasnosti (zvuk, inhalacija) treba, ako je moguće, ukloniti ili smanjiti na minimum. Pored toga, upotrebu toksičnih rastvarača, posebno u velikim količinama, treba strogo izbegavati. Bezbednost operatera može biti ugrožena toksičnim, zapaljivim, eksplozivnim reagensima. Automatizacija i minijaturizacija postupka imaju pozitivan uticaj na bezbednost operatera.

### 2.1.5.3. GAPI

GAPI razmatra reagense, proceduru i instrumentaciju, proučavajući na taj način ceo analitički postupak, od prikupljanja uzoraka do određivanja (Tadić et al., 2024a; Płotka-Wasyłka & Wojnowski, 2018). GAPI se sastoji od pet pentagrama, a svaki pentagram se sastoji od određenog broja polja, pri čemu se ispituju koraci pripreme uzoraka, procedure, reagensi i instrumentacija. Na osnovu toga kakav uticaj imaju na okruženje, svako od polja je označeno određenom bojom. Crvena boja označava opasan uticaj, dok zelena i žuta označavaju nizak i srednji uticaj. Takav prikaz je prikladan jer omogućava lako vizuelno poređenje nekoliko metoda, omogućavajući da se najslabije tačke u analitičkim procedurama lako uoče (Płotka-Wasyłka & Wojnowski, 2021; Sajid & Płotka-Wasyłka, 2022). Na Slici 2.6. je prikazan GAPI piktogram.



**Slika 2.6.** Primer GAPI piktograma.

Prvi pentagram se odnosi na uzorkovanje. Polja 1 i 2 se odnose na prikupljanje i čuvanje uzoraka. Polje 3 se odnosi na transport uzoraka, dok polje 4 označava skladištenje uzoraka. Tip ekstrakcije, ekološka prihvatljivost korišćenih reagenasa, kao i potreba za dodatnim tretmanima odnosi se na drugi pentagram i označeni su brojevima 5, 6, 7. Treći pentagram sumira broj rastvarača ili reagenasa, kao i njihove zdravstvene i bezbednosne rizike. Tri polja su označena brojevima 8, 9, 10 odnose se na zapreminu ili količinu rastvarača/reagensa, zdravstvene rizike i bezbednosne rizik, redom. Četvrti pentagram se sastoji od četiri polja koja se odnose na instrumentaciju: potrošnja energije, opasnost na radnom mestu, količina otpada i upravljanje otpadom i označena su brojevima 11, 12, 13 i 14. Peti pentagram ima samo jedno polje koje je povezano sa tipom analitičkog postupka i označeno brojem 15. Ovaj pentagram može biti sa ili bez kruga u zavisnosti od toga da li je metoda pogodna i za kvalitativnu i kvantitativnu analizu ili je samo kvantitativna analiza moguća. U Tabeli 2.2. je detaljnije opisano šta odgovara zelenoj, žutoj i crvenoj boji u datom pentagramu. Prednost GAPI-a je što su koraci analize sveobuhvatni i laki za razumevanje. Takođe, moguće je vizuelno identifikovati procese koje treba poboljšati u smislu ekološke prihvatljivosti. Međutim, GAPI ne uzima u obzir toksičnost hemikalija i reagenasa korišćenih pre pripreme uzoraka, niti njihov uticaj na životnu sredinu. Kriterijumi za količine korišćenih reagenasa i rastvarača, kao i za otpad koji nastaje na kraju procesa, nisu značajno diferencirani, tj. svaka količina veća od 10 ml (g) se tretira isto.

Tabela 2.2. Kriterijumi za određivanje zelenosti prema GAPI

Kriterijumi	Zeleno	Žuto	Crveno
<b>Priprema uzorka</b>			
<b>Prikupljanje uzoraka</b>	<i>In-line</i>	<i>On-line ili at-line</i>	<i>Off-line</i>
<b>Postupci čuvanja</b>	Nije potrebno	Hemijski ili fizički	Fizičko-hemijski
<b>Transport</b>	Nije potrebno	Potrebno	-
<b>Skladištenje</b>	Nije potrebno	Pri normalnim uslovima	Zahteva specijalne uslove
<b>Tip metode</b>	Nije potrebna priprema	Osnovne procedure (filtracija, dekantovanje)	Potrebna ekstrakcija
<b>Tip ekstrakcije</b>	Nanoekstrakcija	Mikroekstrakcija	Makroekstrakcija
<b>Korišćeni rastvarači/reagensi</b>	Metoda bez rastvarača	Zeleni rastvarači/reagensi	Ne-zeleni rastvarači/reagensi
<b>Dodatni tretmani</b>	Nije potrebno	Osnovni tretmani (uklanjanje rastvarača)	Napredni tretmani (derivatizacija, mineralizacija)
<b>Reagensi i rastvarači</b>			
<b>Količina</b>	<10 mL (<10 g)	10-100 mL (10-100 g)	>100 mL (>100 g)
<b>Opasnost po zdravlje</b>	Blago toksičan, blago nadražujuć; *NFPA ocena opasnosti po zdravlje = 0 ili 1.	Umereno toksičan; može izazvati privremenu nesposobnost; NFPA = 2 ili 3.	Ozbiljne povrede pri kratkotrajnom izlaganju; poznati ili sumnjivi kancerogen za male životinje; NFPA = 4.
<b>Bezbednost</b>	Ocena NFPA zapaljivosti ili nestabilnosti od 0 ili 1.	Ocena NFPA zapaljivosti ili nestabilnosti od 2 do 3.	Najviša ocena zapaljivosti ili nestabilnosti NFPA od 4.
<b>Instrumentacija</b>			
<b>Energija</b>	≤0.1 kWh po uzorku	≤1.5 kWh po uzorku	>1.5 kWh po uzorku
<b>Rizik tokom rada na instrumentu</b>	Hermetički zatvoren analitički proces	-	Emisija para gasova u atmosferu
<b>Otpad</b>	<1 mL (<1 g)	1-10 mL (1-10 g)	>10 mL (<10 g)
<b>Tretiranje otpada</b>	Reciklaža	Degradacija, pasivizacija	Bez tretmana
<b>Dodatne oznake: Kvantifikacija</b>			
Krug u sredini GAPI: Procedura pogodna za kvalifikaciju i kvantifikaciju		Nema kruga u sredini: Procedura pogodna samo za kvalifikaciju	

\*NFPA (eng. National Fire Protection Association) - Nacionalno udruženje za zaštitu od požara

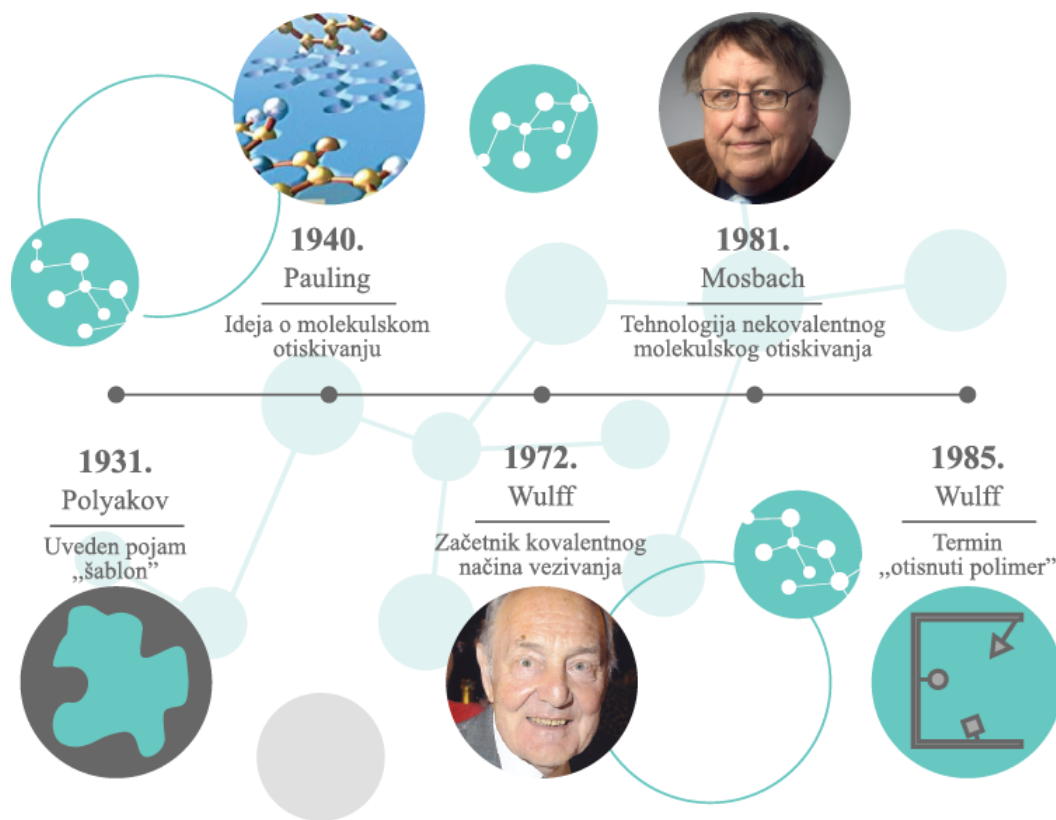
## 2.2. Molekulski otisnuti polimeri

Ograničena selektivnost kod kompleksih matrica, potreba za dodatnim prečišćavanjem složenih uzoraka, kao i stabilnost sorbenata kod DSPME metode mogu se značajno smanjiti izborom efikasnih, selektivnih i jeftinih sorbenata. Kako je tehnologija pripreme uzoraka napredovala, tako je i razvijen veliki broj novih materijala za uspješno odvajanje analita iz uzoraka (Chen et al., 2008; Augusto et al., 2010). Posljednjih godina, velika pažnja je usmerena na materijale koji pokazuju visoku selektivnost za određene grupe analita - molekulski otisnute polimere (*eng. Molecularly Imprinted Polymers*, MIP). Korišćenje ovakvih sorbenata može unaprediti stabilnost, selektivnost i ponovljivost metode, smanjujući tako potrebu za dodatnim prečišćavanjem i snižavajući ukupne troškove analize.

MIP su selektivni sorbenti za ekstrakciju ciljnog molekula (Gkika et al., 2024). Postupak otiskivanja vrši se dodavanjem šablona (ciljnog molekula) u umreženi polimer, nakon čega se šablon uklanja, ostavljajući šupljine i aktivna mesta vezivanja. Šablon može biti, ne samo ciljni molekul već i neki njegov fragment ili molekul koji je veličinom ili oblikom sličan ciljnom (tzv. lažni šablon) (Ansari, 2017; L'opez-Marzo & Merkoci, 2016). Stoga, MIP može vezati ne samo originalne, već i srodne molekule šablona. Ova vrsta polimera se dobija polimerizacijom funkcionalnih monomera i umreživača oko šablonskog molekula, što dovodi do visoko umreženog, trodimenzionalnog polimera. Kako propagacija polimernih lanaca napreduje, tako šablonski molekul ostaje zarobljen u trodimenzionalnoj polimernoj mreži (Esteban, 2013). Nakon ekstrakcije odgovarajućim rastvaračima, šablon se uklanja, ostavljajući mesta za selektivno prepoznavanje koja su komplementarna ciljnom molekulu (Fresco-Cala et al., 2020). Dobijeni MIP-ovi su stabilni, robusni i otporni na širok opseg rastvarača, pH i temperature, tako da njihovo ponašanje oponaša interakcije prirodnih receptora u cilju selektivnog zadržavanja ciljnog molekula (antitelo-antigen), bez ograničenja u pogledu stabilnosti, ekstremnih temperatura i pH vrednosti (Furtado et al., 2024). Takođe, sinteza MIP-ova je relativno laka i jeftina, što ih čini pogodnom alternativom prirodnim receptorima. Prednosti MIP-a ogledaju se u stabilnosti na ekstremnim temperaturama i pH vrednostima, dobrim mehaničkim svojstvima, robusnosti, fleksibilnosti, ekonomičnosti, visokoj selektivnosti, mogućnosti ponovne upotrebe i širokog spektra analita za prepoznavanje.

### 2.2.1. Razvoj MIP kroz istoriju

Prva pojava tehnologije molekulskog otiskivanja datira iz ranih 1930-ih. Poljakov (*Polyakov*) (1931) je objasnio efekte selektivnosti i uveo pojam šablona. Tokom 1940-ih, Pauling (*Pauling*) (1940) je prvi put izneo ideju o molekulskom otiskivanju, što je uključivalo samosastavljanje proteinskog antitela sa antigenom koji deluje kao šablon (Sajini & Mathew, 2021). Međutim, u narednim godinama nije postignut neki značajniji napredak. Tek 1972. godine Vulf (*Wulff*) i Sarhan (*Sarhan*) postavljaju temelje sadašnjeg molekulskog otiskivanja i proučavaju MIP-ove koji su pripremljeni kovalentnim načinom vezivanja funkcionalnog monomera i molekula šablona. U prvim radovima o sadašnjim MIP-ovima Vulf je koristio termin „enzimski analogno izgrađeni polimeri”, da bi u radu objavljenom 1985. koristio termin „otisnuti polimer”. Mosbah (*Mosbach*) i saradnici su 1981. godine uspješno pripremili MIP koristeći tehnologiju nekovalentnog molekulskog otiskivanja (Wulff, 2013). Na osnovu ovih pionirskih studija, tehnologija molekulskog otiskivanja je počela brzo da se razvija (Huang et al., 2015; Sajini & Mathew, 2021). Na Slici 2.7. prikazan je istorijski razvoj MIP-a.



Slika 2.7. Razvoj MIP kroz istoriju.

### 2.2.2. Opšte karakteristike MIP-a

Za sintezu MIP-a su neophodni: funkcionalni monomer, umreživač, inicijator polimerizacije, porogen i šablon. Količina i priroda ovih komponenti određuju svojstva polimera sa otisnutim molekulom. Opšti postupak sinteze i primene MIP-a sastoji se iz četiri koraka (Slika 2.8):

- **KORAK 1: PREDPOLIMERIZACIJA**

Spajanje funkcionalnog monomera i šablona kog želimo da detektujemo.

- **KORAK 2: POLIMERIZACIJA**

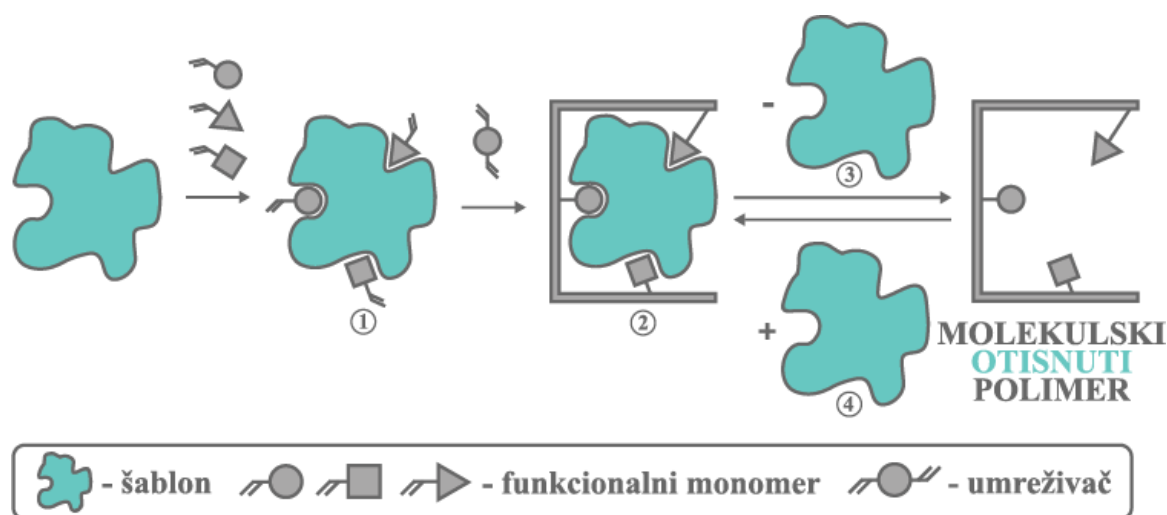
Polimerizacija u prisustvu šablona. Formira se umreženi polimer oko šablona, pomoću umreživača.

- **KORAK 3: UKLANJANJE ŠABLONA**

Šablon se ekstrahuje iz umreženog polimera i to je momenat kada se stvaraju šupljine veoma velikog afiniteta prema ciljnom molekulu. Uklanjanje šablona se postiže ispiranjem na Soksletu (*Soxhlet*) različitim rastvaračima (ekstrakcionim sredstvima)

- **KORAK 4: PONOVRNO VEZIVANJE**

U finalnom koraku polimer se ponovno izlaže originalnom ciljnom molekulu (šablonu) koji je ostavio otisak (Gkika et al., 2024).



Slika 2.8. Opšti postupak sinteze MIP-a.

Izbor funkcionalnog monomera je bitan u dizajnu MIP-ova jer su njegove usmerene interakcije sa šablonskim molekulima potrebne da bi se formirali molekulski otisci koji deluju kao mesta za selektivno prepoznavanje. Uloga funkcionalnog monomera ogleda se u formiranju kompleksa sa šablonom pre procesa polimerizacije. Zbog toga je jako važno izabrati odgovarajući funkcionalni monomer koji može snažno da interaguje sa šablonom (Chen et al., 2016). Komplementarnost funkcionalnih grupa šablona i monomera je osnova za izbor funkcionalnog monomera. Najčešće korišćeni funkcionalni monomeri su metakrilna kiselina, akrilamid, 2- ili 4-vinilpiridin. Kombinovanjem dva ili više funkcionalna monomera sa umreživačem često se dobijaju polimeri sa boljim svojstvima prepoznavanja u odnosu na odgovarajuće polimere dobijene kombinovanjem jednog funkcionalnog monomera i umreživača. Takođe, treba uzeti u obzir njegovu reaktivnost prema umreživaču u reakciji polimerizacije da bi se postigla odgovarajuća distribucija funkcionalnih grupa monomera unutar materijala i stepen umrežavanja koji obezbeđuje stabilnost polimerne mreže (Anene et al., 2020). Kako bi se formirao optimalni odnos funkcionalni monomer:šablon u koraku predpolimerizacije, urađeno je nekoliko teorijskih studija (Chianella et al., 2002; Karlsson et al., 2009). U tu svrhu korišćene su kompjuterske simulacije za procenu energije interakcije monomera i šablona.

Uloga umreživača ogleda se u stabilizaciji otisnutog mesta vezivanja i mehaničkoj stabilnosti umreženog polimera. U procesu polimerizacije, umreživač se koristi za „fiksiranje“ funkcionalnih monomera oko šablona, čime se formira visoko umreženi kruti polimer, čak i nakon uklanjanja šablona. Vrsta i količina umreživača ima uticaj na selektivnost i kapacitet vezivanja MIP-ova (Yan et al., 2006). Obično mali udeo umreživača dovodi do nestabilnih mehaničkih svojstava, dok sa druge strane velika količina umreživača može dovesti do smanjenog broja dostupnih mesta za prepoznavanje. Neki od najčešće korišćenih umreživača u sintezi MIP-ova su etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) i divinilbenzen.

Šablonski molekul bi trebalo da zadovolji nekoliko zahteva: da sadrži funkcionalne grupe koje mogu formirati kompleks sa funkcionalnim monomerom, da pokaže dobru hemijsku stabilnost tokom reakcije polimerizacije i da sadrži funkcionalne grupe koje ne sprečavaju polimerizaciju (Chen et al., 2011). Do sada su MIP-ovi uspešno primenjeni za prepoznavanje i detekciju širokog spektra šablona. Pored molekulskih šablona, šabloni mogu biti i različite vrste jona (ova vrsta polimera se naziva jon otisnuti polimeri (*eng. Ion imprinted polymers, IIP*)) i najčešće se koriste za selektivno prepoznavanje jona metala (Kusumkar et al., 2021). Dakle, MIP-ovi mogu prepoznati jone, male molekule, ali i proteine i duge biomakromolekule, kao i cele ćelije.

Većina MIP-ova se dobija polimerizacijom preko slobodnih radikala, fotopolimerizacijom i elektropolimerizacijom. Polimerizacija preko slobodnih radikala može biti inicirana ili termički ili fotohemijski za širok opseg funkcionalnih monomera i šablonskih molekula. Azo jedinjenja se

intenzivno koriste kao inicijatori, a najčešće 2,2'-azobisisobutironitril (AIBN). Reakcija polimerizacije se izvodi u prisustvu inertnog gasa poput azota ili argona. Izbor inicijatora zavisi od vrste šablona, pa tako ako bi šablon bio fotohemijski ili termički nestabilan tada inicijatori koji mogu fotohemijski ili termički započeti reakciju nisu pogodni. Takođe, tamo gde se kompleksiranje pokreće vodoničnom vezom poželjne su niže temperature polimerizacije, što je pogodno za korišćenje fotohemijski aktivnih inicijatora koji mogu efikasno da iniciraju polimerizaciju na niskim temperaturama (Cormack & Elorza, 2004).

Porogeni rastvarači deluju kao disperzioni medijum i agensi za formiranje pora u procesu polimerizacije. Najčešći rastvarači koji se koriste za MIP sintezu su 2-metoksietanol, metanol, tetrahidrofuran, acetonitril, dihloretan, hloroform i toluen (Chen et al., 2016). Polarnost porogena može uticati na interakciju između šablonskog molekula i funkcionalnog monomera, a samim tim i svojstva adsorpcije MIP-a, posebno prilikom nekovalentnih interakcija. Napolarni i manje polarni organski rastvarači, kao što su toluen, acetonitril i hloroform, često se koriste za nekovalentno otiskivanje (npr. toluen stabilizuje vodonične veze i pogodan je rastvarač kod nekovalentnih interakcija).

### 2.2.2.1. *Glicidil-metakrilat u sintezi MIP-a*

Glicidil-metakrilat (GMA) je monomer čija se upotreba u sintezi MIP-a zasniva na njegovim specifičnim hemijskim svojstvima. Ovaj monomer je izuzetno reaktivan, što omogućava formiranje jakih veza unutar polimernih mreža čime doprinosi stabilnosti MIP-a. Takođe, GMA je kompatibilan sa različitim monomerima što olakšava njegovu primenu u različitim sintetičkim procesima. Specifične funkcionalne grupe u GMA mogu da uspostave selektivnu interakciju sa molekulima šablona, što omogućava visoku efikasnost i selektivnost MIP u ekstrakciji ciljnih analita iz kompleksnih uzoraka. Karakteristika koja ih čini posebno atraktivnim je reaktivna epoksidna grupa koja se može transformisati u različite funkcionalne grupe reakcijom otvaranja prstena sa odgovarajućim nukleofilnim ili elektrofilnim reagensima (poput keto, amino ili karboksilnih grupa), što omogućava njihovu raznovrsnu primenu (Ekmešić et al., 2019; Nastasović et al., 2022; Tadić et al., 2023a). Posebno su atraktivni makroporozni kopolimeri bazirani na GMA modifikovani aminima, zbog razvijene specifične površine i velikog broja reaktivnih funkcionalnih grupa (Marković, 2019). Ova svojstva čine GMA pogodnim izborom za razvoj novih sorbenata koji se koriste u analitičkoj hemiji i drugim aplikacijama, gde je potrebna precizna separacija i prečišćavanje supstanci.

U velikom broju radova, GMA se koristi kao hidrofilni komonomer za pripremu hidrofилnih MIP-ova (Jing et al., 2014). Li i saradnici su ispitali razvoj MIP-ova sa magnetnim svojstvima i poroznom strukturom za specifičnu ekstrakciju protokatehuinske kiseline. U ovom postupku, MIP je sintetisan koristeći protokatehuinsku kiselinu kao šablon, 4-vinilpiridin kao funkcionalni monomer, a GMA kao komonomer. Kako bi se napravio MIP na bazi magnetita epoksidni prsten GMA otvoren je perhlornom kiselinom da bi se nanočestice magnetita hemijski vezale za MIP jednostavnim procesom koprecipitacije. Ovaj pristup kombinuje prednosti molekuskog otiskivanja, magnetnih svojstava i porozne strukture u cilju efikasne i selektivne ekstrakcije protokatehuinske kiseline (Li et al., 2015). Takođe, još jedna grupa autora je koristila GMA kao hidrofilni komonomer u sintezi MIP-a gde je kao šablon korišćen kofein, metakrilna kiselina kao funkcionalni monomer, a divinil benzen kao umreživač. Nakon preliminarne karakterizacije konvencionalnog MIP-a pripremljenog bez GMA, različite količine GMA su uključene u predpolimerizacione smeše, a različiti uslovi reakcije su testirani za otvaranje epoksidnog prstena GMA. U ovu svrhu korišćena je perhlorna kiselina, amonijak, mlečna kiselina, glicin i trietilenglikol. Efikasnost otiskivanja svih dobijenih materijala ocenjena je eksperimentima vezivanja koristeći kofein i njegov analog teofilin, kako u organskim, tako i u vodenim medijumima (Parisi et al., 2010).

Primena GMA kao nosača u sintezi MIP-ova opisana je u literaturi (Wang et al., 2014; Silvestro et al., 2022). Veliki potencijal za detekciju bisfenola A pokazao je MIP sintetisan

radikalnom polimerizacijom uz transfer atoma koristeći poli(GMA-co-EGDMA) kao nosač, bisfenol A kao šablon, 4-vinilpiridin kao monomer, i EGDMA kao umreživač. Analiza realnih uzoraka pokazala je odličnu selektivnost za bisfenol A, sa linearnim opsegom koji pokazuje efikasnost od 93,4 %–99,7 % (Wang et al., 2023). Vei (*Wei*) i saradnici su uspešno primenili željenu selektivnost MIP i visoku osetljivost fluorescentne spektroskopije za specifično prepoznavanje i osetljivo detektovanje glikoproteina iz bioloških uzoraka. U ovoj studiji, novi fluorescentni MIP-ovi (FMIP) su pripremljeni uvođenjem fluorescentne boronske kiseline bazirane na hinolinu na površinu PGMA/EDMA sfera, a zatim je metodom površinskog otiskivanja sintetisan MIP (Wei et al., 2017). Takođe, Vang (*Wang*) i saradnici su razvili novu strategiju za detekciju enrofloksacina u prehrambenim uzorcima metodom površinskog otiskivanja na poli(GMA-co-EGDMA) nosaču. Monodisperzne makroporozne umrežene poli(GMA-co-EGDMA) mikrosfere korišćene su kao nosač, jer pružaju bolju otpornost na kiseline i baze i imaju veliki broj aktivnih grupa na svojoj površini, što ih čini idealnim nosačima za MIP. Kao šablon korišćen je enrofloksacin, kao funkcionalni monomer metakrilna kiselina (MAA), a kao umreživač etilen glikol diglicidil etar (EDGE). Površinskim otiskivanjem na ovakvom polimernom nosaču nastao je P<sub>GMA-EDMA</sub>@MIPs. Dakle, uvođenje mikrosfera na bazi GMA značajno je povećalo površinu adsorpcije sintetisanog MIP, kao i kapacitet adsorpcije ciljnih molekula (Wang et al., 2019). U studiji Hu (*Hu*) i saradnika metodom površinskog otiskivanja pripremljen je MIP za odvajanje i uklanjanje antibiotika norfloksacina iz vodenog rastvora. U prvom koraku, taložnom polimerizacijom stirena i anhidrida maleinske kiseline sa divinil benzenom kao umreživačem sintetisan je polimer PMS koji je naknadno funkcionalizovan sa GMA (PMS-GMA). Nakon toga, kopolimerizacijom MAA i EGDMA u prisustvu norfloksacina kao šablona i PMS-GMA kao nosača dobijen je PMS@MIPs (Hu et al., 2022). Takođe, u literaturi je opisana sinteza MIP-a metodom površinskog otiskivanja korišćenjem metal-organske umrežene strukture (*eng. Metal Organic Framework, MOF*), NH<sub>2</sub>-MIL-53, kao nosača i naringenina kao alternativnog šablona za ohratoksin A (OTA). Amino grupe na površini nosača NH<sub>2</sub>-MIL-53 reagovala su sa epoksidnim grupama u GMA. Nakon toga, dvostruke veze GMA na površini materijala korišćene su za polimerizaciju kako bi se pripremili MIP-ovi (Zhang et al., 2022).

GMA se pokazao efikasnim i u pripremi MIP kao prevlake za senzore. Rad Aleksandera (*Alexander*) i saradnika prikazuje razvoj ekonomičnog senzorskog materijala pripremljenog od MIP-a baziranog na modifikovanom grafen-oksidu (GO-MIP). Nakon funkcionalizacije grafen-oksida kiselinom, zbog uvođenja potrebnih funkcionalnih grupa površina se modifikuje sa GMA u prisustvu *N,N'*-dicikloheksilkarbodiimida, dimetilaminopiridina i dimetil sulfoksida. Tako dobijeni materijal prolazi kroz proces molekuskog otiskivanja sa metakrilnom kiselinom kao monomerom i EGDMA kao umreživačem i holesterolom kao molekulom šablona. Dobijeni MIP se koristi kao aktivni materijal za senzore holesterola (Alexander et al., 2016).

### 2.2.3. Načini vezivanja šablona i funkcionalnog monomera

U literaturi se javljaju tri načina vezivanja šablona i monomera (Ndunda, 2020; Fresco-Cala et al., 2020):

- kovalentni,
- nekovalentni
- polukovalentni.

Vulf i Sarhan su uveli kovalentni pristup koji podrazumeva formiranje reverzibilnih kovalentnih veza između funkcionalnih monomera i šablonskih molekula u koraku predpolimerizacije. Dalje, šablon se uklanja iz polimera cepanjem odgovarajućih kovalentnih veza kiselom ili baznom hidrolizom nakon čega je polimer spreman da ponovo veže šablon preko kovalentnih veza (Wulff et al., 1973). Zbog jake kovalentne veze, polimer ima veću stabilnost i formiraju se preciznija mesta vezivanja (Dong et al., 2021). Visoka stabilnost interakcije šablon-



monomer dovodi do prilično homogene distribucije mesta za vezivanje, minimizirajući pojavu nespecifičnih mesta. Međutim, ono što ovaj pristup čini prilično otežanim/restriktivnim jeste teškoća u dizajniranju odgovarajućeg kompleksa šablon-monomer u kojem su formiranje i cepanje kovalentne veze lako reverzibilni pod blagim uslovima. Zbog jake kovalentne veze šablon se teže uklanja, a u nekim slučajevima, kako bi se šablon uspešno uklonio potrebno je podesiti pH (Wang et al., 2014). Kod ove vrste pristupa koristi se ograničen broj funkcionalnih monomera sa sposobnošću kovalentnog vezivanja sa molekulom šablona (npr., boron estri i Šifove baze (Chen et al., 2011)). Ovaj pristup obezbeđuje MIP-ove sa homogenom distribucijom mesta vezivanja, visokom selektivnošću, i eliminiše nespecifična mesta vezivanja (Hashim et al., 2014). Glavni nedostatak kovalentnih MIP-ova je potreba za odgovarajućim kompleksom monomer-šablon koji bi mogao da formira lako reverzibilne kovalentne veze sa geometrijom i hemijom pogodnom za preuzimanje analita iz vodenih sistema. Iz tog razloga, kovalentne strategije se retko koriste u analizi zagađujućih materija u vodenim rastvorima (Azizi & Bottaro, 2020).

Pristup nekovalentnog otiskivanja koji su uveli Mosbah i saradnici zasniva se na interakcijama šablona sa funkcionalnim monomerom, rastvorenim u odgovarajućem rastvaraču, tokom koraka polimerizacije kroz slabe sile, tj. Van der Valsove sile, vodonične veze ili  $\pi$ - $\pi$  interakcije, što dovodi do lakog uklanjanja šablona (Mosbach & Ramström, 1996; Chen et al., 2011). Polimerizacija se zatim pokreće u prisustvu umreživača, nakon čega sledi uklanjanje šablona odgovarajućim rastvaračem pri čemu ostaju šupljine za koje se šablon može ponovo vezati kroz nekovalentne interakcije (Ndunda, 2020). Vezivanje i uklanjanje šablona iz MIP-ova je prilično brzo u blagim uslovima i nisu potrebne komplikovane hemijske reakcije. Međutim, jačina veza nekovalentnim interakcijama nije tako dobra kao kod kovalentnih veza, zbog čega se može desiti da obris otiska nije dovoljno jasan, što dovodi do nastajanja nespecifičnih mesta vezivanja. Dakle, uslove u procesu polimerizacije treba pažljivo odabrati (Dong et al., 2021). Nekovalentne interakcije između funkcionalnog monomera i šablona su najfleksibilnije u pogledu izbora mogućih šablonskih molekula i funkcionalnih monomera (Turiel & Martín-Esteban, 2010). Kod nekovalentnog otiskivanja može se primeniti širok izbor funkcionalnih monomera, uključujući kisele, bazne i neutralne monomere (npr. akrilamid, aminostiren, metakrilna i akrilna kiselina (Schirhagl, 2014; Ju et al., 1999; Zhou et al., 1999)).

Da bi se prevazišla ograničenja kovalentnog i nekovalentnog pristupa, osmišljen je polukovalentni pristup. Ovaj pristup uključuje kovalentno vezivanje modifikovanog šablona i funkcionalnog monomera tokom pripreme MIP-a čime se povećava selektivnost i naknadne nekovalentne interakcije tokom ponovnog vezivanja šablona. Nekovalentne interakcije prevazilaze teško uklanjanje šablona koje je jedno od ograničenja kovalentnog pristupa (Wang et al., 2019) Dakle, polukovalentno otiskivanje kombinuje prednosti kovalentnog i nekovalentnog pristupa (Qi et al., 2010). Polukovalentni pristup ima, ne samo prednosti visokog afiniteta i specifičnosti kao kod kovalentnog pristupa, već i mogućnost otiskivanja pri blagim uslovima, brzo vezivanje i brzinu oslobađanja kao kod nekovalentnog pristupa (Chen et al., 2011).

#### 2.2.4. Načini pripreme MIP-ova

Tokom godina, proučavani su različiti načini polimerizacije MIP-a. Među njima su najčešće korišćene metode koje se koriste za polimerizacije preko slobodnih radikala: polimerizacija u masi, suspenziona, emulziona ili taložna polimerizacija.

Zbog svoje jednostavnosti, polimerizacija u masi je najpogodniji način za pripremu MIP-ova (Ashley et al., 2017; Herrera et al., 2021). Ovaj način polimerizacije obično uključuje molekul šablona, funkcionalni monomer, umreživač i inicijatora koji je rastvoran u funkcionalnom monomeru. Nakon toga, polimerizacija se izvodi u kalupima željenog oblika, koji se uz uvođenje azota zatvaraju (Jovanović et al., 2005). Oblik kalupa se prilagođava primeni. Nakon toga se termičkom ili fotoinicijacijom formiraju krupni monoliti, koji se zatim smanjuju mlevenjem i prosejavanjem da bi se dobile čestice odgovarajuće veličine. Međutim, procesom mlevenja stvara se



nepravilna morfologija, što može rezultirati značajnim varijacijama u veličini i obliku. Takođe, mlevenjem su neka mesta vezivanja uništena i teško dostupna, čime se smanjuje efikasnost ekstrakcije, selektivnost i reproduktivnost (Zhang et al., 2017). Navedeni nedostaci ograničavaju primenu i razvoj polimerizacije u masi.

Suspenziona polimerizacija MIP-ova uključuje mešanje monomera sa molekulom šablona, koji se koristi za formiranje specifičnih vezujućih mesta u polimeru. Ova smeša se disperguje u tečnost koja nije mešljiva sa monomerima, obično vodu, formirajući kapljice monomera (Adumitrăchioaie & Pharmacy, 2018). Zatim se dodaje inicijator, koji je rastvorljiv samo u monomeru i pri povišenoj temperaturi započinje radikalnu polimerizaciju unutar kapljica. U svakoj kapi monomera raspadom inicijatora nastaju radikali, koji započinju reakciju polimerizacije, a svaka kap monomera predstavlja poseban reaktor u kome se proces polimerizacije odvija. Mešanjem monomer se disperguje u vodenoj fazi u kapi, koje usled uticaja površinskog napona dobijaju sferni oblik (Nastasović, 2004). Kako polimerizacija napreduje, kapljice se transformišu u čvrste polimerne čestice koje sadrže molekul šablona. Nakon završetka polimerizacije, molekul šablona se uklanja ispiranjem, ostavljajući specifične šupljine koje omogućavaju polimeru da selektivno prepozna i veže taj molekul. Ovaj proces omogućava stvaranje polimera sa visokom specifičnošću i selektivnošću, sa mogućnošću kontrolisanja veličine čestica i poroznosti (Tarley et al., 2005). Zbog velike kontaktne površine sferne čestice dobijene suspenzionom polimerizacijom koriste se kao punioci kolona u hromatografiji.

Emulziona polimerizacija je polimerizacija monomera emulgovanih u vodi u prisustvu tenzida, niskomolekulskih površinski aktivnih supstanci koje se koriste za stabilizaciju emulzije i inicijatora koji su rastvorni u vodi. U ovom postupku, monomeri i molekul šablona se mešaju u organskoj fazi, zatim se emulguju u vodenoj fazi uz pomoć emulgatora, formirajući male kapljice monomera. U vodi rastvorni inicijatori, kao što su persulfati, dodaju se kako bi započeli radikalnu polimerizaciju unutar kapljica na povišenoj temperaturi. Nakon polimerizacije, molekul šablona se uklanja, ostavljajući specifične šupljine unutar polimera (Liang et al., 2017). Emulziona i suspenziona polimerizacija se razlikuju po medijumu i stabilizatorima kao i po tome u kojoj fazi (organskoj ili vodenoj) se nalazi inicijator. Emulziona polimerizacija koristi vodenu fazu sa emulgatorima za stabilizaciju i inicijatore rastvorljive u vodi, dok suspenziona polimerizacija koristi vodenu fazu sa stabilizatorima, dok su inicijatori rastvorljivi u monomeru.

Taložna polimerizacija se vrši korišćenjem rastvarača kojim se taloži polimer. Polimer nastao taložnom polimerizacijom je nerastvoran i delimično rastvoran u reakcionoj smeši i izdvaja se kao nova faza kada se dostigne određeni kritični stepen konverzije (Jovanović & Đonlagić, 2004). Metoda taložne polimerizacije uključuje rastvaranje molekula šablona, funkcionalnog monomera, umreživača i inicijatora u određenom rastvaraču. Veličina polimernih čestica formiranih ovom metodom molekulski otisnutih polimera je uniformna i mala. Izbor funkcionalnog monomera, rastvarača i odnosa reaktanata značajno utiče na prinos polimera i veličinu čestica. Metoda taložne polimerizacije ne zahteva dodavanje stabilizatora u reakcioni sistem (Pardeshi & Singh, 2016). Ova metoda se odlikuje jednostavnim procesom, uštedom vremena i visokim prinosom.

#### **2.2.4.1. Površinsko otiskivanje**

MIP-ovi su prvobitno pripremani polimerizacijom u masi, međutim dobijeni polimeri nisu bili homogeni i efikasnost otiskivanja nije bila visoka. Nakon toga, karakteristike sintetisanih MIP-ova su poboljšane drugim načinima pripreme (suspensionom, emulzionom, taložnom polimerizacijom), ali i ovi načini pokazuju neizbežne nedostatke kao što je nizak kapacitet vezivanja, nepravilni oblik, neujednačena raspodela vezivnih mesta, duboko ugrađivanje, pa samim tim i nepotpuno uklanjanje molekula šablona (Zhang et al., 2022). Nedavno je tehnika površinskog molekulskog otiskivanja izazvala veliku pažnju i našla je primenu u mnogim oblastima, zahvaljujući željenoj selektivnosti, brzom prenosu mase i kinetici vezivanja. Na ovaj način su prevaziđeni nedostaci tradicionalnog molekulskog otiskivanja (Dong et al., 2021). Osnovni princip površinskog otiskivanja je oslanjanje

na razne nove materijale kao nosače i sinteza otisnutog polimernog sloja na njihovoj površini, čime su mesta prepoznavanja raspoređena na površini čvrstih nosača i omogućeno je potpuno uklanjanje šablona i odličan pristup ciljnim molekulima. Poslednjih godina, istraživanje površinskog otiskivanja je postiglo veliki napredak, posebno kod otiskivanja malih molekula.

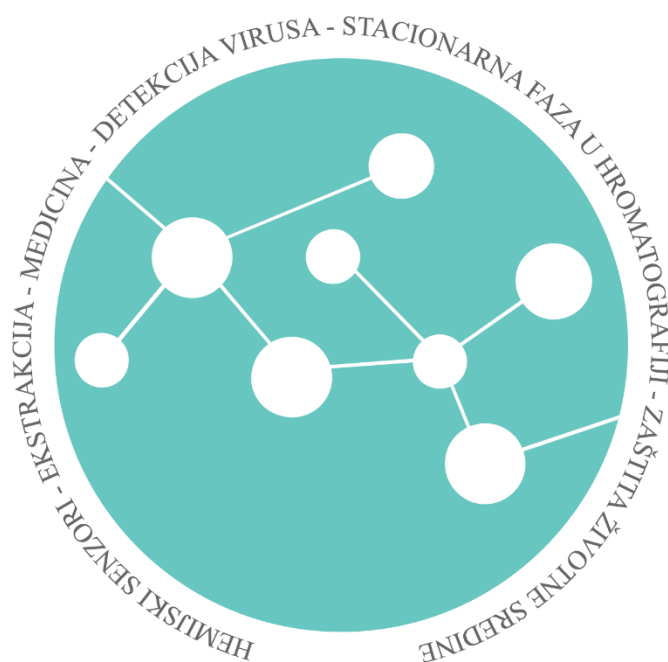
### 2.2.5. Primena MIP-ova

MIP-ovi nalaze široku primenu u različitim oblastima zbog sposobnosti specifičnog prepoznavanja i vezivanja ciljnih molekula (Slika 2.9). U analitičkoj hemiji, koriste se kao prevlake za različite vrste senzora ili kao stacionarna faza u hromatografiji, omogućavajući detekciju i separaciju specifičnih supstanci (Lakshmi et al., 2009; Mujahid et al., 2010). Priprema uzoraka se i dalje smatra uskim grlom celog analitičkog procesa. U tom smislu, poboljšanje selektivnosti tokom ekstrakcije i/ili naknadnog čišćenja ekstrakta uzoraka je oblast intenzivne istraživačke aktivnosti. Jedna od najsvestranijih, obećavajućih opcija je uključivanje MIP-ova u pripremu uzoraka. MIP su prilagođeni, stabilni polimeri sa sposobnošću molekulskog prepoznavanja, stoga su odlični materijali za obezbeđivanje selektivnosti u pripremi uzoraka (Esteban, 2013). Poslednjih godina uočen je porast zaraznih bolesti koje imaju veliki uticaj na zdravlje ljudi, životinja i biljaka. Veliki broj virusa karakteriše visoka stopa mutacije i promena antigenog epitopa na površinskom proteinu može dovesti do pojave novih varijanti virusa, tako izazivajući ponovnu infekciju. Zbog toga se javlja potreba za razvojem tehnologija koje bi išle u korak sa promenama koje se mogu pojaviti u budućnosti (Malik et al., 2017). Na tržištu je dostupno nekoliko tehnika za otkrivanje interakcija antigen-antitelo i/ili receptor-ligand. Pored brojnih prednosti, takvi biomolekuli pokazuju nedostatke u pogledu stabilnosti i ponovne upotrebe. Javlja se potreba za sensorima koji su sposobni za brzo otkrivanje i tačnu identifikaciju širokog spektra patogena. Iz tog razloga tehnologija molekulskog otiskivanja predstavlja adekvatnu alternativu antitelima (Gast et al., 2019). Ključna komponenta ovih senzora je receptor (MIP) koji omogućava selektivnost i prepoznavanje analita od interesa (Tadić et al., 2021). Zahvaljujući jeftinom postupku sinteze, jednostavnosti i stabilnosti, hemijski senzori na bazi MIP-a predstavljaju veliki potencijal. Robusnost i mogućnost ponovne upotrebe MIP-ova olakšavaju brzu izradu selektivnih receptora koji se efikasno prilagođavaju novim virusnim infekcijama. Ideja o senzoru na bazi molekulski otisnutih polimera kao potencijalnom načinu detekcije korona virusa prvi put se javlja u radu Nandi (*Nandy*) i saradnika (Nandy & Bandyopadhyay, 2020). Nakon toga, veliki broj naučnika izveštava o različitim vrstama senzora koji kao prevlake koriste MIP-ove za detekciju SARS-CoV-2 koronavirus (Raziq et al., 2021; Bajaj et al., 2022; El Sharif et al., 2022), pa je tako 2022. godine razvijen elektrohemijski senzor koji je kompatibilan sa prenosivim potenciostatima, čime se omogućavaju merenja na licu mesta, a samim tim i brza i rana dijagnozu pacijenata sa COVID-19 (Ayankojo et al., 2022).

U literaturi se može naći veliki broj radova na temu detekcije i prečišćavanja različitih supstanci pomoću MIP-ova (Bouvarel et al., 2021; Jahanban-Esfahlan et al., 2020). Hroboňová (*Hroboňová*) i Lomenova (*Lomenova*) su MIP na bazi metakrilne kiseline i akrilamida koristili kao stacionarnu fazu za razdvajanje enantiomera fenilalanina (Hroboňová & Lomenova, 2018). U medicini, MIP-ovi su pronašli primenu u kontrolisanom otpuštanju lekova i detekciji biomarkera (Liu & Poma, 2021; Alvarez-Lorenzo & Concheiro, 2004; Sellergren & Allender, 2005). U tom pogledu, MIP-ovi, kao sintetički receptori visokog afiniteta i selektivnosti koji prepoznaju ciljne molekule, su intenzivno istraženi kao jedan od najatraktivnijih biomaterijala za terapijske svrhe. Kang (*Kang*) i saradnici u nedavno objavljenom radu opisuju različite strategije sinteze MIP-ova i njihov napredak u dijagnostici raka (Kang et al., 2023). Zbog njihove svestranosti MIP-ovi se široko koriste u i oblasti forenzičkih nauka, kako u forenzici životne sredine tako i u forenzičkoj toksikologiji. Ferreira i saradnici su ispitivali primenu MIP-ova kao selektivnih sorbenata u forenzici za pripremi bioloških uzoraka, naglašavajući potrebu za prethodnom obradom kako bi se eliminisali ometajući agensi i poboljšali rezultati analiza stimulativnih droga kao što su kokain, amfetamini i

nikotin (Ferreira et al., 2021). Takođe, grupa naučnika se bavila primenom MIP-ova u otkrivanju nedozvoljenih aditiva u hrani, doping supstanci u sportu i različitih vrsta narkotika koje izazivaju zavisnost (Xiao et al., 2018).

Ova vrsta polimera ima veliki značaj u zaštiti životne sredine, gde se koristi za detekciju i uklanjanje zagađujućih materija iz vode, vazduha i zemljišta (Azizi & Bottaro, 2020; Zarejousheghani et al., 2021; Metwally et al., 2021; Farooq et al., 2022). U prehrambenoj industriji, omogućavaju kontrolu kvaliteta hrane i detekciju ostataka kontaminanata i aditiva u prehrambenim proizvodima, dok u farmaceutskoj industriji olakšavaju izolaciju i prečišćavanje aktivnih supstanci (Villa et al., 2021). MIP-ovi su stabilni u širokom opsegu pH i temperature u poređenju sa enzimima koji nisu stabilni i otporni na ekstremne temperature i pH vrednosti (Gao et al., 2020). Tako su MIP-ovi našli primenu kao katalizatori, povećavajući selektivnost i efikasnost hemijskih reakcija (Wulff, 2002; Strikovskiy et al., 2003). Zbog raznolikosti hemijskih zagađujućih materija i prisustva elemenata od značaja u jako niskim koncentracijama, poslednju deceniju uloženi su mnogi napor u oblasti istraživanja MIP-a kako bi se poboljšala tačnost i osetljivost analitičkih tehnika (Jahanban-Esfahlan et al., 2020; Chiou et al., 2015). MIP-ovi pokazuju visok kapacitet vezivanja ciljnih molekula, pa njihova selektivnost povećava osetljivost i ponovljivost analize, omogućavajući precizno kvantifikovanje i identifikaciju specifičnih komponenti u složenim matricama. U cilju prečišćavanja i pretkoncentracije uzoraka mogu se primeniti kao selektivna čvrsta faza u različitim vrstama ekstrakcija (Arabi et al., 2020; Song et al., 2009; Azizi & Bottaro, 2020). Predtretman uzoraka je od suštinskog značaja za analizu realnih uzoraka zbog njihove složene matrice i niske koncentracije analita. Među svim metodama prethodnog tretmana uzoraka, ekstrakcija na čvrstoj fazi je verovatno najčešće korišćena. Međutim, većina dostupnih adsorbenata za ekstrakciju na čvrstoj fazi pati od ograničene selektivnosti. Korišćenje MIP-ova umesto konvencionalnih adsorbenasa može u velikoj meri poboljšati selektivnost ekstrakcije čvrste faze, i stoga je ekstrakcija na MIP kao čvrstoj fazi široko primenjena za odvajanje, čišćenje i/ili prethodno koncentrisanje ciljnih analita u različitim vrstama realnih uzoraka (Hu et al., 2021). Sve ove primene čine MIP-ove veoma značajnim u različitim oblastima nauke i industrije, obezbeđujući efikasna rešenja za selektivno prepoznavanje i vezivanje specifičnih molekula. Zbog svoje hemijske i termičke stabilnosti, MIP-ovi se koriste i u ekstremnim uslovima, što ih čini idealnim za mnoge inovativne aplikacije (Villa et al., 2021).



Slika 2.9. Primena MIP-ova.

### 2.2.5.1. MIP-ovi na bazi magnetita

Inovativan pristup u sintezi MIP-ova uključuje ugradnju nanočestica u njihovu strukturu. Kombinacija polimera i nanočestica rezultira hibridnim materijalima sa poboljšanim svojstvima (Guć & Schroeder, 2019). Nanočestice se koriste kao podrška za matricu MIP-a, omogućavajući prevazilaženje nekih nedostataka tradicionalnih MIP-ova, kao što su nehomogena morfologija i spori prenos mase (Liu et al., 2020). Ovi hibridni sistemi, koji kombinuju specifičnost molekuskog otiska sa magnetnim svojstvima, nude širok spektar primene. Pored toga što selektivno prepoznaju i vežu ciljane molekule, magnetna svojstva MIP-ovima omogućavaju jednostavno i efikasno razdvajanje iz smeša (što je posebno korisno u kompleksnim matricama) pomoću spoljašnjeg magnetnog polja, čime se dodatno povećava njihova primenljivost i efikasnost i zamenjuju dugotrajni koraci centrifugiranja i filtracije (Dinc et al., 2019; Fresco-Cala et al., 2020; Kong et al., 2018). Ovaj trend naglašava rastući interes za naprednim materijalima koji mogu doprineti razvoju inovativnih rešenja za savremene naučne i industrijske izazove. Magnetne nanočestice se obično sastoje od magnetnog jezgra ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), zaštitnog sloja (tetraetil ortosilikat, TEOS) i, u nekim slučajevima, površinski aktivnih modifikatora ((3-aminopropil)trietoksisilan, APTES, 3-metakriloksiopropiltrimetoksisilan, MPS) (Roto, 2018; Suručić, 2019; Tadić et al., 2023a). Sintaza magnetnih MIP-ova obično se sastoji od nekoliko ključnih koraka: sinteze magnetnog jezgra, modifikacije površine nanočestice magnetita, polimerizacije MIP-a u prisustvu modifikovanih nanočestica magnetita (Urraca et al., 2016). Magnetit je jedan od najčešće korišćenih magnetnih materijala zbog niske toksičnosti, jednostavnosti pripreme i biokompatibilnosti. Čestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  se lako spaja zahvaljujući Van der Vaalsovom silama i međusobnoj magnetnoj privlačnosti pa su mu termodinamička svojstva izuzetno nestabilna i sklon je aglomeraciji i oksidaciji. Stoga je od velike važnosti postojanje zaštitnih slojeva kojima će se oblagati površinu nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  radi poboljšanja njihove stabilnosti (Liu et al., 2020; Suručić et al., 2021). Magnetne nanočestice se modifikuju kako bi se poboljšala njihova interakcija sa monomerima. Površinska modifikacija čestice magnetita može poboljšati termodinamičku stabilnost i disperziju, smanjiti aglomeraciju među česticama, promeniti fizička i hemijska svojstva njegove površine i promeniti njegovu kompatibilnost sa ostalim komponentama u sistemu. Različite vrste silana su najčešće korišćena neorganski jedinjenja za modifikovanje i zaštitu površine (Zhou et al., 2020), jer obezbeđuju mnogo funkcionalnih grupa koje se lako mogu pretvoriti u druge poželjne grupe. Najčešće se nanočestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  funkcionalizuju netoksičnim, ekološki prihvatljivim TEOS-om Stoberovom (Stöber) metodom (Heiman-Burstein et al., 2021). Stoberov proces se zasniva na reakciji TEOS-a sa alkoholom u alkalnoj sredini. U cilju uspešne interakcije nanočestica sa monomerom dodatna površinska modifikacija može se postići pomoću površinski aktivnih modifikatora koji se mogu lako konjugovati sa slojem silicijum-dioksida oko  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  preko aktivnih hidroksilnih grupa. Ova postmodifikacija poboljšava reaktivnost površine obložene silicijum-dioksidom i na taj način bi se nanočestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  umrežile u polimernu strukturu.

Prilikom separacije MIP-ovi na bazi magnetita mogu se jednostavno ukloniti iz uzorka dejstvom spoljašnjeg magnetnog polja, što čini procese ekstrakcije ili desorpcije praktičnijima i efikasnijima, smanjujući potrebu za dodatnim koracima separacije i time povećava ukupnu održivost analitičkih procesa. MIP-ovi na bazi magnetita se koriste za ekstrakciju i pretkoncentraciju analita iz različitih matrica, omogućujući efikasnije i selektivnije uklanjanje ciljnih molekula. Karat i saradnici su MIP-ove na bazi magnetita koristili u ekstrakciji na čvrstoj fazi kombinovanom sa spektrofotometrijskom metodom za određivanje bisfenola A iz vodenih rastvora (Karrat & Amine, 2021). Abadi (Abadi) i saradnici su uspešno sintetisali novi MIP na bazi magnezijum-aluminijum slojevitog dvostrukog hidroksida i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  koji je upotrebljen za selektivnu disperzivnu ekstrakciju fenitrotiona pre njegovog određivanja spektrofotometrijskim tehnikama. Ova metoda je uspešno primenjena za određivanje tragova fenitrotiona u hrani i vodi (Gholizadeh Hosein Abadi & Bazmandegan-Shamili, 2022). Sol-gel metodom sintetisan je magnetni MIP za ekstrakciju harmalina disperzivnom mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi. Za ekstrakciju harmalina sa

odličnom funkcionalnošću i visokom selektivnošću metakrilna kiselina korišćena je kao funkcionalni monomer, a kao umreživač uzet je EGDMA (Sadegh et al., 2021).

U literaturi se mogu naći brojni radovi koji opisuju primenu MIP na bazi magnetita kao čvrste faze u DSPME metodi za detekciju organskih i neorganskih molekula. Polimerni sorbent na bazi magnetita (MMIP ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-MIP}$ )) korišćen je u DSPME metodi za ekstrakciju melatonina (MLT) iz metanolskog ekstrakta *Portulaca oleracea*, ljudskog urina i plazme, kao i uzoraka vode (Dil et al., 2021). Za analizu je korišćena HPLC-UV tehnika, dok su značajni faktori koji utiču na DSPME odabrani, a zatim optimizovani korišćenjem PBD i Centralni kompozitni dizajn (eng. *Central Composite Design*, CCD). MMIP kombinovan sa magnetnom separacijom pokazao je specifično sorpciono ponašanje za MLT i predložen je kao jednostavan, fleksibilan, selektivan i moćan analitički alat. MIP na bazi magnetita korišćen je i za detekciju dva organofosforna pesticida. Grupa naučnika razvila je DSPME metodu u kombinaciji sa GC za ekstrakciju i simultano merenje diazinon i etiona u uzorcima pirinča, krastavca, paradajza i jetre miševa. U tu svrhu, sintetisan je magnetni  $\text{NH}_2\text{-MIL-53(Al)@Hitin}$ , obložen  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočesticama i  $\text{NH}_2\text{-MIL-53(Al)}$  u prisustvu hitina kako bi se pripremio efikasan sorbent. Efekti različitih parametara na efikasnost ekstrakcije diazinona i etiona proučavani su i optimizovani korišćenjem dizajna eksperimenta (Mohammadi et al., 2021).

Na osnovu dosadašnjih saznanja, MIP-ovi na bazi GMA i magnetita sintetisani metodom površinskog otiskivanja i upotrebljeni kao sorbenti u DSPME metodi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora nisu bili predmet prethodnih istraživanja.

### 2.3. Primarni aromatični amini

Primarni aromatični amini (PAA) su derivati anilina tj, velika grupa organskih jedinjenja kod kojih je primarna amino grupa vezana za aromatični prsten, što im daje specifična hemijska svojstva i reaktivnost (González et al., 2023). Predstavljaju jedne od najvažnijih organskih intermedijera, koji nastaju u velikom broju industrijskih proizvoda, npr. u sintezi azo boja, proizvodnji lekova, poliuretana, pesticida, guma, plastike, lakova, pigmenata (Anjalin et al., 2020). Njihova raznolikost i sposobnost reakcije sa drugim jedinjenjima omogućava im široku primenu u različitim aspektima proizvodnje tekstilnih materijala. Reakcijom sa diazonijumovim solima formiraju se azo boje, koje se zatim primenjuju na tekstilne materijale kako bi se postigla željena boja. Azo boje spadaju u najzastupljenija jedinjenja za bojenje, posebno tekstila i kože (Tölgyesi & Sharma, 2020). Razlog za to su niski troškovi sinteze azo boja u odnosu na prirodne boje, velika strukturna raznolikost ovih jedinjenja kao i prilična postojanost njihovih svojstava u odnosu na uslove korišćenja (Ardila-Leal et al., 2021). Međutim, u anaerobnim uslovima dolazi do redukcije azo-veze u strukturi reaktivnih boja i nastaju po zdravlje opasni aromatični amini. Amino grupa aromatičnih amina je metabolički aktivna i može proizvesti reaktivni intermedijer, hidroksilamin, koji oštećuje proteine i DNK, što je i razlog njihove toksičnosti. Zato primarni aromatični amini predstavljaju zdravstveni rizik (Sandić, 2016). Pored toga, koriste se i kao prekursori u sintezi antrakinonskih pigmenata ili drugih organskih pigmenata koji se koriste za bojenje tekstila. Takođe, mogu se koristiti u tretiranju tekstila radi poboljšanja njegovih svojstava, poput otpornosti na koroziju, plamen i druge štetne uticaje (González et al., 2023). Azo jedinjenja su hemijski predstavljena kao  $\text{R-N=N-R'}$ , gde R ili R' mogu biti ili aril ili alkil jedinjenja, a  $-\text{N=N}-$  je azo grupa. Azo boje čine 70 % svih organskih boja proizvedenih u svetu i grupisane su u oko dvadeset pet različitih kategorija zbog različitih hemijskih struktura hromofora (Berradi et al., 2019; Shi et al., 2021).

Potencijalni izvor PAA u hrani predstavljaju obojeni predmeti koji dolaze sa njom u kontakt tokom proizvodnje, pakovanja, otpreme, skladištenja i posluživanja (plastični kuhinjski pribor, obojene plastične kutije, maramice itd). Ovi predmeti su u literaturi poznati pod nazivom *Food contact materials*, FCM. Veliki deo FCM-a čine plastična pakovanja za hranu, koja su dizajnirana da očuvaju kvalitet hrane i produže rok trajanja (Faraji et al., 2022). Međutim, tokom kuvanja može doći do migracije aromatičnih amina preko pribora za jelo koji sadrže ostatke azo boja (koje

zaostanu prilikom bojenja (Szabó et al., 2022)). Istraživanja su pokazala da se javlja migracija PAA sa papirnih salveta, omota hrane i sokova i kesa od recikliranog papira i kartona (Luo et al., 2022; Faraji et al., 2022).

Azo boje, a samim tim i PAA, mogu se pronaći i u plastičnim igračkama za decu (Garrigós et al., 2002). Deca mogu biti izložena hemikalijama oralnim i dermalnim izlaganjem, stavljanjem u usta i dodirivanjem igračkama. Čak i slučajno gutanje igračke može dovesti do direktnog gutanja potencijalno opasnih hemikalija. Deca mogu da pate od akutnog trovanja, alergijske senzibilizacije ili odloženih štetnih efekata na zdravlje kao rezultat izloženosti igračkama koje sadrže opasne hemikalije. Potreba za kvalitetom i sigurnošću zahteva razvoj robusnih analitičkih metoda za identifikaciju i praćenje opasnih materija u igračkama (Meng et al., 2020). Slika 2.10. prikazuje moguće izvore PAA.



**Slika 2.10.** Mogući izvori PAA.

Što se tiče toksičnosti i ekološkog uticaja, PAA se prema IUPAC-u klasifikuju kao toksična i potencijalno kancerogena jedinjenja (Perez et al., 2021). Njihova toksičnost zavisi od pozicije amino grupe i strukture aromatičnog prstena. Njihova prisutnost u industrijskim otpadnim vodama i drugim ekološkim medijumima predstavlja značajan zdravstveni rizik. Zbog ovih svojstava, upotreba i ispuštanje PAA su strogo regulisani. Na primer, postoje propisi koji ograničavaju maksimalne dozvoljene koncentracije ovih supstanci u vodi i vazduhu, kako bi se smanjio rizik za ljudsko zdravlje i životnu sredinu. Prema sadašnjem zakonodavstvu, dozvoljeni nivo PAA migracija u hranu ne bi trebalo da bude veća od 2 mg/kg hrane ili simulanta hrane (Commission Regulation

(EU) 2020/1245). Studije su pokazale da izlaganje PAA može dovesti do razvoja različitih bolesti, što čini njihovo pravilno rukovanje i regulaciju ključnim za zaštitu zdravlja opšte populacije.

Određivanje PAA predstavlja izazov za analitičare zbog njihovih hemijskih karakteristika i niske koncentracije u životnoj sredini, pa je neophodno razviti osjetljive i robusne analitičke metode, sposobne da identifikuju i kvantifikuju ova jedinjenja u složenim matricama u životnoj sredini. Uglavnom, GC i HPLC sa MS ili UV detektorom su najčešće korišćene tehnike za odvajanje i određivanje PAA (Dorgerloh et al., 2021). Takođe, kako bi se poboljšao konačni instrumentalni signal i kako bi se postigla odgovarajuća granica detekcije, potrebno je pretkoncentrisanje PAA različitim tehnikama ekstrakcije. Najčešće korišćene tehnike za pripremu uzoraka PAA su ekstrakcija na čvrstoj fazi i tečno-tečna ekstrakcija zbog njihove jednostavnosti, raznovrsnosti korišćenih sorbenata i organskih rastvarača, visoke efikasnosti ekstrakcije i mogućnosti ispitivanja velikog broja jedinjenja iz širokog spektra uzoraka.

Anilin ( $C_6H_5NH_2$ ), predstavnik primarnih aromatičnih amina, ključni je intermedijer u hemijskoj industriji, posebno u proizvodnji boja i pigmenata koji se široko koriste u tekstilnoj industriji (Tadić et al., 2023b). Što se tiče fizičkih i hemijskih karakteristika, anilin je bezbojna do blago žućkasta tečnost sa karakterističnim mirisom sličnom amonijaku. Njegova reaktivnost je prvenstveno određena prisustvom amino grupe ( $-NH_2$ ), koja deluje kao nukleofil i omogućava anilinu da učestvuje u raznim hemijskim reakcijama. Boje proizvedene od anilina imaju visoku stabilnost na svetlost, toplotu i hemikalije, što ih čini pogodnim za tekstilne proizvode koji zahtevaju dugotrajnu postojanost boje. Ovo je posebno važno za odeću, tapacirani nameštaj i druge tekstilne proizvode koji su izloženi intenzivnoj upotrebi i pranju. Tekstilna industrija koristi anilin kao prekursor za sintezu različitih azo boja. Toksičan je za vodene organizme i može uzrokovati mutacije, reproduktivne probleme i smrtnost kod riba i drugih vodenih organizama (Tadić et al., 2022a). Kod ljudi, anilin može izazvati methemoglobinemiju, stanje u kojem se smanjuje sposobnost krvi da prenosi kiseonik, što može biti fatalno u visokim koncentracijama. Dugotrajna izloženost anilinu povezana je sa povećanim rizikom od razvoja raka mokraćne bešike (Chinthakindi et al., 2021). Zbog visokog rizika po zdravlje i životnu sredinu, upotreba anilina je strogo regulisana u mnogim zemljama. Fabrike tekstilne industrije su obavezne da implementiraju efikasne sisteme za prečišćavanje otpadnih voda kako bi se smanjio negativan uticaj na životnu sredinu i zdravlje ljudi. U brojnim studijama su ispitane različite metode za efikasno uklanjanje anilina iz otpadnih voda. Biološka oksidacija je proces u kojem mikroorganizmi razgrađuju anilin u manje toksične supstance. Ova metoda je ekološki prihvatljiva i može biti vrlo efikasna pod odgovarajućim uslovima. Huang (*Huang*) i saradnici su proučavali biodegradaciju anilina pomoću bakterijskog soja AN-4a koji je izolovan iz mulja dobijenog bojenjem tekstila i identifikovan kao *Pigmentiphaga daeguensis*. Soj AN-4a je eliminisao 10 mg/kg anilina u roku od 15h. Studija je pokazala da ovaj mikroorganizam može efikasno razgraditi anilin (Huang et al., 2018). Poslednjih decenija sorpcija se pokazala kao laka i efikasna metoda sposobna za uklanjanje širokog spektra jedinjenja iz raznih medijuma u procesima prečišćavanja. Iako su mnogi sorbenti navedeni kao visoko efikasni, njihovi ukupni troškovi proizvodnje obično obeshrabruju njihovu primenu na terenu. Postoji stalna potraga za sorbentima koji se mogu proizvesti iz obilnih i jeftinih materijala kao što su aktivni ugalj, zeoliti i druge porozne supstance za uklanjanje organskih supstanci iz vode. Imajući u vidu aktuelna pitanja u tretmanu otpadnih voda sa visokim opterećenjem farmaceutskih proizvoda, grupa naučnika razvila je novi materijal za efikasnu i ekonomičnu sorpciju atenolola. Seme javora korišćeno je kao prekursor za njegovu jednostavnu termičku konverziju u aktivni ugalj koji je ispitan za uklanjanje atenolola iz vodenih rastvora. Prednost ovog sorbenta, pored mezoporozne strukture, ogleda se u prisustvu odgovarajućih funkcionalnih grupa koje su ključne za uklanjanje organskih zagađujućih materija. Ispitan je uticaj doze sorbenta i pH vrednosti rastvora, a ravnotežni podaci analizirani su primenom Lengmirovog (*Langmuir*), Frojndlihovog (*Freundlich*) i Temkinovog (*Temkin*) adsorpcionog modela izoterme. Za izučavanje sorpcionog mehanizma korišćena su četiri kinetička modela: model pseudo-prvog reda, pseudo-drugog reda, model unutar-čestične difuzije i Elovichev model. Aktivni ugalj dobijen karbonizacijom semena javora u atmosferi

azota pokazao je veliku primenljivost za eliminaciju farmaceutika iz vodene faze. Rezultati su pokazali da je maksimalni kapacitet sorpcije od 93,71 mg/g dobijen na pH 10, a kinetička studija je pokazala da je ravnoteža postignuta nakon dva sata (Tadić et al., 2024b). Jang (*Yang*) i saradnici su ispitivali adsorpciju fenola i anilina pomoću višeslojnih ugljeničnih-nanočestica (Yang et al., 2008). Takođe, Gao (*Gao*) i saradnici su mikrotalasnom obradom su modifikovali vlakna od jute sa dianhidridom piromelitne kiseline kako bi se dobio biosorbent (MJF) za uklanjanje anilina. Nakon ispitivanja uticaja različitih faktora na adsorpciono ponašanje pokazalo se da je optimalna doza MJF za adsorpciju anilina bila 3 g/l, a maksimalni kapacitet adsorpcije je primećen pri pH 7,0 čime se ovaj biosorbent pokazao kao obećavajući adsorbent za uklanjanje anilina iz otpadnih voda (Gao et al., 2015). Uklanjanje anilina iz otpadnih voda pomoću polimera predstavlja inovativan pristup koji se oslanja na specifična svojstva polimernih materijala, kao što su velika površina, selektivnost i sposobnost adsorpcije. MIP-ovi se sve više koriste za uklanjanje PAA iz otpadnih voda zbog njihove visoke specifičnosti i selektivnosti za ciljne molekule. Ju (*Yu*) i saradnici su sintetisali novi materijal zasnovan na tehnologiji magnetnog molekularnog otiskivanja koji može selektivno da prepozna 4,4'-Metilen-bis(2-hloroanilin). Kao funkcionalni monomer korišćen je 2-vinilpiridin, a kao umreživač korišćen je EGDMA (Yu et al., 2018). Pored toga, visok kapacitet sorpcije pokazao je MIP sintetisan za uklanjanje tri PAA, 4,4'-metilendianilin, 4-aminobifenil i 3,3'-dihlorobenzidin. Kao šablon jedinjenje u sintezi MIP-a korišćen je 4,4'-metilendianilin (Liu et al., 2022). Koristeći jedinstvena svojstva molekuskog prepoznavanja, ovi radovi sugerišu mogućnost efikasnog i selektivnog uklanjanja PAA iz otpadnih voda.





### 3.1. Korišćene hemikalije

Spisak korišćenih hemikalija i rastvarača tokom izrade eksperimentalnog dela istraživanja dati su u nastavku i korišćene su kako su primljene:

- Magnetit,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , (gvožđe (II, III) oksid, nanočestice, veličina  $<50$  nm (TEM), 98 %), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Tetraetil ortosilikat, TEOS, ( $\geq 99$  % čistoće), Sigma-Aldrich, Nemačka
- 3-metakriloksi propiltrimetoksisilan, MPS, (98 % čistoće), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Amonijum hidroksid (rastvor  $\text{NH}_3$ , 25 mas. %), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Glicidil-metakrilat, GMA, ( $\geq 97$  % čistoće), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Etilen glikol dimetakrilat, EGDMA, p.a., Merck, Nemačka
- Poli(N-vinil piroolidon), PVP, (Kollidon 90,  $M_w = 1 \times 10^6$  g/mol), BASF, Nemačka
- Poli(vinil alkohol), PVA, ( $M_w = 8,9 \times 10^4$  g/mol -  $9,8 \times 10^4$  g/mol, 98 % hidrolizovan), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Ciklopentanol,  $\text{C}_{55}$ , p.a., Merck, Nemačka
- 1-tetradekanol,  $\text{C}_{14}$ , p.a., Merck, Nemačka
- 2,2'-azobisiso-butironitril, AIBN, (98 % čistoće), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Etilendiamin, EDA, (ReagentPlus  $\geq 99$  % čistoće), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Trietilentetraamin, TETA, for synthesis, Sigma-Aldrich, Nemačka
- Pentaetilenheksamin, PEHA, for synthesis, Merck, Nemačka
- Anilin (ReagentPlus, 99 %), Sigma-Aldrich, Nemačka
- Metanol, MeOH, HPLC čistoće, Carlo Erba, Nemačka
- Sirćetna kiselina, glacijalna,  $\geq 99,7$  % čistoće, Honeywell Fluka, SAD
- Acetonitril, AcN, HPLC čistoće, Carlo Erba, Nemačka
- Hlorovodonična kiselina, HCl, 35 % HCl, Lach-Ner, Češka
- Toluen, p.a., Sigma-Aldrich, Nemačka
- Natrijum-hidroksid, NaOH (98 % čistoće), Centrohem, Srbija
- Etanol, EtOH (96 % čistoće), Zorka Pharma, Srbija

**Radni rastvor anilina:** Pripremljen je standardni rastvor anilina koncentracije 1 g/l. U normalni sud od 500 ml odmereno je 0,5 g anilina i dopunjeno do crte dejonizovanom vodom (Milli-Q Millipore, provodljivost 18  $\text{M}\Omega/\text{cm}$ ) i čuvano na sobnoj temperaturi u mraku.

### 3.2. Dvostepeni postupak oblaganja magnetita

#### 3.2.1. Oblaganje $\text{Fe}_3\text{O}_4$ TEOS-om

Prvi korak oblaganja nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  pratio je proceduru Dil (*Dil*) i saradnika, pri čemu je 10 g nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  dispergovano u 1000 ml smeše EtOH:voda (4:1, v/v. %) u ultrazvučnom kupatilu (model: ASonic, Ljubljana, Slovenija) u trajanju od 30 min na  $25 \pm 0,2$  °C. Zatim je u reakcionu smešu dodato 100 ml TEOS-a i 200 ml rastvora  $\text{NH}_3$  i ovako dobijena smeša mešana je 8 h na  $25 \pm 0,2$  °C pri 400 obr/min. Reakcija je izvođena u inertnoj atmosferi azota (Dil et al., 2021). Nakon toga, dobijeni obloženi magnetit ispran je dejonizovanom vodom, sušen u vakuum sušnici tokom 24 h na  $60 \pm 0,2$  °C i označen kao  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ .

#### 3.2.2. Oblaganje $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ MPS-om

U 300 ml smeše EtOH:voda (4:1, v/v. %), dodato je 2 g  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$  i 40 ml MPS-a i reakciona smeša je dispergovana 30 min u ultrazvučnom kupatilu na  $25 \pm 0,2$  °C. Nakon toga, 3  $\mu\text{l}$

rastvora  $\text{NH}_3$  ukapano je u reakcionu smešu kako bi se pH podesio na 5 i ovako dobijena smeša mešana je 2 h na  $25 \pm 0,2$  °C, a zatim još 1 h na  $50 \pm 0,2$  °C u inertnoj atmosferi azota. Dobijeni uzorak odvojen je spoljašnjim magnetnim poljem, ispran sa EtOH, sušen u vakuum sušnici 24 h na  $60 \pm 0,2$  °C i označen kao  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$ .

### 3.3. Priprema polimernog nosača na bazi GMA i $\text{Fe}_3\text{O}_4$

#### 3.3.1. Optimizacija uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i $\text{Fe}_3\text{O}_4$

Optimizacija uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  obuhvatala je ispitivanje uticaja vrste i količine stabilizatora, kao i brzine mešanja, na oblik i veličinu čestica dobijenog polimernog nosača. U okviru optimizacije uslova sinteze pripremljene su tri serije uzoraka. U prvoj seriji pripremljeni su uzorci sa dve vrste stabilizatora (PVA i PVP) pri konstantnom udelu od 1 mas.% i brzini mešanja od 400 obr/min (uzorci označeni kao 1PVA-*m*PGE-400 i 1PVP-*m*PGE-400). U drugoj seriji pripremljeni su uzorci polimernog nosača sa 1, 5 i 7 mas.% PVP u početnoj reakcionoj smeši pri čemu je brzina mešanja bila konstantna (400 obr/min) (uzorci su označeni kao 1PVP-*m*PGE-400, 5PVP-*m*PGE-400 i 7PVP-*m*PGE-400). U trećoj seriji pripremljeni su uzorci sa konstantnim sastavom reakcione smeše (7 mas.% PVP) pri brzini mešanja od 400 obr/min i 600 obr/min (7PVP-*m*PGE-400 i 7PVP-*m*PGE-600). Sve tri serije uzoraka pripremljene su u dva ponavljanja. Dobijena veličina i oblik čestica polimernog nosača ispitani su pomoću sito i SEM analize. Sastav reakcionih smeša i reakcioni uslovi dati su u Tabeli 3.1.

**Tabela 3.1.** Sastav reakcione smeše i reakcioni uslovi sinteze polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$

Oznaka uzorka	$\text{H}_2\text{O}$ , g	PVP, g	PVA, g	GMA, g	EGDMA, g	AIBN, g	$\text{C}_{75}$ , g	$\text{C}_{14}$ , g	$\text{Fe}_3\text{O}_4$ , g	Brzina mešanja, obr/min
1PVA- <i>m</i> PGE-400	/		1,25							400
1PVP- <i>m</i> PGE-400		1,25	/							400
5PVP- <i>m</i> PGE-400	112,5	6,25	/	9,7	6,47	0,17	16,9	4,25	1,6	400
7PVP- <i>m</i> PGE-400		8,75	/							400
7PVP- <i>m</i> PGE-600		8,75	/							600

#### 3.3.2. Sinteza polimernog nosača na bazi GMA i $\text{Fe}_3\text{O}_4$

Polimerni nosač na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , *m*PGE60, sintetisan je postupkom suspenzione kopolimerizacije. Reakciona smeša se sastojala od dve faze - vodene i organske, pri čemu vodenu fazu (112,5 ml) čini vodeni rastvor stabilizatora emulzije (PVP, 7 mas.%) dok organsku fazu čine monomer GMA (9,7 g), umreživač EGDMA (6,47 g), inicijator AIBN (0,17 g) i inertna komponenta tj. porogen ( $\text{C}_{75}$  (16,9 g) i  $\text{C}_{14}$  (4,25 g)). Reakcija je izvođena u troglom balonu od 250 ml u uljanom kupatilu (Slika 3.1.).

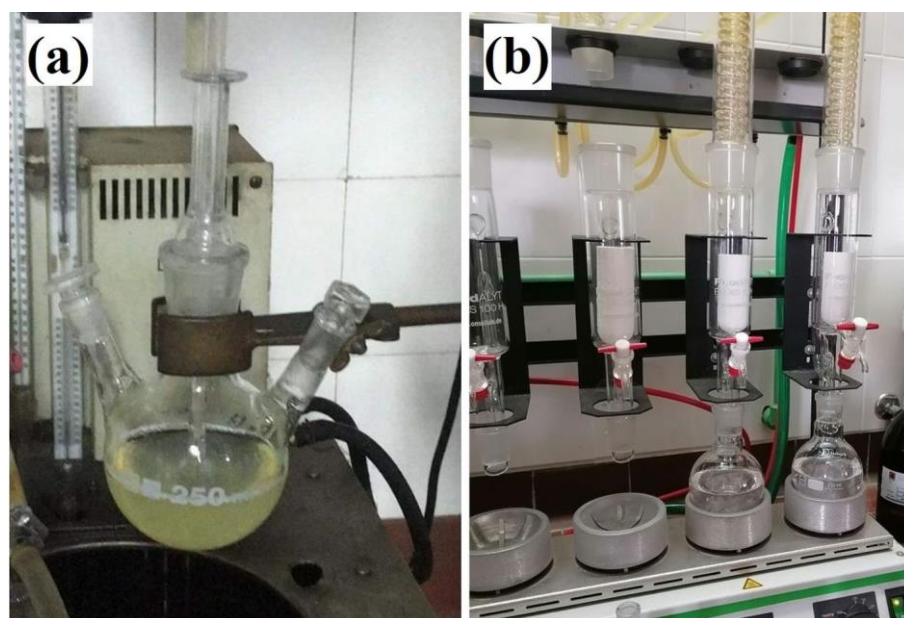
U reakcionu balon prvo je uneta vodena faza koja je mešana u trajanju od 30 min brzinom od 250 obr/min. Nakon toga, u reaktor je dodata organska faza prethodno dispergovana 30 min u ultrazvučnom kupatilu sa 1,6 g  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@MPS$ . Prvih 30 min reakcija je izvođena na  $25 \pm 0,2$  °C, a zatim 2 h na  $75 \pm 0,2$  °C, pa još 2 h na temperaturi  $80 \pm 0,2$  °C pri brzini mešanja od 600 obr/min. Konačno, polimerni nosač je odvojen od vodene faze spoljašnjim magnetnim poljem i ispran vodom i EtOH. Potom je sušen u vakuum sušnici pri temperaturi od  $40 \pm 0,2$  °C, do konstantne mase, a zatim prosejan kroz sita pri čemu su odvojene odgovarajuće frakcije.



**Slika 3.1.** Sinteza polimernog nosača *mPGE60* (a) i izgled reakcione smeše nakon sinteze polimernog nosača (b).

### 3.4. Priprema MIP-a

Kako bi se utvrdio optimalan molski odnos liganda (TETA) i šablona (anilin) (1:1, 2:1, 4:1) pripremljena su tri MIP-a metodom površinskog otiskivanja označena kao MIP 1:1, MIP 2:1, MIP 4:1 na kojima su urađeni preliminarni eksperimenti sorpcije anilina. Vodeni rastvor anilina početne koncentracije 100 mg/l doveden je u kontakt sa dozom MIP-a od 1 g/l u trajanju od 90 min, pri temperaturi  $25 \pm 0,2$  °C. Nakon toga, uzorci su profiltrirani kako bi se pomoću HPLC-a utvrdilo koji uzorak ima najbolji sorpcioni kapacitet.



**Slika 3.2.** Izgled reakcione smeše nakon pripreme MIP-a (a) i ekstrakcija šablona (anilina) pomoću Sokslet aparata (b).

Tri MIP-a su sintetisana metodom površinskog otiskivanja reakcijom otvaranja epoksidnog prstena. U zavisnosti od toga da li je kao ligand (amin) u sintezi MIP-a korišćen EDA, TETA ili PEHA, MIP-ovi su nazvani MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha, redom. U prvom koraku molekul



šablona (anilin, 2 g) i ligand-amin (EDA (5,1 g), TETA (12,3 g) ili PEHA (19,6 g)) rastvoreni su u 50 ml toluena. Reakcija je izvođena 2 h na  $80 \pm 0,2$  °C. U drugom koraku 2 g *m*PGE60 (prečnika čestica u opsegu od 0,15 – 0,25 mm) je dodato u rastvor anilina i odgovarajućeg amina i reakcija je izvođena 6 h na  $80 \pm 0,2$  °C i 250 obr/min (Slika 3.2a.). MIP-ovi su odvojeni pod dejstvom spoljašnjeg magnetnog polja i isprani nekoliko puta vodom i EtOH. Anilin je ekstrahovan u Soksletovom aparatu korišćenjem MeOH i sirćetne kiseline (9:1 v/v. %) sve dok ostaci šablona više nisu detektovani pomoću HPLC-MS (Slika 3.2b.). Nakon toga, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha su sušeni u vakuum sušnici na  $60^{\circ}\text{C} \pm 0,2$  °C.

### 3.5. Metode karakterizacije

#### 3.5.1. Sito analiza

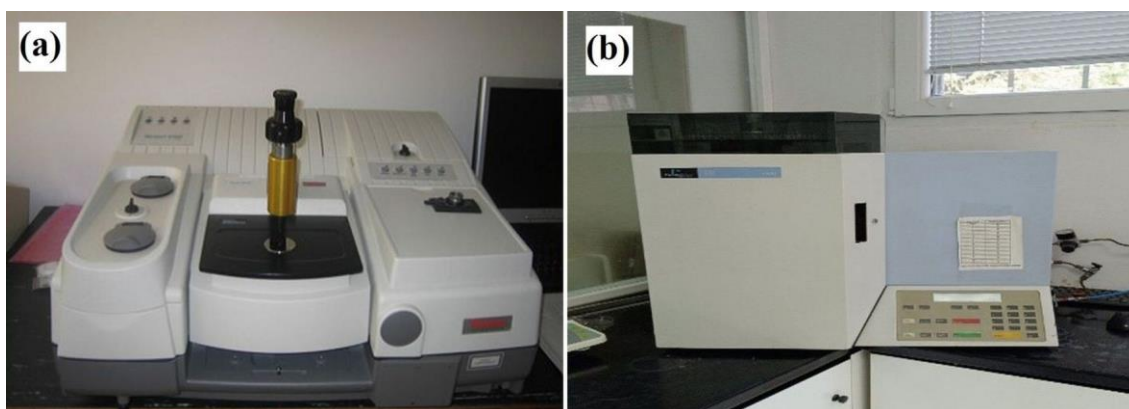
Sito analizom određen je granulometrijski sastav polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . U tu svrhu korišćena su sita različitih prečnika otvora (1,0; 0,63; 0,30; 0,25; 0,15; 0,125 i 0,1 mm) metodom ručnog prosejavanja.

#### 3.5.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

Hemijska struktura obloženog magnetita, polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  i MIP-ova ispitana je pomoću FTIR spektrometra (model: Nicolet SUMMIT Thermo Fisher Scientific, Masačusets, SAD) u režimu ometene totalne refleksije (Slika 3.3a.). Spektri su snimljeni u oblasti talasnog broja  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  sa rezolucijom skeniranja od  $2\text{ cm}^{-1}$  i 64 skena.

#### 3.5.3. Elementarna analiza

Hemijski sastav MIP-ova, tačnije maseni udeli elemenata C, H i N određeni su elementarnom analizom. Merenja su vršena na CHN(S) analizatoru (model: 2400 Series II CHNS/O, Perkin Elmer, Masačusets, SAD) (Slika 3.3b.).



Slika 3.3. Izgled FTIR instrumenta (a) i CHN(S) analizatora (b).

#### 3.5.4. Određivanje amino grupa

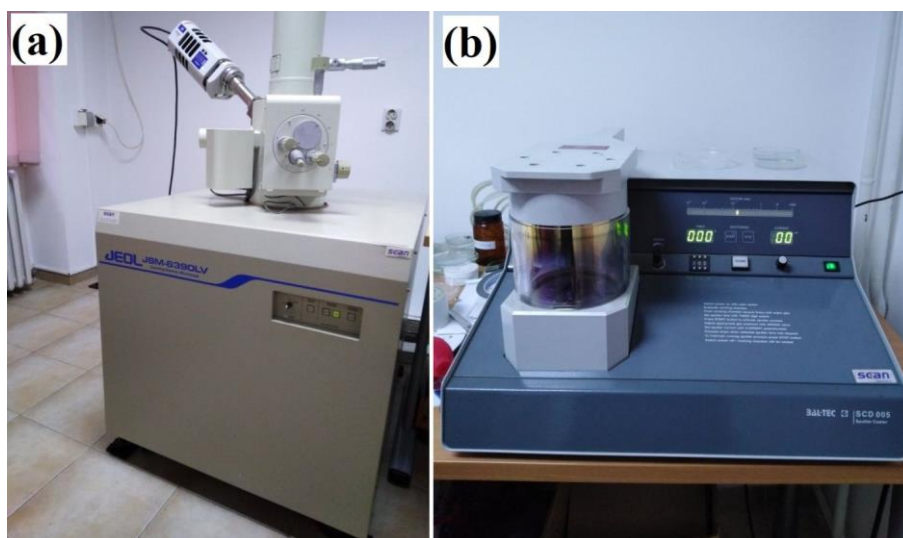
Količina amino grupa je određena kiselinsko-baznom titracijom. Uzorci MIP-ova (100 mg) su dodati u 5,2 ml rastvora HCl molarne koncentracije 0,1 mol/l tokom 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga su rastvori dekantovani, a preostala količina rastvora HCl je titrisana sa 0,05 mol/l NaOH u prisustvu fenolftaleina kao indikatora. Koncentracija amino grupa izračunata je na način opisan u literaturi (Sandić, 2016).

### 3.5.5. Tačka nultog naelektrisanja, $pH_{PZC}$

Metodom postepene promene pH vrednosti (pH drift metoda) određene su  $pH_{PZC}$  vrednosti površine MIP-ova. U seriju erlenmajera odmereno je po 20 ml rastvora NaCl molarne koncentracije 0,01 mol/l. Dodavanjem određene količine rastvora NaOH i HCl (0,1 mol/l) podešene su početne pH vrednosti,  $pH_i$ , rastvora NaCl u opsegu 2-10 pomoću pH metra (model: Orion Star A211, Thermo Fisher Scientific, Masačusets, SAD). Zatim je u erlenmajere dodato po 50 mg uzorka čiji se  $pH_{PZC}$  određuje. Nakon 24 h su izmerene finalne pH vrednosti rastvora NaCl ( $pH_f$ ) i nacrtan je grafik  $pH_f = f(pH_i)$ . Kao tačke preseka krivih  $pH_i = pH_f$  i  $pH_f = f(pH_i)$  dobijene su vrednosti  $pH_{PZC}$ .

### 3.5.6. Skenirajuća elektronska mikroskopija sa energo-disperzivnom spektrometrijom (SEM-EDS)

Morfološke karakteristike kao što su oblik, veličina i poroznost površine i poprečnog preseka polimernog nosača na bazi GMA i  $Fe_3O_4$  i MIP-ova određene su pomoću SEM mikroskopa (model: JEOL JSM-6390 LV, JEOL Ltd., Tokio, Japan). Pre snimanja, uzorci su napareni slojem zlata debljine 15 nm pomoću uređaja za napanje zlatom (model: BAL-TEC SCD 005, BAL-TEC AG, Lihtenštajn). SEM slike su dobijene pri različitim uvećanjima. Za određivanje hemijskog sastava površine i poprečnog preseka sintetisanog polimernog nosača na bazi GMA i  $Fe_3O_4$  i MIP-ova korišćen je SEM sa EDS detektorom (model: Oxford Instruments X-MaxN, Haj Vikom, Velika Britanija). Izgled SEM instrumenta (a), kao i uređaja za napanje zlatom pre snimanja na SEM-u (b) prikazani su na Slici 3.4.



Slika 3.4. Izgled SEM instrumenta (a) i uređaja za napanje zlatom (b).

### 3.5.7. Živina porozimetrija

Ukupna zapremina pora i raspodela zapremine pora po veličini prečnika pora (interval od 15000 do 7,5 nm) za polimerni nosač na bazi GMA i  $Fe_3O_4$  i MIP-ove određena je živinom porozimetrijom pomoću živinog porozimetra (model: Carlo Erba Porosimeter 2000, Vašington, SAD). Radni pritisak bio je u intervalu od 0,1 do 200 MPa. Priprema uzoraka podrazumevala je desorpciju gasova i niskomolekulskih organskih supstanci na sobnoj temperaturi i pritisku od 0,5 Pa. Softver Milestone 200 korišćen je za izračunavanje parametara porozne strukture. Izgled živinog porozimetra prikazan je na Slici 3.5a.

### 3.5.8. Niskotemperaturne adsorpciono-desorpcione izoterme azota

Specifična površina i raspodela veličine pora određeni su primenom BET (Brunauer-Emmet-Teler, *eng. Brunauer-Emmett-Teller*) jednačine iz niskotemperaturnih adsorpciono-desorpcionih izoterma azota na 77 K (-196 °C) pomoću sorptomata (model: Sorptomatic 1990 Thermo Finnigan, Thermo Fisher Scientific, Masačusets, SAD). Vrednost ukupne zapremine pora ( $V_{0,98}$ ) izračunata je prema metodi Gurviča (*Gurvitch*) za  $p/p^0 = 0,98$  (Lahn et al., 2020). BJH (Beret-Džojner-Halenda, *Barrett-Joiner-Halenda*) metodom analizirane su mezopore, dok su mikropore analizirane DR (Dubinjin-Raduškevič, *Dubinjin-Radushkevich*) metodom (Xochihua Juan et al., 2022; Shimizu & Matubayasi, 2021). Izgled sorptomata prikazan je na Slici 3.5b.



Slika 3.5. Izgled živinog porozimetra (a) i sorptomata (b).

### 3.5.9. SQUID magnetometar

Magnetna svojstva *mPGE60* izmerena su korišćenjem SQUID magnetometra (model: MPMS-XL-5, Quantum Design Inc., Kalifornija, SAD). Zavisnost magnetizacije od magnetnog polja pri konstantnoj temperaturi merena je u rasponu od - 5 T do 5 T na 300 K. Izgled SQUID magnetometra prikazan je na Slici 3.6.



Slika 3.6. Izgled SQUID magnetometra.

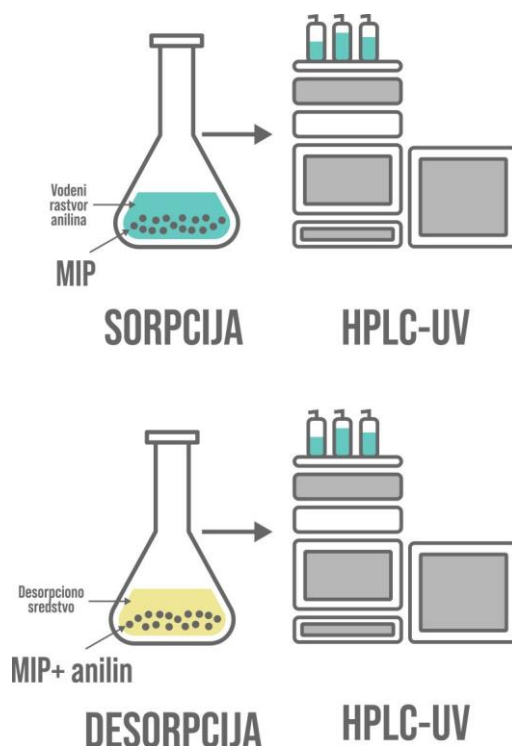
### 3.6. Sorpciona ekstrakcija anilina na MIP-u

Sorpciona ekstrakcija anilina na MIP-u kao sorbentu sastojala se iz dva koraka (Slika 3.7.). U prvom koraku urađena je ekstrakcija anilina iz vodenog rastvora. Uzorci MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha ispitani su kao sorbenti za uklanjanje anilina iz vodenih rastvora u šaržnim uslovima na sobnoj temperaturi. U seriju erlenmajera odmereno je po 5 ml rastvora anilina početne koncentracije 50 mg/l. Dodavanjem određene količine rastvora NaOH (1 mol/l) i HCl (0,1 mol/l) podešene su početne pH vrednosti rastvora anilina u opsegu 2-10. Zatim je u svaki erlenmajer dodato po 100 mg uzorka MIP-a i rastvori anilina sa MIP-om su mešani na orbitalnom šejkeru (model: Orb-Pro, Labbox Labware S.L., Barselona, Španija) na 400 obr/min tokom 3 h. Nakon završetka procesa sorpcije, svaki uzorak je filtriran kroz špric filter prečnika 13 mm, veličine pora 0,22 mm, a koncentracija zaostalog anilina je merena na HPLC-UV (model: Thermo Finnigan HPLC sistem, Thermo Scientific, Masačusets, SAD). Za merenje je korišćena kolona C-18 Phenomenex Kinetex EVO (250 mm dužine, 4,6 mm I.D., veličina čestica 5  $\mu$ m), kao mobilna faza smeša MeOH:voda (80:20 v/v. %), brzina protoka 1 ml/min, zapremina ubrizgavanja 10  $\mu$ l, uz održavanje temperature kolone od  $30 \pm 0,2$  °C. Podaci su obrađeni korišćenjem softvera Thermo Xcalibur software (version 3.0, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Kapacitet sorpcije,  $Q_t$  (mg/g), izračunat je pomoću jednačine 1 (Suručić et al., 2023):

$$Q_t = \frac{(C_i - C_t)V}{m} \quad (1)$$

gde su  $C_i$  (mg/l) i  $C_t$  (mg/l) koncentracije anilina u početnom rastvoru i u rastvoru u vremenu  $t$ , respektivno,  $V$  (l) je zapremina vodene faze, a  $m$  (g) je količina MIP sorbenta. Sva merenja su rađena u tri ponavljanja i rezultati su izraženi kao srednja vrednost.



**Slika 3.7.** Šema sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenog rastvora na MIP-u.

U drugom koraku ispitana je desorpcija anilina sa MIP-ova. Nakon sorpcionih eksperimenata MIP-ovi sa vezanim anilinom (100 mg) su dovedeni u kontakt sa 5 ml različitih sredstava za desorpciju da bi se ispitala mogućnost ponovne upotrebe MIP sorbenata. Za desorpciju anilina sa MIP sorbenata korišćena su tri desorpciona sredstava (EtOH, MeOH i AcN). Svaki analizirani



uzorak je mešan na orbitalnom šejkeru na 400 obr/min tokom 24 h, centrifugiran i filtriran kroz špric filter prečnika 13 mm, veličine pora 0,22 mm, a koncentracija desorbovanog anilina je merena na HPLC-UV. Sva merenja su rađena u tri ponavljanja i rezultati su izraženi kao srednja vrednost. Podaci su obrađeni korišćenjem softvera Thermo Xcalibur software.

Kapacitet desorpcije,  $Q_d$  (mg/g) je izračunat pomoću jednačine 2 (Bayuo et al., 2020):

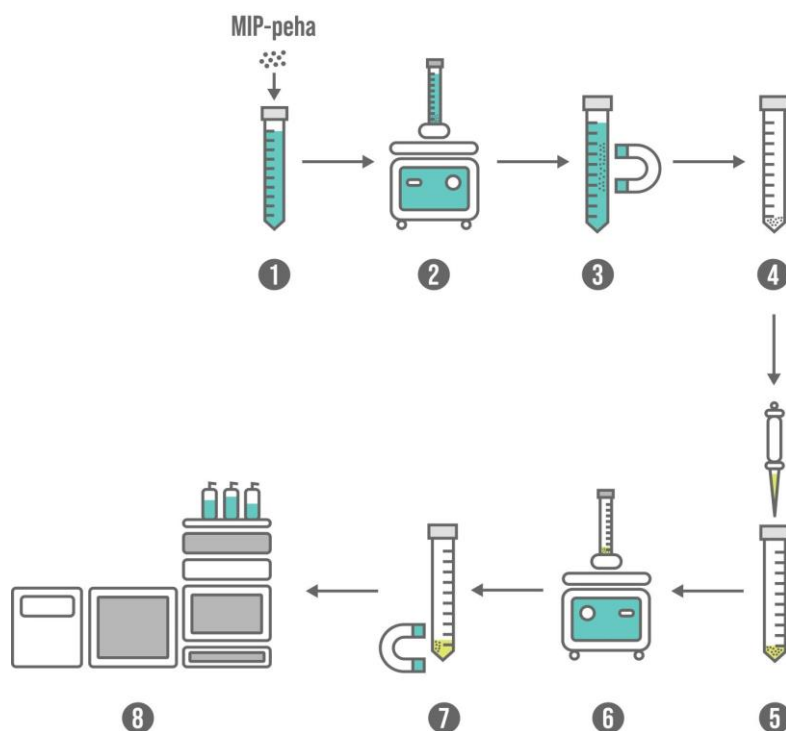
$$Q_d = \frac{C_d V_d}{m} \quad (2)$$

gde su  $C_d$  (mg/l) koncentracija anilina u desorbovanom rastvoru,  $V_d$  (l) je zapremina desorpcionog sredstva, a  $m$  (g) je količina MIP sorbenta.

### 3.7. DSPME na MIP kao čvrstoj fazi

#### 3.7.1. Procedura DSPME

Šematski dijagram DSPME procedure prikazan je na Slici 3.8. Procedura DSPME je pratila sledeće korake: 10 ml vodenog rastvora anilina koncentracije 10 mg/l prebačeno je u staklenu vijalu od 20 ml. Dodavanjem odgovarajuće količine rastvora natrijum hidroksida (0,1 mol/l) pH rastvora je podešen na 6. Na  $25 \pm 0,2$  °C MIP-peha (50 mg) je dodat u rastvor (korak 1) i mešan 1 min na vorteksu (korak 2). Sorbent je odvojen jakim magnetom (korak 3), a supernatant je ispušten (korak 4). Zatim je sorbentu dodato 450  $\mu$ l AcN (korak 5). Nakon mešanja u trajanju od 1 min na vorteksu (model: VORX-005-001, V05, Labbox Labware S.L, Barselona, Španija) na  $25 \pm 0,2$  °C (korak 6), MIP-peha je odvojen magnetom (korak 7). Faza AcN je filtriran i koncentracija anilina u alikvotima je merena na HPLC-MS (model: TSQ Quantum Access Max, Thermo Fisher Scientific, Masačusets, SAD) (korak 8). Za merenje je korišćena kolona C-18 Thermo Scientific Accucore aQ (100 mm dužine, 2,1 mm I.D., veličina čestica 2,6 mm), kao mobilna faza smeša MeOH:voda (80:20 v/v. %), brzina protoka 0,3 ml/min, zapremina ubrizgavanja 5  $\mu$ l, ukupno vreme rada 5 min. Sva merenja su rađena u tri ponavljanja i rezultati su izraženi kao srednja vrednost. Rezultati su obrađeni korišćenjem softvera Thermo Xcalibur software. Šematski dijagram DSPME procedure prikazan je na Slici 3.8.



Slika 3.8. Šematski prikaz DSPME na MIP-peha kao čvrstoj.

### 3.7.2. Eksperimentalni dizajn DSPME metode

Frakcioni faktorski dizajn, PBD je korišćen za selekciju procesnih parametara DSPME metode koji najviše utiču na efikasnost i faktor pretkoncentrisanja anilina iz vodenog rastvora. Na osnovu eksperimentalnog dizajna ispitan je uticaj 11 parametara na dva nivoa, na efikasnost DSPME, kao što su: količina sorbenta, pH vrednost i jonska jačina ispitivanog uzorka, način mešanja za ekstrakciju, vreme ekstrakcije, temperatura ekstrakcije, zapremina eluenta, temperatura desorpcije, način mešanja za desorpciju, vreme desorpcije, vrsta desorpcionog sredstva. Vrednosti ovih parametara prikazane su u Tabeli 3.2., dok je matrica sa kodiranim vrednostima ispitivanih faktora prikazana u Tabeli 3.3.

**Tabela 3.2.** Faktori koji utiču na DSPME na MIP-peha kao čvrstoj fazi

Faktori	Oznaka	Nivoi	
		Nizak (-1)	Visok (+1)
Količina sorbenta (mg)	X <sub>1</sub>	10	50
pH	X <sub>2</sub>	2	10
Jonska jačina (%)	X <sub>3</sub>	0	1
Način mešanja za ekstrakciju	X <sub>4</sub>	Vor	Us
Vreme ekstrakcije (min)	X <sub>5</sub>	1	5
Temperatura ekstrakcije (°C)	X <sub>6</sub>	10	40
Zapremina eluenta (μl)	X <sub>7</sub>	200	700
Temperatura desorpcije (°C)	X <sub>8</sub>	10	40
Način mešanja za desorpciju	X <sub>9</sub>	Vor	Us
Vreme desorpcije (min)	X <sub>10</sub>	1	5
Vrsta desorpcionog sredstva	X <sub>11</sub>	MeOH	AcN

**Table 3.3.** Matrica za PBD eksperimente

Broj eksperimenta	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>
1	-1	1	-1	-1	1	1	1	-1	1	-1	1
2	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	1	1	1
3	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1	-1	-1
4	-1	1	1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1
5	1	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1	-1
6	1	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	-1	1
7	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1	1	1	-1
8	-1	1	-1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1
9	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1	-1	1
10	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
11	1	1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
12	1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	1

Za statističku obradu rezultata korišćen je programski paket MINITAB. Odgovor sistema koji se prati je efikasnost ( $ER$ , %) DSPME metode izračunata prema jednačini 3 (Ghorbani et al., 2016):

$$ER = \frac{C_{A,d} V_{A,d}}{C_{A,aq} V_{A,aq}} \times 100 \quad (3)$$

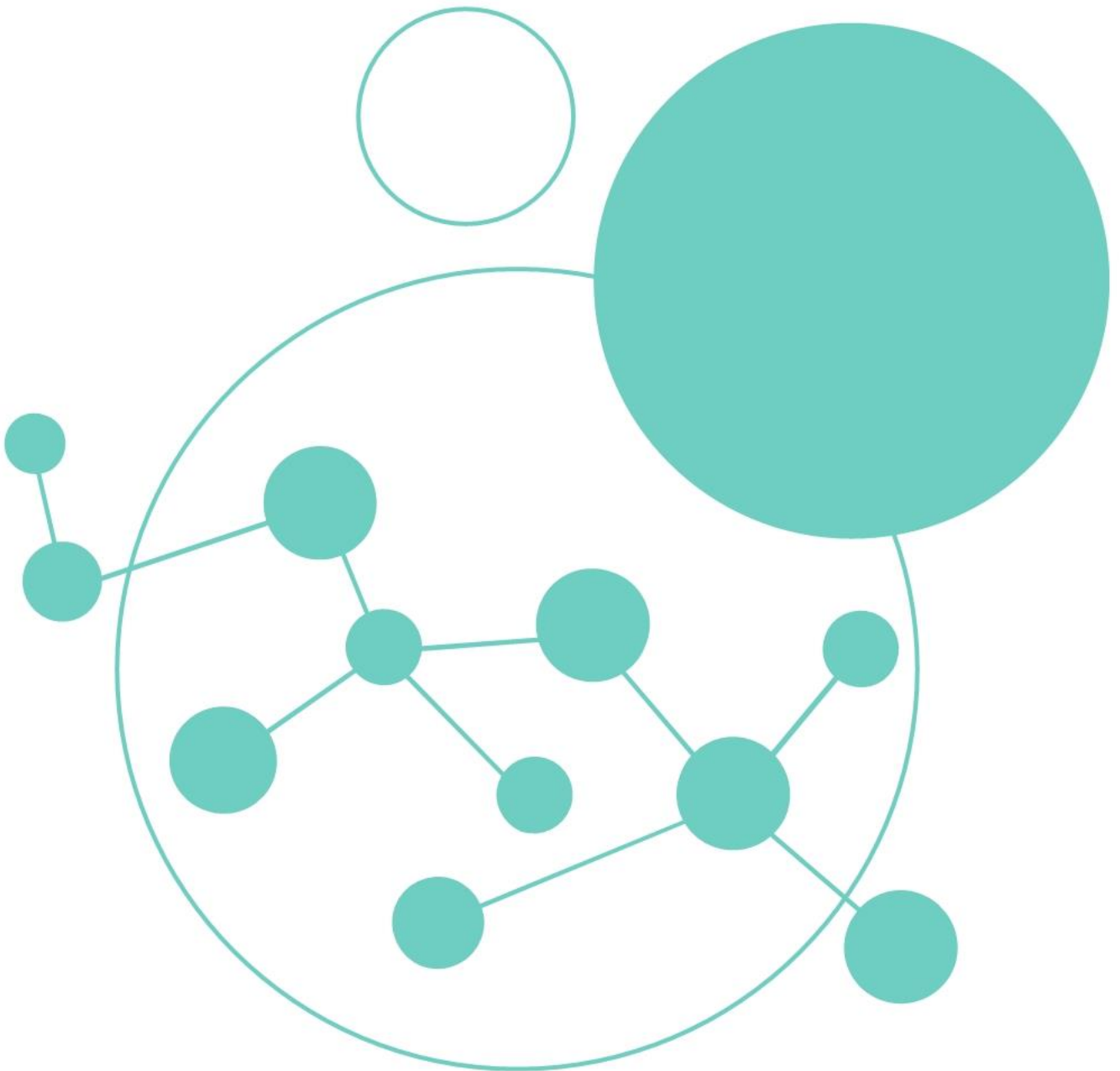
gde su  $C_{A,d}$  (mg/l) i  $C_{A,aq}$  (mg/l) koncentracije anilina u desorpcionom sredstvu i vodi, redom, a  $V_{A,w}$  (l) i  $V_{A,d}$  (l) zapremina vodenog rastvora i desorpcionog sredstva.

Nakon primene PBD i određivanja najznačajnijih faktora, izvršena je optimizacija DSPME metode. Za definisanje vrednosti optimalnih parametara DSPME metode korišćen je BBD. Najznačajniji DSPME faktori su varirani na tri nivoa. Za statističku obradu rezultata korišćen je programski paket MINITAB.

### 3.7.3. Ispitivanje zelenosti DSPME

Metodološka evaluacija zelenosti predložene DSPME metode ispitana je pomoću Analitičke Eko-Skale, AGREE i GAPI. U tu svrhu korišćeni su softveri ComplexGAPI v.0.2 (može se preuzeti sa <https://mostwiedzy.pl/complexgapi>), kao i AGREE software v.0.5, (besplatno dostupan i može se preuzeti sa <https://mostwiedzi.pl/AGREE>).

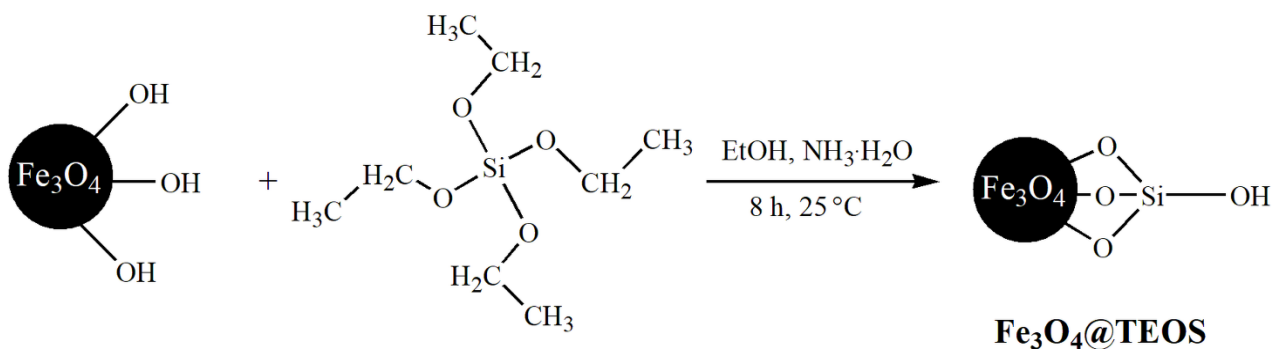
## 4. REZULTATI I DISKUSIJA



U ovom delu doktorske disertacije su najpre predstavljeni rezultati karakterizacije obloženih nanočestica magnetita i polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Nakon toga su prikazani rezultati karakterizacije dobijenih MIP-ova. Dalje, dati su rezultati sorpcione ekstrakcije anilina na tri različita uzorka MIP-a. Takođe, rezultati optimizacije i validacije DSPME metode za pretkoncentrisanje anilina iz vodenog rastvora predstavljeni su u ovom poglavlju, kao i rezultati ispitivanja zelenosti predložene DSPME metode na MIP kao čvrstoj fazi.

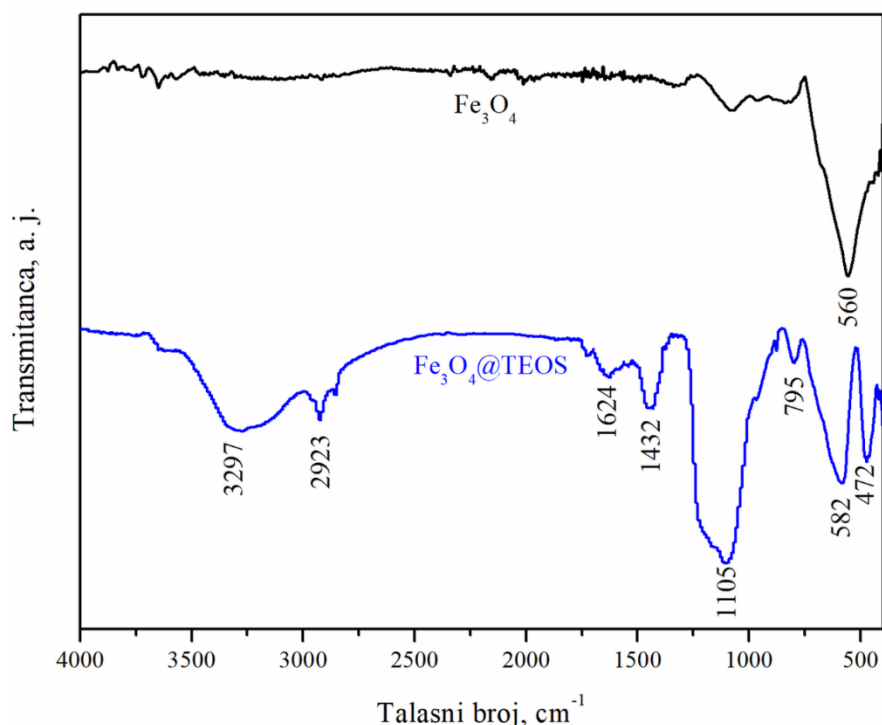
#### 4.1. Karakterizacija obloženih $\text{Fe}_3\text{O}_4$ nanočestica

Kako bi se prevazišli problemi lake aglomeracije i poteškoća u funkcionalizaciji površine nanočestica magnetita, izvršeno je oblaganje  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočestica silanizujućim agensom TEOS Stoberovom metodom (Heiman-Burstein et al., 2021). Stoberov proces se zasniva na reakciji TEOS sa hidroksilnim grupama u baznoj sredini. Reakcija započinje vezivanjem TEOS-a za oksid gvožđa, formiranjem kovalentne veze Fe-O-Si, a zatim sledi reakcija hidrolize etoksi silana do silanola, kao što je prikazano na Shemi 4.1.



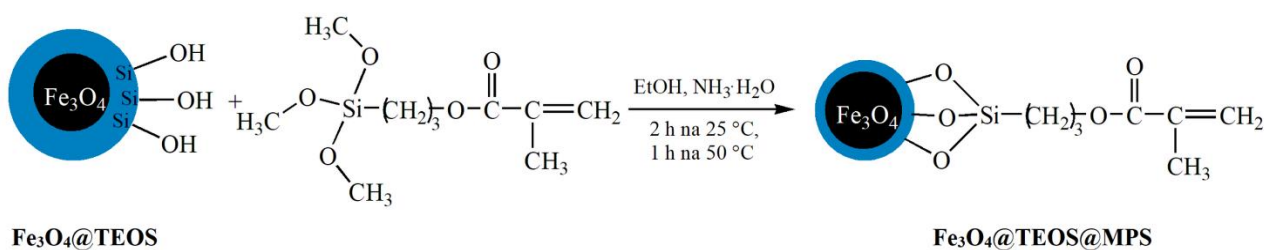
**Shema 4.1.** Oblaganje nanočestica magnetita TEOS-om.

Na Slici 4.1. su prikazani FTIR spektri neobloženih  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočestica, kao i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočestica obloženih TEOS-om ( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@TEOS}$ ). Prisustvo trake u opsegu talasnih dužina od  $575 \text{ cm}^{-1}$  do  $650 \text{ cm}^{-1}$  se, prema literaturnim podacima, pripisuje vibracijama istezanja Fe-O veze ( $\nu_{\text{Fe-O}}$ ) (Andrade et al., 2009; Iyengar et al. 2014). Na spektru  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ta traka se uočava na  $\sim 560 \text{ cm}^{-1}$ , dok se na spektru  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@TEOS}$  nalazi na  $582 \text{ cm}^{-1}$  (Cao et al., 2024; Uzuriaga - Sánchez et al., 2016). Ovo pomeranje navedene trake ka nižim vrednostima talasnog broja je posledica oblaganja  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočestica TEOS-om. Pored karakteristične trake za Fe-O vezu, na spektru  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@TEOS}$  se uočavaju trake karakteristične za vibracije savijanja Si-O-Si veze ( $\delta_{\text{Si-O-Si}}$ ) na  $\sim 472 \text{ cm}^{-1}$ , kao i simetrične ( $\nu_{\text{sym Si-O-Si}}$ ) na  $\sim 795 \text{ cm}^{-1}$  i asimetrične ( $\nu_{\text{asym Si-O-Si}}$ ) na  $\sim 1105 \text{ cm}^{-1}$  vibracije istezanja Si-O-Si veze (Dayana et al., 2019; Mayerhöfer et al., 2008). Apsorpcione trake na  $\sim 1430 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 2920 \text{ cm}^{-1}$  odgovaraju vibracijama savijanja ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) i istezanja ( $\nu_{\text{C-H}}$ ) metilenske grupe (Bock & Gierlinger, 2019; Li et al., 2018). Apsorpcione trake na  $1624 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$  odgovaraju vibracijama savijanja ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) i istezanja ( $\nu_{\text{O-H}}$ ) hidroksilne grupe koja potiču od Si-OH iz TEOS-a (Dayana et al., 2019; Kamgar & Hassanajili, 2020). FTIR analiza je potvrdila uspešno formiranje sloja TEOS-a na nanočesticama  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .



**Slika 4.1.** FTIR spektri nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  i  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$ .

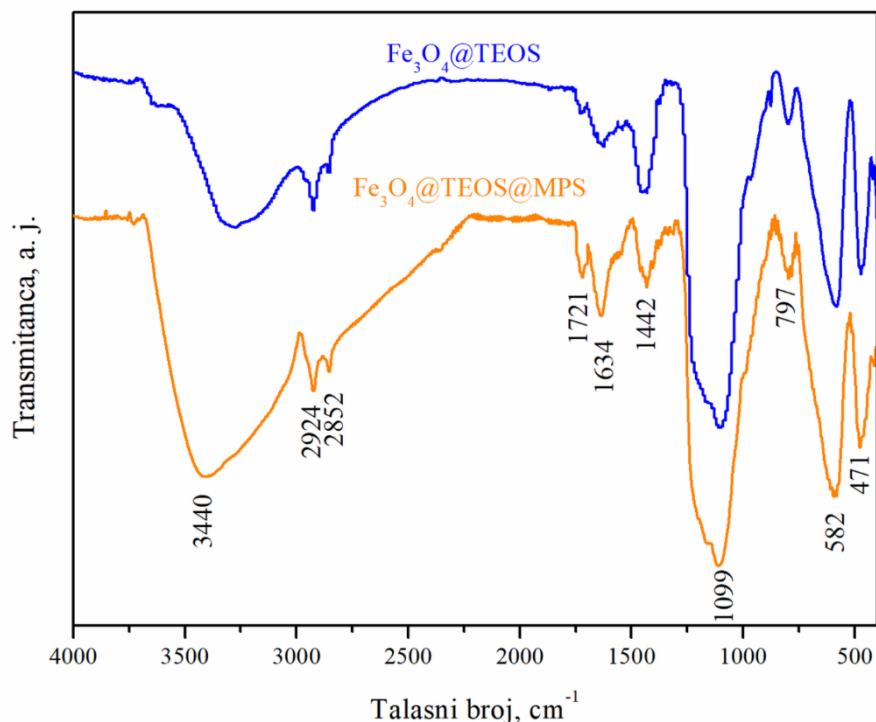
Obložene nanočestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  modifikovane su MPS-om uspostavljanjem kovalentnih veza između metoksi grupa MPS-a kao elektron donora i hidroksilnih grupa  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  kao elektron akceptora. Oblaganje  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  MPS-om prikazano je na Shemi 4.2.



**Shema 4.2.** Oblaganje nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  MPS-om.

Analiza površinskih grupa nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  obloženih MPS-om izvršena je pomoću FTIR spektroskopije i rezultati su prikazani na Slici 4.2. Apsorpcione trake na  $\sim 1440\text{ cm}^{-1}$ ,  $\sim 2850\text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 2920\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju vibracijama savijanja ( $\delta_{\text{C-H}}$ ) i simetričnih ( $\nu_{\text{symC-H}}$ ) i asimetričnih vibracija ( $\nu_{\text{asymC-H}}$ ) istezanja metilenske grupe, redom (Bock & Gierlinger, 2019; Li et al., 2018). Može se primetiti da, pored traka karakterističnih za vibracije savijanja Si-O-Si ( $\delta_{\text{Si-O-Si}}$ ) veze na  $\sim 470\text{ cm}^{-1}$ , simetričnih ( $\nu_{\text{symSi-O-Si}}$ ) i asimetričnih ( $\nu_{\text{asymSi-O-Si}}$ ) vibracija istezanja Si-O-Si veze na  $\sim 800\text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ , redom, kao i vibracijama istezanja Fe-O veze na  $\sim 580\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{Fe-O}}$ ), uočava se prisustvo nove apsorpcione trake na  $1721\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara traci za vibracije istezanja C=O ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) grupe koja potiče od MPS (Guo et al., 2006; Pantoja et al., 2010). Poređenjem spektara  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  i  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  uočava se pomeranje trake koja odgovara vibracijama istezanja ( $\nu_{\text{O-H}}$ ) hidroksilne grupe na  $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$  što je posledica stvaranja hemijske veze između OH grupe  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  i metoksi grupe MPS-a (Kamgar & Hassanajili, 2020). Takođe, primećuje se povećanje intenziteta apsorpcione trake na  $1634\text{ cm}^{-1}$  gde se preklapaju vibracije savijanja

hidroksilne grupe ( $\delta_{\text{O-H}}$ ) i vibracije istežanja ( $\nu_{\text{C=C}}$ ) C=C grupe (Pantoja et al., 2010; Pei et al., 2016).



**Slika 4.2.** FTIR spektri nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  i  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$ .

Pojava nove apsorpcione trake i povećanje intenziteta traka karakterističnih za vibracije OH grupe u FTIR spektru  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  potvrđuje da je došlo do reakcije metoksi grupa MPS-a sa hidroksi grupama prisutnim na  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$  i da se MPS hemijski vezao za nanočestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS$ .

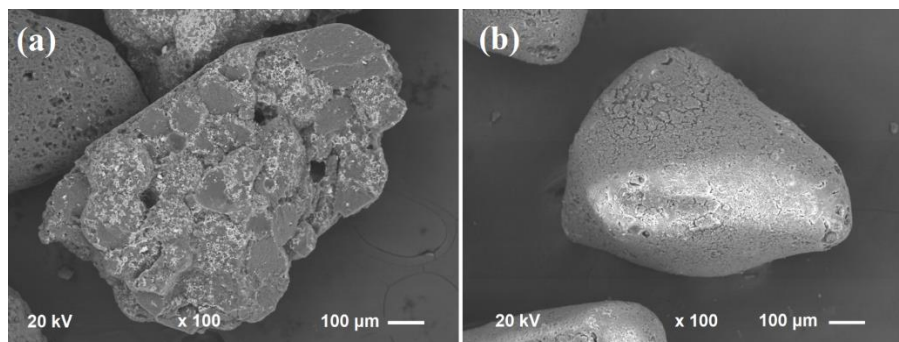
#### 4.2. Priprema polimernog nosača na bazi GMA i $\text{Fe}_3\text{O}_4$

U ovom poglavlju prvo će biti predstavljeni eksperimentalni rezultati i diskusija optimizacije uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  u cilju dobijanja čestica odgovarajuće veličine i oblika. Polimerni nosač sintetisan je postupkom suspenzione kopolimerizacije preko slobodnih radikala sa dodatkom obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  pri uslovima i na način opisan u eksperimentalnom delu ove doktorske disertacije. Kao monomer izabran je GMA (60 mas.%), zbog reaktivnog epoksidnog prstena, dok je kao umreživač korišćen dvofunkcionalni EGDMA (40 mas.%). U reakcionu smešu dodato je 10 mas.% obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  u cilju hemijskog ugrađivanja  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  umrežavanjem u polimernu matricu. Sintetisani polimerni nosač na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  prikazana je na Shemi 4.3. Sintetisani polimerni nosač na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  je detaljno okarakterisan različitim tehnikama karakterizacije u pogledu strukturnih, morfoloških i magnetnih svojstava.





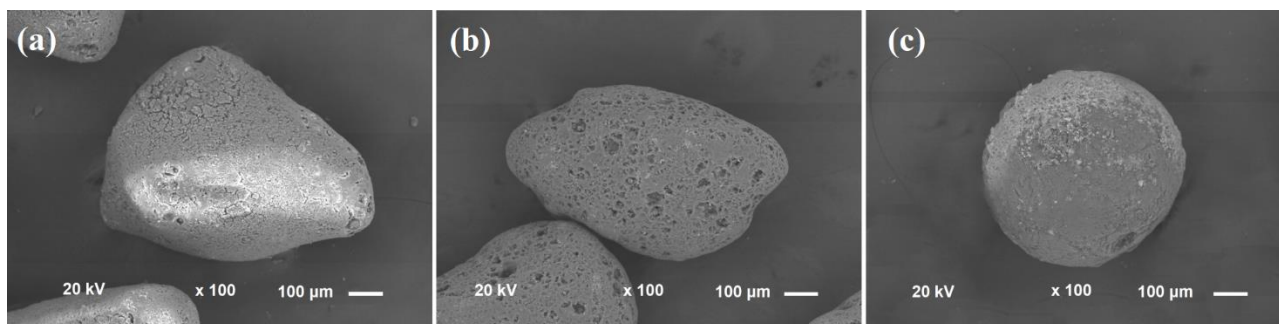
stabilizatora na morfološka svojstva dobijenih polimernih nosača ispitan je pomoću SEM. Dobijeni SEM snimci prikazani su na Slici 4.3.



**Slika 4.3.** SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 1PVA-*m*PGE-400 (a) i 1PVP-*m*PGE-400 (b) pri uvećanju od 100×.

Kao što se može primetiti na Slici 4.3. vrsta stabilizatora u početnoj reakcionoj smeši utiče na oblik čestica dobijenih polimernih nosača. Jasno se vidi da su, u prisustvu PVA kao stabilizatora (Slika 4.3a) dobijene čestice nepravilnog oblika sa iskrzanim ivicama. Kada je kao stabilizator korišćen PVP, čestice sintetisanog uzorka su nepravilne, ali delimično poprimaju oblik sfere (Slika 4.3b). Ovakav uticaj dva polimerna stabilizatora na oblik čestica dobijenih polimernih nosača može se objasniti različitim molarnim masama PVA i PVP korišćenih pri sintezi. PVP sa većom srednjom molarnom masom ( $M_w = 1 \times 10^6$  g/mol) poseduje mogućnost stabilizacije veće površine monomernih kapi prilikom suspenzije kopolimerizacije u odnosu na PVA ( $M_w = 8,9 \times 10^4$  g/mol -  $9,8 \times 10^4$  g/mol) (Horák & Shapoval, 2000). Takođe, visok stepen hidrolize PVA (98 %) može biti još jedan od razloga ovakvog uticaja na oblik dobijenih čestica polimernog nosača. Naime, Trofin i saradnici su u okviru svog istraživanja istakli da PVA sa visokim stepenom hidrolize (88 % - 98 %) nije dobar stabilizator suspenzije polimerizacije, jer se sa povećanjem stepena hidrolize menja hidrofobnost PVA, a samim tim i površinska aktivnost na granici monomera/voda, budući da PVA sa većim stepenom hidrolize nije u stanju da stvori zaštitni sloj oko kapljica monomera (Ferreira et al., 2003). Na osnovu dobijenih rezultata, u daljim koracima optimizacije kao stabilizator korišćen je PVP.

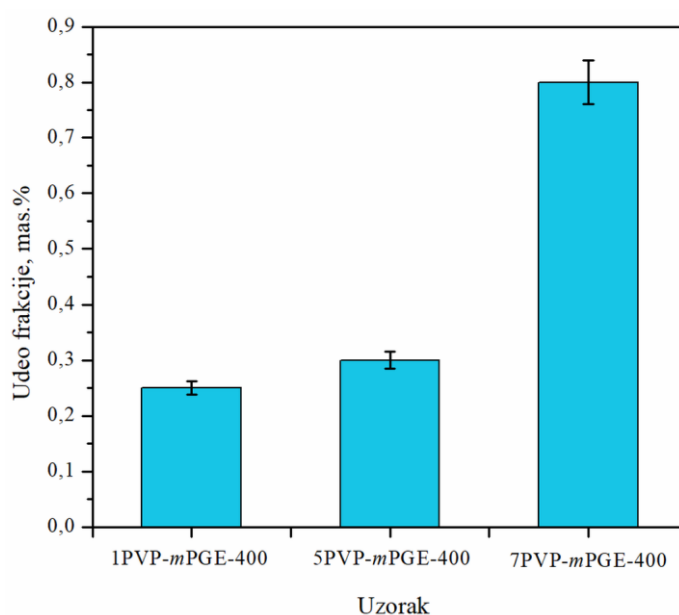
U drugom koraku optimizacije uslova sinteze variran je maseni udeo PVP stabilizatora. Sintetisani su uzorci polimernog nosača sa 1, 5 i 7 mas.% PVP u početnoj reakcionoj smeši pri čemu je brzina mešanja bila konstantna (400 obr/min) (uzorci su označeni kao 1PVP-*m*PGE-400, 5PVP-*m*PGE-400 i 7PVP-*m*PGE-400). Uticaj masenog udela PVP-a u vodenoj fazi na izgled i veličinu čestica dobijenih polimernih nosača ispitan je pomoću SEM i sito analize. Na Slici 4.4. su prikazani SEM snimci sintetisanih uzoraka polimernog nosača sa različitim masenim udelima stabilizatora.



**Slika 4.4.** SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 1PVP-*m*PGE-400 (a), 5PVP-*m*PGE-400 (b) i 7PVP-*m*PGE-400 (c) pri uvećanju od 100×.

Pokazalo se da povećanje masenog udela stabilizatora u početnoj reakcionoj smeši ima veliki uticaj na izgled čestica polimernog nosača. Povećanjem masenog udela stabilizatora od 1 do 7 mas.% oblik čestice se približava pravilnoj sferi. Čestice polimernog nosača sa 1 mas.% PVP su nepravilnog oblika (Slika 4.4a.). Sa dodatkom 5 mas.% PVP čestice polimernog nosača imaju izdužen elipsast oblik (Slika 4.4b.), dok se sa dodatkom 7 mas.% PVP u početnoj reakcionoj smeši dobijaju čestice pravilnog sfernog oblika (Slika 4.4c.).

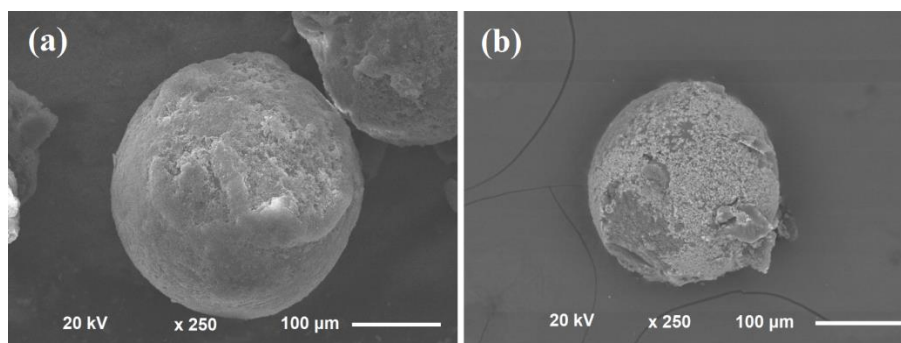
Na osnovu rezultata sito analize polimernih nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  dobijenih sa različitim masenim udelom PVP-a u početnoj reakcionoj smeši analiziran je uticaj masenog udela stabilizatora na veličinu čestica polimernog nosača (Slika 4.5.).



**Slika 4.5.** Uticaj masenog udela PVP-a na veličinu čestica polimernog nosača prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$ .

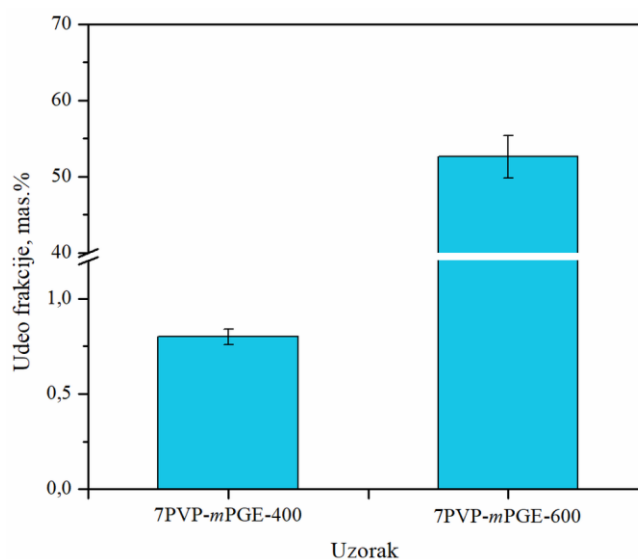
Marković i saradnici su optimizovali sintezu makroporoznih kompozita na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  u cilju dobijanja sfernih čestica u opsegu prečnika veličina od  $0,15 \text{ mm}$  do  $0,30 \text{ mm}$  kao najpogodnijih za dalju primenu u sorpciji organskih i neorganskih zagađujućih materija (Marković et al., 2017; Marković, 2019). Iz tog razloga kao ciljna frakcija optimizacije polimernog nosača uzeta je frakcija čestica prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$ . Na osnovu rezultata prikazanih na Slici 4.5. primećuje se da povećanje masenog udela stabilizatora u početnoj reakcionoj smeši, osim na oblik dobijenih čestica, ima uticaj i na veličinu čestica dobijenog polimernog nosača. Zapaženo je da sa povećanjem masenog udela PVP-a od 1 mas.% do 7 mas.%, dolazi do povećanja zastupljenosti čestica polimernog nosača prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$  od 0,25 do 0,80 mas.%. Smanjenje veličine čestica polimernog nosača sa povećanjem količine stabilizatora može biti posledica formiranja debljeg sloja stabilizatora oko monomernih kapi i bolje pokrivenosti čestice čime se snižava površinski napon između monomerne i vodene faze što rezultira manjim česticama sa ujednačenijom distribucijom veličine i sprečava međusobnu aglomeraciju (Ghimire et al., 2019; Tian et al., 2015). Dobijeni rezultati su u skladu sa podacima prikazanim u literaturi. Tian i saradnici su ispitivali uticaj koncentracije surfaktanta na oblik i veličinu dobijenih poli(GMA)/poli(stiren), PGMA/PS, čestica gde je primećeno da se sa postepenim povećanjem količine stabilizatora nepravilnosti na površini PGMA/PS čestica postepeno smanjuju i čestice dobijaju oblik pravilne sfere. Takođe, pored uticaja na oblik, povećanje količine stabilizatora je istovremeno uticalo i na smanjenje veličine dobijenih PGMA/PS čestica (Tian et al., 2015). Na osnovu dobijenih rezultata SEM i sito analize može se zaključiti da je za dobijanje čestica polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  pravilnog sfernog oblika neophodno da maseni udeo PVP-a kao stabilizatora u početnoj reakcionoj smeši bude 7 mas.%.

U trećem koraku optimizacije uslova sinteze ispitan je uticaj brzine mešanja reakcione smeše na izgled i veličinu čestica polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Varirana je brzina mešanja početne reakcione smeše (400 obr/min i 600 obr/min) pri konstantnom masenom udelu stabilizatora od 7 mas.% PVP. Uzorci polimernih nosača su označeni kao 7PVP-*m*PGE-400 i 7PVP-*m*PGE-600. Uticaj brzine mešanja reakcione smeše na izgled i veličinu čestica dobijenih polimernih nosača ispitan je pomoću SEM i sito analize. Na Slici 4.6. su prikazani SEM snimci sintetisanih uzoraka polimernog nosača pri različitim brzinama mešanja reakcione smeše.



**Slika 4.6.** SEM mikrografije izgleda čestica polimernog nosača 7PVP-*m*PGE-400 (a) i 7PVP-*m*PGE-600 (b) pri uvećanju od 250 $\times$ .

Prikazane SEM mikrografije pokazuju da su čestice polimernog nosača 7PVP-*m*PGE-400 i 7PVP-*m*PGE-600 pravilnog sfernog oblika. Primećuje se da brzina mešanja reakcione smeše ima uticaj na veličinu dobijenih čestica polimernog nosača. Naime, čestice polimernog nosača 7PVP-*m*PGE-600 su bile sitnije u odnosu na čestice polimernog nosača 7PVP-*m*PGE-400. Na osnovu prikazanih SEM mikrografija može se zaključiti da brzina mešanja reakcione smeše nema uticaj na izgled čestica dobijenih polimernih nosača, ali značajno utiče na veličinu dobijenih čestica što potvrđuju i rezultati sito analize. Na Slici 4.7. uočava se da uzorak polimernog nosača dobijen pri brzini mešanja od 400 obr/min poseduje udeo čestica polimernog nosača prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$  od 0,8 mas.% dok uzorak polimernog nosača dobijen pri brzini mešanja od 600 obr/min poseduje udeo čestica polimernog nosača prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$  u iznosu od 52,6 mas.%. Ovakav uticaj brzine mešanja na veličinu čestica dobijenog nosača direktna je posledica boljeg dispergovanja kapi organske faze u vodenoj fazi. Slični rezultati uticaja brzine mešanja na veličinu polimernih čestica zapaženi su i u literaturi (Hérault et al., 2002).



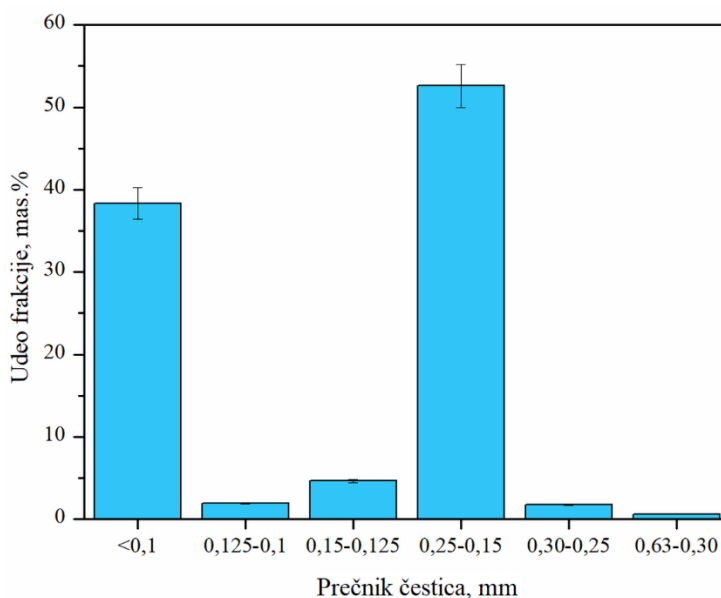
**Slika 4.7.** Uticaj brzine mešanja na veličinu čestica polimernog nosača prečnika  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$ .

Rezultati SEM i sito analize poslužili su za optimizaciju uslova sinteze polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . Zaključeno je da su čestice odgovarajućeg izgleda i veličine polimernog nosača dobijene sa 7 mas.% PVP-a i pri brzini mešanja od 600 obr/min. U daljim eksperimentima za pripremu polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  korišćena je sinteza sa optimizovanim masenim udelom PVP-a i optimizovanom brzinom mešanja.

## 4.2.2. Karakterizacija polimernog nosača na bazi GMA i $\text{Fe}_3\text{O}_4$

### 4.2.2.1. Određivanje granulometrijskog sastava *mPGE60*

Pod optimalnim uslovima sinteze (količina stabilizatora od 7 mas.% PVP-a i brzina mešanja od 600 obr/min) sintetisan je uzorak polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , *mPGE60*, sa 60 mas.% GMA uz dodatak 10 mas.% obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS@MPS. Dobijenom *mPGE60* određen je granulometrijski sastav pomoću sito analize. Rezultati sito analize dobijeni prosejavanjem *mPGE60* kroz sita prečnika 1,0; 0,63; 0,30; 0,25; 0,15; 0,125 i 0,1 mm su predstavljeni na Slici 4.8.



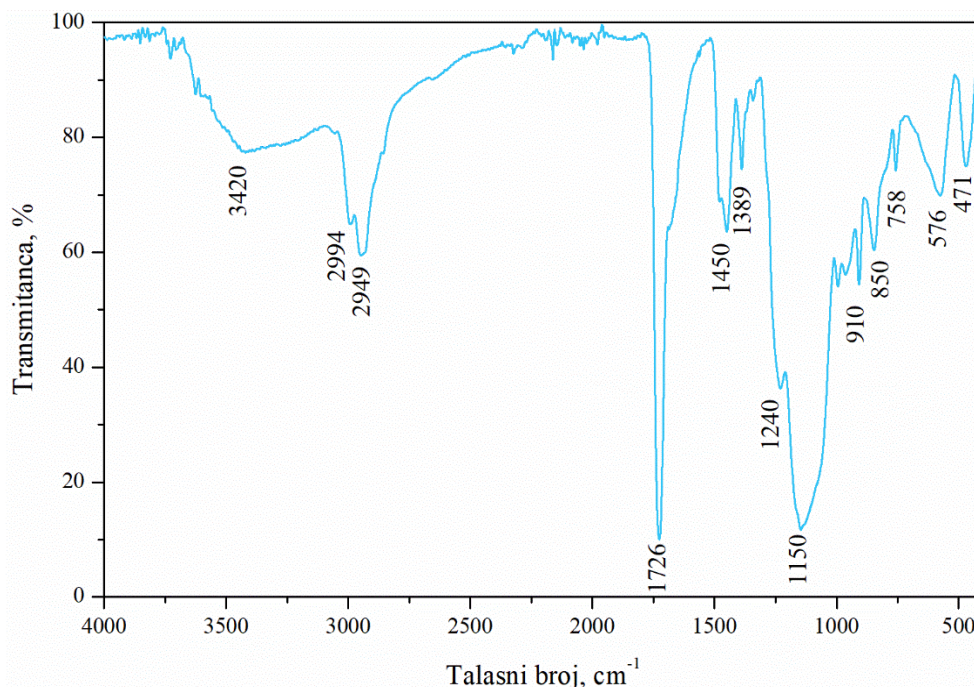
**Slika 4.8.** Raspodela veličine čestica polimernog nosača *mPGE60*.

Sito analiza polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  je pokazala da *mPGE60* poseduje udele frakcija različitog prečnika, pri čemu je najzastupljenija frakcija čestica sa prečnikom 0,15 mm < d < 0,25 mm, u iznosu od oko 52,6 mas.%. Nakon nje, najviše je bila zastupljena frakcija sa prečnikom čestica manjim od 0,1 mm u iznosu od oko 38,3 mas.%. Prisustvo ostalih frakcija različitih dimenzija je zanemarljivo i kreće se u udelima ispod 4,6 mas.%. Ovakva raspodela dobijenih čestica *mPGE60* je poželjna, jer je sinteza polimernog nosača optimizovana za dobijanje upravo najvećeg udela čestica frakcije od 0,15 mm do 0,25 mm. Čestice poli(GME-*co*-EGDMA) kopolimera i njegovog kompozita sa magnetitom, frakcija od 0,15 mm do 0,50 mm odnosno od 0,15 mm do 0,30 mm, su se u literaturi pokazale kao najpogodnije za primenu kao punjenja kolona za gasnu hromatografiju (Nastasović et al., 2015), kao sorbenti različitih organskih i neorganskih zagađujućih materija (Sandić et al., 2011) i kao nosači enzima (Miletić et al., 2009). Uzimajući u obzir sve navedeno, dobijena frakcija prečnika čestica od 0,15 mm do 0,25 mm će biti korišćena za dalja istraživanja.



#### 4.2.2.2. Određivanje hemijske strukture *mPGE60*

Analiza površinskih grupa polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  određena je FTIR spektroskopijom. Na Slici 4.9. je prikazan FTIR spektar polimernog nosača snimljen u rasponu talasnih brojeva  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ .



Slika 4.9. FTIR spektar polimernog nosača *mPGE60*.

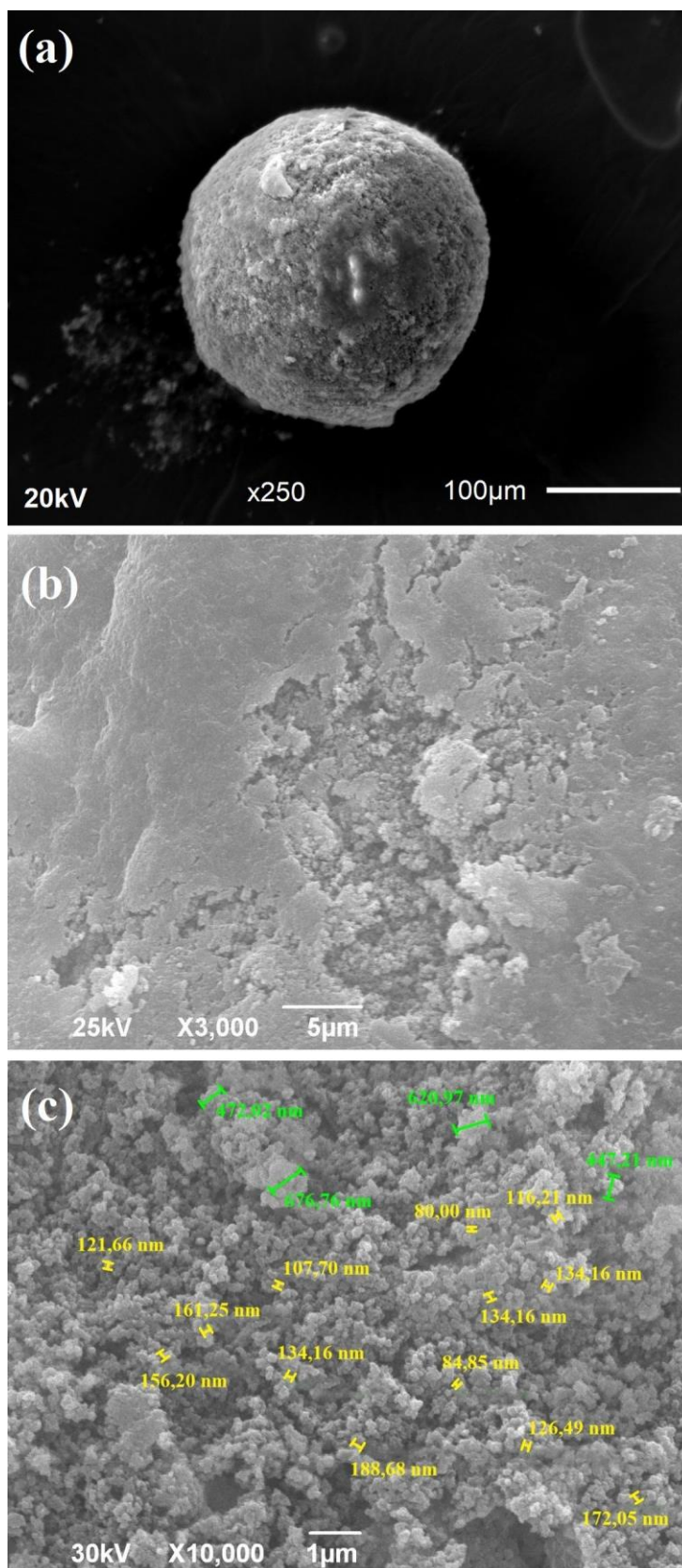
Na FTIR spektru *mPGE60*, uočava se jaka apsorpciona traka na  $1726\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara vibraciji istezanja  $\text{C}=\text{O}$  grupe ( $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ ) (Maciejewska et al., 2024). Trake karakteristične za epoksidni prsten koje odgovaraju vibracijama istezanja  $\text{C}-\text{O}$  veze ( $\nu_{\text{C}-\text{O}}$ ) uočavaju se na  $\sim 850$ ,  $\sim 910$  i  $\sim 1240\text{ cm}^{-1}$  (Simsek et al., 2023). Takođe, primećuje se apsorpciona traka karakteristična za epoksidni prsten koja potiče od vibracije istezanja  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$  veze ( $\nu_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$ ) na  $\sim 1150\text{ cm}^{-1}$  (Tahir et al., 2021). Apsorpcione trake na  $\sim 1450$  i  $\sim 1390\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju simetričnim ( $\delta_{\text{symC}-\text{H}}$ ) i asimetričnim ( $\delta_{\text{asymC}-\text{H}}$ ) vibracijama savijanja  $\text{C}-\text{H}$  veze metil i metilenske grupe. Apsorpcione trake na  $\sim 2950\text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 2990\text{ cm}^{-1}$  potiču od simetričnih ( $\nu_{\text{sym C}-\text{H}}$ ) i asimetričnih ( $\nu_{\text{asym C}-\text{H}}$ ) vibracija istezanja  $\text{C}-\text{H}$  veze metil i metilenske grupe, redom (Marković et al., 2019; Tadić et al., 2022b).

Pored traka koje odgovaraju hemijskoj strukturi polimerne matrice, javlja se traka na  $\sim 580\text{ cm}^{-1}$  koja odgovara vibracijama istezanja  $\text{Fe}-\text{O}$  veze ( $\nu_{\text{Fe}-\text{O}}$ ) (Winiarczyk et al., 2021). Takođe, na spektru se uočavaju trake karakteristične za vibracije savijanja ( $\delta_{\text{Si}-\text{O}-\text{Si}}$ ), kao i simetrične ( $\nu_{\text{sym Si}-\text{O}-\text{Si}}$ ) i asimetrične ( $\nu_{\text{asym Si}-\text{O}-\text{Si}}$ ) vibracije istezanja  $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$  veze na  $\sim 470\text{ cm}^{-1}$ ,  $\sim 750\text{ cm}^{-1}$ , redom (Dayana et al., 2019.; Yusuf, 2023). Široka apsorpciona traka na  $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$  odgovara vibracijama istezanja ( $\nu_{\text{O}-\text{H}}$ ) hidroksilne grupe (Kamgar & Hassanajili, 2020). Rezultati FTIR analize jasno ukazuju na uspešnu ugradnju obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}@\text{MPS}$  u polimernu strukturu.

#### 4.2.2.3. Određivanje morfoloških i teksturalnih svojstava *mPGE60*

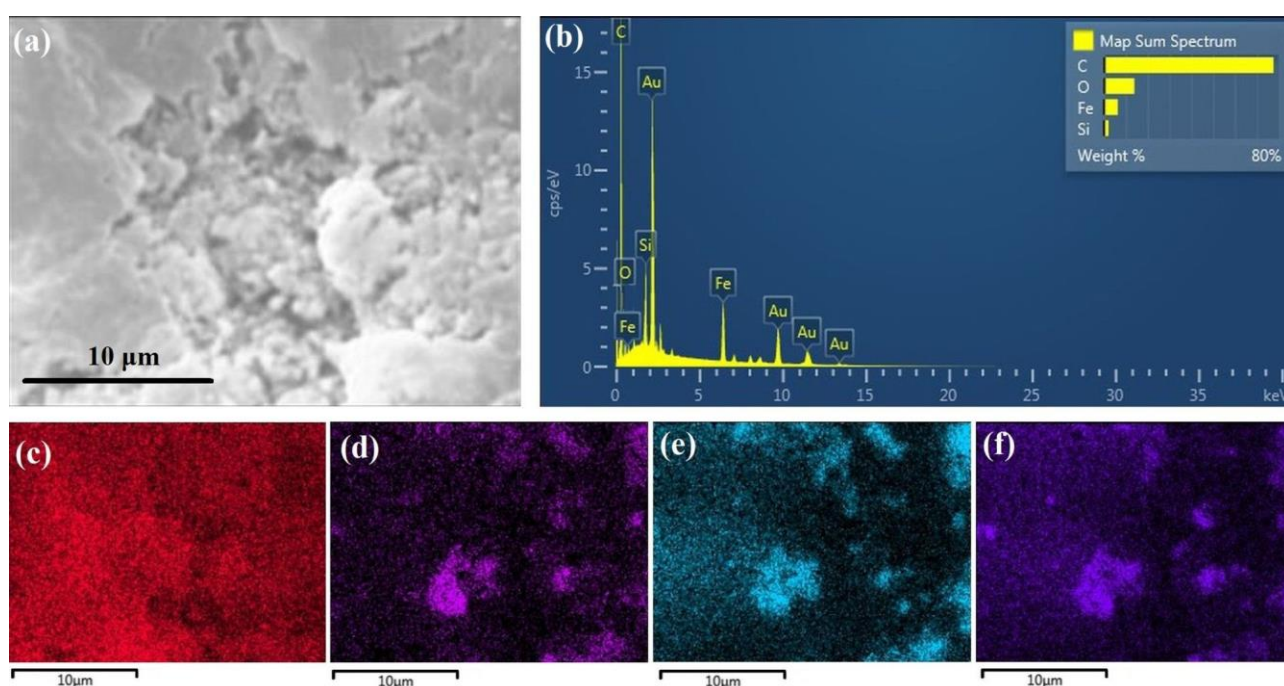
Za ispitivanje morfologije površine i poprečnog preseka *mPGE60* korišćena je SEM analiza. SEM mikrografija jasno pokazuje trodimenzionalnu globularnu strukturu (Slika 4.10a.). Na Slici 4.10b. se uočava da je površina čestice polimernog nosača hrapava što je posledica formiranja pora tokom procesa kopolimerizacije. SEM mikrografije poprečnog preseka pri uvećanju od  $10000\times$  (Slika 4.10c.) ukazuju na poroznu strukturu sastavljenu od aglomerata globula razdvojenih

šupljinama. Primećuje se da su prečnici globula u opsegu od 85 nm do 190 nm (označeni žutom bojom), dok su aglomerati globula od 450 nm do 680 nm (označeni zelenom bojom).



**Slika 4.10.** SEM mikrografije polimernog nosača *mPGE60*: izgled čestice pri uvećanju 250× (a), površina čestice pri uvećanju 3000× (b) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (c).

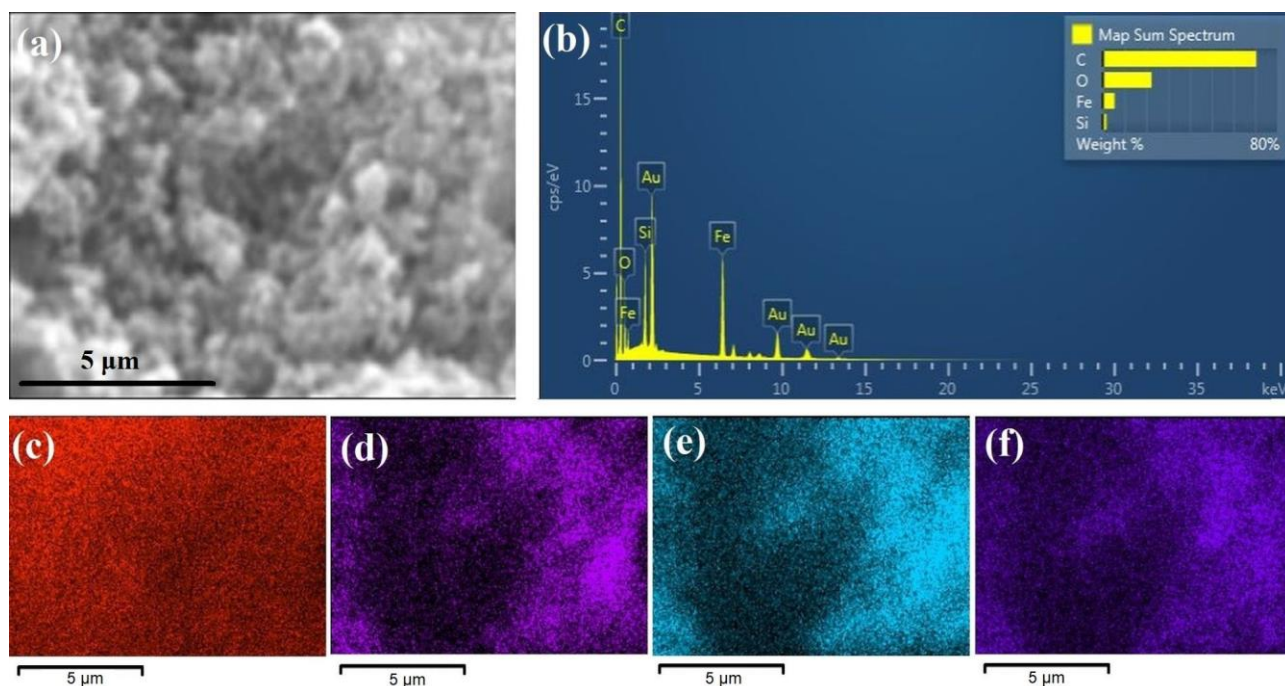
Zajedno sa SEM analizom izvršena je dodatna potvrda sastava površine čestica polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  pomoću EDS analize koja je omogućila identifikaciju elemenata na dubini od 100 do 1000 nm od površine (Slika 4.11.). Jasniji uvid u prostorni raspored elemenata na površini čestica *mPGE60* omogućilo je EDS mapiranje po elementima. EDS spektar skeniranog dela površine čestice *mPGE60* pokazuje prisustvo svih očekivanih elemenata (C, O, Fe i Si) (Slika 4.11b.). Rezultati su pokazali da je na površini *mPGE60* čestica najzastupljeniji element ugljenik sa 77,7 mas.%. Pik gvožđa (6,3 mas.%) ukazuje na uspešnu inkorporaciju magnetita u polimernoj matrici, dok prisustvo pika Si (2,1 mas.%) potvrđuje uspešno oblaganje  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanočestice TEOS-om i MPS-om. U SEM-EDS analizi, plave i ljubičaste tačke pokazuju prostorni raspored atoma Fe i Si. Kao što je objavljeno u literaturi, dobro dispergovane tačke koje pokazuju prisustvo elemenata iz kojih se sastoje nanočestice mogu ukazivati na to da su nanočestice ravnomerno raspoređene u polimernoj matrici bez aglomeracije (Wang et al., 2022). Na osnovu EDS mapiranja površine čestice *mPGE60* po elementima, može se primetiti da su atomi Fe (Slika 4.11e.) i Si (Slika 4.11f.) ravnomerno raspoređeni po celoj površini uzorka, što ukazuje na to da su obložene nanočestice  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  homogeno raspoređene po površini *mPGE60*.



**Slika 4.11.** SEM mikrografija skeniranog dela (a), SEM-EDS spektar, EDS mape elemenata C (c), O (d), Fe (e) i Si (f) površine čestica *mPGE60*.

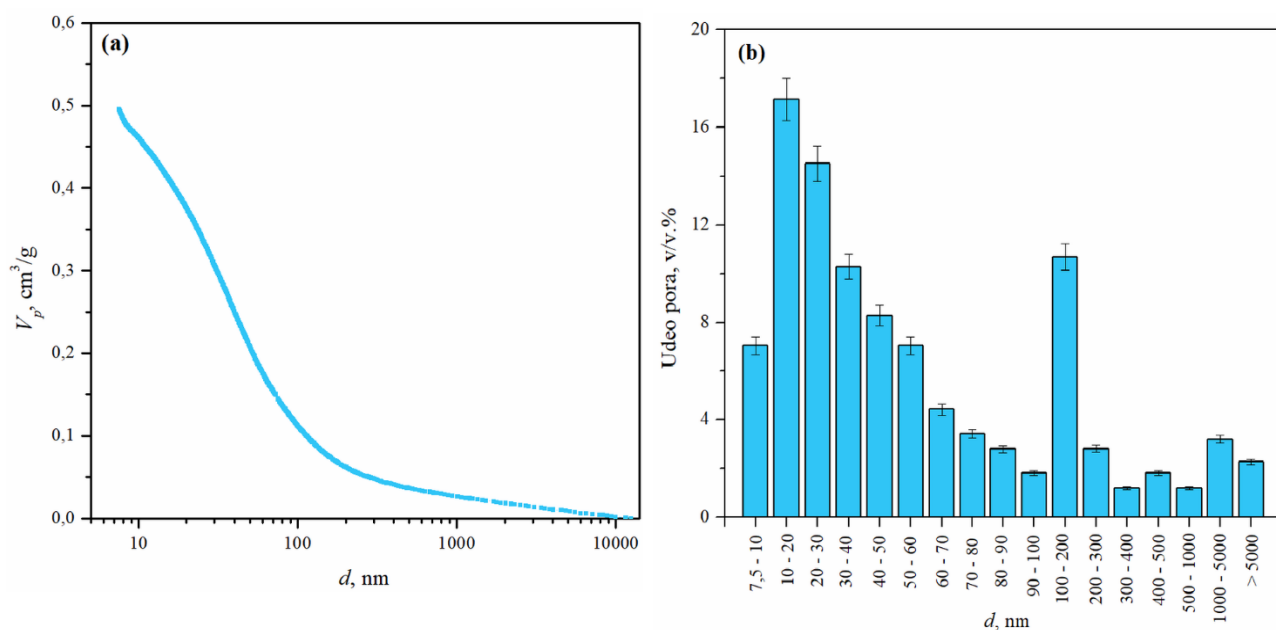
Pored SEM-EDS analize površine čestica, izvršena je i identifikacija i utvrđen prostorni raspored elemenata na poprečnom preseku čestica *mPGM60*. Dobijeni EDS spektar poprečnog preseka zajedno sa EDS mapama elemenata prikazan je na Slici 4.12. Na EDS spektru poprečnog preseka čestice (Slika 4.12b.) uočava se prisustvo C, O, Fe i Si elemenata. Kao i na EDS spektru površine čestice, i ovde je najzastupljeniji element ugljenik sa 70,4 mas.%. Prisustvo pika silicijuma (1,7 mas.%) ukazuje na uspešno oblaganje nanočestica magnetite sa TEOS-om i MPS-om, dok je pik gvožđa (5,4 mas.%) potvrdio ugradnju obloženih  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  nanočestica u polimernu matricu. Može se primetiti da su maseni procenti gvožđa i silicijuma približno isti na površini i poprečnom preseku čestica *mPGM60* što ukazuje da su se obložene  $\text{Fe}_3\text{O}_4@TEOS@MPS$  homogeno ugradile u polimernu matricu, što je potvrđeno i EDS mapama Fe (Slika 4.12e.) i Si (Slika 4.12f.).





**Slika 4.12.** SEM mikrografija skeniranog dela (a), SEM-EDS spektar, EDS mape elemenata C (c), O (d), Fe (e) i Si (f) poprečnog preseka čestica *mPGE60*.

Parametri porozne strukture *mPGE60* određeni su komplementarnim metodama, živinom porozimetrijom i niskotemperaturnom fizisorpcijom azota. Poroznost i raspodela zapremine pora po veličini njihovih prečnika u oblasti od 7,5 nm do 15000 nm određena je metodom živine porozimetrije i dobijeni rezultati su prikazani na Slici 4.13.



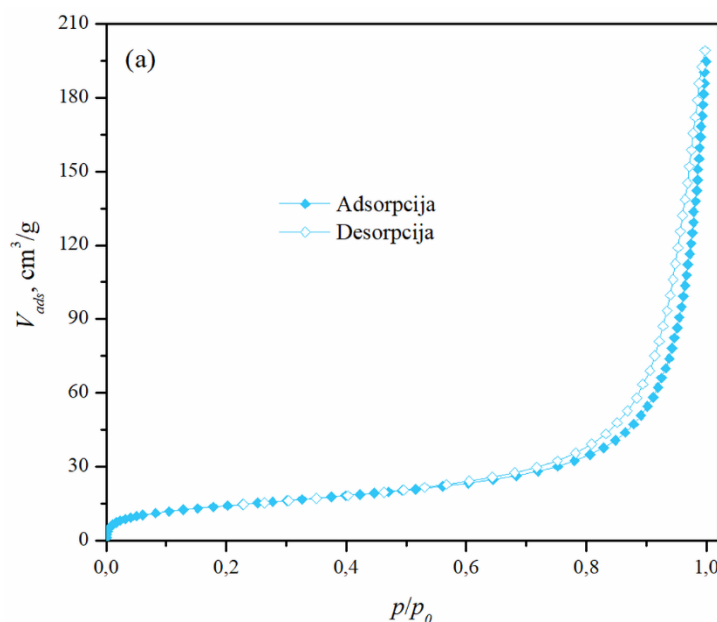
**Slika 4.13.** Integralna kriva raspodele zapremine pora po prečnicima pora (a) i histogram raspodele zastupljenosti pora u određenom opsegu prečnika pora (b) za *mPGE60*.

Na Slici 4.13a. se uočava da integralna kriva raspodele zapremine pora po veličini prečnika pora za ispitivani polimerni nosač ima inverzni S oblik. Takođe, može se primetiti da prikazana kriva nije dostigla plato u oblasti veličine prečnika pora ispod 50 nm. Porast zapremine pora u mezo- i mikroporoznoj oblasti (< 50 nm) ukazuje na prisustvo manjih mezopora i mikropora. Relevantni parametri poroznosti polimernog nosača, *mPGE60*, izračunati su iz integralne krive



raspodele zapremine pora po prečnicima pora. Specifična površina polimernog nosača iznosi  $S_{Hg} = 70 \text{ m}^2/\text{g}$ , dok je specifična zapremina pora,  $V_s = 0,495 \text{ cm}^3/\text{g}$ . Prečnik pora koji odgovara polovini zapremine pora,  $d_{V/2}$ , je 41 nm. Na Slici 4.13b. prikazan je histogram distribucije pora po prečnicima pora. Može se uočiti da su u uzorku polimernog nosača jako dominantne pore u oblasti ispod 50 nm (~ 57 v/v. %.), pri čemu su pore u oblasti prečnika 10 - 20 nm najzastupljenije u iznosu od 17 v/v. %.

Kako se metoda živine porozimetrije koristi za određivanje parametara poroznosti u intervalu od 7,5 nm do 15000 nm, potrebno je utvrditi prisustvo manjih pora niskotemperaturnom fizisorpcijom azota. Dobijena adsorpciono-desorpciona izoterma azota za *mPGE60* prikazana je na Slici 4.14.

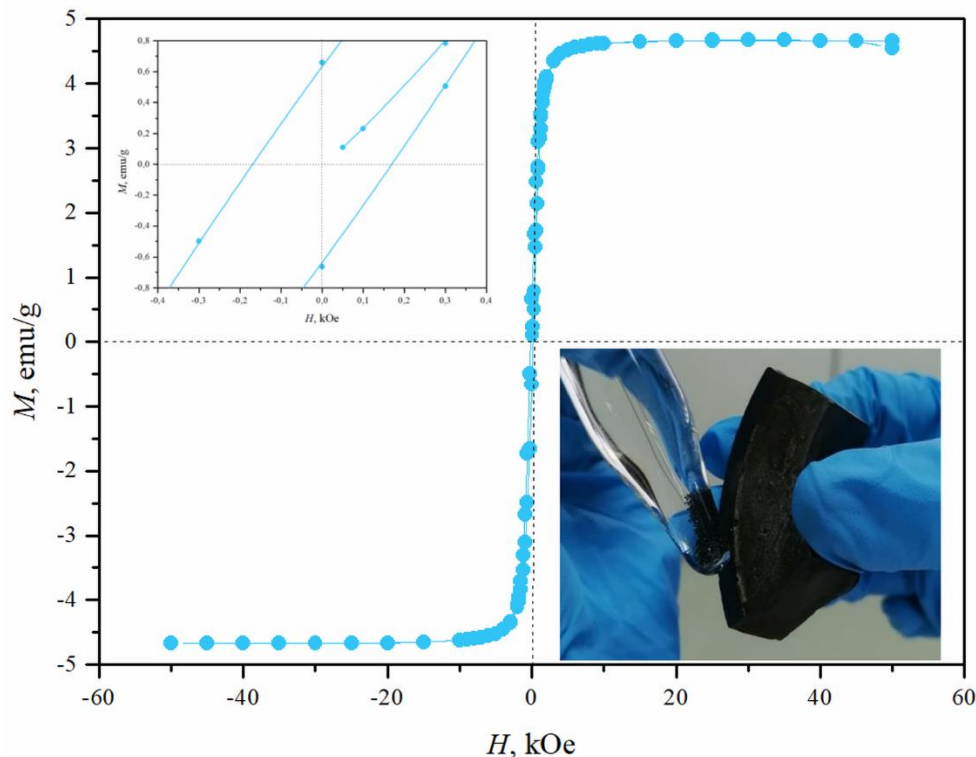


**Slika 4.14.** Adsorpciono-desorpcione izoterme azota *mPGE60*.

Može se primetiti da pri niskim relativnim pritiscima izoterma ima reverzibilni deo, što prema IUPAC klasifikaciji, odgovara tipu II izoterme, dok pri visokim relativnim pritiscima izoterma poseduje histeretiznu petlju tipa H3 (Thommes et al., 2015). Ovakav izgled izoterme je karakterističan za mezoporozne materijale koji poseduju čestice ili agregate pločastog oblika, što je u skladu sa rezultatima dobijenih SEM analizom prikazanim na Slici 4.10c. Na osnovu adsorpciono-desorpcione izoterme azota za *mPGE60*, primenom BET jednačine, izračunate su vrednosti konstante,  $C_{BET}$  i zapremine monosloja,  $V_m$ , na osnovu kojih se izračunava specifična površina,  $S_{BET}$  (Ladavos et al., 2012). Izračunate vrednosti za  $C_{BET}$  i  $V_m$  iznose 95 i 11,702  $\text{cm}^3/\text{g}$ , redom, na osnovu kojih je dobijena vrednost  $S_{BET}$  u iznosu od 51  $\text{m}^2/\text{g}$ . Vrednost ukupne zapremine pora ( $V_{0,98}$ ) izračunata prema Gurvič metodi za  $p/p_0 = 0,98$  iznosila je 0,207  $\text{cm}^3/\text{g}$  (Rouquerol et al., 1999). Primenom BJH metode, izračunata je zapremina pora u mezoporoznoj oblasti koja iznosi 0,2247  $\text{cm}^3/\text{g}$  i određen je najzastupljeniji prečnik pora,  $D_{max}$ , koji iznosi 19 nm. Ova vrednost je u skladu sa rezultatima raspodele zastupljenosti pora dobijenih živinom porozimetrijom. Zapremina pora u mikroporoznoj oblasti, izračunata DR metodom, ima vrednost 0,0193  $\text{cm}^3/\text{g}$ . Na osnovu dobijenih rezultata izvodi se zaključak da se dobijeni polimerni nosač na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  može klasifikovati kao mezoporozni materijal.

#### 4.2.2.4. Određivanje magnetnih svojstava *mPGE60*

Magnetna svojstva polimernog nosača *mPGE60* analizirana su SQUID magnetometrom. Na Slici 4.15. prikazana je kriva magnetizacije u funkciji od jačine primenjenog magnetnog polja merena na temperaturi od 300 K u magnetnom polju od 5 T.

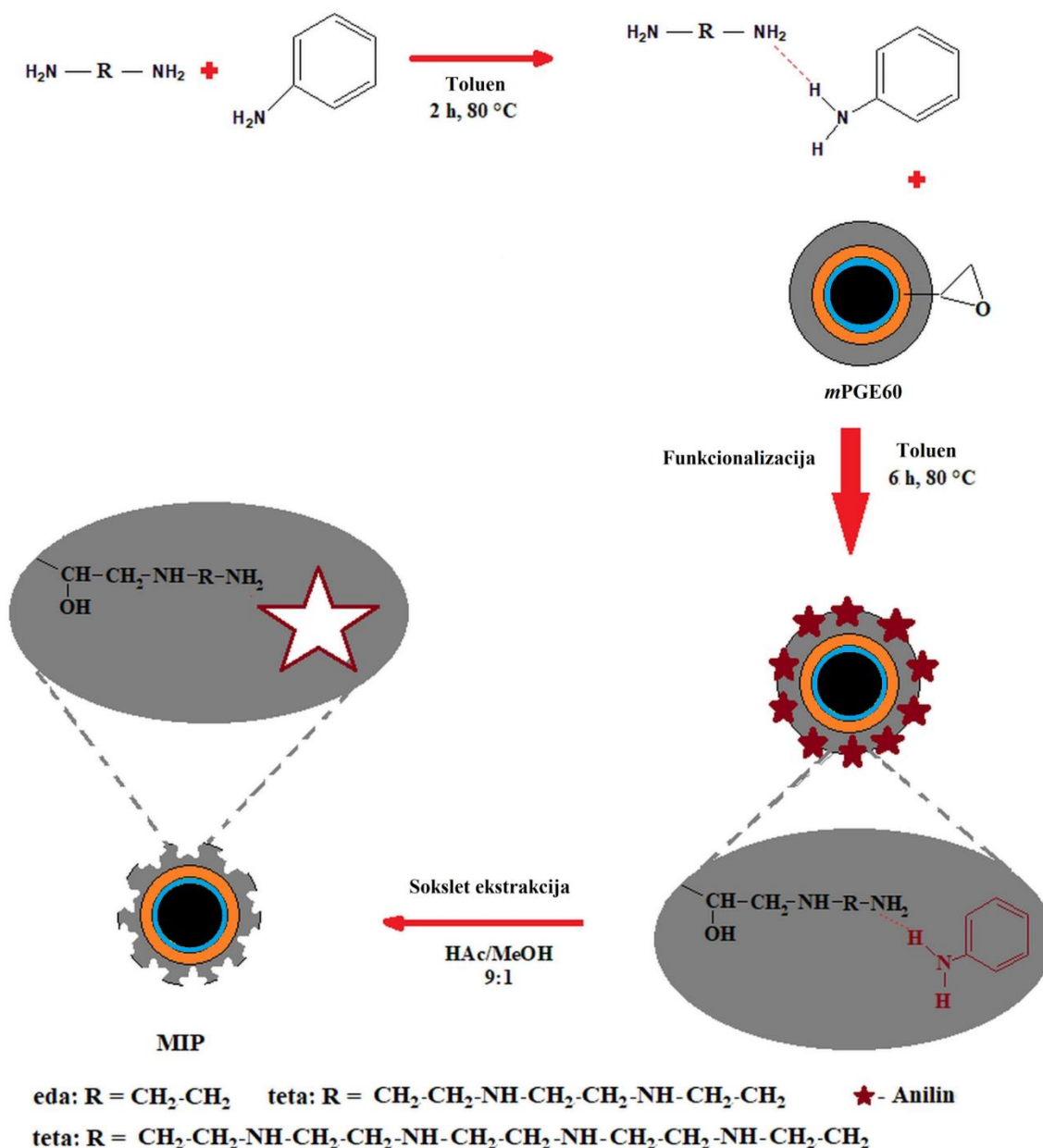


**Slika 4.15.** Izotermalna kriva magnetizacije za *mPGE60* snimljena na 300 K. Umetak gore levo prikazuje uvećanu izotermalnu krivu magnetizacije na nižim vrednostima jačine magnetnog polja. Umetak dole desno prikazuje ponašanje *mPGE60* u prisustvu spoljašnjeg magnetnog polja.

Prikazana izotermalna kriva magnetizacije pokazuje rast do vrednosti magnetnog polja od  $\sim 20$  kOe nakon čega dostiže magnetizaciju zasićenja,  $M_s$ , odnosno ulazi u plato. Vrednost  $M_s$  za analizirani uzorak određena je ekstrapolacijom magnetizacije u zavisnosti od  $1/H$  i iznosi 4,8 emu/g. Ovako niska vrednost magnetizacije zasićenja posledica je smanjenja zapreminske frakcije obloženih nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ TEOS@MPS u odnosu na polimernu matricu koja prigušuje magnetne momente nanočestica  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  obloženih TEOS-om i MPS-om (Bezdrozhev et al., 2017). Sličan efekat polimerne matrice na magnetizaciju zasićenja zapažen je u literaturi (Marković et al., 2017; Suručić et al., 2023). Iako uzorak *mPGE60* poseduje nisku vrednost  $M_s$  on reaguje na dejstvo spoljašnjeg magnetnog polja što se vidi na Slici 4.15. umetnuta dole desno. Izotermalna kriva magnetizacije poseduje niske vrednosti koercitivnog pola ( $H_c = 0,171$  kOe) i zaostale magnetizacije ( $M_r = 0,631$  emu/g), što je karakteristika superparamagnetizma. Vrednost  $M_r/M_s$  daje informaciju o magnetnoj strukturi uzorka odnosno da li analizirani uzorak poseduje multidomensku ( $M_r/M_s < 0,5$ ) ili jednodomensku strukturu ( $M_r/M_s > 0,5$ ) (Jahan et al., 2021). Polimerni nosač *mPGE60* ima vrednost  $M_r/M_s$  od 0,131 što ukazuje da *mPGE60* poseduje multidomensku strukturu i ima skoro uniformnu magnetizaciju (Bezdrozhev et al., 2017).

### 4.3. Sinteza i karakterizacija MIP-ova

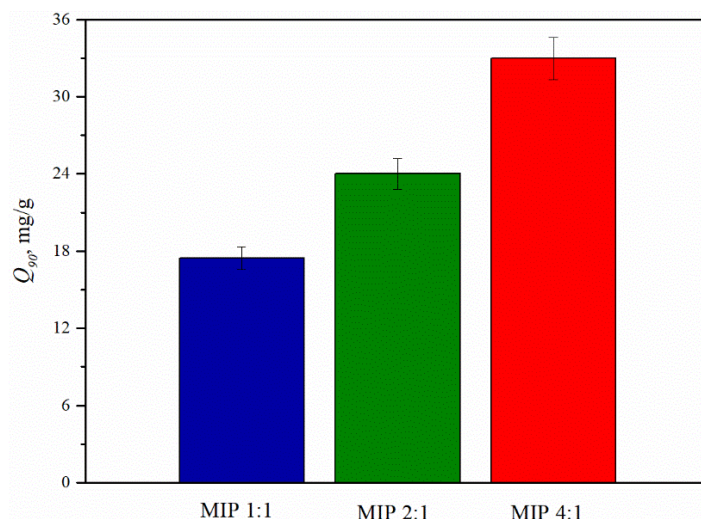
U prvom delu ovog poglavlja biće prikazani rezultati optimizacije molskog odnosa liganda i šablona, u cilju dobijanja najefikasnijeg MIP-a. Nakon optimizacije, sintetisani su MIP-ovi metodom površinskog otiskivanja pri uslovima i na način opisan u eksperimentalnom delu ove doktorske disertacije. Kao polimerni nosač korišćen je prethodno sintetisan i okarakterisan *m*PGE60 (Poglavlje 4.2.), kao šablon izabran je predstavnik primarnih aromatičnih amina – anilin, a kao ligandi su korišćeni eda, teta i peha. Sinteza MIP-ova prikazana je na Shemi 4.4. Dobijeni MIP-ovi su detaljno okarakterisani različitim tehnikama i metodama karakterizacije u pogledu strukturnih, morfoloških i teksturalnih svojstava.



Shema 4.4. Priprema MIP-ova metodom površinskog otiskivanja.

### 4.3.1. Optimizacija odnosa ligand:šablon pri sintezi MIP-a

U cilju dobijanja optimalnog molskog odnosa ligand:šablon pripremljena su tri MIP-a metodom površinskog otiskivanja sa 1, 2 ili 4 puta većom količinom liganda TETA u odnosu na konstantnu količinu anilina (0,02 mol) (uzorci označeni kao MIP 1:1, MIP 2:1, MIP 4:1). Dobijeni MIP-ovi ispitani su kao sorbenti za uklanjanje anilina iz vodenih rastvora pri nepodešenoj pH vrednosti i na osnovu sorpcionog kapaciteta određen je najbolji odnos ligand:šablon. Rezultati su prikazani na Slici 4.16.



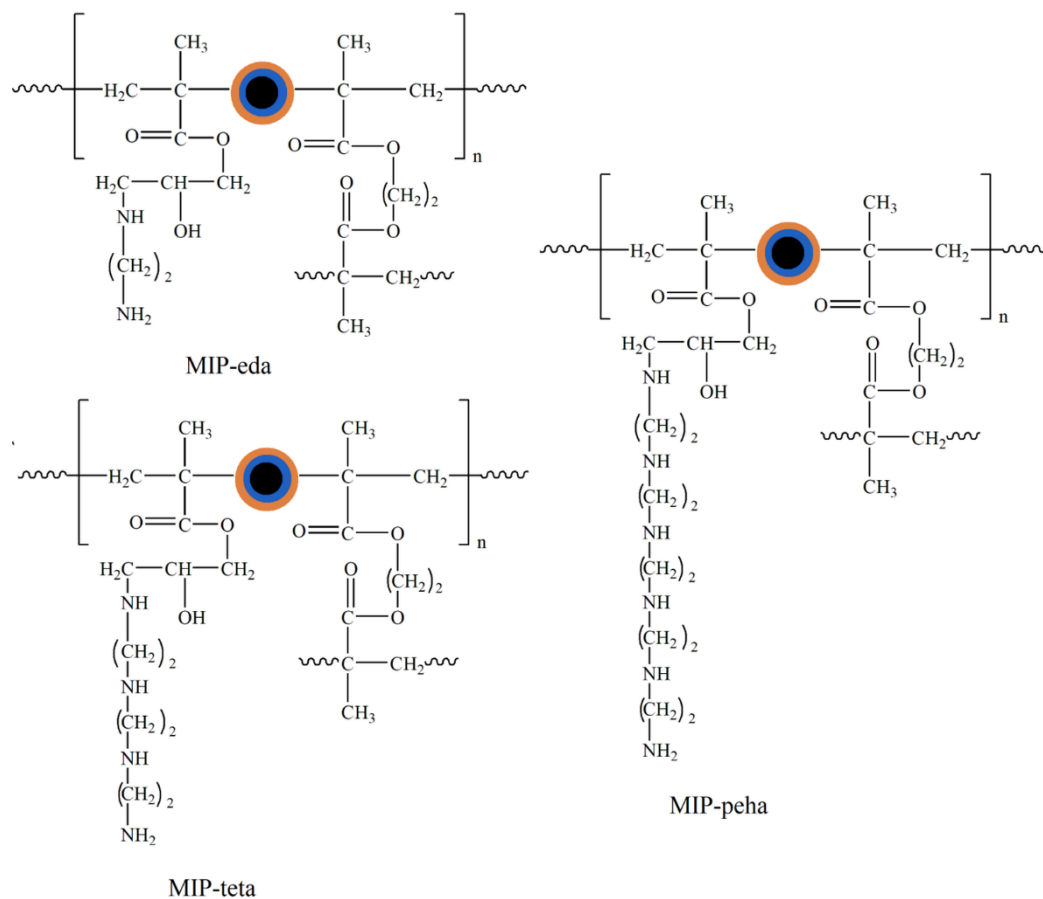
**Slika 4.16.** Sorpcija anilina pomoću MIP 1:1, 2:1, 4:1 iz vodenih rastvora ( $C_0 = 100$  mg/l, doza sorbenta = 1 g/l,  $t = 90$  min,  $T = 25 \pm 0,2$  °C, pH = 6).

Uočava se da je najbolji sorpcioni kapacitet od 33 mg/g postignut za MIP 4:1, dok je manji sorpcioni kapacitet od 24 mg/g i 17,5 mg/g ostvaren pomoću MIP 2:1 i MIP 1:1, redom. Različiti kapaciteti sorpcije MIP 4:1, MIP 2:1 i MIP 1:1 mogu biti posledica različite morfologije analiziranih MIP-ova. Visoki odnosi ligand:šablon su pogodniji za kontrolu morfologije MIP-a, stabilizaciju utisnutih mesta i obezbeđivanje mehaničke stabilnosti (Cheong et al., 2013). Sa druge strane, potrebno je da ovako sintetisan MIP ima izvestan stepen fleksibilnosti kako bi šablon mogao lako da uđe u šupljine (Liu et al., 2006). Takođe, količina dostupnih aktivnih mesta za koje bi se anilin vodonično vezao mogu imati uticaj na različit kapacitet sorpcije anilina iz vodenih rastvora. Koncentracija dostupnih amino grupa na tri analizirana MIP-a određena je kiselo-baznim titracijama. Za uzorak MIP 1:1, MIP 2:1, MIP 4:1 koncentracija amino grupa iznosi 1,52 mmol/g, 1,67 mmol/g, 2,15 mmol/g, redom. Na osnovu rezultata kiselo-baznih titracija primećuje se da sa povećanjem molskog odnosa ligand:šablon od 1:1 do 4:1 povećava koncentracija dostupnih amino grupa, što za direktnu posledicu ima povećan kapacitet sorpcije. U daljim eksperimentima za pripremu MIP-ova korišćena je sinteza sa 4:1 molskim odnosom ligand:šablon. Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, u kojima je uočeno da veliki broj autora za pripremu različitih vrsta MIP-ova koristi upravo ovaj odnos ligand:šablon (Bakhtiar et al., 2019; Cheong et al., 2013.; Cormack & Elorza, 2004; Hasanah et al., 2021; Liu et al., 2006).

### 4.3.2. Karakterizacija MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha

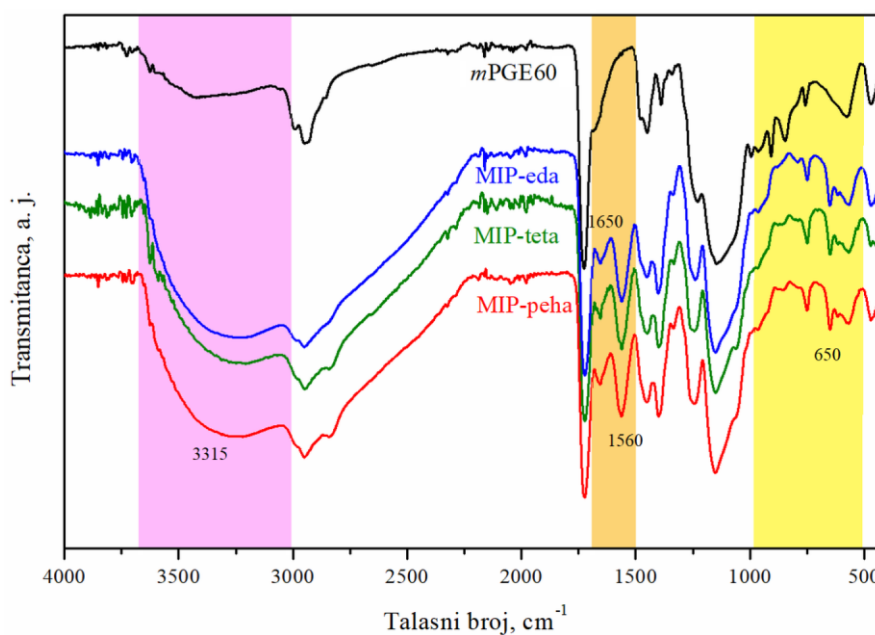
#### 4.3.2.1. Određivanje hemijske strukture MIP-ova

Pri optimalnom molskom odnosu ligand:šablon od 4:1, korišćenjem različitih liganada – EDA, TETA, PEHA, metodom površinskog otiskivanja sintetisana su tri uzorka MIP-a. Hemijske strukture sintetisanih MIP-ova prikazane su na Shemi 4.5.



**Shema 4.5.** Hemijska struktura MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

FTIR spektri MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha prikazani su na Slici 4.17. Pomenuti spektri snimljeni u oblasti od 400 do 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Sve trake prisutne u FTIR spektru magnetičnog polimernog nosača, *mPGE60* (Slika 4.9.) uočavaju se i u spektrima tri analizirana MIP-a. Tri dominantne oblasti koje su potvrdile uspešno površinsko otiskivanje na polimerni nosač *mPGE60* su označene žutom, narandžastom i ljubičastom bojom.



**Slika 4.17.** FTIR spektri MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.



U prvoj oblasti (žuta boja) uočava se prisustvo nove apsorpcione trake na  $\sim 650 \text{ cm}^{-1}$  koja potiče od vibracija ljuljanja N-H veze ( $\omega_{\text{N-H}}$ ) amino grupa (Suručić et al., 2023). U poređenju sa FTIR spektrom *mPGE60* na spektrima MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha uočava se smanjenje intenziteta ili nestajanje apsorpcionih traka koje su karakteristične za epoksidni prsten ( $\sim 850 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\sim 910 \text{ cm}^{-1}$ ) što je posledica reakcije liganada – EDA, TETA i PEHA sa epoksidnim prstenom prisutnim u polimernom nosaču, *mPGE60*. U drugoj oblasti (narandžasta boja) uočava se pojava novih apsorpcionih traka na  $\sim 1560 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$  koje potiču od vibracija savijanja N-H veze ( $\delta_{\text{N-H}}$ ) primarnih i sekundarnih amina (Marković et al., 2021). U oblasti talasnih dužina od  $3700 \text{ cm}^{-1}$  do  $3050 \text{ cm}^{-1}$  primećuje se široka traka čiji je intenzitet kod MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha jači u odnosu na *mPGE60* zbog preklapanja traka koje odgovaraju vibracijama istezanja N-H veza ( $\nu_{\text{N-H}}$ ) primarnih i sekundarnih amina i O-H veze ( $\nu_{\text{O-H}}$ ) hidroksilne grupe (Labus et al., 2023; Stojisavljević et al., 2023).

Prisustvo novih apsorpcionih traka na  $\sim 650 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\sim 1560 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ , smanjenje ili nestajanje traka karakterističnih za epoksidni prsten na  $\sim 850 \text{ cm}^{-1}$  i  $\sim 910 \text{ cm}^{-1}$ , kao i povećanje intenziteta apsorpcione trake u oblasti  $3700 \text{ cm}^{-1}$  do  $3050 \text{ cm}^{-1}$  ukazuju na uspešnu pripremu MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha metodom površinskog otiskivanja.

Hemijski sastav, odnosno maseni udeli elemenata C, H i N, za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha određen je elementarnom analizom. Na osnovu masenog procenta azota dobijenog elementarnom analizom u uzorcima MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha izračunate su koncentracije liganada ( $C_{\text{lig}}$ , mmol/g), stepen konverzije epoksidnih grupa ( $K$ , %) i koncentracija amino-grupa ( $C_{\text{AG,CHN}}$ , mmol/g) pomoću sledećih jednačina (Sandić, 2016):

$$C_{\text{lig}} = \frac{\omega_{\%}(\text{N})}{100 \cdot A_r(\text{N}) \cdot n} \quad (4)$$

$$C_{\text{AG,CHN}} = n \cdot C_{\text{lig}} \quad (5)$$

$$K = \frac{C_{\text{lig}}}{C_{0,EG}} \cdot 100 \quad (6)$$

gde su:  $\omega_{\%}(\text{N})$  - maseni procenat azota dobijen pomoću CHN analize,  $A_r(\text{N})$  – molarna masa atoma azota (14 g/mol),  $n$  – broj atoma azota u molekulu amina,  $C_{0,EG}$  - početna koncentracija epoksidnih grupa u *mPGE60* (4,22 mmol/g) (Marković, 2019). Dobijeni rezultati su, zajedno sa vrednostima koncentracija amino grupa određenih kiselo-baznim titracijama prikazani u Tabeli 4.1.

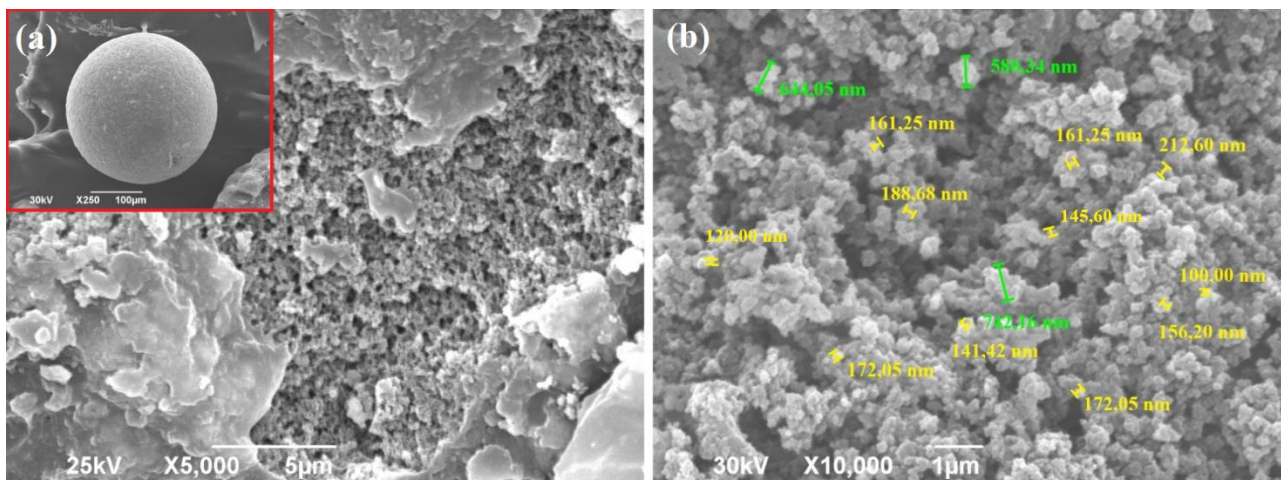
**Tabela 4.1.** Elementarni sastav, procenat konverzije epoksidnih grupa, koncentracija liganada i koncentracija amino grupa za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha

Oznaka uzorka	Elementarni sastav			$K$ , %	$C_{\text{lig}}$ , mmol/g	$C_{\text{AG,CHN}}$ mmol/g	$C_{\text{AG, titr.}}$ mmol/g
	% C	% H	% N				
MIP-eda	48,78	6,71	4,98	42	1,78	3,56	1,70
MIP-teta	50,38	6,91	5,89	25	1,05	4,20	2,15
MIP-peha	49,95	6,96	6,10	17	0,726	4,36	2,55

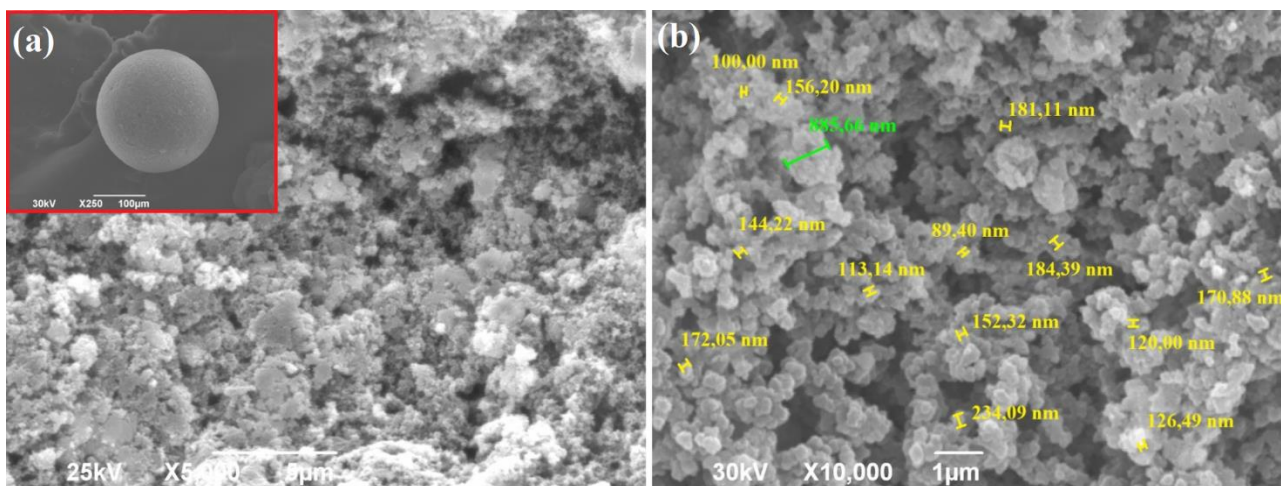
Vrednosti prikazane u Tabeli 4.1. ukazuju da nije došlo do potpune konverzije epoksidnih grupa u amino grupe prilikom sinteze MIP-a. Dobijeni rezultati su u skladu sa FTIR analizom, jer se na FTIR spektrima MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha uočavaju trake koje potiču od vibracija epoksidnog prstena. Primećuje se da procenat konverzije epoksidnih grupa opada sledećim redosledom: MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha, što je posledica sternih smetnji koje nastaju zbog uvođenja voluminoznijih liganada (Donia et al., 2005). Na osnovu prikazanih rezultata, može se primetiti da su vrednosti koncentracije amino grupa dobijene elementarnom analizom više u poređenju sa vrednostima dobijenim kiselo-baznim titracijama. Za kiselo-bazne titracije teže su dostupne one grupe koje su nalaze unutar pora, što za posledicu ima niže vrednosti koncentracije amino u odnosu na vrednosti dobijene CHN analizom (Marković et al., 2017).

#### 4.3.2.2. Određivanje morfoloških i teksturalnih svojstava MIP-ova

Morfologija MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha ispitana je pomoću SEM analize. Na Slikama 4.18., 4.19. i 4.20. prikazana je morfologija površine, poprečnog preseka, kao i izgled MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha, redom. Morfologija površine kod sva tri analizirana uzorka pokazuje hrapavu površinu. U poređenju sa česticama polimernog nosača, *mPGE60* (Slika 4.10b.), primećuje se da je hrapavost površine MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha veća. Sa SEM mikrografija izgleda čestica tri analizirana MIP-a pri uvećanju od 250× uočeno je da sintetisani MIP-ovi zadržavaju pravilan sferni oblik polimernog nosača.



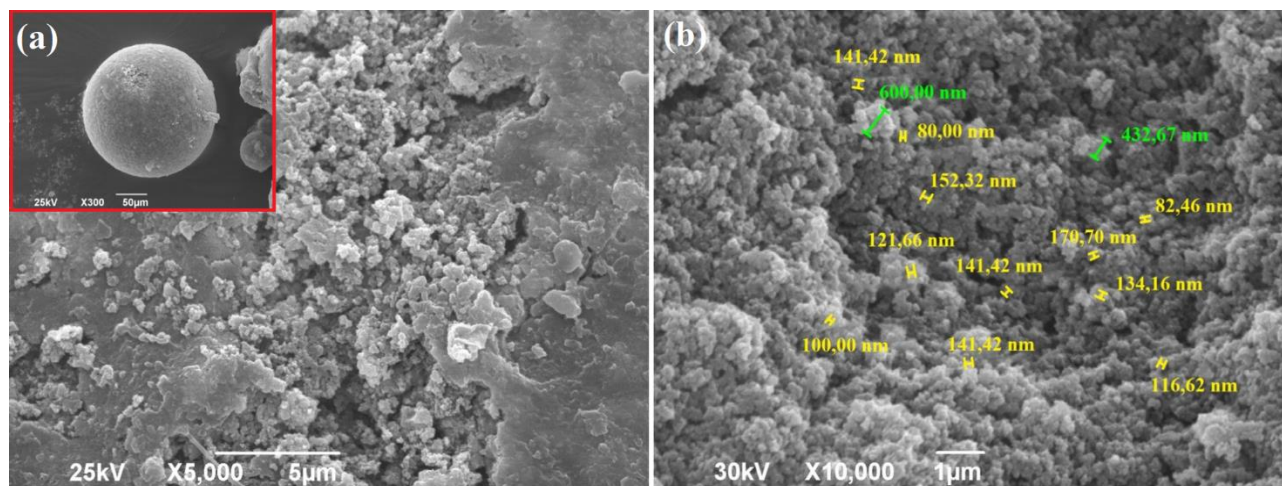
**Slika 4.18.** SEM mikrografije MIP-eda: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).



**Slika 4.19.** SEM mikrografije MIP-teta: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).

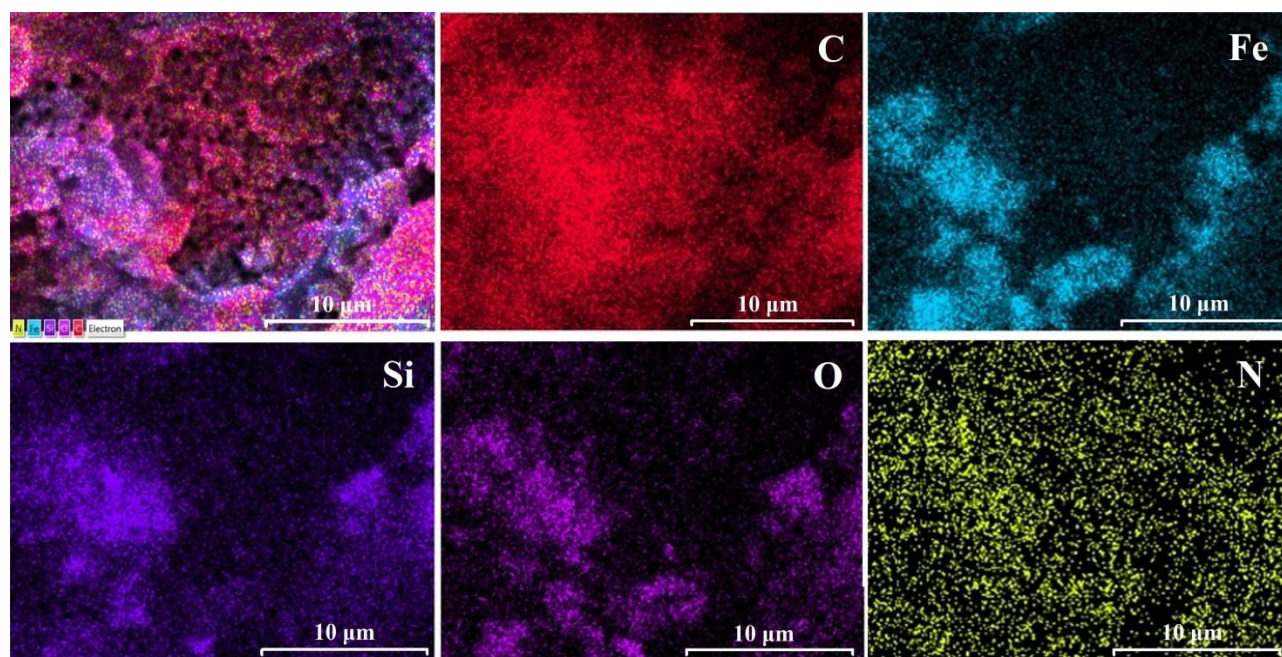
SEM mikrografije poprečnog preseka čestica pri uvećanju od 10000× pokazuju da čestice pripremljenih MIP-ova zadržavaju poroznu strukturu polimernog nosača *mPGE60*. Naime, prečnici globula su i dalje u opsegu od 80 nm do 200 nm (označeni žutom bojom), dok su aglomerati globula (označeni zelenom bojom) veličine od 450 nm do 680 nm. Poređenjem analiziranih uzoraka uočava se da MIP-ovi sintetisani sa različitim ligandima (EDA, TETA, PEHA) ne pokazuju značajne razlike u izgledu, površini i poprečnom preseku.





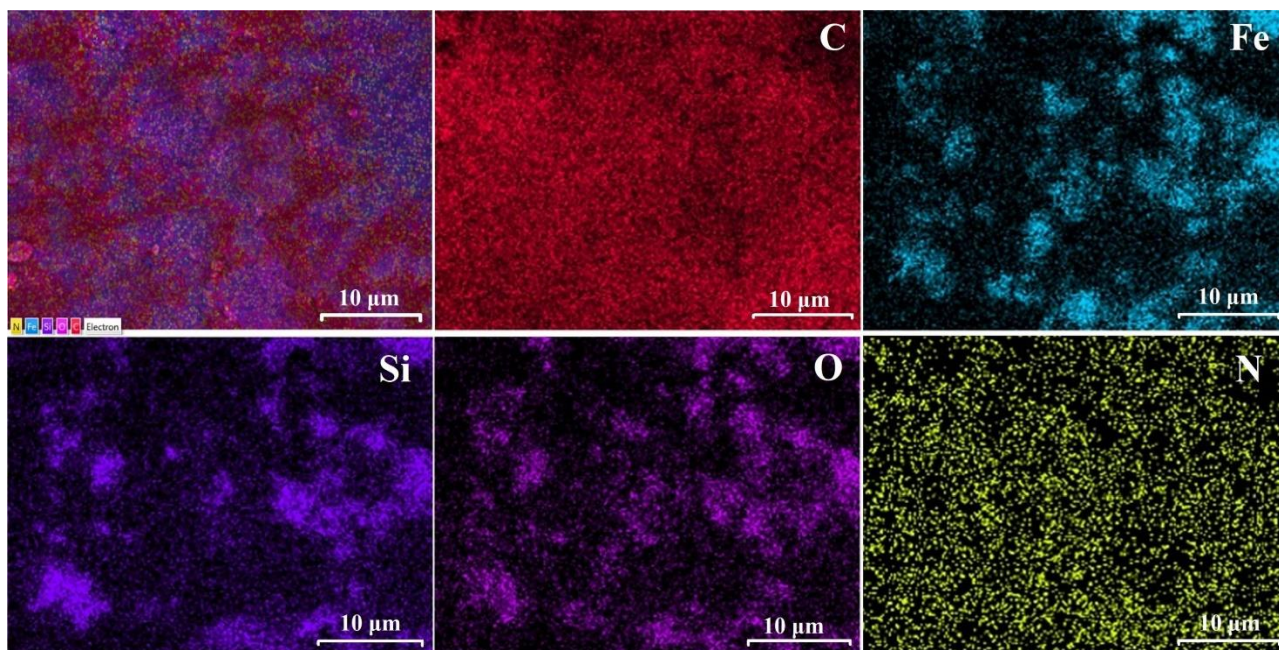
**Slika 4.20.** SEM mikrografije MIP-peha: površina čestice pri uvećanju 5000× (a) i poprečni presek čestice pri uvećanju 10000× (b). (Umetnuta slika: izgled čestice pri uvećanju 250×).

U cilju dodatne potvrde prostornog rasporeda elemenata tri analizirana uzorka, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha, urađeno je EDS mapiranje površine čestica po elementima i dobijeni rezultati su prikazani na Slikama 4.21., 4.22. i 4.23. Uočeno je prisustvo svih očekivanih elemenata (C, Fe, Si, O, N). EDS analiza je pokazala veću količinu N na površini čestica MIP-peha (7,12 mas.%) u odnosu na MIP-teta (5,21 mas.%) i MIP-eda (3,60 mas.%). Rezultati su u skladu sa onim dobijenom CHN analizom, što se može objasniti različitim koncentracijama amino grupa koje se nalaze na površini analiziranih uzoraka. EDS mape za N pokazuju da su atomi azota homogeno raspoređeni po celoj površini analiziranih uzoraka.

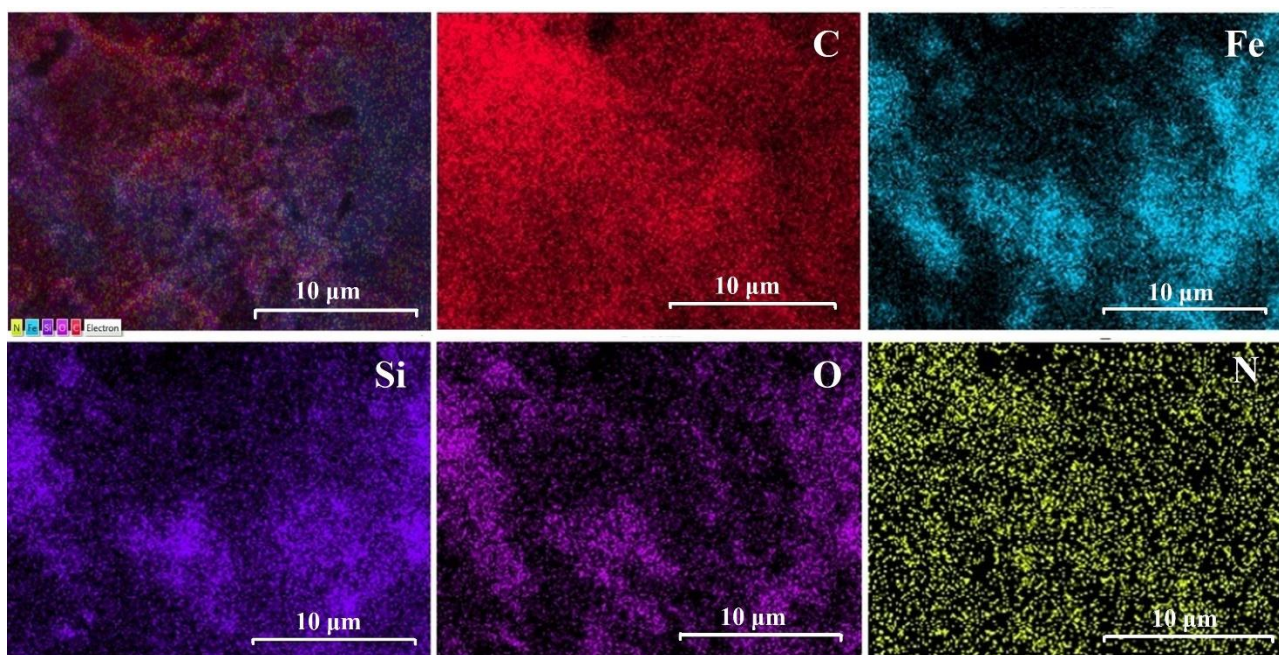


**Slika 4.21.** EDS mape elemenata MIP-eda.



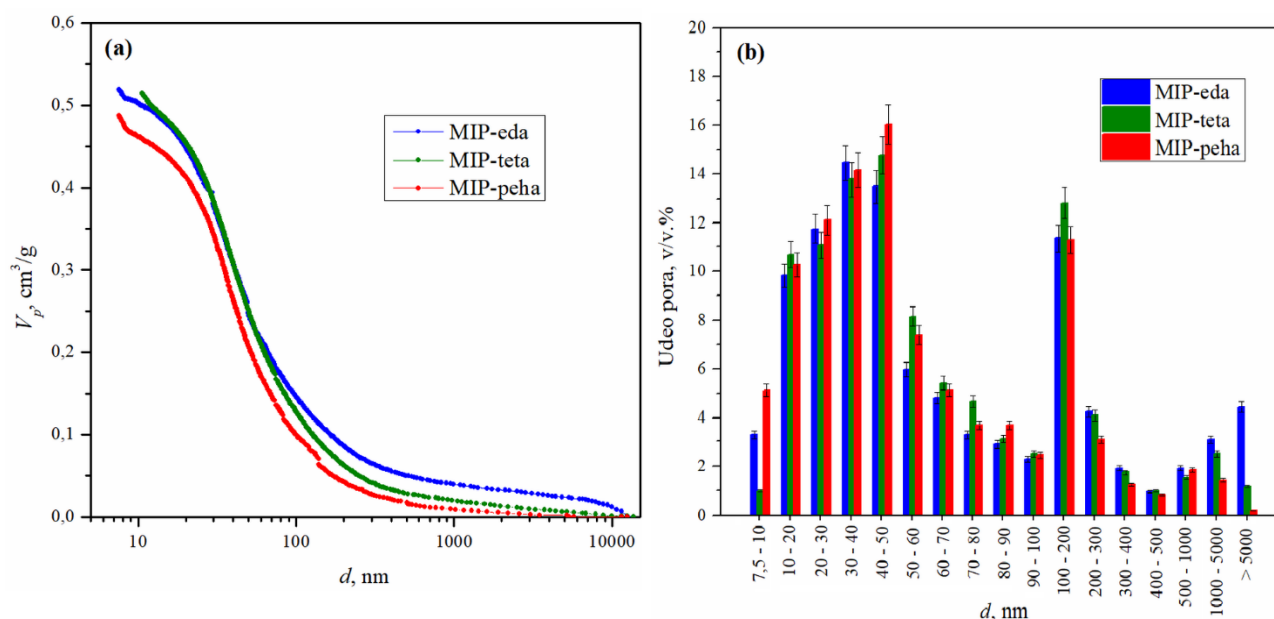


Slika 4.22. EDS mape elemenata MIP-teta.



Slika 4.23. EDS mape elemenata MIP-peha.

Metodom živine porozimetrije i niskotemperaturnom fiziosorpcijom azota određeni su parametri porozne strukture za tri analizirana uzorka. Slika 4.24a. prikazuje integralne krive raspodele zapremine pora po veličini njihovih prečnika za analizirane uzorke, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Može se primetiti da integralne krive raspodele zapremine pora po veličini njihovih prečnika za sva tri uzorka imaju inverzni S oblik i ne ulaze u plato, već se uočava porast zapremine pora u oblasti veličine prečnika pora manjih od 50 nm, što ukazuje da analizirani uzorci poseduju značajan udeo mezo- i mikropora. Na osnovu integralnih krivih raspodele zapremine pora po veličini njihovih prečnika dobijaju se parametri porozne strukture za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha i njihove vrednosti prikazane su u Tabeli 4.2. Dobijeni rezultati ukazuju da uzorci MIP-ova poseduju približne vrednosti  $S_{Hg}$  od  $56 \text{ m}^2/\text{g}$ , kao i vrednosti  $V_p$  oko  $0,5 \text{ cm}^3/\text{g}$  i  $d_{v/2}$  oko 47 nm.



**Slika 4.24.** Integralne krive raspodele zapremine pora po prečnicima pora (a) i histogrami raspodele zastupljenosti pora u određenom opsegu prečnika pora (b) za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

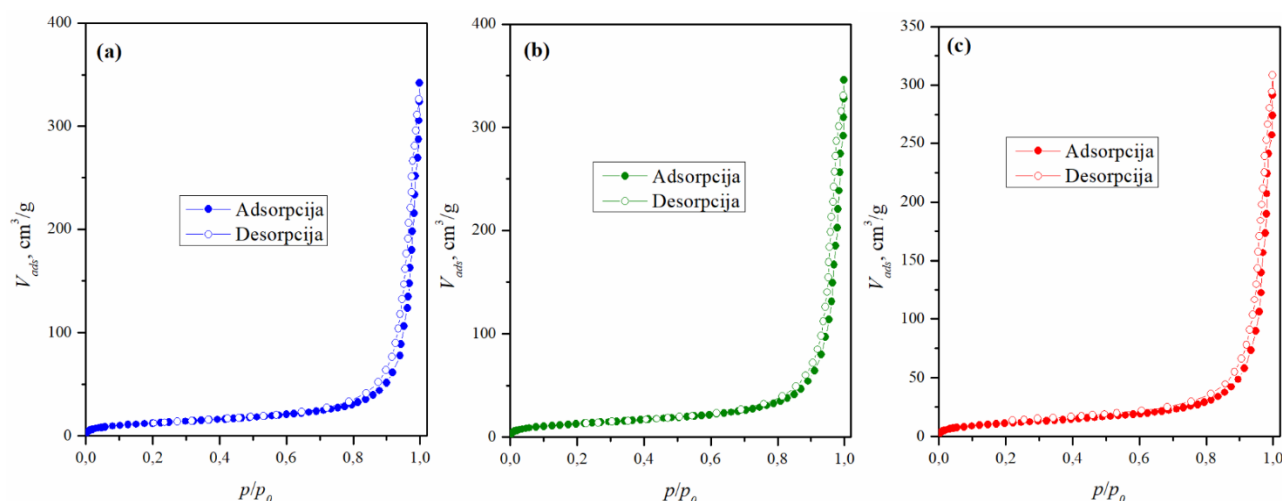
**Tabela 4.2.** Parametri poroznosti za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha

Oznaka uzorka	$S_{Hg}$ , m <sup>2</sup> /g	$V_p$ , cm <sup>3</sup> /g	$d_{V/2}$ , nm	P, %
MIP-eda	56	0,519	49	42
MIP-teta	52	0,515	49	41
MIP-peha	60	0,487	43	40

Na Slici 4.24b. prikazani su histogrami zastupljenosti pora u određenom opsegu prečnika pora za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Primećuje se da analizirani uzorci imaju sličnu raspodelu pora po veličini njihovih prečnika i da su kod sva tri uzorka pore prečnika ispod 50 nm zastupljene u iznosu iznad 50 v/v. %, tačnije za MIP-eda ~53 v/v. %, za MIP-teta ~51 v/v. % i za MIP-peha ~58 v/v. %. U pomenutoj oblasti, za uzorak MIP-eda, najzastupljenije su pore prečnika između 30 i 40 nm (14,4 v/v. %), dok su za uzorke MIP-teta i MIP-peha najzastupljenije pore prečnika između 40 i 50 nm u iznosu od 14,8 v/v. % i 16,1 v/v. %, redom.

Kako su rezultati živine porozimetrije ukazivali na prisustvo pora manjih od 50 nm, ispitana je poroznost u mezo- i mikroporoznoj oblasti pomoću niskotemperaturne fiziosorpcije azota. Dobijene adsorpciono-desorpcione krive azota za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha prikazane su na Slici 4.25. Prikazane krive za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha prema IUPAC klasifikaciji odgovaraju izoterma tipa II koja ima reverzibilni deo pri niskim relativnim pritiscima. Pri visokim relativnim pritiscima izoterme pokazuju histerezisnu petlju tipa H3 (Thommes et al., 2015). Ovakav izgled izoterme je karakterističan za mezoporozne materijale. Vrednosti parametara porozne strukture određeni pomoću niskotemperaturne fiziosorpcije azota date u Tabeli 4.3 pokazuju da uzorci sva tri analizirana MIP-a imaju približne vrednosti  $V_{0,98}$  oko 0,300 cm<sup>3</sup>/g,  $S_{BET}$  oko 46 m<sup>2</sup>/g, dok je  $V_p$  oko 0,28 cm<sup>3</sup>/g. Primećuje se da najzastupljeniji prečnik pora,  $D_{max}$ , za MIP-eda iznosi 33 nm, dok za MIP-teta i MIP-peha ova vrednost iznosi 43 nm i 45 nm, redom što je u skladu sa rezultatima raspodele zastupljenosti pora dobijenih živinom porozimetrijom.





Slika 4.25. Adsorpciono-desorpcione krive za MIP-eda (a), MIP-teta (b) i MIP-peha (c).

Tabela 4.3. Adsorpciono-desorpcioni parametri za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha

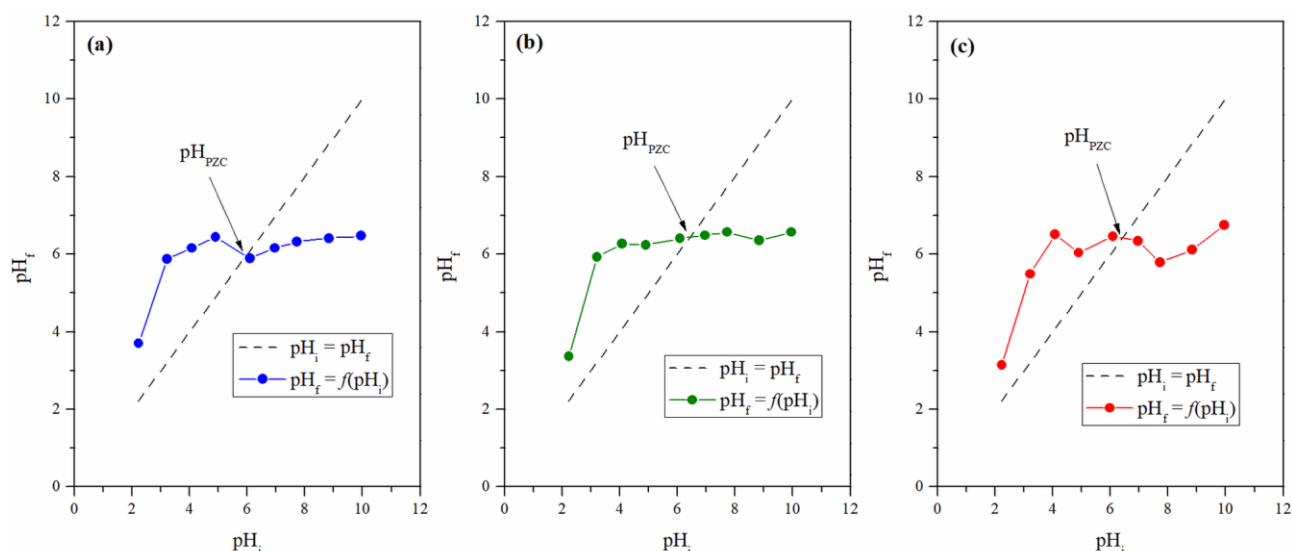
Oznaka uzorka	$V_{0,98}$ , cm <sup>3</sup> /g	$S_{BET}$ , m <sup>2</sup> /g	$V_p$ , cm <sup>3</sup> /g	$D_{max}$ , nm	$C_{BET}$
MIP-eda	0,321	45	0,32	33	73
MIP-teta	0,328	47	0,28	43	60
MIP-peha	0,295	41	0,24	45	50

Na osnovu rezultata dobijenih živinom porozimetrijom i niskotemperaturnom fizisorpcijom azota se može uočiti da nema značajnih promena u poroznoj strukturi nakon pripreme MIP-ova metodom površinskog otiskivanja različitim ligandima (EDA, TETA, PEHA). Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima dobijenim SEM analizom. Najdominantnije pore u svim analiziranim uzorcima bile su mezopore, što ukazuje da se MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha mogu klasifikovati kao mezoporozni materijali (Zhao et al., 2023).

#### 4.3.2.3. Određivanje tačke nultog naelektrisanja MIP-ova

U vodenim rastvorima, aktivna mesta na površini MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha mogu biti pozitivno ili negativno naelektrisana u zavisnosti od pH vodenog rastvora. Površinsko naelektrisanje se može analizirati pomoću tačke nultog naelektrisanja,  $pH_{PZC}$ . Tačka nultog naelektrisanja predstavlja vrednost pH rastvora pri kojoj je površina čvrste faze (MIP-ova) elektroneutralna, odnosno vrednost pH pri kojoj na površini čvrste faze je jednak broj pozitivno i negativno naelektrisanih aktivnih centara. Za uzorke MIP-eda, MIP-teta, i MIP-peha,  $pH_{PZC}$  određena je drift metodom u opsegu pH vrednosti vodenog rastvora NaCl od 2 do 10. Vrednost  $pH_{PZC}$  MIP-ova se dobija kao tačka preseka eksperimentalnih krivih ( $pH_f = f(pH_i)$ ) i  $pH_i = pH_f$ . Na slici 4.26. je prikazana grafička zavisnost finalnih pH od početne pH vrednosti vodenog rastvora na osnovu kojih je određena vrednost  $pH_{PZC}$  za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

Na osnovu prikazanih rezultat uočava se da vrednost  $pH_{PZC}$  za MIP-eda iznosi 6,1, dok je za MIP-teta 6,3, a za MIP-peha 6,4. Pri pH vrednostima ispod dobijenih  $pH_{PZC}$ , ukupno naelektrisanje aktivnih centara na površini MIP-ova je pozitivno, dok je pri pH vrednostima vodenih rastvora iznad  $pH_{PZC}$  ukupno naelektrisanje aktivnih centara na površini analiziranih uzoraka negativno. Nezatni porast vrednosti  $pH_{PZC}$  kod MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha ukazuje na blago povećanje baznosti površine uzoraka što je posledica različite koncentracije amino grupa u MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.



Slika 4.26. Zavisnost  $pH_f$  od  $pH_i$  za: MIP-eda (a), MIP-teta (b) i MIP-peha (c).

#### 4.4. DSPME na MIP kao čvrstoj fazi

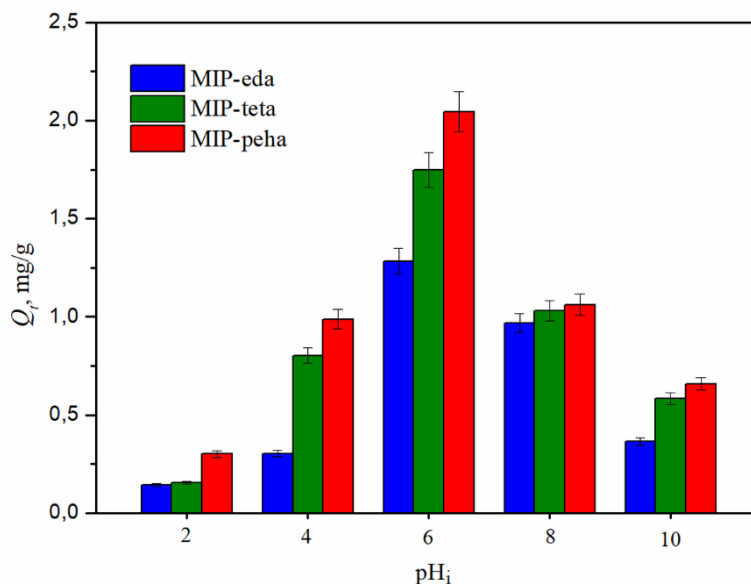
U prvom delu ovog poglavlja prikazani su rezultati sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenih rastvora pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Ispitan je uticaj pH na sorpcioni kapacitet, a zatim mogućnost regeneracije i ponovne upotrebe analiziranih MIP-ova. U drugom delu ovog poglavlja, prikazani su rezultati optimizacije i validacije DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pre instrumentalnog merenja na HPLC-MS u svrhu pretkoncentrisanja primarnog aromatičnog amina – anilina. Na kraju ovog poglavlja prikazani su rezultati ispitivanja zelenosti razvijene DSPME metode na MIP kao čvrstoj fazi, kao i korišćene HPLC-MS.

##### 4.4.1. Sorpciona ekstrakcija anilina iz vodenog rastvora pomoću MIP-ova

Analiziranje uticaja vrednosti pH na kapacitet sorpcije predstavlja jedan od ključnih procesnih parametara u uklanjanju anilina iz vodenih rastvora (Ali et al., 2023.; Tadić et al., 2024c). Početna pH vrednost vodenog rastvora utiče kako na oblik anilina u vodenom rastvoru, tako i na naelektrisanje aktivnih grupa prisutnih na površini sorbenta. Uticaj početne pH vrednosti vodenog rastvora na kapacitet sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha ispitan je variranjem pH vrednosti vodenog rastvora anilina u opsegu od 2 do 10 i rezultati su prikazani na Slici 4.27.

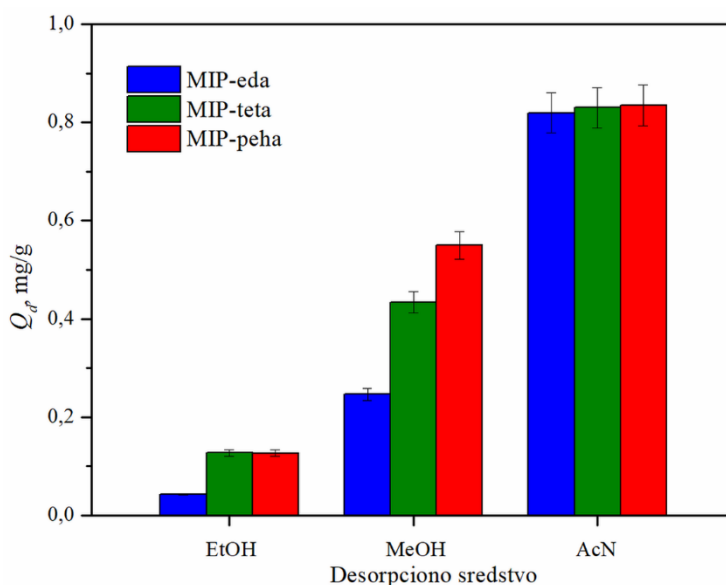
Na osnovu prikazanih rezultata, uočeno je da se sa povećanjem pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 2 do 6 sorpcioni kapacitet anilina povećava. Sa daljim porastom pH vrednosti iznad 6, primećuje se smanjenje sorpcionog kapaciteta anilina. Isti trend uticaja početne pH vrednosti na kapacitet sorpcije zapaža se kod sva tri analizirana MIP-a, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Vrednosti maksimalnog kapaciteta sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha dobijenog na pH vrednosti od 6 iznose 1,28 mg/g, 1,75 mg/g i 2,05 mg/g, redom. Kako bi se razumeo ovakav uticaj početne pH vrednosti na sorpcioni kapacitet neophodno je da se uzmu u obzir vrednosti  $pH_{PZC}$  za MIP-eda (6,1), MIP-teta (6,3) i MIP-peha (6,4). Pri  $pH < pH_{PZC}$  površina MIP sorbenata je pozitivno naelektrisana, dok je pri  $pH > pH_{PZC}$  površina MIP sorbenata negativno naelektrisana. Takođe, za ovakav uticaj početne pH vrednosti na sorpcioni kapacitet neophodno je uzeti u obzir i distribuciju oblika anilina u zavisnosti od pH vrednosti rastvora. Vrednost  $pK_a$  anilina iznosi 4,63 i da pri nižim pH vrednostima ( $pH < pK_a$ ) anilin postoji u obliku anilinium katjona ( $C_6H_5-NH_3^+$ ), dok pri pH vrednostima koje su više od  $pK_a$  ( $pH > pK_a$ ), anilin postoji u obliku molekula ( $C_6H_5-NH_2$ ) (Huang et al., 2014). Može se zaključiti da je kapacitet sorpcije pri nižim pH vrednostima manji zbog elektrostatičkog odbijanja između pozitivno naelektrisanih aktivnih mesta na površini MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha i anilinium katjona. Kako pH vrednost

vodenog rastvora raste iznad pKa vrednosti anilina (4,63), molekularni oblik anilina podstiče sorpciju na MIP-ovima pomoću Van der Valsovih sila i vodoničnih veza, što za posledicu ima povećanje sorpcionog kapaciteta (Zhou et al., 2014; Liu et al., 2015). Veliki broj autora je ispitivao uticaja pH na efikasnost uklanjanja anilina iz vodenih rastvora na različitim sorbentima, gde je uočeno da se maksimalni sorpcioni kapacitet postiže pri pH vrednostima u opsegu od 6 do 7 (Ahmadi & Igwegbe, 2018.; Li et al., 2020.; Rahdar et al., 2020.; Zavareh & Avanes, 2016.). Na osnovu dobijenih rezultata, a u cilju postizanja maksimalnog kapaciteta sorpcije svi dalji eksperimenti sorpcije su rađeni pri pH = 6.



**Slika 4.27.** Uticaj početne pH na kapacitet sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

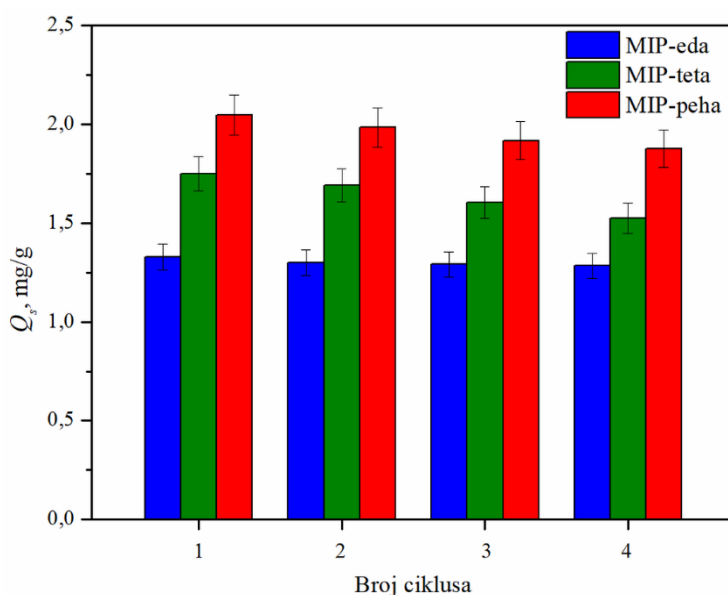
Izbor odgovarajućeg rastvarača je ključan kako bi se anilin efikasno desorbovao sa MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Prilikom odabira desorpcionih sredstava faktori kao što su kompatibilnost sa HPLC, rastvorljivost analita kao i polaritet rastvarača su uzeti u obzir. Mogućnost desorpcije anilina sa MIP sorbentata ispitana je pomoću tri organska rastvarača - EtOH, MeOH i AcN u trajanju od 24 h i rezultati su prikazani na Slici 4.28.



**Slika 4.28.** Desorpcija anilina adsorbovanog na MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

Dobijeni rezultati pokazuju da se najveći desorpcioni kapacitet za sva tri MIP-sorbenta, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha od oko 0,8 mg/g postiže sa AcN kao desorpcionim sredstvom. Najmanji desorpcioni kapacitet pokazao je EtOH sa kojim se postiže kapacitet sorpcije manji od 0,2 mg/g. Ovakav rezultat se može objasniti različitom polarnošću korišćenih organskih rastvarača i anilina (etanol > acetonitril > anilin). Naime, AcN se pokazao kao najbolje desorpciono sredstvo, jer je njegova polarnost najbliža polarnosti anilina (Vadukumpully et al., 2011). Slični rezultati zapaženi su u literaturi, gde se za desorpciju anilina AcN pokazao kao najbolje desorpciono sredstvo (Jiang et al. 2021.; Li et al., 2020.; Sanjari et al., 2021.; Vadukumpully et al., 2011.). Svi dalji eksperimenti biće rađeni sa AcN kao desorpcionim sredstvom.

Lakoća regeneracije i ponovna upotreba sorbenta su ključni parametri za poboljšanje efikasnosti, izvodljivosti, ekološke prihvatljivosti i ekonomičnosti procesa sorpcije. Ponovna upotreba MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha je procenjena izvođenjem četiri ciklusa sorpcije/desorpcije korišćenjem AcN kao desorpcionog sredstva.



**Slika 4.29.** Mogućnost ponovne upotrebe MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha sorbenata za uklanjanje anilina iz vodenog rastvora.

Slika 4.29. pokazuje da se sorpcioni kapacitet za sva tri MIP sorbenta blago smanjuje nakon svakog ciklusa sorpcija/desorpcija. Posle četiri ciklusa sorpcije/desorpcije uočen je gubitak sorpcionog kapaciteta od oko 5 %, 13 %, 8 % u odnosu na početni kapacitet sorpcije za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha, redom. Rezultati takođe pokazuju da je uklanjanje anilina sa ispitivanih MIP sorbenata reverzibilno i da se MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha mogu koristiti u najmanje četiri ciklusa sorpcija/desorpcija bez značajnijeg gubitka kapaciteta sorpcije.

Na osnovu dobijenih rezultata sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenih rastvora pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha može se zaključiti da je MIP-peha pokazao najveći sorpcioni kapacitet od 2,05 mg/g u odnosu na MIP-eda i MIP-teta. Ovakav rezultat je posledica različitog broja aktivnih mesta dostupnih za sorpciju anilina na površini analiziranih MIP-ova. Naime, rezultati CHN analize i kiselo-baznih titracija pokazali su da MIP-peha poseduje najveću koncentraciju amino grupa kao aktivnih mesta u iznosu od 4,36 mmol/g, odnosno 2,55 mmol/g. Uzimajući u obzir ovu činjenicu, u daljim istraživanjima za optimizaciju i validaciju DSPME za pretkoncentrisanje anilina biće korišćen MIP-peha kao čvrsta faza.

#### 4.4.2. Optimizacija i validacija DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora

##### 4.4.2.1. Selekcija značajnih faktora DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi

Razvoj DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi u cilju pretkoncentrisanja anilina iz vodenih rastvora izveden je primenom DoE. Cilj optimizacije DSPME metode bio je da se identifikuju eksperimentalni uslovi pri kojima će se postići maksimalna efikasnost pomenute metode. Prvi korak u razvoju DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi podrazumevao je odabir faktora sa potencijalnim uticajem na efikasnost DSPME metode i njihovi efekti su procenjeni u skrining fazi tj. fazi selekcije. Faktori čiji je uticaj na efikasnost DSPME metode analiziran bili su: količina sorbenta ( $X_1$ ), pH ( $X_2$ ), jonska jačina ( $X_3$ ), način mešanja za ekstrakciju ( $X_4$ ), vreme ekstrakcije ( $X_5$ ), temperatura ekstrakcije ( $X_6$ ), zapremina eluenta ( $X_7$ ), temperatura desorpcije ( $X_8$ ), način mešanja za desorpciju ( $X_9$ ), vreme desorpcije ( $X_{10}$ ), vrsta desorpcionog sredstva ( $X_{11}$ ). Za selekciju faktora koji najviše utiču na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora korišćen je PBD. Svi analizirani faktori ispitani su na dva nivoa  $-1$  (nizak nivo) i  $+1$  (visok nivo). Faktori i kao i njihovi nivoi razmatrani su na osnovu preliminarnih eksperimenata i podataka dostupnih u literaturi (Dil et al., 2021; Dozein et al., 2021; Sefaty et al., 2021; Slavković-Beškoski et al., 2022). Izvedena je serija od 12 eksperimenata u tri ponavljanja. Matrica sa realnim vrednostima promenljivih i dobijenim vrednostima odgovora prikazana je u Tabeli 4.4.

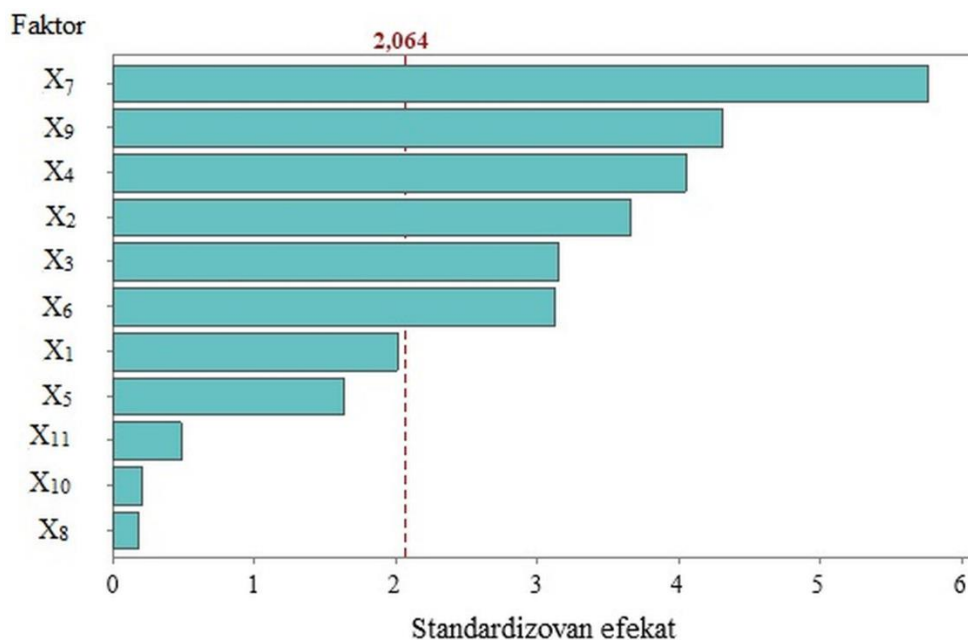
**Tabela 4.4.** Plan eksperimenta za PBD sa realnim vrednostima promenljivih i dobijenim vrednostima odgovora sistema

Br. eks.	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$	$X_7$	$X_8$	$X_9$	$X_{10}$	$X_{11}$	ER, %
1	10	10	0	Vor	5	40	700	10	Us	1	AcN	14,9
2	10	2	1	Vor	5	10	200	40	Us	5	AcN	4,8
3	10	2	1	Us	5	40	700	40	Vor	1	MeOH	38,2
4	10	10	1	Us	1	40	200	10	Us	5	MeOH	13,4
5	50	10	1	Vor	5	10	700	10	Vor	5	MeOH	54,9
6	50	10	1	Vor	1	40	200	40	Vor	1	AcN	21,0
7	50	2	0	Vor	1	40	700	40	Us	5	MeOH	2,7
8	10	10	0	Us	1	10	700	40	Vor	5	AcN	46,9
9	50	2	1	Us	1	10	700	10	Us	1	AcN	37,7
10	10	2	0	Vor	1	10	200	10	Vor	1	MeOH	1,5
11	50	10	0	Us	5	10	200	40	Us	1	MeOH	23,8
12	50	2	0	Us	5	40	200	10	Vor	5	AcN	18,6

Značaj svakog od analiziranih faktora na efikasnost DSPME metode u cilju pretkoncentrisanja primarnog aromatičnog amina - anilina prikazan je na Pareto grafiku (Slika 4.30.). Rezultati u Pareto grafiku pokazuju analizirane faktore sortirane prema uticaju na efikasnost predložene DSPME metode. Dužina bara je proporcionalna izračunatom efektu podeljenim sa njegovom standardnom devijacijom (standardizovanom efektu). Vertikalna linija na grafiku pokazuje granicu koja prelazi statistički značajni efekat, u odabranom intervalu poverenja od 95 % i iznosi 2,064. Faktori čije vrednosti standardizovanog efekta prelaze vrednost 2,064 su statistički značajni i što je ta vrednost veća, analizirani faktor ima veći uticaj na efikasnost DSPME metode. Pored selekcije značajnih faktora čiji efekti najviše utiču na vrednost odgovor sistema, analizirano je i kako promena faktora između dva nivoa utiče na efikasnost DSPME metode konstruisanjem grafika



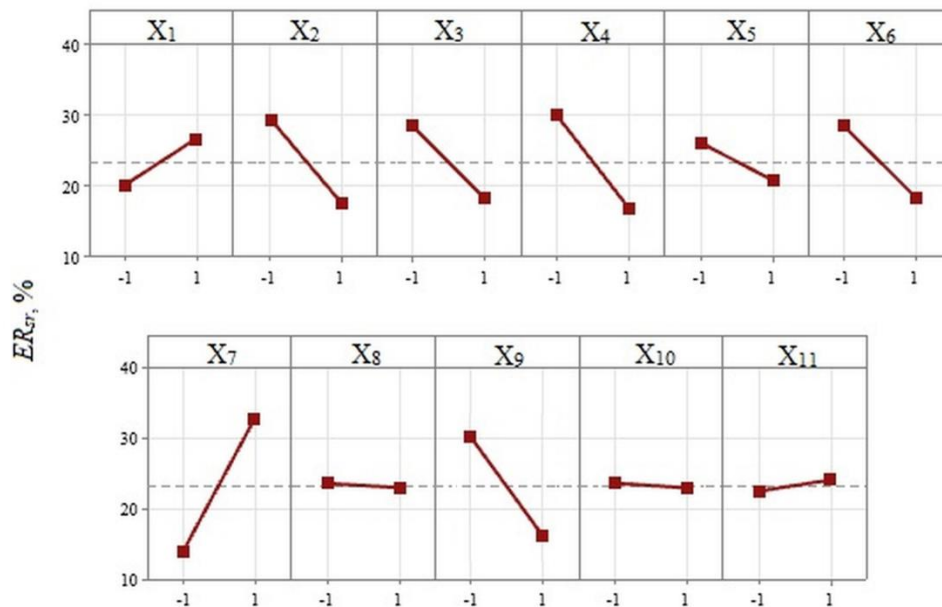
glavnih efekata (Slika 4.31.). Tačke na prikazanom grafiku predstavljaju srednje vrednosti efikasnosti DSPME metode pri  $-1$  i  $+1$  nivoima analiziranog faktora. Na grafiku glavnih efekata, srednja vrednost efikasnosti DSPME metode za promene svih analiziranih faktora na oba nivoa predstavljena je isprekidanom sivom linijom. Veće ili manje odstupanje od pomenute linije ukazuje da je efekat promene analiziranog faktora na efikasnost predložene metode veći odnosno manji.



**Slika 4.30.** Pareto dijagram standardizovanih efekata.

Sa Pareto grafika se primećuje da standardizovani efekti zapremine desorpcionog sredstva ( $X_7$ ), načina mešanja kod desorpcije ( $X_9$ ) i načina mešanja kod ekstrakcije ( $X_4$ ) imaju najveću vrednost, što ukazuje da su zapremina desorpcionog sredstva i načina mešanja faktori koji najviše utiču na prekocentrisanje anilina pomoću DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. Povećanje zapremine desorpcionog sredstva u opsegu od 200  $\mu$ l do 700  $\mu$ l i mešanje na vorteksu (Slika 4.31.) utiču povoljno na dispergovanje MIP-peha u desorpcionom sredstvu, odnosno u vodenom rastvoru anilina. Generalno, boljim dispregovanjem čvrste faze u desorpcionom sredstvu odnosno vodenom rastvoru postiže se bolje desorbovanje anilina sa čvrste faze, odnosno vezivanje anilina na čvrstu fazu, shodno većoj kontaktnoj površini između čvrste i tečne faze (Ansari & Masoum, 2018). Statistički značajan efekat pokazuje i pH vrednost vodenog rastvora anilina ( $X_2$ ). Naime, u zavisnosti od pH, anilin se u vodenom rastvoru može naći u molekulskom obliku ili u obliku anilinjum katjona što direktno utiče na kapacitet sorpcije anilina na MIP-peha (Yi et al., 2020). Rezultati prikazani na Pareto grafiku pokazali su da na efikasnost predložene DSPME metode statistički značajan efekat ima i jonska jačina rastvora ( $X_3$ ). Prisustvo NaCl u vodenom rastvoru anilina ima negativan efekat (Slika 4.31.) na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. Smanjenje efikasnosti DSPME metode nastaje kao posledica smanjenog kapaciteta sorpcije usled prisustva NaCl u vodenom rastvoru (Zhang et al., 2011). Od analiziranih faktora, temperatura ekstrakcije ( $X_6$ ) je poslednji faktor koji značajno utiče na efikasnost predložene metode. Na osnovu grafika glavnih efekata (Slika 4.31.) temperatura ekstrakcije ima negativan uticaj na efikasnost DSPME metode, što je posledica egzotermne prirode procesa vezivanja anilina za aktivna mesta na MIP-peha i samim tim manjeg kapaciteta sorpcije usled porasta temperature (Al-Jonahi & Abdel Salma, 2011; Zeb et al., 2022). Standardizovani efekti ostalih analiziranih faktora ne prelaze vrednost 2,063, što ukazuje da ovi faktori imaju manji ili zanemarljiv uticaj na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. Na slici 4.31. se uočava da količina sorbenta ( $X_1$ ) i vrsta desorpcionog sredstva ( $X_{11}$ ) imaju pozitivan efekat, na osnovu čega su 50 mg MIP-peha i AcN kao desorpciono sredstvo korišćeni kao optimalne vrednosti i u svim daljim eksperimentima su

konstantni. Na osnovu grafika glavnih efekata, primećuje se da vreme ekstrakcije ( $X_5$ ) i desorpcije ( $X_{10}$ ) imaju negativan efekat na efikasnost predložene metode, s tim u vezi svi dalji eksperimenti ekstrakcije i desorpcije su rađeni u trajanju od 1 min. Temperatura desorpcije ( $X_8$ ) se pokazala kao faktor koji najmanje utiče na efikasnost DSPME metode, tako da su svi dalji eksperimenti desorpcije rađeni na sobnoj temperaturi zbog ekonomičnosti same metode.



**Slika 4.31.** Grafik glavnih efekata za efikasnost DSPME metode.

Pareto grafikom identifikovani su najznačajniji faktori koji utiču na efikasnost predložene metode: zapremina desorpcionog sredstva ( $X_7$ ), način mešanja kod desorpcije ( $X_9$ ) i ekstrakcije ( $X_4$ ), pH ( $X_2$ ), jonska jačina ( $X_3$ ) i temperatura ekstrakcije ( $X_6$ ). Od pomenutih faktora, načina mešanja kod ekstrakcije i desorpcije pomoću vorteksa ili ultrazvuka, kao i jonska jačina su teksturalni faktori koji imaju dva nivoa, tako da se ovi faktori ne uzimaju za dalju optimizaciju DSPME metode, pa su njihove vrednosti određene u skladu sa grafikom glavnih efekata. Na osnovu dobijenih rezultata, zapremina desorpcionog sredstva, pH i temperatura ekstrakcije su faktori koji su odabrani za dalje ispitivanje i optimizaciju.

#### 4.4.2.2. Optimizacija značajnih faktora DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi

Nakon selekcije najznačajnijih faktora koji utiču na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenog rastvora, izvršena je optimizacija korišćenjem BBD. Izvođenjem serije od 15 eksperimenata u tri ponavljanja optimizovana su tri faktora (zapremina desorpcionog sredstva, pH i temperatura ekstrakcije) koji su se pokazali kao najznačajniji u koraku selekcije. Ovi faktori su ispitani na tri nivoa: -1 (nizak nivo), 0 (centar) i +1 (visoki nivo). Matrica BBD sa realnim vrednostima ispitivanih faktora, zajedno sa eksperimentalno dobijenim vrednostima odgovora sistema (efikasnost DSPME metode) prikazane su u Tabeli 4.5.

Zapremina desorpcionog sredstva je bila od 200  $\mu$ l do 700  $\mu$ l, pH vrednost vodenog rastvora anilina od 2 do 10 dok je temperatura ekstrakcije od 10  $^{\circ}$ C do 40  $^{\circ}$ C. Vrednosti ostalih faktora su bile konstantne. Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.5., minimalna efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi od 36,3 % postignuta je pri zapremini desorpcionog sredstva od 700  $\mu$ l, pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6 i temperaturi ekstrakcije od 40  $^{\circ}$ C (eksperiment broj 8), dok je maksimalna efikasnost od 62,7 % postignuta pri zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu$ l, pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6 i temperaturi ekstrakcije od 25  $^{\circ}$ C (eksperiment broj 1).

**Tabela 4.5.** Plan eksperimenta za BBD sa realnim vrednostima faktora i vrednostima odgovora sistema

Faktori	Oznaka	Nivoi			
		-1	0	1	
Zapremina eluenta (μl)	X <sub>7</sub>	200	450	700	
pH	X <sub>2</sub>	2	6	10	
Temperatura ekstrakcije (°C)	X <sub>6</sub>	10	25	40	
Broj eksperimenta	X <sub>7</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>6</sub>	Eksperimentalno ER	Predviđeno ER
1	450	6	25	62,7	60,6
2	200	2	25	45,4	45,2
3	200	6	40	42,7	42,8
4	450	10	10	50,5	50,2
5	200	6	10	37,8	41,1
6	450	6	25	58,9	60,6
7	200	10	25	53,2	50,2
8	700	6	40	36,3	33,0
9	700	6	10	41,9	41,8
10	700	10	25	40,6	40,8
11	450	2	40	46,2	46,5
12	450	6	25	60,3	60,6
13	700	2	25	42,6	45,5
14	450	10	40	37,8	40,9
15	450	2	10	47,3	44,2

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.5., primećuje se da zapremina desorpcionog sredstva, pH vrednost vodenog rastvora anilina i temperatura ekstrakcije utiču pozitivno ili negativno na efikasnosti DSPME metode. Kako bi se objasnila korelacija koja postoji između analiziranih faktora i odgovora sistema odnosno efikasnosti DSPME metode, fitovanjem dobijenih rezultata kvadratnim polinomom drugog reda, kreirana je regresiona jednačina:

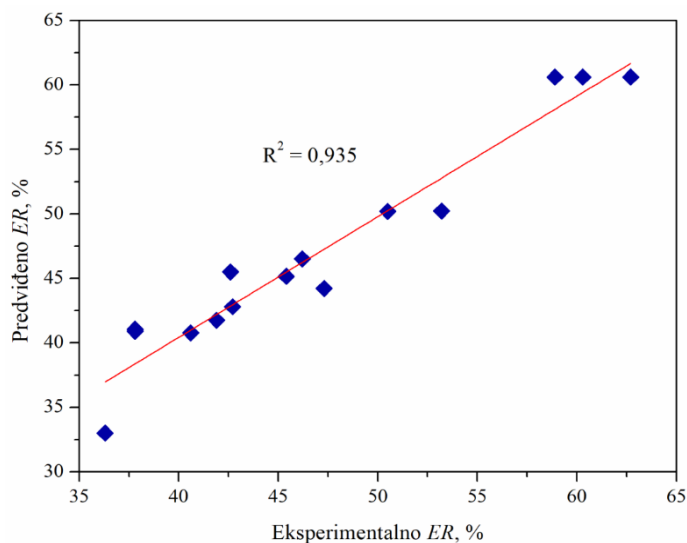
$$Y = -27,9 + 0,1743X_7 + 5,86X_2 + 2,813X_6 - 0,000168X_7^2 - 0,294X_2^2 - 0,04657X_6^2 - 0,00245X_7X_2 - 0,0007X_7X_6 - 0,0483X_2X_6$$

gde su: Y - predviđena vrednost efikasnosti DSPME metode, X<sub>7</sub> - zapremina desorpcionog sredstva, X<sub>2</sub> - pH i X<sub>6</sub> - temperatura ekstrakcije.

Predviđene vrednosti efikasnosti DSPME metode izračunate prema datoj jednačini prikazane su u Tabeli 4.5. Adekvatnost i statistička značajnost generisanog modela ispitani su analizom varijanse (ANOVA). Adekvatnost modela procenjena je Fišerovim testom, dok je statistička značajnost proverena na osnovu *p*-vrednosti. Kao prag statističke značajnosti modela u intervalu poverenja od 95 % uzeta je *p* vrednost niža od 0,05. Statistički rezultati pokazali su značajnost generisanog modela u zadatom intervalu poverenja sa *p* vrednošću od 0,017. Nedostatak fitovanja (eng. *lack of fit*) nije bio statistički značajan (*p* = 0,165) što ukazuje na visok nivo tačnosti i konzistentnost eksperimentalnih rezultata.

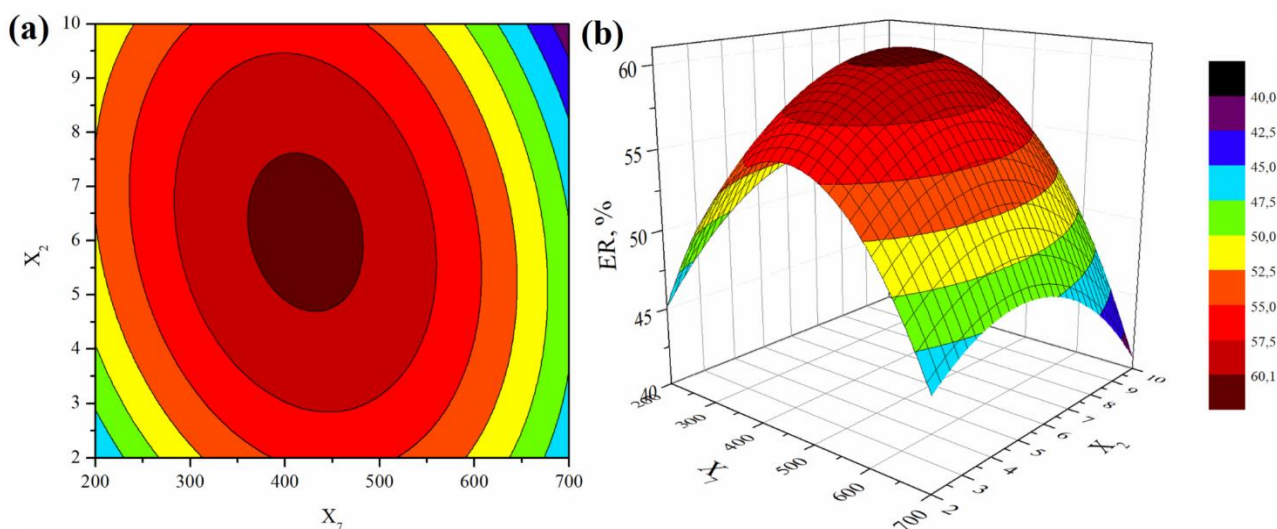
Uspešnost fitovanja dobijenih eksperimentalnih rezultata procenjena je i na osnovu koeficijenta determinacije. Grafik zavisnosti modelom generisanih vrednosti ER i eksperimentalno dobijenih vrednosti ER prikazan je na Slici 4.32. Na osnovu prikazanih rezultata uočava se dobro

slaganje pomenutih vrednosti  $ER$ . Naime, vrednost koeficijenta determinacije od 0,935 ukazuje da samo 6,5 % ukupnih varijacija nije bilo moguće predvideti generisanim modelom.



**Slika 4.32.** Grafik zavisnosti predviđenih i eksperimentalno dobijenih  $ER$  vrednosti DSPME metode za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora.

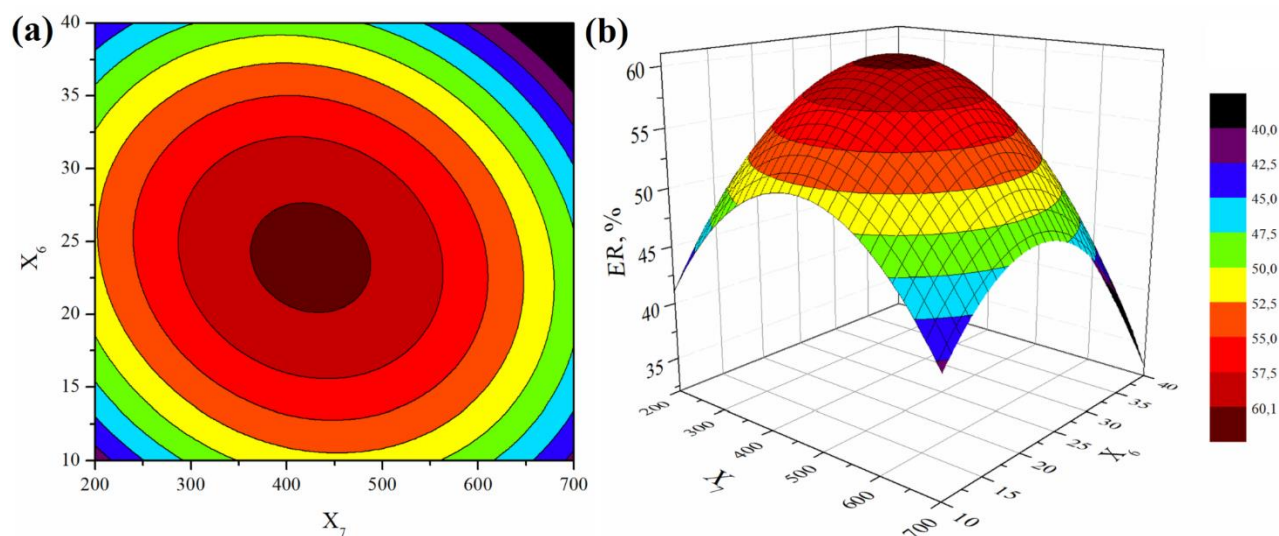
Konturni dijagram (Slika 4.33a.) i trodimenzionalni dijagram odgovora površine (Slika 4.33b.) vizuelno prikazuju uticaj interakcija zapremine desorpcionog sredstva ( $X_7$ ) i pH vrednosti vodenog rastvora anilina ( $X_2$ ) na efikasnost DSPME metode pri konstantnoj temperaturi ekstrakcije od 25 °C. Posmatrajući interakcije između zapremine desorpcionog sredstva i pH vrednosti vodenog rastvora, uočava se da se pri pH = 6, sa povećanjem zapremine desorpcionog sredstva između 200  $\mu$ l i 470  $\mu$ l povećava efikasnost predložene DSPME metode. Sa daljim povećanjem zapremine desorpcionog sredstva, efikasnost metode opada. Takođe, sa povećanjem pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 2 do 7,5 pri konstantnoj zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu$ l efikasnost DSPME metode raste. Sa daljim povećanjem pH vrednosti, efikasnost metode opada. Na osnovu prikazanih rezultata, može se primetiti da se efikasnost DSPME metode preko 60 % postiže sa 450  $\mu$ l zapremine desorpcionog sredstva pri pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6.



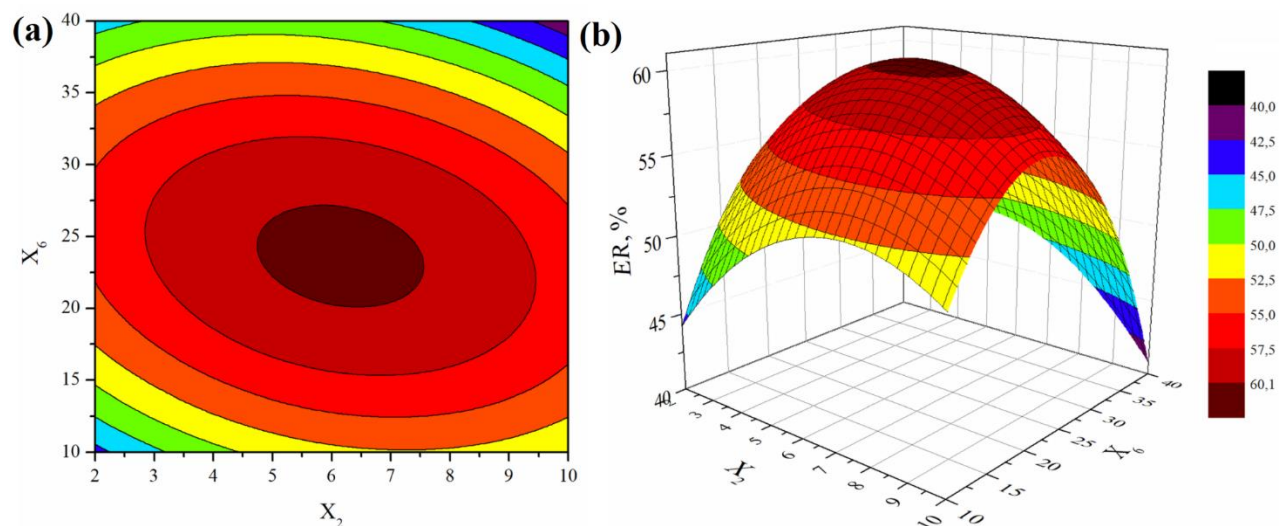
**Slika 4.33.** Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija zapremine desorpcionog sredstva i pH vrednosti vodenog rastvora anilina na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj temperaturi ekstrakcije od 25 °C.



Slika 4.34. prikazuje uticaj zapremine desorpcionog sredstva ( $X_7$ ) i temperature ekstrakcije ( $X_5$ ) na efikasnost DSPME metode pri konstantnoj pH vrednosti vodenog rastvora anilina. Posmatrajući konturni dijagram (Slika 4.34a.) i trodimenzionalni dijagram odgovora površine (Slika 4.34b.) primećuje se da sa povećanjem zapremine desorpcionog sredstva od 200 do 480  $\mu\text{l}$  pri temperaturi ekstrakcije od 25  $^{\circ}\text{C}$ , efikasnost DSPME metode raste. Sa daljim povećanjem zapremine desorpcionog sredstva preko 480  $\mu\text{l}$ , efikasnost metode opada. Takođe, povećanje efikasnosti metode se zapaža i sa povećanjem temperature ekstrakcije od 10 do 27  $^{\circ}\text{C}$ , pri konstantnoj zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu\text{l}$ . Svako dalje povećanje temperature ekstrakcije, dovodi do opadanja smanjenja efikasnosti pomenute metode. Najviša efikasnost metode od preko 60 % postiže se pri zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu\text{l}$  i temperaturi ekstrakcije od 25  $^{\circ}\text{C}$ .



**Slika 4.34.** Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija zapremine desorpcionog sredstva i temperature ekstrakcije na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6.



**Slika 4.35.** Konturni dijagram (a) i trodimenzionalni dijagram (b) uticaja interakcija pH vrednosti vodenog rastvora anilina i temperature ekstrakcije na efikasnost DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pri konstantnoj zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu\text{l}$ .

Konturni dijagram (Slika 4.35a.) i trodimenzionalni dijagram odziva površine (Slika 4.35b.) prikazuju modelom predviđen uticaj vrednosti pH vodenog rastvora anilina ( $X_2$ ) i temperature

ekstrakcije ( $X_6$ ) na efikasnost DSPME metode, pri konstantnoj zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu$ l. Prikazani rezultati sugerišu da pri konstantnoj temperaturi ekstrakcije od 25 °C, povećanje pH vrednosti vodenog rastvora od 2 do 7,5 dovodi do povećanja efikasnosti DSPME metode. Takođe, uočava se da povećanje temperature ekstrakcije od 10 °C do 27 °C pri konstantnoj pH vrednosti od 6 dovodi do povećanja efikasnosti metode. Najviša efikasnost metode, odnosno efikasnost preko 60 %, postiže se pri pH vrednosti 6 i temperaturi ekstrakcije od 25 °C.

Primenom BBD za optimizaciju značajnih faktora DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi, dobijeno je da su optimalni uslovi za postizanje efikasnosti značajnih faktora DSPME metode bili 450  $\mu$ l AcN kao desorpcionog sredstva, pH vrednost vodenog rastvora anilina 6 i 25 °C kao temperatura ekstrakcije. Pri ovim uslovima, na osnovu generisanog matematičkog modela, predviđa se efikasnost DSPME metode u iznosu od 60,2 %.

#### 4.4.2.3. Validacija DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi

Nakon optimizacije DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenih rastvora, izvršena je validacija metode određivanjem granice detekcije, ponovljivosti, tačnosti (efikasnosti) i linearnosti. Svi eksperimenti validacije DSPME metode su izvedeni pod optimalnim uslovima definisanim u prethodnom poglavlju. Granica detekcije, LoD, (eng. *Limit of Detection*) za predloženu DSPME metodu predstavlja najnižu koncentraciju anilina koja se može pouzdano detektovati u uzorku. Vrednost LoD je izračunata kao vrednost koja je 3 puta veća od standardne devijacije šuma bazne linije. Za DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi dobijena je LoD vrednost od 1 ng/ml. Ponovljivost DSPME metode je procenjeni određivanjem relativne standardne devijacije (RSD) uzoraka vodenog rastvora sa dodatih 10 ng/ml anilina u šest ponavljanja. Dobijena vrednost RSD je bila 18 %, sa efikasnošću DSPME metode od 62 %. Linearnost DSPME metode je procenjena konstruisanjem kalibracione krive u opsegu koncentracije rastvora anilina od 1 ng/ml do 200 ng/ml, sa tri ponavljanja za svaku koncentraciju. Vrednost koeficijenta korelacije u analiziranom opsegu koncentracija bio je visok i iznosio je 0,9969, čime je potvrđena linearnost DSPME metode. Linearnom regresionom analizom rezultata dobijena je jednačina  $y = 4270 x - 1882$ .

#### 4.4.3. Ispitivanje zelenosti razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi

U prvom delu ovog poglavlja ispitana je zelenost razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi primenom tri alata za ocenu zelenosti zasnovana na GAC principima: Analitička Eko-Skala, GAPI i AGREE (Shema 4.6.). U drugom delu poglavlja, primenom Analitičke Eko-Skale, GAPI i AGREE, ispitana je zelenost korišćene HPLC-MS metode i na taj način je data potpuna slika o zelenosti razvijene DSPME metoda na MIP-peha kao čvrstoj fazi pre instrumentalnog merenja na HPLC-MS.



**Shema 4.6.** Metodologija ispitivanja zelenosti razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi.

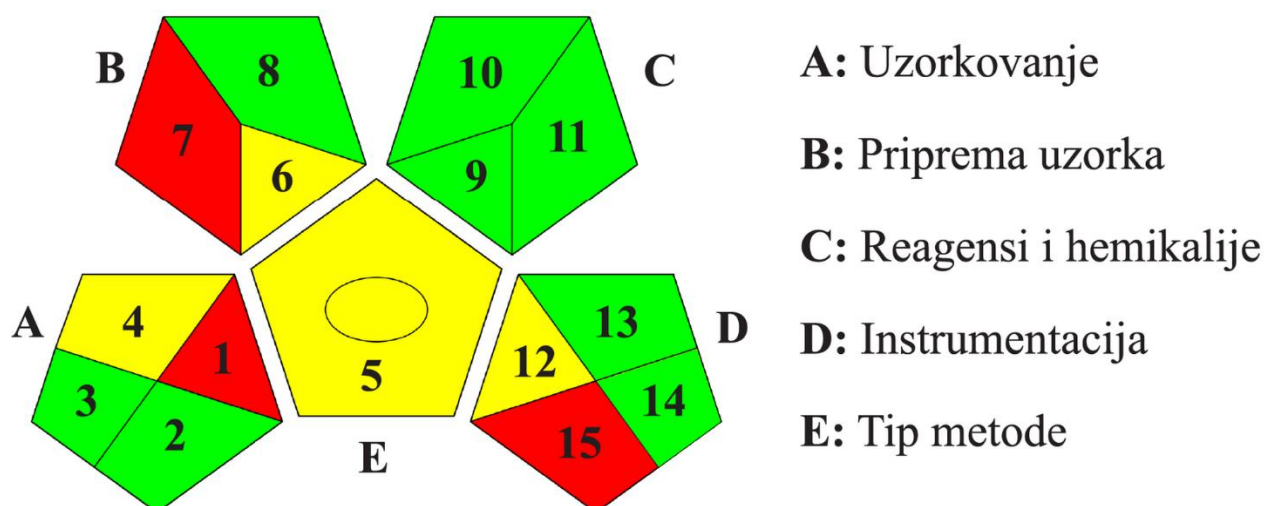
Broj poena prema rezultatima Analitičke Eko-Skale dobijen je oduzimanjem poena od maksimalnih 100 za svaku komponentu koja razvijenu DSPME metodu čini manje ekološki prihvatljivom. U Tabeli 4.6. prikazan je rezultat Analitičke Eko-Skale razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. Ispitana metoda imala je ukupno 9 kaznenih poena, čime je rezultat prema Analitičkoj Eko-Skali iznosio 91 poen. S obzirom na činjenicu da je rezultat veći od 75, smatra se da je razvijena DSPME metoda odlične zelenosti (Gałuszka et al., 2012).

**Tabela 4.6.** Rezultati Analitičke Eko-Skale razvijene DSPME metode

Reagensi	Kazneni poeni (KP)
AcN	4
Instrumentacija	
HPLC-MS	2
Vorteks	0
Otpad	3
<b>Ukupni kazneni poeni</b>	<b>9</b>
<b>Broj poena dobijen prema rezultatima</b>	<b>91</b>
<b>Analitičke Eko- Skale</b>	
<b>Zaključak</b>	<b>Metoda odlične zelenosti</b>

Odabirom DSPME metode značajno se smanjuje korišćenje reagenasa, što je rezultiralo ovako visokim rezultatom. Ispitivana metoda je dobila ukupno 4 kaznena poena zbog korišćenja AcN kao desorpcionog sredstva koji se svrstava u ne-zelene i biološki nerazgradive rastvarače. Rezultat je dodatno umanjen za 2 kaznena poena zbog korišćenja HPLC-MS analitičke tehnike koja zahteva visoku potrošnju energije po analizi (>1,5 kWh). Pored toga, količina otpada generisanog tokom eksperimenta predstavlja značajan indikator ekološke prihvatljivosti metode. Razvijena DSPME metoda je dobila 3 kaznena poena, jer je količina otpada bila veća od 1 ml.

Za procenu ekološke prihvatljivosti cele analitičke metodologije, od prikupljanja uzoraka do instrumentalne analize, korišćen je GAPI koji je prikazan kao piktogram koji klasifikuje zelenost svakog koraka razvijene DSPME metode, primenom odgovarajuće boje (Slika 4.36.).



**Slika 4.36.** GAPI piktogram razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi.

Na prvom pentagramu, koji se odnosi na prikupljanje uzoraka, transport i skladištenje, uočava se prisustvo sve tri boje. Crvena boja označava sakupljanje uzoraka van mesta uzorkovanja (*eng. off-line*) (1), skladištenje i transport uzoraka kod razvijene DSPME metode nije potrebno (2, 3), pa



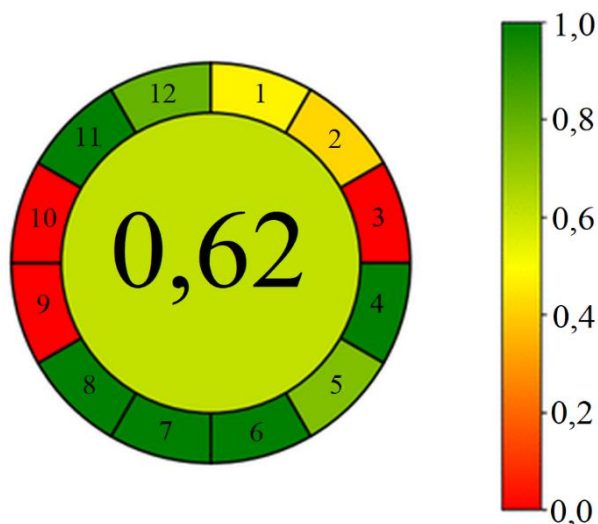
je ovo bolje označeno zelenom bojom. S obzirom da skladištenje uzoraka ne zahteva dodatnu potrošnju energije i da su optimalni uslovi dovoljni za skladištenje, ovo polje je označeno žutom bojom (4). Žuto polje sa krugom u njemu je pokazatelj jednostavnog postupka pripreme uzoraka i mogućnost kako kvalitativne tako i kvantitativne analize (5).

Parametri koji se odnose na pripremu uzoraka prikazani su na drugom pentagramu. Mikroekstrakcija, kao tip ekstrakcije korišćen u razvijenoj metodi, odgovara žutoj boji (6). Upotreba ne-zelenog, biološki nerazgradivog rastvarača, AcN, odstupa od kriterijuma zelene analitičke hemije i odgovara crvenoj boji (7). Uzimajući u obzir činjenicu da dodatni tretman za pripremu uzoraka nije potreban, ovo polje drugog pentagrama je u skladu sa principima zelene hemije, stoga je obojeno zelenom bojom (8).

Korišćeni reagensi i hemikalije ispitani su u trećem pentagramu. Upotreba male količine reagensa, koja ne predstavlja opasnost po zdravlje i bezbednost okoline, rezultirala je time da je ovaj pentagram u potpunosti obojen zelenom bojom (9, 10, 11).

Sledeći pentagram se odnosi na instrumentaciju razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. Količina otpada dobijena nakon izvodjenja eksperimenta je u skladu sa kriterijumima zelene analitičke hemije i označena je zelenom bojom (14). Međutim, neadekvatno tretiranje dobijenog otpada je označeno crvenom bojom (15). Korišćeni HPLC-MS je hermetički zatvoren instrument, stoga ne dolazi do isparavanja hemikalija prilikom analize (zelena boja) (13), dok, prema GAPI-ju potrošnja energije prilikom izvođenja analize ovom tehnikom odgovara žutoj boji (12).

Na Slici 4.37. prikazan je AGREE piktogram razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi. U zavisnosti od toga da li je odgovarajuće polje na AGREE piktogramu u skladu sa GAC principima boja varira od zelene do crvene.



**Slika 4.37.** AGREE piktogram razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi.

Prvi princip zelene hemije odnosi se na mogućnost direktne analitičke tehnike kako bi se izbegao pretretman uzorka. Na Slici 4.37. se uočava da je ovo polje označeno žutom bojom zbog nemogućnosti direktne analize. Zelenost DSPME metode se ogleda u upotrebi male količine uzorka pa je drugo polje na piktogramu obojeno tamno žutom bojom. Dalje, piktogram jasno pokazuje da su samo tri polja označena crvenom bojom, odnosno polja označena brojevima 3, 9 i 10, koji odgovaraju GAC principima vezanim za mogućnost direktne analize nakon uzorkovanja, potrošnju energije za određenu vrstu analitičke tehnike, kao i mogućnost korišćenja obnovljivih reagenasa. Zapaža se da su svi ostali segmenti AGREE piktograma obojeni različitim nijansama zelene boje, čineći razvijenu DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi ekološki prihvatljivom. Postupak pripreme uzorka uključuje nekoliko koraka (polje označeno brojem 4), a razvijeni metod je

minijaturizovan i poluautomatski (polje označeno brojem 5). Derivatizacija uzorka nije bila potrebna (polje obeleženo brojem 6), a DSPME metoda koristi veoma malu količinu reagensa, pa je i količina otpada minimalna (polje označeno brojem 7). DSPME metoda na MIP-peha je pogodna za merenje velikog broja analita zbog unapred dizajnirane selektivnosti za ciljani analit (anilin) i njegove derivate, što omogućava analizu velikog broja uzoraka (polje obeleženo brojem 8). Razvijena metoda nije podrazumeva upotrebu visoko toksičnih reagenasa (polje označeno brojem 11) već AcN zbog čega postoji potencijalna opasnost po toksičnost za vodeni svet, pa je ovo polje obeleženo svetlijom nijasnom zelene boje (polje obeleženo brojem 12). Sa Slike 4.37. se kao srednja vrednost svih principa u centru AGREE piktoograma, uočava svetlo zelena boja sa vrednošću od 0,62, što DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi čini prihvatljivom zelenom metodom koja odgovara principima analitičke zelene hemije.

Uzimajući u obzir rezultate dobijene pomoću Analitičke Eko-Skale, GAPI i AGREE kalkulatora za ispitivanje zelenosti razvijena DSPME metoda na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentrisanje anilina iz vodenog rastvora pre instrumentanog merenja na HPLC-MS posmatrana je kroz 12 GAC principa:

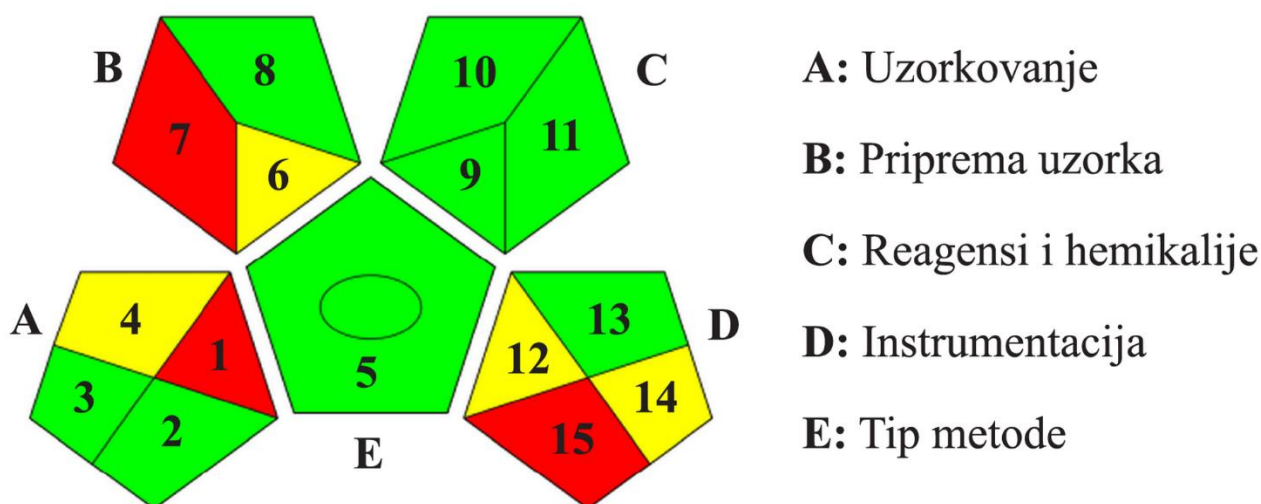
- Jedna od glavnih prednosti DSPME metode je to što se sve odvija u jednom reaktoru, čime se smanjuje otpad i skraćuje vreme trajanja metode, kao i koraci same metode, što odgovara principima P4 i P7.
- Ono što DSPME metodu čini ekološki prihvatljivom je kratko vreme sorpcije (1 min) i desorpcije (1 min), a što je u skladu sa principima P5 i P8.
- Ceo proces se odvija na sobnoj temperaturi, tako da ne postoji potreba za dodatnom potrošnjom energije, što je takođe u skladu sa principom P8.
- Zahvaljujući MIP na bazi GMA i magnetita koji se lako odvaja spoljnim magnetnim poljem, koraci samog procesa se smanjuju što značajno smanjuje vreme potrebno za izvođenje eksperimenata, čime se i količina otpada minimizira
- Unapred dizajnirani kompjuterski programi za optimizaciju DSPME (DoE) znatno smanjuju vreme i gubitke, što odgovara principu P4, P8.
- Nedostatak razvijene DSPME metode se ogleda u nemogućnosti direktne analize nakon uzorkovanja (princip P1) i korišćenju ne-zelenih i obnovljivih rastvarača (princip P9). Zbog toga, prikazani rezultati nisu u potpunosti zadovoljili sve principe.
- Primarni ograničavajući faktor prilikom evaluacije zelenog pristupa u analitičkoj hemiji je nedostatak automatizacije, pa su budući trendovi usmereni na razvoj automatizovane analize „na liniji” sa uzorkovanjem što će poboljšati ukupnu zelenost procesa.
- Za razvijenu DSPME metodu potrebna je minimalna količina desorpcionog sredstva AcN (450 µL), što ne predstavlja ozbiljan problem prilikom odlaganja otpada.
- Nakon DSPME, kvantitativna i kvalitativna analiza se vrši na HPLC-MS, koji se klasifikuje kao tehnika koja koristi najviše energije, međutim u pogledu osetljivosti i inovativnosti ova tehnika je daleko bolja od ostalih ponuđenih.

U Tabeli 4.7. prikazan je detaljan proračun zelenosti pomoću Analitičke Eko-Skale za korišćenu HPLC-MS tehniku. Na osnovu dobijenih rezultata uočava se da su korišćeni reagensi odlučujući faktori koji utiču na rezultat i dobijanje kaznenih bodova. Iz prikazanih rezultata se vidi je ukupan zbir umanjen za 4 poena, jer je kao mobilna faza korišćen MeOH, koji se klasifikuje kao manje zelen i biološki nerazgradiv rastvarač. Potrošnja energije korišćenjem HPLC-MS analitičke tehnike umanjio je konačni rezultat za 2 kaznena poena, jer ova tehnika zahteva potrošnju energije više od 1,5 kWh po analizi. Količina otpada koja je napravljena korišćenjem HPLC-MS umanjuje konačan rezultat za 3 poena. Ukupan broj kaznenih poena dobijen preračunavanjem poena korišćene HPLC-MS je 9, što čini da se ova tehnika svrstava u odlične zelene tehnike sa ukupnim rezultatom od 91 poen na Analitičkoj Eko-Skali.

**Tabela 4.7.** Rezultati Analitičke Eko-Skale korišćene HPLC-MS tehnike

Reagensi	Kazneni poeni (KP)
MeOH	4
Instrumentacija	
HPLC-MS	2
Vorteks	0
Otpad	3
<b>Ukupni kazneni poeni</b>	<b>9</b>
<b>Broj poena dobijen prema rezultatima</b>	<b>91</b>
<b>Analitičke Eko- Skale</b>	
<b>Zaključak</b>	<b>Metoda odlične zelenosti</b>

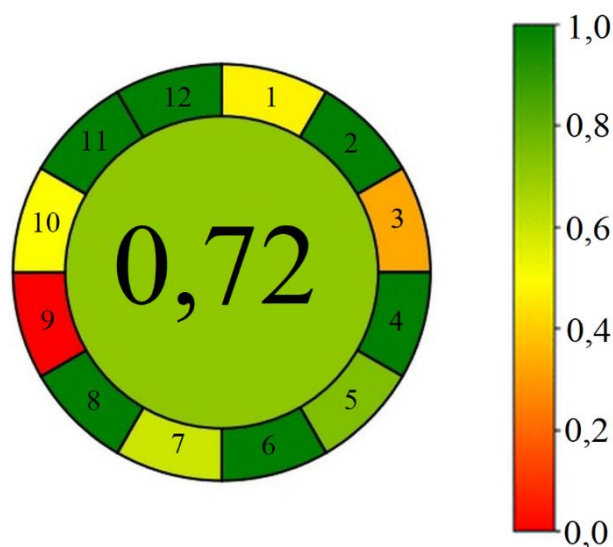
Na Slici 4.38. prikazan je GAPI piktogram koji uzima u obzir sve korake analitičkog procesa korišćene HPLC-MS tehnike, od prikupljanja uzoraka do instrumentalne analize, kako bi se ispitala njena ekološka prihvatljivost. Parametri označeni zelenom bojom su u skladu sa kriterijumima zelene hemije, dok su parametri koji manje ili više odstupaju od principa zelene hemije označeni žutom, odnosno crvenom bojom.

**Slika 4.38.** GAPI piktogram korišćene HPLC-MS tehnike.

Za procenu zelenosti HPLC-MS tehnike ispitana su tri ključna GAPI aspekta: priprema uzorka, upotreba reagenasa i rastvarača, i procena instrumentacije. S obzirom na to da se DSPME metoda vrši neposredno pre instrumentalnog merenja, uređaj je postavljen na liniji (*eng. at line*), što je predstavljeno žutom bojom (1). Čuvanje i transport uzoraka za analizu na instrumentu nisu potrebni što je predstavljeno zelenom bojom (2, 3), dok skladištenje ne zahteva posebne uslove, pa je ovaj pentagram označen žutom bojom (4). Pored toga, uzorkovanje ne zahteva tehnike pripreme kao što su razblaživanje ili upotreba ultrazvuka, pa je predložena tehnika klasifikovana kao zelena (7). Što se tiče tipa ekstrakcije, pre instrumentalnog merenja na HPLC-MS korišćena je mikroekstrakcija, što u slučaju GAPI piktograma odgovara žutoj boji (6). Poslednji korak u pripremi uzorka odnosi se na dodatne tretmane, koji su nepotrebni u ovom slučaju (zeleno boja) (8). Količina reagensa koji se koristi za jednu kompletnu analizu odgovara zelenoj metodi, što je manje od 10ml (9), a samim tim bezbednosni i zdravstveni rizici odgovaraju zelenoj boji (10, 11). Prema GAPI klasifikaciji, HPLC-MS predstavlja ne-zelenu tehniku u pogledu potrošnje energije i hemikalija (12). Korišćeni HPLC-MS je hermetički zatvoren instrument, stoga ne dolazi do isparavanja hemikalija prilikom analize, pa je opasnost po analitičara svedena na minimum (zeleno boja).

boja) (13). Poslednji GAPI segment se odnosi na otpad i tretiranje otpada. Količina otpada nastala predloženom HPLC-MS tehnikom odgovara žutoj boji (14), dok je neadekvatno tretiranje dobijenog otpada označeno crvenom bojom (15).

Procena zelenosti HPLC-MS tehnike korišćenjem AGREE kalkulatora je predstavljena na Slici 4.39. Rezultat srednje vrednosti svih 12 segmenata AGREE piktograma (0,72) pokazuje da je predložena HPLC-MS tehnika u skladu sa principima zelene hemije. Prvi segment AGREE piktograma odnosi se na način uzorkovanja, što u slučaju korišćene HPLC-MS tehnike podrazumeva pripremu uzorka van mesta uzorkovanja. Zatim je uzeta u obzir zapremina koja je bila potrebna instrumentu kako bi se anilin uspešno snimio (5 µl). Treći segment AGREE piktograma se odnosi na poziciju analitičkog instrumenta. Kako se DSPME metoda vrši neposredno pre instrumentalnog merenja, uređaj je postavljen na liniji. Segment koji se odnosi na broj koraka u pripremi uzoraka je manji od tri u slučaju HPLC-MS tehnike, odnosno potrebna je manja količina manualnog rada. U skladu sa tim, predložena tehnika je poluautomatizovana, jer podrazumeva korake manuelne, ali jednostavne pripreme. Šesti segment se odnosi na potrebu za derivatizacijom, što u slučaju HPLC-MS nije potrebno. Količina otpada je u opsegu od 1-10 ml, a korišćenom tehnikom se određuje veći broj analita, što utiče na efikasnost. Crvena boja u AGREE piktogramu se odnosi na potrošnju energije samog instrumenta (>1,5 kWh), a bezbednost analitičara je adekvatno regulisana i nisu postojale pretnje od nekontrolisanih isparenja.



**Slika 4.39.** AGREE piktogram korišćene HPLC-MS tehnike.

Koristeći Analitičku Eko-Skalu, GAPI i AGREE kalkulator data je potpuna slika o zelenosti korišćene HPLC-MS tehnike i objašnjena je kroz 12 principa zelenosti:

- Kod hromatografskih tehnika zbog nemogućnosti prenosivosti instrumenta (princip P1) direktna analiza uzoraka često nije moguća. Stoga je u budućnosti neophodno razmotriti na koji način bi se moglo omogućiti merenje na licu mesta.
- Prema principu P2, manja količina uzorka znači ekološki prihvatljiviju tehniku. Ono što je karakteristično za tehniku tečne hromatografije je vremenski interval između uzorkovanja, merenja i dobijanja rezultata (*in-line* ili *on-line* uzorkovanje) (princip P3) (Napolitano-Tabares et al., 2021).
- Derivatizacija uzorka nije bila potrebna što prema principu P6 u potpunosti odgovara zelenosti.
- U prilog principu P7 ide i količina upotrebljenih rastvarača i nastalog otpada koja je minimizirana, što je posledica brzine protoka od 0,3 ml/min, male injektovane zapremine od 5 µl, kao i vremena potrebnog za analizu koje iznosi nešto manje od 5 minuta.

- Mogućnost istovremene analize velikog broja analita značajno doprinosi smanjenju vremena i potrošene energije.
- Iako je HPLC-MS klasifikovana kao najmanje zelena tehnika zbog velike potrošnje energije (princip P9), njena prednost se ogleda u sposobnosti da detektuje analite u tragovima, što nije uvek moguće korišćenjem drugih „zelenijih metoda“.
- Kao mobilna faza u HPLC se najčešće koristi kombinacija vode i organskog rastvarača. AcN i MeOH su pogodni rastvarači za HPLC zbog dobrih hromatografskih svojstava, kao što su mogućnost mešanja sa vodom, visoka čistoća, mala viskoznost njihovih vodenih rastvora i hemijska reaktivnost sa većinom uzoraka (Tadić et al., 2024a). Međutim, u pogledu ekološkog uticaja i zdravstvene bezbednosti, ovi rastvarači nisu najbolji izbor (princip P10 i P11).
- Bezbednost analitičara adekvatno je regulisana. Hermetički zatvoren instrument eliminiše mogućnost opasnog isparavanja rastvarača (princip P12).





U prvom delu doktorske disertacije nanočestice magnetita,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , dvostepeno su obložene, najpre sa TEOS, a zatim sa MPS. Nakon toga, pripremljen je, optimizovan i detaljno okarakterisan polimerni nosač na bazi GMA i dvostepeno obloženog  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , *mPGE60*. U okviru optimizacije uslova sinteze pripremljene su tri serije uzoraka koje su obuhvatale ispitivanje uticaja vrste (PVA ili PVP) i količine stabilizatora (1, 5 i 7 mas.%), kao i brzine mešanja (400 i 600 obr/min), na oblik i veličinu čestica dobijenog polimernog nosača. Nakon toga, sintetisani uzorci okarakterisani su SEM i sito analizom. Polimerni nosač, *mPGE60*, okarakterisan je različitim tehnikama karakterizacije u pogledu strukturnih, morfoloških i magnetnih svojstava i doneti su sledeći zaključci:

- FTIR analiza je potvrdila uspešno formiranje sloja TEOS-a i MPS-a na nanočesticama  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .
- U okviru optimizacije uslova sinteze pokazalo se da korišćenjem PVP-a kao stabilizatora polimerne čestice poprimaju sferni oblik i da povećanje masenog udela stabilizatora u početnoj reakcionoj smeši ima veliki uticaj na oblik i veličinu čestica polimernog nosača. Takođe, zaključeno je da brzina mešanja reakcione smeše nema uticaj na izgled čestica dobijenih polimernih nosača, ali značajno utiče na veličinu dobijenih čestica. Rezultati SEM i sito analize potvrdili su da se čestice odgovarajućeg izgleda i veličine dobijaju korišćenjem 7 mas.% PVP-a i pri brzini mešanja od 600 obr/min.
- Sito analiza polimernog nosača na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  je pokazala da *mPGE60* poseduje udele frakcija različitog prečnika, pri čemu je najzastupljenija frakcija čestica sa prečnikom  $0,15 \text{ mm} < d < 0,25 \text{ mm}$ , u iznosu od oko 52,6 mas.%.
- FTIR analizom potvrđeno je prisustvo svih karakterističnih traka polimernog nosača, *mPGE60*.
- SEM mikrografije jasno pokazuju globularnu strukturu, dok EDS sa mapiranjem ukazuje na prisustvo svih očekivanih elemenata (C, O, Fe, Si).
- Parametri porozne strukture *mPGE60* određeni su komplementarnim metodama, živinom porozimetrijom i niskotemperaturnom fizisorpcijom azota i na osnovu rezultata se izvodi zaključak da se dobijeni polimerni nosač na bazi GMA i  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  može klasifikovati kao mezoporozni materijal.
- Iz rezultata magnetnih svojstava polimernog nosača zaključuje se da vrednost  $M_s$  pri  $T = 300 \text{ K}$  iznosi 4,8 emu/g, a odnos  $M_r/M_s$  ima vrednost 0,131 što ukazuje da *mPGE60* poseduje multidomensku strukturu i ima skoro uniformnu magnetizaciju.

Nakon toga, pripremljena su tri MIP-a sa anilinom kao molekulom šablona metodom površinskog otiskivanja, MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha, u zavisnosti od toga koji ligand (EDA, TETA ili PEHA) je korišćen u sintezi. Pre same sinteze urađeni su preliminarni eksperimenti optimizacije molskog odnosa ligand:šablon (1:1, 2:1, 4:1). Nakon toga, sintetisani MIP-ovi su detaljno okarakterisani i doneti su sledeći zaključci:

- Visoki odnosi ligand:šablon (4:1) su pogodniji za kontrolu morfologije MIP-a i stabilizaciju otisnutih mesta.
- Rezultati FTIR analize ukazuju na uspešnu pripremu MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha metodom površinskog otiskivanja.
- Dobijeni rezultati elementarne analize ukazuju da nije došlo do potpune konverzije epoksidnih grupa u amino grupe prilikom sinteze MIP-a i da procenat konverzije epoksidnih grupa opada sledećim redosledom: MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha, što je posledica sternih smetnji koje nastaju zbog uvođenja voluminoznijih liganada.
- SEM analizom potvrđena je globularna, porozna struktura, dok je EDS sa mapiranjem potvrdio prisustvo svih očekivanih elemenata.
- Na osnovu rezultata dobijenih živinom porozimetrijom i niskotemperaturnom fizisorpcijom azota se može uočiti da nema značajnih promena u poroznoj strukturi nakon pripreme MIP-ova metodom površinskog otiskivanja različitim ligandima. Najdominantnije pore u svim

analiziranim uzorcima bile su mezopore, što ukazuje da se MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha mogu klasifikovati kao mezoporozni materijali.

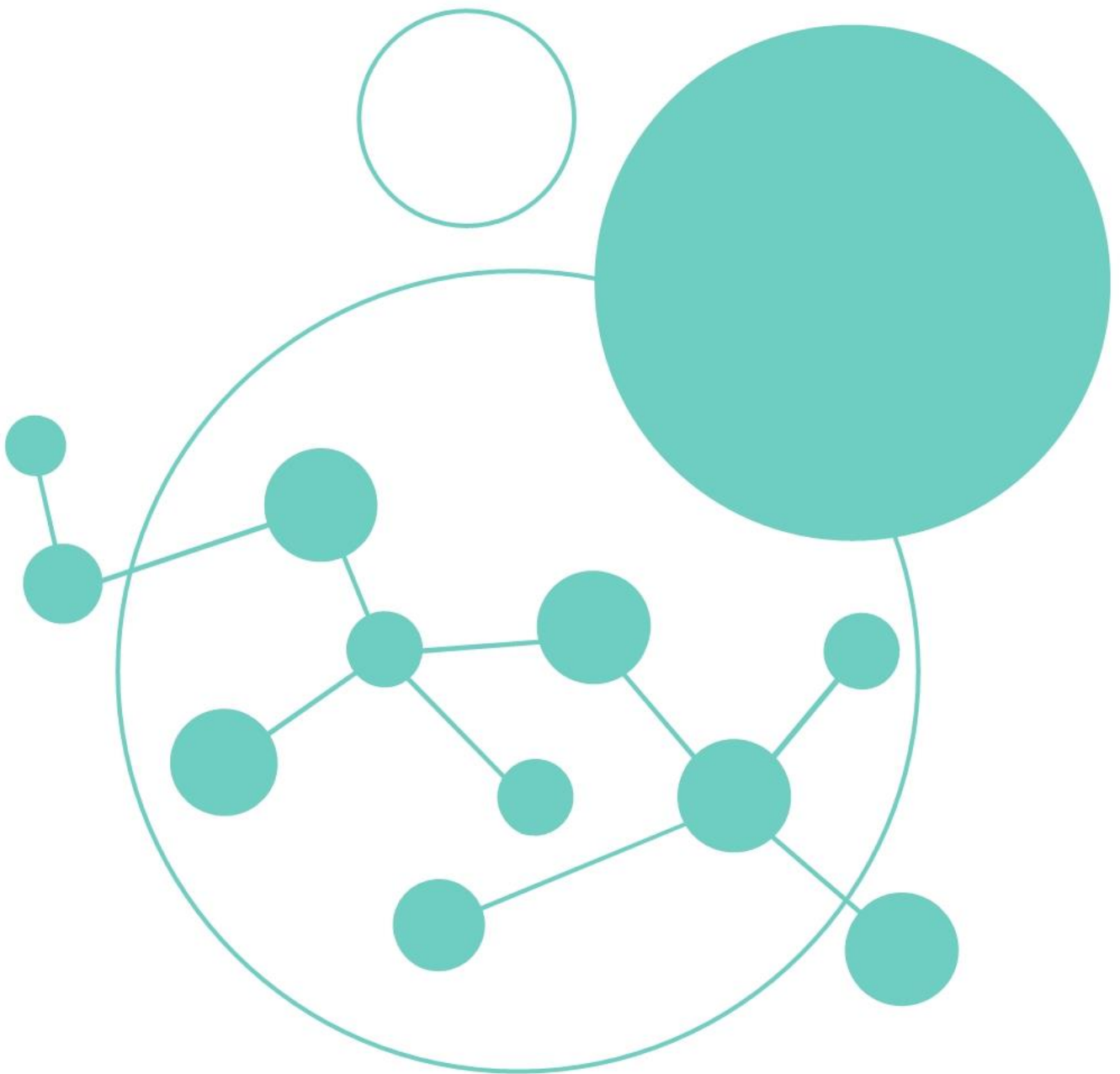
- Vrednosti  $pH_{PZC}$  za MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha iznose 6,1; 6,3 i 6,4, redom, a neznatni porast vrednosti ukazuje na blago povećanje baznosti površine uzoraka što je posledica različite koncentracije amino grupa u MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha.

Zatim su prikazani rezultati sorpcione ekstrakcije anilina iz vodenih rastvora pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha. Ispitan je uticaj pH na sorpcioni kapacitet, a zatim mogućnost regeneracije i ponovne upotrebe analiziranih MIP-ova. Takođe, prikazani su rezultati optimizacije i validacije DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi pre instrumentalnog merenja na HPLC-MS u svrhu pretkoncentrisanja primarnog aromatičnog amina – anilina, kao i rezultati ispitivanja zelenosti razvijene DSPME metode na MIP kao čvrstoj fazi, kao i korišćene HPLC-MS. Iz navedenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

- Ispitivanjem uticaja početne pH vrednosti vodenog rastvora na kapacitet sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha uočeno je da se maksimalni sorpcioni kapacitet postiže pri pH 6. Manji kapacitet sorpcije pri nižim pH vrednostima objašnjava se elektrostatičkim odbijanjem između pozitivno naelektrisanih aktivnih mesta na površini MIP-eda, MIP-teta, MIP-peha i anilinjum katjona. Kako pH vrednost vodenog rastvora raste iznad  $pK_a$  vrednosti anilina (4,63), molekulski oblik anilina podstiče sorpciju na MIP-ovima pomoću Van der Valsovih sila i vodoničnih veza, što za posledicu ima povećanje sorpcionog kapaciteta. Vrednosti maksimalnog kapaciteta sorpcije anilina pomoću MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha dobijenog na pH vrednosti od 6 iznose 1,28 mg/g, 1,75 mg/g i 2,05 mg/g, redom.
- Najveći desorpcioni kapacitet za MIP-eda, MIP-teta i MIP-peha od oko 0,8 mg/g postignut je korišćenjem AcN kao desorpcionog sredstva, što se objašnjava njegovom polarnošću koja je najbliža anilinu u poređenju sa ostala dva ispitana desorpciona sredstva (EtOH i MeOH).
- Rezultati ponovne upotrebe MIP sorbenata za uklanjanje anilina iz vodenog rastvora pokazali da se ovi sorbenti mogu koristiti u najmanje četiri ciklusa sorpcija/desorpcija bez značajnijeg gubitka kapaciteta sorpcije.
- Pareto grafikom identifikovani su najznačajniji faktori koji utiču na efikasnost predložene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi, a to su zapremina desorpcionog sredstva, pH i temperatura ekstrakcije i oni su odabrani za dalje ispitivanje i optimizaciju.
- Konturni dijagram i trodimenzionalni dijagram odgovora površine pokazali su da je maksimalna efikasnost od 62,7 % postignuta pri zapremini desorpcionog sredstva od 450  $\mu$ l, pH vrednosti vodenog rastvora anilina od 6 i temperaturi ekstrakcije od 25 °C.
- Optimalni uslovi za predloženu DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi za pretkoncentraciju anilina su: 50 mg MIP-peha, ekstrakcija u trajanju od 1 min potpomognuta vorteksom na temperaturi od 25 °C i desorcija sa AcN kao desorpcionim sredstvom zapremine 450  $\mu$ l u trajanju od 1 min potpomognuta vorteksom na temperaturi od 25 °C.
- Visoka vrednost koeficijenta determinacije ( $R^2 = 0,935$ ) ukazuje da su eksperimentalni rezultati u skladu sa predviđenim vrednostima. Takođe, statistički rezultati pokazali su značajnost modela, sa p-vrednošću manjom od 0,017. Test nepodesnosti modela (nedostatak fitovanja) nije bio značajan, što pokazuje visok nivo tačnosti i konzistentnost eksperimentalnih rezultata.
- Za DSPME metodu na MIP-peha kao čvrstoj fazi dobijena je LoD vrednost od 1 ng/ml, RSD od 18 %, dok je efikasnost DSPME metode bila 62 %. Vrednost koeficijenta korelacije u opsegu koncentracije rastvora anilina od 1 ng/ml do 200 ng/ml iznosio je 0,9969 čime je potvrđena linearnost DSPME metode.
- Rezultat Analitičke Eko-Skale razvijene DSPME metode na MIP-peha kao čvrstoj fazi iznosio je 91 poen čime se razvijena DSPME metoda kategoriše kao metoda odlične zelenosti.

- Na AGREE piktogramu razvijene DSPME metode uočava se svetlo zelena boja sa vrednošću od 0,62, što je čini prihvatljivom zelenom metodom koja odgovara principima analitičke zelene hemije.
- Ukupan broj kaznenih poena dobijen preračunavanjem poena korišćene HPLC-MS je 9, što čini da se ova tehnika svrstava u odlične zelene tehnike sa ukupnim rezultatom od 91 poen na Analitičkoj Eko-Skali.
- Rezultat srednje vrednosti svih 12 segmenata AGREE piktograma (0,72) pokazuje da je predložena HPLC-MS tehnika u skladu sa principima zelene hemije.
- Primarni ograničavajući faktor prilikom evaluacije zelenog pristupa u analitičkoj hemiji je nedostatak automatizacije, pa su budući trendovi usmereni na razvoj automatizovane analize „na liniji” sa uzorkovanjem što će poboljšati ukupnu zelenost procesa.

## 6. LITERATURA



- Adumitrăchioaie, A., Tertiş, M., Cernat, A., Săndulescu, R., & Cristea, C. (2018). Electrochemical methods based on molecularly imprinted polymers for drug detection. A review. *International Journal of Electrochemical Science*, 13(3), 2556–2576. <https://doi.org/10.20964/2018.03.75>
- Ahmadi, S., & Igwegbe, C. A. (2018). Adsorptive removal of phenol and aniline by modified bentonite: adsorption isotherm and kinetics study. *Applied Water Science*, 8(6). <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0826-3>
- Ali, N. S., Majdi, H. S., Albayati, T. M., & Jasim, D. J. (2023). Adsorption of aniline from aqueous solutions onto a nanoporous material adsorbent: isotherms, kinetics, and mass transfer mechanisms. *Water Practice & Technology*, 18(9), 2136–2150. <https://doi.org/10.2166/wpt.2023.132>
- Al-Johani, H., & Abdel Salam, M. (2011). Kinetics and thermodynamic study of aniline adsorption by multi-walled carbon nanotubes from aqueous solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 360(2), 760–767. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.04.097>
- Alahmad, W., Sahragard, A., & Varanusupakul, P. (2021). Online and offline preconcentration techniques on paper-based analytical devices for ultrasensitive chemical and biochemical analysis: A review. *Biosensors & Bioelectronics*, 194(113574), 113574. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113574>
- Alexander, S., Baraneedharan, P., Balasubrahmanyam, S., & Ramaprabhu, S. (2017). Modified graphene based molecular imprinted polymer for electrochemical non-enzymatic cholesterol biosensor. *European Polymer Journal*, 86, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.11.024>
- Alvarez-Lorenzo, C., & Concheiro, A. (2004). Molecularly imprinted polymers for drug delivery. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 804(1), 231–245. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.12.032>
- Andrade, A. L., Souza, D. M., Pereira, M. C., Fabris, J. D., & Domingues, R. Z. (2009). Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles coated with silica through a sol-gel approach. *Ceramica*, 55(336), 420–424. <https://doi.org/10.1590/s0366-69132009000400013>
- Anene, A., Kalfat, R., Chevalier, Y., & Hbaieb, S. (2020). Design of molecularly imprinted polymeric materials: The crucial choice of functional monomers. *Chemistry Africa*, 3(3), 769–781. <https://doi.org/10.1007/s42250-020-00180-1>
- Anjalin, M., Kanagathara, N., & Baby Suganthi, A. R. (2020). A brief review on aniline and its derivatives. *Materials Today: Proceedings*, 33, 4751–4755. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.08.358>
- Ansari, S. (2017). Application of magnetic molecularly imprinted polymer as a versatile and highly selective tool in food and environmental analysis: Recent developments and trends. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 90, 89–106. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.03.001>
- Ansari, S., & Masoum, S. (2018). A multi-walled carbon nanotube-based magnetic molecularly imprinted polymer as a highly selective sorbent for ultrasonic-assisted dispersive solid-phase microextraction of sotalol in biological fluids. *The Analyst*, 143(12), 2862–2875. <https://doi.org/10.1039/c7an02077e>
- Arabi, M., Ostovan, A., Bagheri, A. R., Guo, X., Wang, L., Li, J., ... Chen, L. (2020). Strategies of molecular imprinting-based solid-phase extraction prior to chromatographic analysis. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 128(115923), 115923. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115923>
- Ardila-Leal, L. D., Poutou-Piñales, R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., & Quevedo-Hidalgo, B. E. (2021). A brief history of colour, the environmental impact of synthetic dyes and removal by using laccases. *Molecules*, 26(13), 3813. <https://doi.org/10.3390/molecules26133813>
- Ashley, J., Shahbazi, M. A., Kant, K., Chidambara, V. A., Wolff, A., Bang, D. D., & Sun, Y. (2017). Molecularly imprinted polymers for sample preparation and biosensing in food analysis: Progress and perspectives. *Biosensors & bioelectronics*, 91, 606–615. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.018>

- Augusto, F., Carasek, E., Silva, R. G. C., Rivellino, S. R., Batista, A. D., & Martendal, E. (2010). New sorbents for extraction and microextraction techniques. *Journal of Chromatography A*, *1217*(16), 2533–2542. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.033>
- Ayankojo, A. G., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., & Syritski, V. (2022). Molecularly imprinted polymer based electrochemical sensor for quantitative detection of SARS-CoV-2 spike protein. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, *353*(131160), 131160. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131160>
- Azizi, A., & Bottaro, C. S. (2020). A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples. *Journal of chromatography. A*, *1614*, 460603. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460603>
- Azizi, A., & Bottaro, C. S. (2020). A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, *1614*(460603), 460603. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460603>
- Bajaj, A., Trimpert, J., Abdulhalim, I., & Altintas, Z. (2022). Synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles for SARS-CoV-2 virus detection using surface plasmon resonance. *Chemosensors*, *10*(11), 459. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10110459>
- Bakhtiar, S., Bhawani, S. A., & Shafqat, S. R. (2019). Synthesis and characterization of molecular imprinting polymer for the removal of 2-phenylphenol from spiked blood serum and river water. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *6*(1). <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0152-5>
- Bayuo, J., Abukari, M. A., & Pelig-Ba, K. B. (2020). Desorption of chromium (VI) and lead (II) ions and regeneration of the exhausted adsorbent. *Applied Water Science*, *10*(7). <https://doi.org/10.1007/s13201-020-01250-y>
- Beres, D. L., & Hawkins, D. M. (2001). Plackett–Burman technique for sensitivity analysis of many-parametered models. *Ecological Modelling*, *141*(1–3), 171–183. [https://doi.org/10.1016/s0304-3800\(01\)00271-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3800(01)00271-x)
- Berradi, M., Hsissou, R., Khudhair, M., Assouag, M., Cherkaoui, O., El Bachiri, A., & El Harfi, A. (2019). Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. *Heliyon*, *5*(11), e02711. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02711>
- Bezdorozhev, O., Kolodiazhnyi, T., & Vasylykiv, O. (2017). Precipitation synthesis and magnetic properties of self-assembled magnetite-chitosan nanostructures. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, *428*, 406–411. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.12.048>
- Bock, P., & Gierlinger, N. (2019). Infrared and Raman spectra of lignin substructures: Coniferyl alcohol, abietin, and coniferyl aldehyde. *Journal of Raman Spectroscopy: JRS*, *50*(6), 778–792. <https://doi.org/10.1002/jrs.5588>
- Bouvarrel, T., Delaunay, N., & Pichon, V. (2021). Molecularly imprinted polymers in miniaturized extraction and separation devices. *Journal of Separation Science*, *44*(8), 1727–1751. <https://doi.org/10.1002/jssc.202001223>
- Boyacı, E., Rodríguez-Lafuente, Á., Gorynski, K., Mirnaghi, F., Souza-Silva, É. A., Hein, D., & Pawliszyn, J. (2015). Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. *Analytica Chimica Acta*, *873*, 14–30. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.12.051>
- Cao, V., Cao, P. A., Han, D. L., Ngo, M. T., Vuong, T. X., & Manh, H. N. (2024). The suitability of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/graphene oxide nanocomposite for adsorptive removal of methylene blue and Congo red. *Nature, Environment and Pollution Technology*, *23*(1), 255–263. <https://doi.org/10.46488/nept.2024.v23i01.021>
- Chen, L., Wang, X., Lu, W., Wu, X., & Li, J. (2016). Molecular imprinting: perspectives and applications. *Chemical Society Reviews*, *45*(8), 2137–2211. <https://doi.org/10.1039/c6cs00061d>



- Chen, L., Xu, S., & Li, J. (2011). Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2922–2942. <https://doi.org/10.1039/c0cs00084a>
- Chen, L., Xu, S., & Li, J. (2011). Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2922–2942. <https://doi.org/10.1039/c0cs00084a>
- Chen, Y., Guo, Z., Wang, X., & Qiu, C. (2008). Sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 1184(1–2), 191–219. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.026>.
- Cheong, W. J., Yang, S. H., & Ali, F. (2013). Molecular imprinted polymers for separation science: a review of reviews. *Journal of Separation Science*, 36(3), 609–628. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200784>
- Chianella, I., Lotierzo, M., Piletsky, S. A., Tothill, I. E., Chen, B., Karim, K., & Turner, A. P. (2002). Rational design of a polymer specific for microcystin-LR using a computational approach. *Analytical chemistry*, 74(6), 1288–1293. <https://doi.org/10.1021/ac010840b>
- Chinthakindi, S., & Kannan, K. (2021). A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the analysis of primary aromatic amines in human urine. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1180(122888), 122888. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122888>
- Chiou, J., Leung, A. H. H., Lee, H. W., & Wong, W.-T. (2015). Rapid testing methods for food contaminants and toxicants. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(11), 2243–2264. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(15\)61119-4](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(15)61119-4)
- Commission Regulation (EU) 2020/1245 amending and correcting Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.
- Cormack, P. A. G., & Elorza, A. Z. (2004). Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 804(1), 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.02.013>
- Czyrski, A., & Sznura, J. (2019). The application of Box-Behnken-Design in the optimization of HPLC separation of fluoroquinolones. *Scientific Reports*, 9(1), 19458. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55761-z>
- Dayana, I., Sembiring, T., Tetuko, A. P., Sembiring, K., Maulida, N., Cahyarani, Z., ... Sebayang, P. (2019). The effect of tetraethyl orthosilicate (TEOS) additions as silica precursors on the magnetite nano-particles (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) properties for the application of ferro-lubricant. *Journal of Molecular Liquids*, 294(111557), 111557. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111557>
- De Marco, B. A., Rechelo, B. S., Tótolí, E. G., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. N. (2019). Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ: The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 27(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.07.011>
- Dil, E. A., Doustimotlagh, A. H., Javadian, H., Asfaram, A., & Ghaedi, M. (2021). Nano-sized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>-molecular imprinted polymer as a sorbent for dispersive solid-phase microextraction of melatonin in the methanolic extract of *Portulaca oleracea*, biological, and water samples. *Talanta*, 221(121620), 121620. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121620>
- Dinc, M., Esen, C., & Mizaikoff, B. (2019). Recent advances on core-shell magnetic molecularly imprinted polymers for biomacromolecules. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 114, 202–217. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.008>
- Dong, C., Shi, H., Han, Y., Yang, Y., Wang, R., & Men, J. (2021). Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *European Polymer Journal*, 145(110231), 110231. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.110231>
- Donia, A. M., Atia, A. A., & Elwakeel, K. Z. (2005). Gold(III) recovery using synthetic chelating resins with amine, thio and amine/mercaptan functionalities. *Separation and Purification Technology*, 42(2), 111–116. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.06.009>

- Dorgerloh, U., Hofmann, A., Riedel, J., & Becker, R. (2021). Comparison of gas- and liquid chromatography-mass spectrometry for trace analysis of anilines in groundwater. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1–13. <https://doi.org/10.1080/03067319.2021.1987423>
- Dozein, S. V., Masrournia, M., Es'haghi, Z., & Bozorgmehr, M. R. (2021). Development of a new magnetic dispersive solid-phase microextraction coupled with GC-MS for the determination of five organophosphorus pesticides from vegetable samples. *Food Analytical Methods*, 14(4), 674–686. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01906-0>
- Ekmešić, B. M., Maksin, D. D., Marković, J. P., Vuković, Z. M., Hercigonja, R. V., Nastasović, A. B., & Onjia, A. E. (2019). Recovery of molybdenum oxyanions using macroporous copolymer grafted with diethylenetriamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 3628–3638. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.010>
- El Sharif, H. F., Dennison, S. R., Tully, M., Crossley, S., Mwangi, W., Bailey, D., ... Reddy, S. M. (2022). Evaluation of electropolymerized molecularly imprinted polymers (E-MIPs) on disposable electrodes for detection of SARS-CoV-2 in saliva. *Analytica Chimica Acta*, 1206(339777), 339777. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339777>
- Faraji, M., Afsharsaveh, Z., & Shirani, M. (2022). Application of vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on a new deep eutectic solvent for microextraction of aromatic amines from simulant of kitchenware samples by HPLC-UV. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 175(107124), 107124. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.107124>
- Faraji, M., Ghanati, K., Kamankesh, M., Aryanasab, F., & Mohammadi, A. (2022). New and efficient magnetic nanocomposite extraction using multifunctional deep eutectic solvent based on ferrofluid and vortex assisted-liquid-liquid microextraction: Determining primary aromatic amines (PAAs) in tetra-packed fruit juices. *Food Chemistry*, 386(132822), 132822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132822>
- Farooq, S., Chen, B., Gao, F., Muhammad, I., Ahmad, S., & Wu, H. (2022). Development of molecularly imprinted polymers for fenthion detection in food and soil samples. *Nanomaterials*, 12(13), 2129. doi:10.3390/nano12132129
- Fernández, E., & Vidal, L. (2014). Liquid-Phase Extraction and Microextraction. In *Ionic Liquids in Separation Technology* (pp. 107–152). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63257-9.00003-1>
- Ferreira, A., Bigan, M., & Blondeau, D. (2003). Optimization of a polymeric HPLC phase: poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate). *Reactive & Functional Polymers*, 56(2), 123–136. [https://doi.org/10.1016/s1381-5148\(03\)00049-x](https://doi.org/10.1016/s1381-5148(03)00049-x)
- Ferreira, J. B., de Jesus Macrino, C., Dinali, L. A. F., Filho, J. F. A., Silva, C. F., Borges, K. B., & Romão, W. (2021). Molecularly imprinted polymers as a selective sorbent for forensic applications in biological samples-a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413(24), 6013–6036. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03596-x>
- Ferreira, S. L. C., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandão, G. C., ... dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, 597(2), 179–186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>
- Ferreira, S. S., Brito, T. A., Santana, A. P. R., Guimarães, T. G. S., Lamarca, R. S., Ferreira, K. C., ... Gonzalez, M. H. (2022). Greenness of procedures using NADES in the preparation of vegetal samples: Comparison of five green metrics. *Talanta Open*, 6(100131), 100131. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2022.100131>
- Fresco-Cala, B., Batista, A. D., & Cárdenas, S. (2020). Molecularly Imprinted Polymer Micro- and Nano-Particles. A review. *Molecules*, 25(20), 4740. <https://doi.org/10.3390/molecules25204740>

- Furtado, A. I., Bonifácio, V. D. B., Viveiros, R., & Casimiro, T. (2024). Design of molecularly imprinted polymers using supercritical carbon dioxide technology. *Molecules*, 29(5), 926. <https://doi.org/10.3390/molecules29050926>
- Gałuszka, A., Migaszewski, Z. M., Konieczka, P., & Namieśnik, J. (2012). Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 37, 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>
- Gałuszka, A., Migaszewski, Z., & Namieśnik, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 50, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>
- Gao, D.-W., Hu, Q., Pan, H., Jiang, J., & Wang, P. (2015). High-capacity adsorption of aniline using surface modification of lignocellulose-biomass jute fibers. *Bioresource Technology*, 193, 507–512. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.138>
- Gao, M., Gao, Y., Chen, G., Huang, X., Xu, X., Lv, J., ... Liu, G. (2020). Recent advances and future trends in the detection of contaminants by molecularly imprinted polymers in food samples. *Frontiers in Chemistry*, 8, 616326. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.616326>
- Garrigós, M. C., Reche, F., Marín, M. L., & Jiménez, A. (2002). Determination of aromatic amines formed from azo colorants in toy products. *Journal of Chromatography A*, 976(1–2), 309–317. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)01162-7](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)01162-7)
- Gast, M., Sobek, H., & Mizaikoff, B. (2019). Advances in imprinting strategies for selective virus recognition a review. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 114, 218–232. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.010>
- Ghimire, P. P., Dassanayake, A. C., Wickramaratne, N. P., & Jaroniec, M. (2019). Polyvinyl pyrrolidone-assisted synthesis of size-tunable polymer spheres at elevated temperature and their conversion to nitrogen-containing carbon spheres. *Journal of Colloid and Interface Science*, 549, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.04.059>
- Gholizadeh Hosein Abadi, H., & Bazmandegan-Shamili, A. (2022). Novel magnetic molecularly imprinted polymer (MMIP) based on a magnesium-aluminum layered double hydroxide for the selective dispersive micro-solid-phase extraction (SPE) of fenitrothion with analysis by ion mobility spectrometry. *Analytical Letters*, 55(17), 2710–2726. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2068564>
- Ghorbani, M., Aghamohammadhassan, M., Chamsaz, M., Akhlaghi, H., & Pedramrad, T. (2019). Dispersive solid phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 793–809. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.012>
- Ghorbani, M., Akbarzade, S., Aghamohammadhasan, M., Seyedin, O., & Lahooori, N. A. (2018). Pre-concentration and determination of cadmium and lead ions in real water, soil and food samples using a simple and sensitive green solvent-based ultrasonic assisted dispersive liquid–liquid microextraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Methods*, 10, 2041. <https://doi.org/10.1039/C8AY00398J>
- Ghorbani, M., Chamsaz, M., Rounaghi, G. H., Aghamohammadhasani, M., Seyedin, O., & Lahooori, N. A. (2016). Development of a novel ultrasonic-assisted magnetic dispersive solid-phase microextraction method coupled with high performance liquid chromatography for determination of mirtazapine and its metabolites in human urine and water samples employing experimental design. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(27), 7719–7729. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9869-1>
- Gionfriddo, E. (2020). Green analytical solutions for sample preparation: solid phase microextraction and related techniques. *Physical Sciences Reviews*, 5(8). <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0006>
- Gkika, D., Tolkou, A., Lambropoulou, D. A., Bikiaris, D. N., Kokkinos, P., Kalavrouziotis, I., & Kyzas, G. Z. (2024). Application of Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) as environmental separation tools. *RSC Applied Polymers*. <https://doi.org/10.1039/d3lp00203a>

- González, N., Aguinaga Martínez, M. V., Domini, C. E., & Acebal, C. C. (2023). Current trends in sample preparation for the determination of primary aromatic amines in environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 37(e00197), e00197. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00197>
- Guo, Z., Pereira, T., Choi, O., Wang, Y., & Hahn, H. T. (2006). Surface functionalized alumina nanoparticle filled polymeric nanocomposites with enhanced mechanical properties. *Journal of Materials Chemistry*, 16(27), 2800. <https://doi.org/10.1039/b603020c>
- Guć, M., & Schroeder, G. (2019). Application of molecularly imprinted polymers (MIP) and magnetic molecularly imprinted polymers (mag-MIP) to selective analysis of quercetin in flowing atmospheric-pressure afterglow mass spectrometry (FAPA-MS) and in electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). *Molecules*, 24(13), 2364. <https://doi.org/10.3390/molecules24132364>
- Haque, S. K. M. (2022). Box–Behnken experimental design for optimizing the HPLC method to determine hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations and biological fluid. *Journal of Molecular Liquids*, 352(118708), 118708. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118708>
- Hasanah, A. N., Safitri, N., Zulfa, A., Neli, N., & Rahayu, D. (2021). Factors affecting preparation of Molecularly Imprinted Polymer and methods on finding template-monomer interaction as the key of selective properties of the materials. *Molecules*, 26(18), 5612. <https://doi.org/10.3390/molecules26185612>
- Hashim, S. N. N. S., Boysen, R. I., Schwarz, L. J., Danylec, B., & Hearn, M. T. W. (2014). A comparison of covalent and non-covalent imprinting strategies for the synthesis of stigmaterol imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 1359, 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.034>
- Heiman-Burstein, D., Dotan, A., Dodiuk, H., & Kenig, S. (2021). Hybrid sol-gel superhydrophobic coatings based on alkyl silane-modified nanosilica. *Polymers*, 13(4), 539. <https://doi.org/10.3390/polym13040539>
- Hérault, D., Saluzzo, C., Duval, R., & Lemaire, M. (2002). Enantiopure beads: a tool for asymmetric heterogeneous catalysis. *Journal of Molecular Catalysis. A, Chemical*, 182–183, 249–256. [https://doi.org/10.1016/s1381-1169\(01\)00482-4](https://doi.org/10.1016/s1381-1169(01)00482-4)
- Herrera-Chacón, A., Cetó, X., & Del Valle, M. (2021). Molecularly imprinted polymers - towards electrochemical sensors and electronic tongues. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 413(24), 6117–6140. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03313-8>
- Horák, D., & Shapoval, P. (2000). Reactive poly(glycidyl methacrylate) microspheres prepared by dispersion polymerization. *Journal of Polymer Science. Part A, Polymer Chemistry*, 38(21), 3855–3863. [https://doi.org/10.1002/1099-0518\(20001101\)38:21<3855::AID-POLA20>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1099-0518(20001101)38:21<3855::AID-POLA20>3.0.CO;2-2)
- Hroboňová, K., & Lomenova, A. (2018). Molecularly imprinted polymer as stationary phase for HPLC separation of phenylalanine enantiomers. *Monatshefte Fur Chemie*, 149(5), 939–946. <https://doi.org/10.1007/s00706-018-2155-5>
- Hu, T., Chen, R., Wang, Q., He, C., & Liu, S. (2021). Recent advances and applications of molecularly imprinted polymers in solid-phase extraction for real sample analysis. *Journal of Separation Science*, 44(1), 274–309. <https://doi.org/10.1002/jssc.202000832>
- Hu, Y., Zhang, C., Jian, Z., Chen, D., Ma, Y., & Yang, W. (2022). Surface-imprinted polymer microsphere based on self-stabilized precipitation polymerization for selective removal of norfloxacin. *Applied Surface Science*, 574(151706), 151706. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2021.151706>
- Huang, D. L., Wang, R. Z., Liu, Y. G., Zeng, G. M., Lai, C., Xu, P., Lu, B. A., Xu, J. J., Wang, C., & Huang, C. (2015). Application of molecularly imprinted polymers in wastewater treatment: a review. *Environmental science and pollution research international*, 22(2), 963–977. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3599-8>

- Huang, J., Ling, J., Kuang, C., Chen, J., Xu, Y., & Li, Y. (2018). Microbial biodegradation of aniline at low concentrations by *Pigmentiphaga daeguensis* isolated from textile dyeing sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *129*, 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.01.013>
- Huang, R., Yang, B., Liu, Q., & Liu, Y. (2014). Simultaneous adsorption of aniline and Cr(VI) ion by activated carbon/chitosan composite. *Journal of Applied Polymer Science*, *131*(4). <https://doi.org/10.1002/app.39903>
- Imam, M. S., & Abdelrahman, M. M. (2023). How environmentally friendly is the analytical process? A paradigm overview of ten greenness assessment metric approaches for analytical methods. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, *38*(e00202), e00202. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00202>
- Iyengar, S. J., Joy, M., Ghosh, C. K., Dey, S., Kotnala, R. K., & Ghosh, S. (2014). Magnetic, X-ray and Mössbauer studies on magnetite/maghemite core-shell nanostructures fabricated through an aqueous route. *RSC Advances*, *4*(110), 64919–64929. <https://doi.org/10.1039/c4ra11283k>
- Jahan, N., Uddin, M. M., Khan, M. N. I., Chowdhury, F.-U.-Z., Hasan, M. R., Das, H. N., & Hossain, M. M. (2021). Impact of particle size on the magnetic properties of highly crystalline Yb<sup>3+</sup> substituted Ni–Zn nanoferrites. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, *32*(12), 16528–16543. <https://doi.org/10.1007/s10854-021-06209-6>
- Jahanban-Esfahlan, A., Roufegarinejad, L., Jahanban-Esfahlan, R., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2020). Latest developments in the detection and separation of bovine serum albumin using molecularly imprinted polymers. *Talanta*, *207*(120317), 120317. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120317>
- Jalili, V., Barkhordari, A., & Ghiasvand, A. (2020). A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, *152*(104319), 104319. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104319>
- Jankovic, A., Chaudhary, G., & Goia, F. (2021). Designing the design of experiments (DOE) – An investigation on the influence of different factorial designs on the characterization of complex systems. *Energy and Buildings*, *250*(111298), 111298. <https://doi.org/10.1016/j.enbuild.2021.111298>
- Jiang, Y., Qin, Z., Liang, F., Li, J., Sun, Y., Wang, X., ... Song, D. (2021). Vortex-assisted solid-phase extraction based on metal-organic framework/chitosan-functionalized hydrophilic sponge column for determination of triazine herbicides in environmental water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1638*(461887), 461887. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461887>
- Jing, T., Wang, J., Liu, M., Zhou, Y., Zhou, Y., & Mei, S. (2014). Highly effective removal of 2,4-dinitrophenolic from surface water and wastewater samples using hydrophilic molecularly imprinted polymers. *Environmental science and pollution research international*, *21*(2), 1153–1162. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2007-0>
- Jovanović, S., & Đonlagić, J. (2004). "Hemija makromolekula", TMF, Beograd.
- Jovanovic, S., M., Nastasovic, A., B., Dzunuzovic, E., S., & Jeremic, K., B. (2005). Initiation of MMA polymerization by iniferters based on dithiocarbamates. *Hemijska Industrija*, *59*(11–12), 311–316. <https://doi.org/10.2298/hemind0512311j>
- Ju, J. Y., Shin, C. S., Whitcombe, M. J., & Vulfson, E. N. (1999). Imprinted polymers as tools for the recovery of secondary metabolites produced by fermentation. *Biotechnology and bioengineering*, *64*(2), 232–239. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0290\(19990720\)64:2<232::aid-bit12>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0290(19990720)64:2<232::aid-bit12>3.0.co;2-j)
- Kamgar, A., & Hassanajili, S. (2020). Super-hydrophobic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@MPS nanoparticles for oil remediation: The influence of pH and concentration on clustering phenomenon and oil sorption. *Journal of Molecular Liquids*, *315*(113709), 113709. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.113709>

- Kang, M. S., Cho, E., Choi, H. E., Amri, C., Lee, J.-H., & Kim, K. S. (2023). Molecularly imprinted polymers (MIPs): emerging biomaterials for cancer theragnostic applications. *Biomaterials Research*, 27(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s40824-023-00388-5>
- Kannaiah, K. P., Sugumaran, A., Chanduluru, H. K., & Rathinam, S. (2021). Environmental impact of greenness assessment tools in liquid chromatography – A review. *Microchemical Journal*, 170(106685), 106685. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106685>
- Karlsson, B. C., O'Mahony, J., Karlsson, J. G., Bengtsson, H., Eriksson, L. A., & Nicholls, I. A. (2009). Structure and dynamics of monomer-template complexation: an explanation for molecularly imprinted polymer recognition site heterogeneity. *Journal of the American Chemical Society*, 131(37), 13297–13304. <https://doi.org/10.1021/ja902087t>
- Karrat, A., & Amine, A. (2021). Solid-phase extraction combined with a spectrophotometric method for determination of Bisphenol-A in water samples using magnetic molecularly imprinted polymer. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 168(106496), 106496. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106496>
- Kong, D., Qiao, N., Wang, N., Wang, Z., Wang, Q., Zhou, Z., & Ren, Z. (2018). Facile preparation of a nano-imprinted polymer on magnetite nanoparticles for the rapid separation of lead ions from aqueous solution. *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP*, 20(18), 12870–12878. <https://doi.org/10.1039/c8cp01163j>
- Kusumkar, V. V., Galamboš, M., Viglašová, E., Daňo, M., & Šmelková, J. (2021). Ion-imprinted polymers: Synthesis, characterization, and adsorption of radionuclides. *Materials*, 14(5), 1083. <https://doi.org/10.3390/ma14051083>
- Labus, N., Krstic, J., Matijasevic, S., & Pavlovic, V. (2023). Oxide powder mixture with poly-vinyl alcohol (PVA) and added polyethylene glycol (PEG) as plasticizer. *Science of Sintering*, 55(2), 189–203. <https://doi.org/10.2298/sos2208280051>
- Ladavos, A. K., Katsoulidis, A. P., Iosifidis, A., Triantafyllidis, K. S., Pinnavaia, T. J., & Pomonis, P. J. (2012). The BET equation, the inflection points of N<sub>2</sub> adsorption isotherms and the estimation of specific surface area of porous solids. *Microporous and Mesoporous Materials: The Official Journal of the International Zeolite Association*, 151, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2011.11.005>
- Lahn, L., Bertier, P., Seemann, T., & Stanjek, H. (2020). Distribution of sorbed water in the pore network of mudstones assessed from physisorption measurements. *Microporous and Mesoporous Materials: The Official Journal of the International Zeolite Association*, 295(109902), 109902. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2019.109902>
- Lakshmi, D., Bossi, A., Whitcombe, M. J., Chianella, I., Fowler, S. A., Subrahmanyam, S., Piletska, E. V., & Piletsky, S. A. (2009). Electrochemical sensor for catechol and dopamine based on a catalytic molecularly imprinted polymer-conducting polymer hybrid recognition element. *Analytical chemistry*, 81(9), 3576–3584. <https://doi.org/10.1021/ac802536p>
- Lemos, V. A., Barreto, J. A., Santos, L. B., de Assis, R. D. S., Novaes, C. G., & Cassella, R. J. (2022). In-syringe dispersive liquid-liquid microextraction. *Talanta*, 238(Pt 1), 123002. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123002>
- Li, H., Hu, X., Zhang, Y., Shi, S., Jiang, X., & Chen, X. (2015). High-capacity magnetic hollow porous molecularly imprinted polymers for specific extraction of protocatechuic acid. *Journal of chromatography. A*, 1404, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.05.038>
- Li, H., Liu, L., Cui, J., Cui, J., Wang, F., & Zhang, F. (2020). High-efficiency adsorption and regeneration of methylene blue and aniline onto activated carbon from waste edible fungus residue and its possible mechanism. *RSC Advances*, 10(24), 14262–14273. <https://doi.org/10.1039/d0ra01245a>
- Li, W., Zhang, J., Zhu, W., Qin, P., Zhou, Q., Lu, M., ... Cai, Z. (2020). Facile preparation of reduced graphene oxide/ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite as magnetic sorbents for enrichment of estrogens. *Talanta*, 208(120440), 120440. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120440>



- Li, X., Zhou, R., Xu, K., Xu, J., Jin, J., Fang, H., & He, Y. (2018). Rapid determination of chlorophyll and pheophytin in green tea using Fourier transform infrared spectroscopy. *Molecules*, 23(5), 1010. <https://doi.org/10.3390/molecules23051010>
- Liang, W., Hu, H., Guo, P., Ma, Y., Li, P., Zheng, W., & Zhang, M. (2017). Combining Pickering emulsion polymerization with molecular imprinting to prepare polymer microspheres for selective solid-phase extraction of malachite green. *Polymers*, 9(8), 344. <https://doi.org/10.3390/polym9080344>
- Liu, Q., Zhang, L., Hu, P., & Huang, R. (2015). Removal of aniline from aqueous solutions by activated carbon coated by chitosan. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 5(4), 610–618. <https://doi.org/10.2166/wrd.2015.097>
- Liu, R., & Poma, A. (2021). Advances in molecularly imprinted polymers as drug delivery systems. *Molecules*, 26(12), 3589. <https://doi.org/10.3390/molecules26123589>
- Liu, X., Ouyang, C., Zhao, R., Shanguan, D., Chen, Y., & Liu, G. (2006). Monolithic molecularly imprinted polymer for sulfamethoxazole and molecular recognition properties in aqueous mobile phase. *Analytica Chimica Acta*, 571(2), 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.05.005>
- Liu, Y., Dang, X., Ding, H., & Chen, H. (2022). Specific recognition and solid phase extraction of three primary aromatic amines based on molecularly imprinted polymer monolith for the migration detection in food contact materials. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 182(107895), 107895. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107895>
- Liu, Y., Dang, X., Ding, H., & Chen, H. (2022). Specific recognition and solid phase extraction of three primary aromatic amines based on molecularly imprinted polymer monolith for the migration detection in food contact materials. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 182(107895), 107895. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107895>
- Liu, Z., Wang, Y., Xu, F., Wei, X., Chen, J., Li, H., ... Zhou, Y. (2020). A new magnetic molecularly imprinted polymer based on deep eutectic solvents as functional monomer and cross-linker for specific recognition of bovine hemoglobin. *Analytica Chimica Acta*, 1129, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.06.052>
- López-Marzo, A. M., & Merkoçi, A. (2016). Paper-based sensors and assays: a success of the engineering design and the convergence of knowledge areas. *Lab on a Chip*, 16(17), 3150–3176. <https://doi.org/10.1039/c6lc00737f>
- Lukić, J., Đurkić, T., & Onjia, A. (2023). Dispersive liquid-liquid microextraction and Monte Carlo simulation of margin of safety for octocrylene, EHMC, 2ES, and homosalate in sunscreens. *Biomedical Chromatography: BMC*, 37(4), e5590. doi: <https://doi.org/10.1002/bmc.5590>
- Luo, R.-J., Lin, Q.-B., Zhu, L., Yan, J.-W., & Li, Z. (2022). Detection of primary aromatic amines content in food packaging ink and migration from printed plastic bags. *Food Packaging and Shelf Life*, 32(100820), 100820. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100820>
- Maciejewska, M., Łastawiecka, E., & Grochowicz, M. (2024). Thermal characterization of crosslinked polymeric microspheres bearing thiol groups studied by TG/FTIR/DSC under non-oxidative conditions. *Materials*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/ma17061372>
- Malik, A. A., Nantasenamat, C., & Piacham, T. (2017). Molecularly imprinted polymer for human viral pathogen detection. *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 77, 1341–1348. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.209>
- Marković, B. (2019) „Sinteza, karakterizacija i primena makroporoznih nanokompozita glicidilmetakrilata i magnetita“. Doktorska disertacija. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Marković, B. M., Janković, D. L., Vukadinović, A. A., Randelović, D. V., Maksin, D. D., Spasojević, V. V., & Nastasović, A. B. (2017). A novel macroporous polymer–inorganic

- nanocomposite as a sorbent for pertechnetate ions. *RSC Advances*, 7(35), 21412–21421. <https://doi.org/10.1039/c7ra02783d>
- Markovic, B., M., Spasojevic, V., V., Dapcevic, A., Vukovic, Z., M., Pavlovic, V., B., Randjelovic, D., V., & Nastasovic, A., B. (2019). Characterization of glycidyl methacrylate based magnetic nanocomposites. *Hemijska Industrija*, 73(1), 25–35. <https://doi.org/10.2298/hemind181113006m>
- Marković, B. M., Stefanović, I. S., Hercigonja, R. V., Pergal, M. V., Marković, J. P., Onjia, A. E., & Nastasović, A. B. (2017). Novel hexamethylene diamine-functionalized macroporous copolymer for chromium removal from aqueous solutions. *Polymer International*, 66(5), 679–689. <https://doi.org/10.1002/pi.5306>
- Markovic, B., M., Stefanovic, I., S., Nastasovic, A., B., Sandic, Z., P., Surucic, L., T., Dapcevic, A., ... Onjia, A., E. (2021). Novel magnetic polymer/bentonite composite: Characterization and application for Re(VII) and W(VI) adsorption. *Science of Sintering*, 53(4), 419–428. <https://doi.org/10.2298/sos2104419m>
- Martín-Esteban, A. (2013). Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 45, 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.023>
- Mayerhöfer, T. G., Shen, Z., Leonova, E., Edén, M., Kriltz, A., & Popp, J. (2008). Consolidated silica glass from nanoparticles. *Journal of Solid State Chemistry*, 181(9), 2442–2447. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2008.06.011>
- Meng, X., Zhang, N., Sun, X., Niu, Z., Deng, Y., Xu, J., ... Ma, Q. (2020). Suspect screening of 200 hazardous substances in plastic toys using ultra-high-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1617(460830), 460830. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460830>
- Merkle, S., Kleeberg, K., & Fritsche, J. (2015). Recent developments and applications of solid phase microextraction (SPME) in food and environmental analysis—A review. *Chromatography (Basel)*, 2(3), 293–381. <https://doi.org/10.3390/chromatography2030293>
- Metwally, M. G., Benhawry, A. H., Khalifa, R. M., El Nashar, R. M., & Trojanowicz, M. (2021). Application of molecularly imprinted polymers in the analysis of waters and wastewaters. *Molecules*, 26(21), 6515. <https://doi.org/10.3390/molecules26216515>
- Miletić, N., Rohandi, R., Vuković, Z., Nastasović, A., & Loos, K. (2009). Surface modification of macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) resins for improved *Candida antarctica* lipase B immobilization. *Reactive & Functional Polymers*, 69(1), 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2008.11.001>
- Mohammadi, P., Ghorbani, M., Mohammadi, P., Keshavarzi, M., Rastegar, A., Aghamohammadhassan, M., & Saghafi, A. (2021). Dispersive micro solid-phase extraction with gas chromatography for determination of Diazinon and Ethion residues in biological, vegetables and cereal grain samples, employing D-optimal mixture design. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 160(105680), 105680. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105680>
- Mujahid, A., Lieberzeit, P. A., & Dickert, F. L. (2010). Chemical sensors based on molecularly imprinted sol-gel materials. *Materials*, 3(4), 2196–2217. doi:10.3390/ma3042196
- Mutihac, L., & Mutihac, R. (2008). Mining in chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 612(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.025>
- Nandy Chatterjee, T., & Bandyopadhyay, R. (2020). A molecularly imprinted polymer-based technology for rapid testing of COVID-19. *Transactions of the Indian National Academy of Engineering: An International Journal of Engineering and Technology*, 5(2), 225–228. <https://doi.org/10.1007/s41403-020-00125-7>

- Napolitano-Tabares, P. I., Negrín-Santamaría, I., Gutiérrez-Serpa, A., & Pino, V. (2021). Recent efforts to increase greenness in chromatography. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 32(100536), 100536. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100536>
- Nastasović A. (2004) „Sinteza, svojstva i primena makroporoznih kopolimera”. Doktorska disertacija. Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Nastasović, A., Marković, B., Suručić, L., & Onjia, A. (2022). Methacrylate-based polymeric sorbents for recovery of metals from aqueous solutions. *Metals*, 12(5), 814. <https://doi.org/10.3390/met12050814>
- Nastasović, A. B., Onjia, A. E., Milonjić, S. K., & Jovanović, S. M. (2005). Surface characterization of macroporous glycidyl methacrylate based copolymers by inverse gas chromatography. *European Polymer Journal*, 41(6), 1234–1242. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.12.020>
- Ndunda, E. N. (2020). Molecularly imprinted polymers-A closer look at the control polymer used in determining the imprinting effect: A mini review. *Journal of Molecular Recognition: JMR*, 33(11), e2855. <https://doi.org/10.1002/jmr.2855>
- Nowak, P. M., Wietecha-Posuszny, R., & Pawliszyn, J. (2021). White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 138(116223), 116223. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116223>
- Ocaña-González, J. A., Fernández-Torres, R., Bello-López, M. Á., & Ramos-Payán, M. (2016). New developments in microextraction techniques in bioanalysis: A review. *Analytica Chimica Acta*, 905, 8-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.041>
- Pantoja, M., Velasco, F., Broekema, D., Abenojar, J., & Real, J. C. del. (2010). The influence of pH on the hydrolysis process of  $\gamma$ -methacryloxypropyltrimethoxysilane, analyzed by FT-IR, and the silanization of electrogalvanized steel. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 24(6), 1131–1143. <https://doi.org/10.1163/016942409x12586283821559>
- Pardeshi, S., & Singh, S. K. (2016). Precipitation polymerization: a versatile tool for preparing molecularly imprinted polymer beads for chromatography applications. *RSC Advances*, 6(28), 23525–23536. <https://doi.org/10.1039/c6ra02784a>
- Parisi, O. I., Cirillo, G., Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Spizzirri, U. G., & Picci, N. (2010). Surface modifications of molecularly imprinted polymers for improved template recognition in water media. *Journal of Polymer Research*, 17(3), 355–362. <https://doi.org/10.1007/s10965-009-9322-7>
- Pawliszyn, J. (2003). Sample preparation: Quo vadis? *Analytical Chemistry*, 75(11), 2543-2558. <https://doi.org/10.1021/ac034094hY>
- Pei, Y., Han, Q., Tang, L., Zhao, L., & Wu, L. (2016). Fabrication and characterisation of hydrophobic magnetite composite nanoparticles for oil/water separation. *Materials Technology (UK)*, 31(1), 38–43. <https://doi.org/10.1179/1753555715y.0000000024>
- Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., & Tobiszewski, M. (2020). AGREE-Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical Chemistry*, 92(14), 10076–10082. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887>
- Perez, M. Â. F., Daniel, D., Padula, M., do Lago, C. L., & Bottoli, C. B. G. (2021). Determination of primary aromatic amines from cooking utensils by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 362(129902), 129902. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129902>
- Perić-Grujić A. (2012) Osnovi hemometrije, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd.
- Plotka-Wasyłka, J. (2018). A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index. *Talanta*, 181, 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.013>

- Plotka-Wasyłka, J., & Wojnowski, W. (2021). Complementary green analytical procedure index (ComplexGAPI) and software. *Green Chemistry: An International Journal and Green Chemistry Resource: GC*, 23(21), 8657–8665. <https://doi.org/10.1039/d1gc02318g>
- Plotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2015). Miniaturized solid-phase extraction techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 73, 19. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.026>
- Qi, P., Wang, J., Wang, L., Li, Y., Jin, J., Su, F., ... Chen, J. (2010). Molecularly imprinted polymers synthesized via semi-covalent imprinting with sacrificial spacer for imprinting phenols. *Polymer*, 51(23), 5417–5423. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.09.037>
- Rahdar, A., Rahdar, S., & Labuto, G. (2020). Environmentally friendly synthesis of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub> nanocomposite: characterization and application as an adsorbent to aniline removal from aqueous solution. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27(9), 9181–9191. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07491-y>
- Ražić, S., Arsenijević, J., Đogo Mračević, S., Mušović, J., & Trtić-Petrović, T. (2023). Greener chemistry in analytical sciences: from green solvents to applications in complex matrices. Current challenges and future perspectives: a critical review. *The Analyst*, 148(14), 3130–3152. <https://doi.org/10.1039/d3an00498h>
- Ražić, S., Bakić, T., Topić, A., Lukić, J., & Onjia, A. (2023). Deep eutectic solvent based reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of free tryptophan in cold-pressed oils. *Molecules*, 28(5). <https://doi.org/10.3390/molecules28052395>
- Raziq, A., Kidakova, A., Boroznjak, R., Reut, J., Öpik, A., & Syritski, V. (2021). Development of a portable MIP-based electrochemical sensor for detection of SARS-CoV-2 antigen. *Biosensors & Bioelectronics*, 178(113029), 113029. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113029>
- Reyes-Garcés, N., Gionfriddo, E., Gómez-Ríos, G. A., Alam, M. N., Boyacı, E., Bojko, B., ... Pawliszyn, J. (2018). Advances in solid phase microextraction and perspective on future directions. *Analytical Chemistry*, 90(1), 302–360. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04502>
- Roto, R. (2018). Surface modification of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> as magnetic adsorbents for recovery of precious metals. In *Advanced Surface Engineering Research*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79586>
- Rouquerol, F., Rouquerol, J., & Sing, M. (1999) „Adsorption by Powders & Porous Solids,” Academic Press, London.
- Sadegh, N., Asfaram, A., Javadian, H., Haddadi, H., & Sharifpour, E. (2021). Ultrasound-assisted solid phase microextraction-HPLC method based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>-molecularly imprinted polymer magnetic nano-sorbent for rapid and efficient extraction of harmaline from Peganum harmala extract. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1171(122640), 122640. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122640>
- Sajid, M., & Plotka-Wasyłka, J. (2022). Green analytical chemistry metrics: A review. *Talanta*, 238(Pt 2), 123046. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123046>
- Sajid, M., Nazal, M. K., & Ihsanullah, I. (2021). Novel materials for dispersive (micro) solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1141, 246–262. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.064>
- Sajini, T., & Mathew, B. (2021). A brief overview of molecularly imprinted polymers: Highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting. *Talanta Open*, 4(100072), 100072. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100072>
- Sandić, Z. (2016) „Ispitivanje uklanjanja odabranih tekstilnih boja i teških metala iz otpadnih voda pomoću amino-funkcionalizovanih makroporoznih polimera na bazi glicidilmetakrilata”. Doktorska disertacija. Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Sandić, Z. P., Nastasović, A. B., Jović-Jovičić, N. P., Milutinović-Nikolić, A. D., & Jovanović, D. M. (2011). Sorption of textile dye from aqueous solution by macroporous

- amino-functionalized copolymer. *Journal of Applied Polymer Science*, 121(1), 234–242. <https://doi.org/10.1002/app.33537>
- Sanjari, R., Kazemipour, M., Zeidabadinejad, L., & Ansari, M. (2021). Computational modeling, fabrication, and characterization of the deep eutectic solvent-based green molecular cage for selective metronidazole extraction from plasma followed by UHPLC with diode array detector determination. *Journal of Separation Science*, 44(17), 3268–3278. <https://doi.org/10.1002/jssc.202100251>
- Sarafraz-Yazdi, A., & Amiri, A. (2010). Liquid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 29(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.10.003>
- Schirhagl R. (2014). Bioapplications for molecularly imprinted polymers. *Analytical chemistry*, 86(1), 250–261. <https://doi.org/10.1021/ac401251j>
- Sefaty, B., Masrounia, M., Eshaghi, Z., & Bozorgmehr, M. R. (2021). Determination of tramadol and fluoxetine in biological and water samples by magnetic dispersive solid-phase microextraction (MDSPME) with gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). *Analytical Letters*, 54(5), 884–902. <https://doi.org/10.1080/00032719.2020.1786695>
- Sellergren, B., & Allender, C. J. (2005). Molecularly imprinted polymers: a bridge to advanced drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(12), 1733–1741. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.010>
- Shi, Y., Yang, Z., Xing, L., Zhang, X., Li, X., & Zhang, D. (2021). Recent advances in the biodegradation of azo dyes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(8), 137. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03110-6>
- Shimizu, S., & Matubayasi, N. (2021). Adsorbate-adsorbate interactions on microporous materials. *Microporous and Mesoporous Materials: The Official Journal of the International Zeolite Association*, 323(111254), 111254. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.111254>
- Silvestro, I., Fernández-García, M., Ciarlantini, C., Francolini, I., Girelli, A., & Piozzi, A. (2022). Molecularly Imprinted Polymers Based on Chitosan for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Removal. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 13192. <https://doi.org/10.3390/ijms232113192>
- Simsek, E. B., Saloglu, D., & Aydın, A. A. (2023). Investigation of adsorption and biosorption features of bio-functionalized poly(GMA-Co-EGDMA) polymer beads in the treatment of nicotine from tobacco industry. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(24), 65801–65821. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26938-x>
- Slavković-Beškoski, L., Ignjatović, L., Bolognesi, G., Maksin, D., Savić, A., Vladislavljević, G., & Onjia, A. (2022). Dispersive solid–liquid microextraction based on the poly(HDDA)/graphene sorbent followed by ICP-MS for the determination of rare earth elements in coal fly ash leachate. *Metals*, 12(5), 791. <https://doi.org/10.3390/met12050791>
- Smičiklas, I., Onjia, A., & Raičević, S. (2005). Experimental design approach in the synthesis of hydroxyapatite by neutralization method. *Separation and Purification Technology*, 44(2), 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.12.010>
- Smith, R. M. (2003). Before the injection: Modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 1000(1-2), 3-27. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00511-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00511-9)
- Song, X., Li, J., Wang, J., & Chen, L. (2009). Quercetin molecularly imprinted polymers: preparation, recognition characteristics and properties as sorbent for solid-phase extraction. *Talanta*, 80(2), 694–702. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.051>
- Souza-Silva, E. A., Jiang, R., Rodríguez-Lafuente, A., Gionfriddo, E., & Pawliszyn, J. (2015). A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I: Environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 224–235. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.016>
- Spietelun, A., Marcinkowski, Ł., de la Guardia, M., & Namieśnik, J. (2013). Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical

- chemistry. *Journal of Chromatography A*, 1321, 1–13.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.030>
- Strikovskiy, A., Hradil, J., & Wulff, G. (2003). Catalytically active, molecularly imprinted polymers in bead form. *Reactive & Functional Polymers*, 54(1–3), 49–61.  
[https://doi.org/10.1016/s1381-5148\(02\)00182-7](https://doi.org/10.1016/s1381-5148(02)00182-7)
- Stojisavljevic, P., Vulovic, N., Velickovic, Z., Mijin, D., Stupar, S., Dinic, D., & Ivankovic, N. (2023). Investigation on the adsorption of the carbamate pesticide methomyl from aqueous solution using modified co-beta zeolite particles. *Science of Sintering*, 55(2), 269–287.  
<https://doi.org/10.2298/sos220618004s>
- Suručić, L., Janjić, G., Marković, B., Tadić, T., Vuković, Z., Nastasović, A., & Onjia, A. (2023). Speciation of hexavalent chromium in aqueous solutions using a magnetic silica-coated amino-modified glycidyl methacrylate polymer nanocomposite. *Materials*, 16(6).  
<https://doi.org/10.3390/ma16062233>
- Suručić, L., Tadić, T., Janjić, G., Marković, B., Nastasović, A., & Onjia, A. (2021). Recovery of vanadium (V) oxyanions by a magnetic macroporous copolymer nanocomposite sorbent. *Metals*, 11(11), 1777. doi: <https://doi.org/10.3390/met11111777>
- Suručić, Lj. (2019) „Specijacija oksianjona metala iz vode na magnetičnom amino-funkcionalizovanom polimeru”. Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Szabó, B. S., Petrovics, N., Kirckeszner, C., Nyiri, Z., Bodai, Z., & Eke, Z. (2022). Stability study of primary aromatic amines in aqueous food simulants under storage conditions of food contact material migration studies. *Food Packaging and Shelf Life*, 33(100909), 100909.  
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100909>
- Tadić, T., Marković, B., Bulatović, S., Lukić, J., Radulović, J., Nastasović, A. & Onjia, A. (2024a). Greenness of dispersive microextraction using molecularly imprinted polymers. *Reviews in Analytical Chemistry*, 43(1), 20230070. <https://doi.org/10.1515/revac-2023-0070>
- Tadić, T., Marković, B., Nastasović, A., Suručić, L. T., & Onjia, A. (2022a). Application of macroporous nanocomposite in microextraction of aromatic amine from water. *16th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry, Proceedings*, 425-428.
- Tadić, T., Marković, B., Pavlović, V., Bulatović, S., Nastasović, A., & Onjia, A. (2023b). Synthesis and Characterization of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer for Aniline Recognition. *26th Congress of SCTM, Book of abstracts*, 178.
- Tadić, T., Marković, B., Radulović, J., Lukić, J., Suručić, L., Nastasović, A., & Onjia, A. (2022b). A core-shell amino-functionalized magnetic molecularly imprinted polymer based on glycidyl methacrylate for dispersive solid-phase microextraction of aniline. *Sustainability*, 14(15), 9222. <https://doi.org/10.3390/su14159222>
- Tadić, T., Marković, B., Suručić, L., Nastasović, A., & Onjia, A. (2021). Primena senzora na bazi molekularni otisnutih polimera za detekciju virusa. *Ecologica*, 28(104), 543–550.  
<https://doi.org/10.18485/ecologica.2021.28.104.8>
- Tadić, T., Marković, B., Vuković, Z., Stefanov, P., Maksin, D., Nastasović, A., & Onjia, A. (2023a). Fast gold recovery from aqueous solutions and assessment of antimicrobial activities of novel gold composite. *Metals*, 13(11), 1864. doi: <https://doi.org/10.3390/met13111864>
- Tadić, T. T., Momčilović, M. Z., Nastasović, A. B., Marković, B. M., Nešić, A., Bojić, A. L., & Onjia, A. E. (2024b). Novel eco-friendly sorbent derived from Acer pseudoplatanus seed for atenolol removal from pharmaceutical wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 64(105564), 105564. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105564>
- Tadić, T., T., Vuković, Z., M., Pavlović, V., Nastasović, A., B., Onjia, A., E., & Marković, B., M. (2024c). Preparation of magnetic surface molecularly imprinting polymers based on glycidyl methacrylate as selective sorbents for aniline removal from aqueous medium. *Science of Sintering*, (00), 8–8. <https://doi.org/10.2298/sos240207008t>

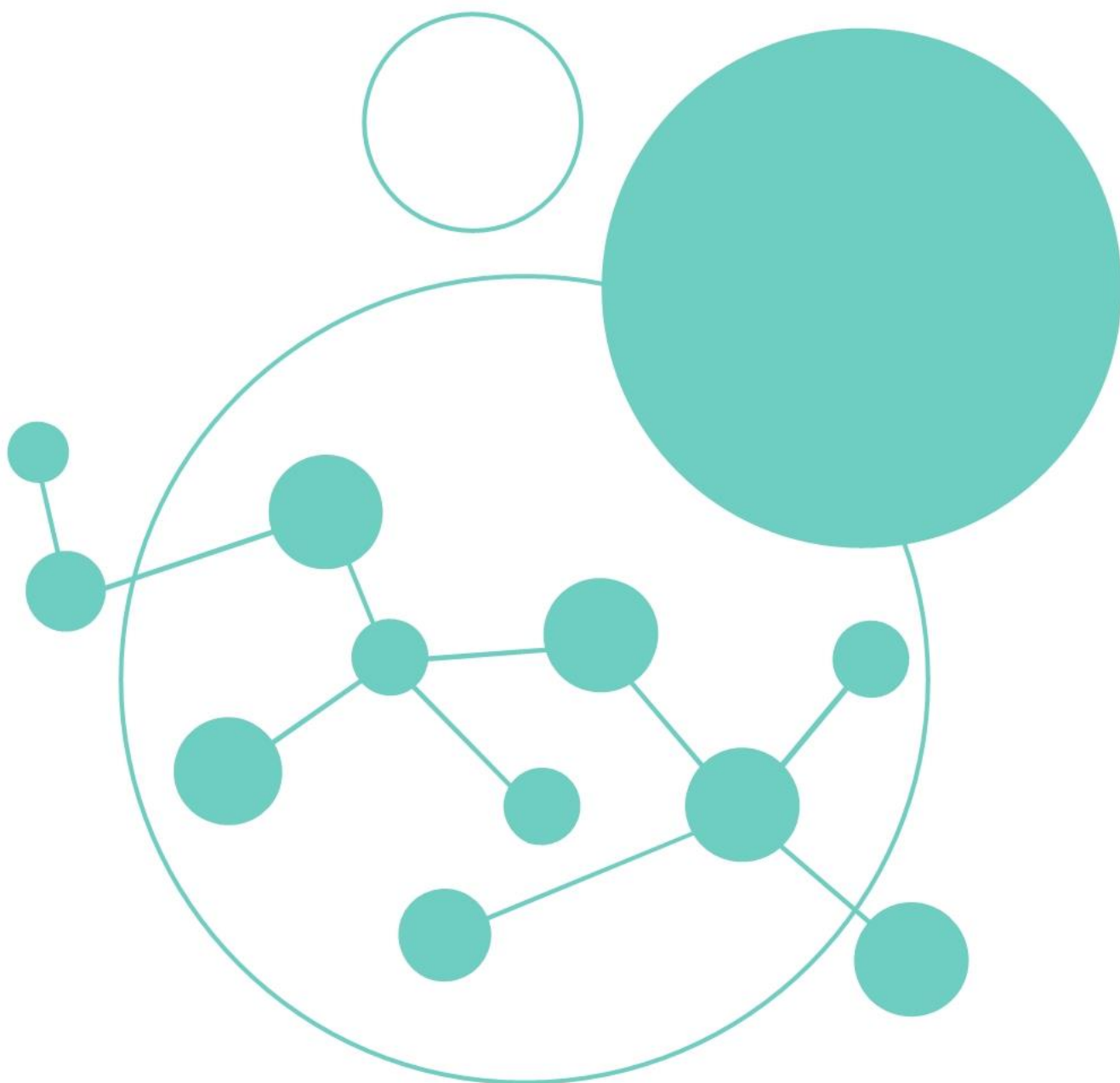


- Tahir, M., Raza, A., Nasir, A., & Yasin, T. (2021). Radiation induced graft polymerization of glycidyl methacrylate onto sepiolite. *Radiation Physics and Chemistry (Oxford, England: 1993)*, 179(109259), 109259. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.109259>
- Tarley, C. R. T., Sotomayor, M. D. P. T., & Kubota, L. T. (2005). Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicações de MIP ('Molecularly Imprinted Polymers') em técnicas de extração e separação. *Química Nova*, 28(6), 1076–1086. doi: <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000600024>
- Thommes, M., Kaneko, K., Neimark, A. V., Olivier, J. P., Rodriguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. W. (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 87(9–10), 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>
- Tian, L., Li, X., Zhao, P., Chen, X., Ali, Z., Ali, N., ... Zhang, Q. (2015). Generalized approach for fabricating monodisperse anisotropic microparticles via single-hole swelling PGMA seed particles. *Macromolecules*, 48(20), 7592–7603. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.5b01319>
- Tobiszewski, M., Marć, M., Gałuszka, A., & Namieśnik, J. (2015). Green chemistry metrics with special reference to green analytical chemistry. *Molecules*, 20(6), 10928–10946. <https://doi.org/10.3390/molecules200610928>
- Tölgyesi, Á., & Sharma, V. K. (2020). Quantification of aromatic amines derived from azo colorants in textile by ion-pairing liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1137(121957), 121957. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121957>
- Turiel, E., & Martín-Esteban, A. (2010). Molecularly imprinted polymers for sample preparation: a review. *Analytica chimica acta*, 668(2), 87–99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.019>
- Urraca, J. L., Huertas-Pérez, J. F., Cazorla, G. A., Gracia-Mora, J., García-Campaña, A. M., & Moreno-Bondi, M. C. (2016). Development of magnetic molecularly imprinted polymers for selective extraction: determination of citrinin in rice samples by liquid chromatography with UV diode array detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(11), 3033–3042. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9348-8>
- Uzuriaga-Sánchez, R. J., Khan, S., Wong, A., Picasso, G., Pividori, M. I., & Sotomayor, M. D. P. T. (2016). Magnetically separable polymer (Mag-MIP) for selective analysis of biotin in food samples. *Food Chemistry*, 190, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.129>
- Vadukumpully, S., Basheer, C., Jeng, C. S., & Valiyaveetil, S. (2011). Carbon nanofibers extracted from soot as a sorbent for the determination of aromatic amines from wastewater effluent samples. *Journal of Chromatography A*, 1218(23), 3581–3587. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.04.003>
- Vakh, C., & Tobiszewski, M. (2023). Greenness assessment of analytical methods used for antibiotic residues determination in food samples. *Trends in Analytical Chemistry: TRAC*, 166(117162), 117162. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117162>
- Vakh, C., Alaboud, M., Lebedinets, S., Korolev, D., Postnov, V., Moskvina, L., ... Bulatov, A. (2018). An automated magnetic dispersive micro-solid phase extraction in a fluidized reactor for the determination of fluoroquinolones in baby food samples. *Analytica Chimica Acta*, 1001, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.11.065>
- Vanaja, K., & Shobha Rani, R. H. (2007). Design of experiments: Concept and applications of Plackett Burman design. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 24(1), 1–23. <https://doi.org/10.1080/10601330701220520>
- Villa, C. C., Sánchez, L. T., Valencia, G. A., Ahmed, S., & Gutiérrez, T. J. (2021). Molecularly imprinted polymers for food applications: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 642–669. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.003>
- Wang, H., Wang, H., Bai, Q., Xu, Y., Bo, C., & Gong, B. (2023). Fabrication of molecularly imprinted resin via controlled polymerization applied in the enrichment of bisphenol A for

- plastic products. *Journal of separation science*, 46(17), e2300206. <https://doi.org/10.1002/jssc.202300206>
- Wang, S., Ye, J., Bie, Z., & Liu, Z. (2014). Affinity-tunable specific recognition of glycoproteins via boronate affinity-based controllable oriented surface imprinting. *Chemical Science (Royal Society of Chemistry: 2010)*, 5(3), 1135. <https://doi.org/10.1039/c3sc52986j>
- Wang, X., Dong, S., & Bai, Q. (2014). Preparation of lysozyme molecularly imprinted polymers and purification of lysozyme from egg white. *Biomedical chromatography: BMC*, 28(6), 907–912. <https://doi.org/10.1002/bmc.3207>
- Wang, X., Zhou, Y., Niu, Y., Zhao, S., & Gong, B. (2019). Preparation of Monodisperse Enrofloxacin Molecularly Imprinted Polymer Microspheres and Their Recognition Characteristics. *International Journal of Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2019/5970754>
- Wang, Y., Li, J., Zhang, Z., Wang, J., Yang, Y., Cao, Y., & Wang, W. (2022). Magnetic polypropylene composites with selectively localized reactive nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> in toughener of POE-g-MAH: Towards super toughness, high flexibility and balanced strength. *Materials & Design*, 217(110607), 110607. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.110607>
- Wang, Y., Tian, M., Yu, K., Li, L., Zhang, Z., & Li, L. (2019). A versatile strategy to fabricate magnetic dummy molecularly imprinted mesoporous silica particles for specific magnetic separation of bisphenol A. *New Journal of Chemistry*, 43(8), 3400–3408. <https://doi.org/10.1039/c8nj06027d>
- Wei, J. R., Ni, Y. L., Zhang, W., Zhang, Z. Q., & Zhang, J. (2017). Detection of glycoprotein through fluorescent boronic acid-based molecularly imprinted polymer. *Analytica chimica acta*, 960, 110–116. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.12.046>
- Winiarczyk, K., Gac, W., Góral-Kowalczyk, M., & Surowiec, Z. (2021). Magnetic properties of iron oxide nanoparticles with a DMSA-modified surface. *Hyperfine Interactions*, 242(1). <https://doi.org/10.1007/s10751-021-01768-w>
- Wulff, G. (2013). Forty years of molecular imprinting in synthetic polymers: origin, features and perspectives. *Mikrochimica Acta*, 180(15–16), 1359–1370. <https://doi.org/10.1007/s00604-013-0992-9>
- Wulff, G. (2002). Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers. *Chemical Reviews*, 102(1), 1–27. <https://doi.org/10.1021/cr980039a>
- Wulff, G., Sarhan, A., & Zabrocki, K. (1973). Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates. *Tetrahedron Letters*, 14(44), 4329–4332. [https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(01\)87213-0](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(01)87213-0)
- Xiao, D., Jiang, Y., & Bi, Y. (2018). Molecularly imprinted polymers for the detection of illegal drugs and additives: a review. *Mikrochimica Acta*, 185(4). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-2735-4>
- Xochihua Juan, J. L., Solis Maldonado, C., Luna Sánchez, R. A., Enciso Díaz, O. J., Rojas Ronquillo, M. R., Sandoval-Rangel, L., ... Martínez-Vargas, D. X. (2022). TiO<sub>2</sub> doped with europium (Eu): Synthesis, characterization and catalytic performance on pesticide degradation under solar irradiation. *Catalysis Today*, 394–396, 304–313. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2021.08.024>
- Yamini, M., Rezazadeh, M., & Seidi, S. (2019). Liquid-phase microextraction: The different principles and configurations. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.010>
- Yan, H.; Row, K.H (2006). Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2006; 7(5):155-178. <https://doi.org/10.3390/i7050155>
- Yang, K., Wu, W., Jing, Q., & Zhu, L. (2008). Aqueous adsorption of aniline, phenol, and their substitutes by multi-walled carbon nanotubes. *Environmental Science & Technology*, 42(21), 7931–7936. <https://doi.org/10.1021/es801463v>

- Yi, Z., Huajie, L., Mingchun, L., & Meihua, X. (2020). Adsorption of aniline on aminated chitosan/graphene oxide composite material. *Journal of Molecular Structure*, 1209(127973), 127973. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127973>
- Yu, X., Liu, H., Diao, J., Sun, Y., & Wang, Y. (2018). Magnetic molecularly imprinted polymer nanoparticles for separating aromatic amines from azo dyes – Synthesis, characterization and application. *Separation and Purification Technology*, 204, 213–219. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.04.081>
- Yusuf, M. O. (2023). Bond characterization in cementitious material binders using Fourier-transform infrared spectroscopy. *Applied Sciences*, 13(5), 3353. <https://doi.org/10.3390/app13053353>
- Zarejousheghani, M., Rahimi, P., Borsdorf, H., Zimmermann, S., & Joseph, Y. (2021). Molecularly imprinted polymer-based sensors for priority pollutants. *Sensors*, 21(7), 2406. <https://doi.org/10.3390/s21072406>
- Zavareh, S., Avanes, A., & Beiramyani, P. (2017). Effective and selective removal of aromatic amines from water by Cu<sup>2+</sup>-treated chitosan/alumina nanocomposite. *Adsorption Science & Technology: Interface Science for Advanced Materials & Technologies*, 35(1–2), 218–240. <https://doi.org/10.1177/0263617416674216>
- Zeb, M. A., Shah, J., & Jan, M. R. (2022). Biopolymer magnetic chitosan–graphene oxide composite for removal and extraction of aromatic amines from aqueous samples. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology (Oxford, Oxfordshire: 1986)*, 97(10), 2756–2765. <https://doi.org/10.1002/jctb.7144>
- Zhang, J. Y., Xu, J., Zhang, Y., Li, L., Zhang, Y., & Zhang, J. J. (2011). Adsorption of aniline from aqueous solution by KSF montmorillonite. *Advanced Materials Research*, 356–360, 208–216. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.356-360.208>
- Zhang, W., She, X., Wang, L., Fan, H., Zhou, Q., Huang, X., & Tang, J. Z. (2017). Preparation, Characterization and Application of a Molecularly Imprinted Polymer for Selective Recognition of Sulpiride. *Materials*, 10(5), 475. <https://doi.org/10.3390/ma10050475>
- Zhang, X., He, J., Wang, H., Xu, P., Wang, M., Li, Y., ... He, L. (2022). Surface molecularly imprinted polymers based on NH<sub>2</sub>-MIL-53 for selective extraction ochratoxin A in real sample. *Macromolecular Research*, 30(10), 719–730. <https://doi.org/10.1007/s13233-022-0076-y>
- Zhao, M., Zeng, W., Wang, Y., Kai, G., & Qian, J. (2023). Application of porous composites in antibacterial field. *Materials Today. Communications*, 37(107410), 107410. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.107410>
- Zhou, J., He, X., & Li, Y. (1999). An acrylamide-based molecularly imprinted polymer for the efficient recognition of optical amino acid hydantoins. *Analytical Communications*, 36(6), 243–246. <https://doi.org/10.1039/a902025j>
- Zhou, Y., Gu, X., Zhang, R., & Lu, J. (2014). Removal of aniline from aqueous solution using pine sawdust modified with citric acid and β-cyclodextrin. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(2), 887–894. <https://doi.org/10.1021/ie403829s>
- Zhou, Z., Liu, X., Zhang, M., Jiao, J., Zhang, H., Du, J., ... Ren, Z. (2020). Preparation of highly efficient ion-imprinted polymers with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as carrier for removal of Cr(VI) from aqueous solution. *The Science of the Total Environment*, 699(134334), 134334. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134334>

# 7. BIOGRAFIJA AUTORA



Tamara T. Tadić, master inženjer biotehnologije, rođena je 20. novembra 1995. godine u Užicu, Republika Srbija. Osnovnu školu „Stari grad“ u Užicu i „Užičku gimnaziju“ u Užicu završila je sa odličnim uspehom. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, smer Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija upisala je školske 2014/2015. godine. Diplomirala je u septembru 2018. godine, sa prosečnom ocenom 8,90 i ocenom 10 na diplomskom radu. Školske 2018/2019. godine upisala je master akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija i završila u roku 2019. godine sa prosečnom ocenom 9,00. Doktorske akademske studije je upisala školske 2019/2020. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Hemija. U okviru doktorskih studija položila je sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 9,91.

Od novembra 2019. godine zaposlena je na Institutu za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institutu od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerziteta u Beogradu, Centar za hemiju, Grupa za polimere. Bila je angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije pod nazivom: "Nove tehnologije za monitoring i zaštitu životnog okruženja od štetnih hemijskih supstanci i radijacionog opterećenja" (evidencioni broj projekta: III43009). Od septembra 2020. do marta 2022. bila je angažovana na nacionalnom projektu pod nazivom: „Dezinfekciono sredstvo inkapsulirano u polimeru. Potencijal za dezinfekciju širokog spektra mikroba i nekih patogenih vrsta koronavirusa“ u okviru programa „Dokaz koncepta“ Fonda za Inovacionu delatnost Republike Srbije (br. 5878), da bi od juna 2023. godine, projekat prešao u narednu fazu istraživanja u okviru programa „Transfer Tehnologije“ Fonda za Inovacionu delatnost Republike Srbije (br. 1157), a Tamara T. Tadić bila angažovana kao član tima.

Iz dosadašnjih istraživanja publikovala je osam (8) naučnih radova u vrhunskim međunarodnim časopisima kategorije M20, od čega dva (2) rada u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti kategorije M21a, tri (3) naučna rada u vrhunskim međunarodnim časopisima kategorije M21 i tri (3) naučna rada u istaknutim međunarodnim časopisima kategorije M22, kao i dva (2) naučna rada u časopisima nacionalnog značaja (jedan (1) kategorije M51 i jedan (1) kategorije M52). Takođe, Tamara T. Tadić je autor i koautor dvadeset šest (26) saopštenja sa međunarodnih i nacionalnih skupova od čega deset (10) kategorije M33, četiri (4) kategorije M34, jedno (1) saopštenje kategorije M63 i jedanaest (11) saopštenja kategorije M64.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora Tamara T. Tadić  
Broj indeksa 4005/2019

### Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

Disperzivna mikroekstrakcija primarnih aromatičnih amina molekulski otisnutim polimerom na bazi glicidil-metakrilata i magnetita

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 10.09.2024.

Potpis autora

T. Tadić



**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada**

Ime i prezime autora Tamara T. Tadić  
Broj indeksa 4005/2019  
Studijski program Hemija  
Naslov rada Disperzivna mikroekstrakcija primarnih aromatičnih amina molekulski otisnutim polimerom na bazi glicidil-metakrilata i magnetita  
Mentor dr Antonije Onjia i dr Bojana Marković

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala za objavljivanje radi pohranjena u **repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.  
Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.  
Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 10.09.2024.

Potpis autora

T.T. Tadić



## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Disperzivna mikroekstrakcija primarnih aromatičnih amina molekulski otisnutim polimerom na bazi glicidil-metakrilata i magnetita

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predala sam u elektronskom format pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ③. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim ulovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerade (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.  
Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu, 10.09.2024.

Potpis autora

T.T. Jaguša

1. **Autorstvo** - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerade**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo - deliti pod istim uslovima**. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.

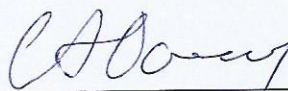


## Ocena izveštaja o proveru originalnosti doktorske disertacije

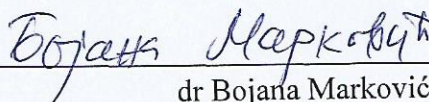
Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Disperzivna mikroekstrakcija primarnih aromatičnih amina molekulski otisnutim polimerom na bazi glicidil-metakrilata i magnetita“, autora Tamare T. Tadić, konstatujem da utvrđeno podudaranje teksta iznosi 12%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je korišćenja stručnih termina tipičnih za oblast kojoj pripada disertacija, naziva metoda, statističkih pojmova, objašnjenja pojmova koji se nalaze u tezi, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika. Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, izjavljujem da izveštaj ukazuje na originalnost doktorske disertacije, te se propisani postupak pripreme za njenu odbranu može nastaviti.

Mentor

U Beogradu, 10. 09. 2024.



dr Antonije Onjia, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet



dr Bojana Marković, naučni saradnik,  
Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i  
metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju