

ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД

год. 54

бр. 3 (јун)

YU ISSN04406826

UDC 54.001.93

ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД CHEMICAL REVIEW



Годиште 54

број 3
ЈУН

Editor-in-Chief
RATKO M. JANKOV
Deputy Editor-in-Chief
DRAGICA TRIVIĆ

Volume 54
NUMBER 3
(June)

Publisher
SERBIAN CHEMICAL SOCIETY
Belgrade/Serbia, Karnegijeva 4

Издаје
СРПСКО ХЕМИЈСКО ДРУШТВО

Телефон 3370-467

Карнегијева 4

излази двомесечно

ОДГОВОРНИ И ГЛАВНИ УРЕДНИК
Ратко М. Јанков

ПОМОЋНИК ОДГОВОРНОГ И ГЛАВНОГ
УРЕДНИКА
Драгица Тривић

ЧЛАНОВИ РЕДАКЦИЈЕ
Владимир Вукотић, Бранко Дракулић, Јелена Радосављевић
и Воин Петровић

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Иван Гутман, Снежана Зарић, Јован Јовановић, Славко
Кеврешан, Драган Марковић, Владимир Павловић,
Радомир Саичић, Живорад Чековић (председник).

Годишња чланарина, укључује часопис „Хемијски преглед”,
за 2012. годину износи:
- за запослене..... 1.800,00
- за професоре у основним и средњим школама..... 1.000,00
- за пензионере, студенте, ђаке и незапослене..... 800,00
- претплата за школе и остале институције..... 3.500,00
- за чланове и институције из иностранства..... € 50

Чланарину и претплату можете уплатити на рачун СХД:
205-13815-62, позив на број 320.

Web site: <http://www.shd.org.rs/hp/>
e-mail редакције: hempred@chem.bg.ac.rs

Припрема за штампу: Јелена и Зоран ДИМИЋ,
Светозара Марковића 2, 11000 Београд

Штампа: РИЦ графичког инжењерства Технолошко-
металуршког факултета Београд, Карнегијева 4

Насловна страна и Интернет верзија часописа:
Слободан и Горан Ратковић, RatkovicDesign
www.ratkovicdesign.net
office@ratkovicdesign.net

САДРЖАЈ

ЧЛАНЦИ

Драган М. ПОПОВИЋ
Dragan M. POPOVIĆ
ЦИТОХРОМ Ц ОКСИДАЗА - МОЛЕКУЛСКА ПРОТОН ПУМПА
И ЊЕН РЕАКЦИОНИ МЕХАНИЗАМ
*DISCOVERY OF CYTOCHROME C OXIDASE AS MOLECULAR
PROTON PUMP AND ITS PUMPING MECHANISM* 58

Тијана СТАМЕНКОВИЋ, Маријета ПЕТРОВИЋ, Татјана
АНЂЕЛКОВИЋ, Александра ЗАРУБИЦА
*Tijana STAMENKOVIĆ, Marijeta PETROVIĆ, Tatjana
ANĐELKOVIĆ, Aleksandra ZARUBICA*
ПЕСТИЦИДИ - ФОТОЛИЗА И ФОТОКАТАЛИЗА
PESTICIDES - PHOTOLYSIS AND PHOTOCATALYSIS 66

Рада ЈОВАНОВИЋ и Иван МРКИЋ
Rada JOVANOVIĆ and Ivan MRKIĆ
КСАНТОФИЛИ - СТРУКТУРЕ И УЛОГЕ
XANTHOPHYLLS- STRUCTURES AND ROLES 74

ХЕМИЈА У ШКОЛИ

Бојан ПОЉАК
Војан ПОЉАК
СЦЕНАРИО ЗА ЧАС: МАСТИ И УЉА
FATS AND OILS 77
49. РЕПУБЛИЧКО ТАКМИЧЕЊЕ ИЗ ХЕМИЈЕ ЗА УЧЕНИКЕ
ОСНОВНИХ ШКОЛА 80
49. РЕПУБЛИЧКО ТАКМИЧЕЊЕ ИЗ ХЕМИЈЕ УЧЕНИКА
СРЕДЊИХ ШКОЛА 81
АПРИЛСКИ ДАНИ ЗА НАСТАВНИКЕ ХЕМИЈЕ 82



УВОДНИК

Цитохром Ц оксидаза (CсО) је у већини аеробних организама крајњи (терминални) ензим респираторног електрон-транспортног низа. CсО катализује редукцију O_2 до воде и спреже ову реакцију са пумпањем протона кроз митохондријску мембрану, формирајући електрохемијски градијент протона, који се касније (када је то потребно) користи у синтези АТФ-а. Важност овог ензима за ћелије огледа се у томе што се више од 90 % кисеоника процесира у њему.

Још од открића цитохром Ц оксидазе [Nature 266 (1977) 271], функција овог ензима (као протонске пумпе вођене редокс реакцијом) била је предмет интензивног истраживања али и много контраверзи. Упркос чињеници да је структура ензима решена код више организама, молекулски механизам којим је електронски трансфер спрегнут са пумпањем протона у CсО један је од главних нерешених проблема у молекуларној биоенергетици. Током каталитичке редукције O_2 , оксидо-редукционе промене и промене стања протоновања се дешавају у бинуклеарном комплексу, у активном центру ензима. Ово даље може изазвати промене у распореду водоничних веза, реоријентацију унутрашњих молекула воде, као и конформационе промене и промене стања протоновања неких од кључних аминокиселинских остатака у активном центру.

У веома информативном тексту „*Цитохром Ц оксидаза - молекулска пројекција њеног реакционог механизма*“ аутор **Драган М. Поповић** (са Department of Chemistry, University of California, САД) дао је преглед неких детаља, заједно са кратким приказом тренутно опште прихваћеног механизма пумпања протона и молекулских основа за контролу ефикасности овог процеса, чиме се демистификује хемиосмотска хипотеза и прави добар увод за разумевање функције молекулских пумпи и мотора.

* * *

Са развојем технологије и индустрије последњих деценија, загађеност животне средине све више расте. То је разлог због кога се све већа пажња поклања њеној заштити од загађивања. Загађујуће супстанце се у природи налазе свуда: у води, ваздуху и у земљишту. Неке од њих могу бити и хемикалије које људи употребљавају и које им на први поглед делују безопасно као нпр. пестициди, који се користе са намером да помогну човеку тако што сузбијају штетне организме и тиме повећавају принос у пољопривреди.

Молекули пестицида различито реагују на унутрашње и спољашње параметре, што се одражава на стабилност самог једињења. Унутрашњи утицај се јавља при дужем чувању, јер су поједини пестициди нестабилни и мењају структуру при дужем стајању и услед разлагања или полимеризације губе битне хемијске карактеристике. Многи пестициди имају висок степен стабилности за време чувања у оптималним условима али променом спољашњих услова чувања (температуре, притиска воде или кисеоника, рН, светлости) за неке од пестицида стабилност молекула се драстично смањује, скоро до тог степена да постану неактивни и неупотребљиви. Због тога се оваквим пестицидима додају разна хемијска једињења (тзв. стабилизатори) ради успорења наведених процеса. Значајно место међу процесима разлагања пестицида у природи заузима фотолитиза. Постоје многобројни фактори који имају значајан утицај на брзину деградације, односно

на стабилност пестицида. Најважнији је утицај Сунчеве енергије, а врло је битно и присуство других компонената у води, земљишту, атмосфери итд.

Последњих година све више се развијају нове технике уклањања пестицида из земљишта, али и из воде, где они на разне начине могу да доспеју нпр. спирањем, и тако је учине лошом за било какву намену. Једна од техника, која има све већу перспективу у решавању проблема загађења животне средине пестицидима, је фотокатализа.

О свему овоме у свом раду под насловом „*Пестициди - фотолитиза и фотокатализа*“ за *Хемијски преглед* су писали: **Тијана СТАМЕНКОВИЋ, Маријета ПЕТРОВИЋ, Татјана АНЂЕЛКОВИЋ, и Александра ЗАРУБИЋА**, са Природно-математичког факултета, Универзитета у Нишу.

* * *

Ксантофили су природни пигменти чија је улога у биљкама у заштити фотосинтетског апарата и који представљају боју многих плодова биљака. Али, иако се ксантофили производе само у биљкама, они чине и боју очне мрље и крвне плазме код животиња. Такође, одређени ксантофили су про-витами А. Ксантофили су кисеонична изопреноидна једињења са дугачким полиенским ланцем који садржи до 13 коњугованих двоструких веза. На оба краја једног молекула ксантофила налази се прстен. У тексту „*Ксантофили - структура и улога*“, који су написали **Рада Јовановић и Иван Мркић**, студенти биохемије са Хемијског факултета БУ, објашњена је биосинтеза и структура ксантофила, као и њихова улога у биљкама и животињама, са посебним акцентом на њихово антиоксидативно и фотопротективно дејство.

* * *

И ове године су 29. и 30. априла у организацији СХД и Хемијског факултета у Београду одржани двадесет и трећи Априлски дани за професоре хемије. Семинару је присуствовало више од 330 регистрованих учесника. Семинар је оцењен као веома успешан, тако да је, због великог броја заинтересованих наставника, делимично организован и у згради Технолошког факултета. Извештај о овом догађају смо објавили у овом броју *Хемијског прегледа*, рубрици *Вести из СХД*.

* * *

Од 1964. године па све до данас на крају школске године СХД организује годишња такмичења ученика у познавању хемије. Сећања на овај период, уз бројне документе, објавили смо 2004. и 2010. године на страницама *Хемијског прегледа*. И ове године је управо завршено Републичко такмичење ученика основних и средњих школа из хемије у организацији Српског хемијског друштва и Министарства просвете и науке финалом основношколског такмичења, које је одржано 11. и 12. маја у О.Ш. "Светозар Марковић" у веома лепом Краљеву. Ученици су показали одличне резултате. Средње школе су, на задовољство свих, своје финале одржале од 10. до 12. маја у Новом Саду у гимназији „Исидора Секулић“. Извештај о оба ова такмичења са резултатима и табелама погледајте у овом броју *Хемијског прегледа у Вестима из/за школе*. Честитамо свим добитницима.

Ратко М. Јанков



ЧЛАНЦИ



Драган М. ПОПОВИЋ, Научни сарадник, Department of Chemistry, University of California, One Shields Avenue, Davis, California 95616, E-mails: dpopovic@ucdavis.edu, dpopovic@chem.bg.ac.rs

ЦИТОХРОМ Ц ОКСИДАЗА - МОЛЕКУЛСКА ПРОТОН ПУМПА И ЊЕН РЕАКЦИОНИ МЕХАНИЗАМ

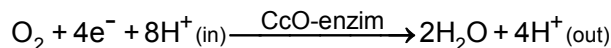
Још од открића цитохром ц оксидазе [Nature 266 (1977) 271], њена функција као редокс реакцијом вођене протонске пумпе била је предмет интензивног истраживања али и многе контроверзи. Механизам хем-бакар оксидаза је већ дуже времена један од кључних нерешених проблема у биоенергетици, или генерално у биохемији. Упркос чињеници да механизам транспорта протона још увек није у потпуности разјашњен на молекулском нивоу, са удзаним напретком у овом пољу истраживања изучени су многи важни детаљи и принципи рада овог ензима. У овом тексту ћу дајем прелиминарно само неких детаља, заједно са крајњом приказом тренутно прихваћеног механизма функција протона, и молекулских основа за контролу ефикасности овог процеса.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЈА

Цитохром ц оксидаза (Cco) је крајњи (терминални) ензим респираторног електрон-транспортог низа у већини аеробних организама. Важност овог ензима за ћелије огледа се у томе што се више од 90 % кисеоника процесира у њему. Cco катализује редукцију O₂ до воде и спреже ову реакцију са пумпањем протона кроз митохондријску мембрану, формирајући електрохемијски градијент протона, који се касније када је то потребно, користи у синтези АТФ-а [1-3]. Молекулски механизам којим је електрон трансфер спрегнут са пумпањем протона у Cco је један од главних нерешених проблема у молекуларној биоенергетици, упркос чињеници да је структура ензима решена за више организама. Током каталитичке редукције O₂, оксидо-редукционе промене и промене стања протоновања се дешавају у бинуклеарном комплексу, активном центру ензима. Ово даље може изазвати промене у распореду водоничних веза, реоријентацију унутрашњих молекула воде, као и конформационе промене и промене стања протоновања неких од кључних аминокиселинских остатака у активном центру.

Cco садржи четри редокс-активна метална центра: Cu_A, хем а (Fe_a), и бинуклеарни комплекс који се састоји од хема а₃ (Fe_{a3}) и Cu_B, види Слику 1. Пут преноса електрона почиње са цитохромом ц, који се везује

за ензим и предаје му један електрон, и води преко Cu_A, хема а до активног центра, где се O₂ редукује. У каталитичком циклусу, ензим пролази кроз више фаза, које се разликују по редокс стању и стању протоновања метала, лиганда и супстрата у бинуклеарном комплексу. При томе, трансферу сваког од четири електрона, потребних за потпуну редукцију молекулског O₂, је придружена транслокација по два протона, од којих се један користи за хемијску редукцију кисеоничних интермедијера ("хемијски или супстрат протон"), а други се пумпа преко мембране ("векторски или пумпани протон"). Укупна реакција катализована овим ензимом може се приказати као:



где (in) и (out) означавају унутрашњу (H-) односно спољашњу (P-) страну мембране. На основу кристалографских структура молекула оксидазе могу се идентификовати три могућа улазна канала за протоне (D-, K-, и X-канал). Протони за хемијску редукцију, као и протони који се пумпају кроз мембрану се допремају преко D- и K-канала. D-канал обезбеђује 6-7 протона, при чему се сви протони за пумпање транспортују кроз D-канал. Кроз K-канал се транспортују преостала 1-2 хемијска протона, током редуктивне фазе каталитичког циклуса [4].

Молекулски механизам пумпања протона у цитохром оксидази још увек остаје предмет интензивне дебате. До прве велике дебате и неслагања дошло је између Викстрома и Мичела у периоду од 1977. до 1987. Мичел важи за велики ауторитет у овој области и добитник је Нобелове награде за радове из области оксидативне фосфорилације и за дефинисање хемиосмотске теорије, која је направила револуцију у биоенергетици [5,6]. Теорија описује механизам преноса енергије у живим системима, посебно преко митохондријске мембране, и њено привремено чување (конзервацији) у облику електрохемијског градијента протона, који се по потреби може користити за синтезу АТФ-а, универзалне енергетске монете за све енергетске процесе у ћелији. Следећа велика дебата је као актере укључила Викстрома и Михела (још једног Нобеловца). Узрок жучне

полемике је била интерпретација електрохемијских резултата, на основу којих је Викстром закључио да се сви протони пумпају током оксидативне фазе каталитичког циклуса, што се касније показало као нетачно. Из прве полемике је Викстром изашао као победник, а из друге је то био Михел. Интензивне дебате су касније укључиле многе експерименталисте и теоретичаре, а вођене су око великог броја детаља везаних за молекулски механизам пумпања протона, енергетику и кинетику хемијских реакција које се дешавају у активном месту ензима. У следећем делу текста сам описао детаље, који истичу специфичност CcO као праве протонске пумпе (поред NADH -убихинон оксидоредуктазе тј. комплекса I), пре свега међу ензимима респираторног електрон-транспортног низа.

Покушаји да се цићохрома ц оксидаза објасни хемиосмотским принципом

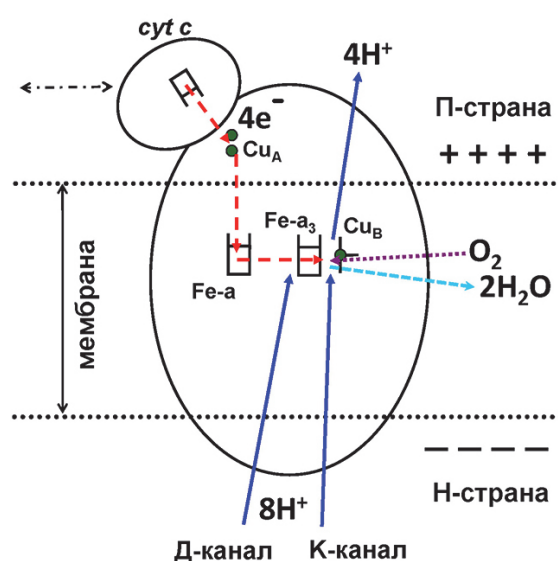
Концепт цитохрома ц оксидазе, као биомолекулске наномашине која трансформише енергију редокс (оксидо-редукционе) реакције у протон-моторну силу (*pmf*) кроз биолошку мембрану, одмах је фасцинирао Викstroma и Бабкока. Они су правремено схватили да ће за разрешење механизма рада овог ензима бити потребно комбиновање структурних и динамичких информација, од којих су многе и они сами прикупили коришћењем спектроскопских, кристалографских, потенциометријских, кинетичких и других метода. [2,3,7,8] Након изненадне смрти проф. Бабкока једног од кључних протагониста, Викстром, Фергусон-Милер, Брунори, Михел, Скулачев, Гинис, Брезезински, Николс, Папа и многи други њихови ученици или следбеници настављају да истражују ову, тада још увек неистражену, област биоенергетике.

Функција цитохром оксидазе као протонске пумпе се понекад, нетачно, интрепретира као механистички детаљ једног генералног принципа познатог као хемиосмотски принцип, који такође повезује редокс реакције са формирањем протон-моторне силе (*pmf*). Често се механизам цитохром оксидазе поистовећује са механизмом код фотосинтетичког реакционог центра у бактеријама, фотосистему II у биљкама, или цитохром б_ц-типу комплекса код еукариотских организама, које су такође протонске пумпе у општем смислу те речи. Међутим, постоји фундаментална разлика која редокс-везано пумпање протона од стране хем-бакар оксидаза чини јединственим у биологији.

Сви предходно поменути системи који генеришу *pmf* посредством редокс реакције, са изузетком цитохром оксидазе (и комплекса I), могу се на шематском нивоу у потпуности описати као нека верзија Мичелове оксидо-редукционе петље (*loop-a*) [5]. То су све примери концептуалног, векторски оријентисаног, метаболизма који је био основа за формулисање хемиосмотске теорије. Једна од карактеристика таквог *loop-a* је ефективни транспорт једног протона (појединачног наелектрисања) кроз мембрану по електрону утроше-

ном у редокс реакцији. Друга карактеристика је да тај протон није транспортован као такав преко осмотске баријере. Међутим, у неким случајевима, протон ипак мора да буде транспортован са површине мемbrane преко посебних протонских канала унутар ензима (тзв. "Mitchell's proton wells" [6]) да би се сусрео са електроном и на тај начин заокружио редокс реакцију унутар мембранског домена. На пример, такав процес постоји код редукције хинона у бактеријском реакционом центру [9]. Значајно је да се у таквим процесима увек преносе протони који учествују у редокс реакцијама. Дакле, реч је о протонима који се на крају нађу на молекулима супстрата, тј. на производима реакције.

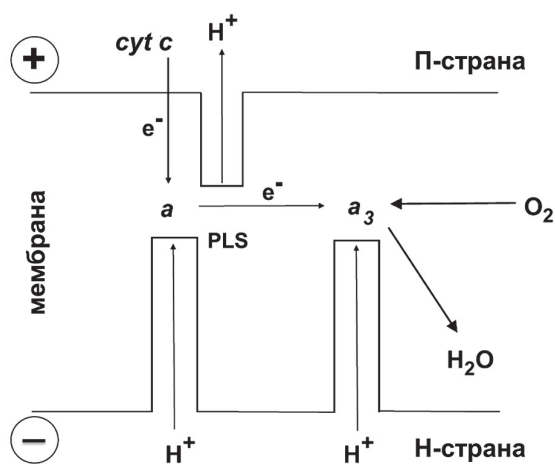
Ови принципи су заправо такође примењиви и на хем-бакар оксидазама, као што су оригинално предložили Мичел и Мојл [10]. Редукција O_2 до воде у хем a_3 - Cu_B центру, смештеном унутар мембранског домена, је уствари векторски оријентисана: електрони долазе преко цитохрома ц са П-стрaне мемbrane (позитивно наелектрисане), док се супстратни протони допремају са Н-стрaне (негативно наелектрисане). Две супротна наелектрисане честице се "сусрећу" и спајају са O_2 у унутрашњости мемbrane, при чему се наелектрисања поништавају и ствара се молекул воде. То резултује у укупној транслокацији једног целог наелектрисања кроз мембрану по једном електрону, а што је потпуно у складу са оксидо-редукционим *loop* принципом (Слика 1). Јасно је према томе да је Мичелова идеја о векторски оријентисаним редокс реакцијама и преносу енергије у биолошким системима и даље веома успешан концепт, који се показао исправним за све реакције тог типа проучене до сада. Међутим такав концепт, није довољан да опише протон-моторну функцију код хем-бакар оксидаза.



Слика 1. Функција и укупна реакција катализована цитохром ц оксидазом. Редукција O_2 до H_2O је спегнута са пумпањем протона кроз мембрану насупротив електрохемијском градиенту.

Нови концепт протонске пумпе у односу на изворну хемиосмотску теорију

Из свега до сада реченог, јасно је да откриће цитохром оксидазе, као истинске протон пумпе која преноси два цела наелектрисања по једном електрону пропуштеном кроз систем, било неочекивано. Зато није изненађење да је ово откриће довело до великог противљења новом концепту [11,12]. Проблем механизма, односно како пренети два цела наелектрисања (уместо једног) по једном електрону, није нимало тривијалан. Било је раних покушаја, још 1978. да се такав механизам шематски представи (Слика 2), али без већег успеха, зато што је недостајало добро објашњење на молекуларном нивоу [13]. Касније је Викстром понудио следеће објашњење: пренос електрона са цитохрома *c* до хема *a* (преко Cu_A) је повезан са узимањем протона на *H*-страни и његовим транспортом до недефинисаног "proton loading site-a" (PLS) који се налази дубоко унутар мембране. Следи трансфер електрона до бинуклеарног хем a_3-Cu_B центра, који је повезан са отпуштањем протона са PLS-а на *P*-страни мембране. Затим следи узимање "супстрат протона" са *H*-странице и његов трансфер до бинуклеарног центра, при чему се у бинуклеарном центру формира молекула воде. Механизам који је данас опште прихваћен се разликује од предходно описаног.



Слика 2. Шема транспорта протона у цитохром *c* оксидази према референци [13]. Рани покушај да се објасни механизам преноса два јединична наелектрисања по једном електрону показао је сву нетривијаланост проблема (види текст).

Предходна шема се такође може описати са два узастопна (секвенцијална) редокс *loop*-а Мичеловог типа, уз претпоставку да је хем *a* формално акцептор атома водоника, а то одговара експериментално утврђеној рН-зависност његовог редокс потенцијала [14]. Нови концепт довео је до интензивне дискусије о природи спрезања преноса електрона - протона и дискусије око тога да ли би хемиосмотски приступ могао да прихвати нову, индиректну повезаност између једно-електронске редукције хема и преузимања протона као одговора на то, али од стране неког суседног ами-

но-киселинског остатка, као на пример неког од лиганда координованог за хем (Fe), или пропионске групе везане за хем и слично. Викстром је по свом сопственом признању био изненађен да Мичел на почетку није прихватио такав начин спрезања, који је по његовој терминологији био сматран "индиректним" или "конформационим", па чак и у горе описним случајевима, где очигледно постоје веома јаке електростатичке интеракције између две супротно наелектрисане честице. Међутим, постоји један важан аспект оваквог механизма, који се не слаже са оригиналним редокс *loop* концептом, сем ако се такав концепт не прошири далеко изван његовог оригиналног тумачења.

У класичној редокс *loop* шеми, усмереност реакције је осигурана тиме што су места узимања протона и његовог отпуштања раздвојена на сигурном одстојању (чак и на супротним странама мембране, мада то није апсолутни услов). Контакт између два везивна места се успоставља путем једноставног преноса електрона и дифузије неутралног хидрогенованог редокс носача у супротном правцу (пример је убихинон). Међутим, са структурно фиксираним редокс центрима, као што је хем *a*, дифузија његовог протонено-редукованог облика, без сумње није могућа. Дакле, тип шеме приказан на Сlici 2 индиректно захтева да *proton loading site* (PLS) мора да има две конформације, једну у протонском контакту са *H*-страном мембране, и другу у контакту са *P*-страном [14]. Постојање таквих "конформација" очигледно укључије различите могућности, и сигурно није ограничено само на велике конформационе промене, маде такве промене такође не могу бити искључене. Такође, фино балансирани "gating" преко протон трансфер путева би био довољан сам по себи.

Коначно, од историјског је значаја напоменути и то, да је након прихватања функције CcO као протонске пумпе, Мичел предложио механистички модел који уствари дозвољава спрезање преноса електрона и протона између металног центра (Cu_B) и његовог лиганда (OH^- или H_2O), као и "конформационе промене" (у првој координационој сфери око бабра) које доводе протонабилни лиганд у контакт при коме се може пренети протон са обе стране мембране [15]. Овај модел је стога потпуно сагласан са оригиналним принципима редокс реакцијом вођене протонске пумпе [14,16].

ЕЛЕКТРОМЕТРИЈСКЕ СТУДИЈЕ

На основу потенциометријског мерења мембранског потенцијала који генерише цитохром оксидаза уметнута у везикуле, дошло се до важних сазнања о кинетици процеса и реакција у овом ензиму [4,17,18]. Након што се један електрон убаци у систем током $O \rightarrow E$ прелазу, могу се опазити четири кинетичке фазе. Јако брза електронска фаза ($10 \mu s$), која одговара преносу електрона од Cu_A до хема *a*. Даља редистрибуција електрона између металних центара се преклапа и повезана је са три протонске фазе које генеришу три додатне кинетичке фазе ($150 \mu s$, $800 \mu s$ и $2,6 ms$) [17]. Резултати електрометријских мерења су шематски при-

казани на Слици 3. На слици се види да је фаза 2 уствари спрегнути процес преноса протона са Glu242 на His291 и преноса електрона између хема a и хема a_3 . Фаза 3 је пренос протона са Glu242 (наравно, након његовог репротоновања) на OH^- лиганд у бинуклеарном центру (BNC), који је спрегнут са потпуним преносом електрона до Cu_B центра. Фаза 4 обухвата поновно репротовање Glu242 и сам корак испумпавања протона из ензима (са *proton loading site-a*, PLS) на II-страни мембране.

КИНЕТИЧКИ МОДЕЛ КОНТРОЛЕ ПУМПАЊА ПРОТОНА

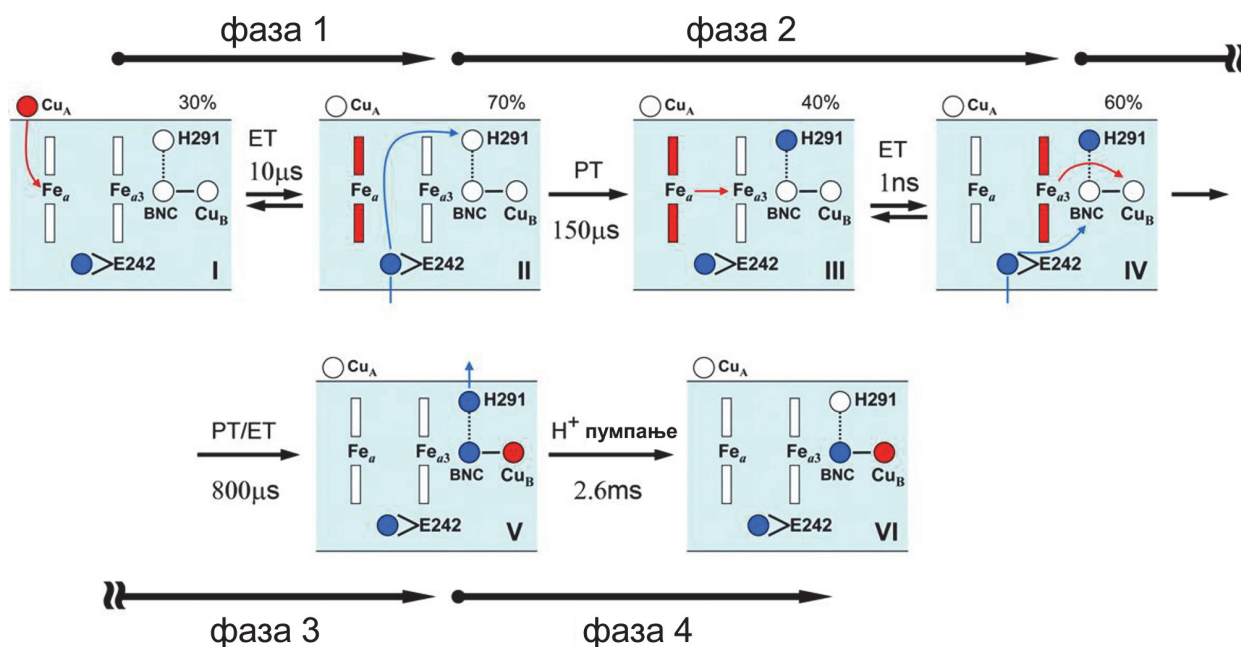
Током претходних 35 година, на основу многих експерименталних мерења, компјутерских прорачуна и симулација и теоријских разматрања, предложано је више различитих модела да би се објаснио начин рада овог сложеног ензима. Овде ће укратко бити представљен модел, који је у последњих пар година прихваћен од већине релевантних истраживача који се баве овим протеинским системом. Са задовољством могу да кажем да је и аутор овог текста заједно са групом на UC Davis-у својим радовима значајно допринео разумевању молекулског механизма рада цитохром c оксидазе.

Једна од кључних карактеристика овог модела је постојање *proton loading site-a* (PLS) који би требао да се налази изнад порфиринаских прстенова хема. Идентитет PLS-а је недавно истраживан у кинетичкој студији, која је показала да само неколико протонабилних гру-

па могу играти ту улогу – пропионати хема a_3 , His291, Trp126, Trp236, Arg438 или Arg439 [19]. Све те групе су приближно лоциране на истој дубини у мембрани. Идентитет PLS-а још увек није познат, али главни кандидати су His291 и пропионатна група PRA хема a_3 . Један модел предлаже да пумпани протон може бити делокализован између пропионатних група, His291 и молекула воде W_1 (Слика 4), укључујући и могуће формирање Zündel-катјона (H_5O_2^+) или делокализацију H^+ на већи кластер молекула воде у хидрофилној шупљини изнад $\text{Fe}_{a_3}/\text{Cu}_B$ комплекса [20].

Поред тога, стање протоновања PLS групе би требало да зависи од редокс стања бинуклеарног комплекса. Зато је His291 као лиганд Cu_B центра најбољи кандидат. Комбиновани DFT/електростатички прорачуни су показали да је His291 депротонован, када је један од металних центара Fe_{a_3} или Cu_B оксидован, или када се формира молекул H_2O у активном центру. У оба случаја јавља се вишак од једног позитивног наелектрисања у BNC-у. His291 се протонује, кад су оба метална центра бинуклеарног комплекса у редукованом облику [20,21].

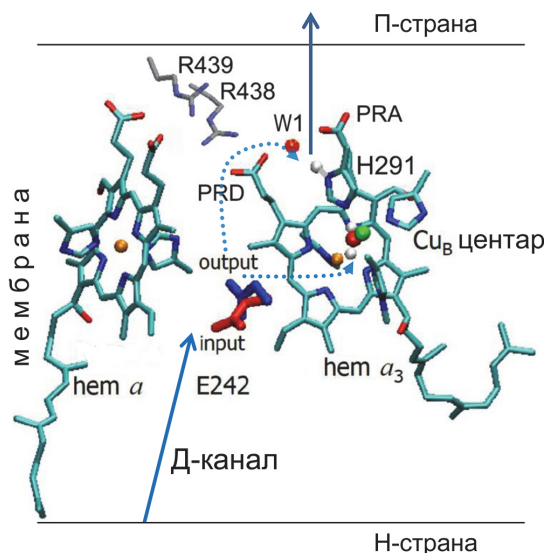
Експериментално је показано да Glu242 игра важну улогу у преносу протона за пумпање до PLS-а, као и хемијских протона до бинуклеарног центра (BNC) за хемијску редуkcију кисеоника [22]. Да би протони могли да буду транспортовани у хидрофобној каталитичкој шупљини између Glu и PLS-а или BNC-а, потребни су молекули воде да олакшају тај пренос. Протони се између две удаљене аминокиселинске групе преносе



Слика 3. Шематски приказ резултата електрометријских кинетичких мерења за $\text{O} \rightarrow \text{E}$ прелаз [17]. Четири редокс-активна центра (Cu_A , Fe_a , Fe_{a_3} , Cu_B) и три кључне протонабилне групе (Glu242, His291, OH^- лиганд у BNC) предложеног модела су приказане шематски. Зелено поље представља мембрански домен. Редуковани и оксидовани метални центри су приказани црвеном, односно белом бојом. Протоноване и депротоноване групе су означене плавом, односно белом бојом. Црвене стрелице приказују трансфер електрона (ET), док плаве стрелице означавају протон транспорт (PT).

уз помоћ молекула воде који водоничним везама повезују донор протона и акцептор (ткз. Гротусов механизам). Компјутерске симулације су показале да су молекули воде у динамичкој равнотежи и могу формирати или један протон-транспортни водонични низ до PLS-а, или други низ до BNC-а [23].

Предложени “*kinetic gating mechanism*” [24] сугерише да је Glu242 повезан са PLS-ом и активним местом (BNC) са два одвојена протон-проводна низа који се разликују у брзини преноса протона тј. имају различите константе брзине транспорта. Бржи низ (канал) обезбеђује протоне до PLS-а, док спорији низ преноси хемијске протоне до BNC-а. Наглашена разлика у брзинама транспорта осигурава да се протон налази на PLS групи пре него што дође до електрон трансфера до Cu_B центра и протоновања редукваног кисеоничног интермедијера у активном месту хемијским протоном. Структура и динамика протон-транспортних водених низова сугерише да је брзина трансфера протона са Glu до His много већа него између Glu и OH^- у каталитич-



Слика 4. Кључни структурни елементи система за механизам пумпања протона. Proton loading site (PLS) – His291 показује промене стања протоновања зависне од редокс стања метала у бинуклеарном Fe_{a_3}/Cu_B центру. Glu242 је главни донор супстрат протона и протона за пумпање. Зависно од своје конформације, Glu242 може бити у контакту са *H*-страном мембране преко Д-канала, или у контакту са кисеоничним лигандима у BNC, или преко јонског моста ($Arg438^+/PRDa_3^-$), $H_2O(W1)$ и His291 у контакту са *P*-страном мембране. Молекули воде у Д-каналу, као и каталитичкој хидрофобној шупљини (нису приказани ради јасноће слике) омогућавају и олакшавају транспорт протона и играју значајну улогу у кинетичкој контроли целог процеса. Ротационом изомеризацијом одн. конформационим *gating*-ом, Glu242 контролише доњу страну хидрофобне шупљине, док $Arg438/PRDa_3$ јонски мост контролише горњу страну, чиме је у великој мери омогућена једносмерност протока протона и молекула воде у ензиму.

ком центру, упркос чињеници да OH^- лиганд у BNC-у поседује већи афинитет према протону него His291 или PRa_3 тј. PLS. Према томе кинетички критеријум, а не термодинамички, одлучује у ком ће правцу протон прво да буде усмерен и пренет. Као резултат кинетичке контроле овог процеса, ствара се метастабилно интермедијерно стање са протоном на PLS-у, са кога ће касније након уласка и везивања хемијског протона за каталитички центар, доћи до избацивања (пумпања) протона на *P*-страни мембране.

Јонски мост $R438^+/PRDa_3^-$ и молекул воде W1 (смештен између пропионатних група хема a_3) су важни за регулацију транспорта протона за пумпање до PLS-а [25]. Ензим ствара молекуле воде као производе каталитичке реакције и они морају да напусте активно место и каталитичку шупљину у чему им помаже овај јонски мост, који функционише као капија (*gate*) за излазак молекула воде из хидрофобне шупљине. Јак електростатички јонски пар такође поставља термодинамичку и кинетичку баријеру која спречава враћање протона назад у пумпу [26] тј. враћање до Glu242. Са друге стране, због термалних флукуација Glu242 може да пређе из доње стабилне конформације у горњу, када треба да пренесе протон до PLS-а или BNC-а, или да се врати у доњу конформацију да би се поново протоновао. Када је у доњој (*input*) конформацији, Glu242 је у контакту само са протонабилним групама у Д-каналу. Када је у горњој (*output*) конформацији, он може формирањем водоничних веза са молекулима воде да успостави контакт или са PLS-ом или BNC-ом и тако преда протон неком од њих (Слика 4). Дакле, путем конформационог *gating*-а Glu242 функционише као вентил (“*valve model*”) који омогућава векторски проток протона у једном правцу ка *P*-страни и спречава њихово враћање надоле ка *H*-страни мембране [27,28].

Шема механизма пумпања протона и каталитички циклус

Предложени механизам пумпања протона је шематски приказан на Сlici 5. За време каталитичког циклуса, стабилно стање бинуклеарног центра, пре него што наредни електрон уђе у систем, је оно у коме је један од металних центара у оксидованом облику ($Fe^{3+}-H_2O$ или $Cu^{2+}-H_2O$), док је His291 у депротонованом, а Glu242 у протонованом стању. Један електрон се преда систему преко цитохрома *c* и пренесе преко Cu_A и хема *a* (корак 1) до бинуклеарног центра (корак 2). Као одговор на повећано негативно наелектрисање у BNC-у, протон са Glu242 има сада потребан *driving force* да се приближи каталитичком центру. Постоје два канала која воде од Glu242 до две протонабилне групе. Један пут води до OH^- групе у BNC-у, а други до депротонованог His291 (PLS). Обе групе показују велики афинитет за протоном, што показују и високе вредности њихових киселинских pK_a константи. Пошто је брзина преноса протона до His291 доста већа у односу на брзину преноса протона до OH^- групе, следећем кораку долази до протоновања His тј. до преноса протона за пумпање. Дакле, реч је о кинетичкој контроли

овог процеса, а не термодинамичкој, услед чега се у кораку 3 формира метастабилно стање ензима, о чему је већ било речи. Корак 4 је репротоновање Glu242. Сада се други "хемијски протон" транспортује до бинуклеарног центра да би протоновао OH^- до H_2O (корак 5). Улазак додатног позитивног наелектрисања у бинуклеарни комплекс, доводи до снижавања pK_a вредности His291. Због тога се улазак супстрат протона у активно (каталитичко) место, може сматрати компонентом од суштинске важности за механизам пумпања протона. У наредном кораку 6, главни дозор протона, Glu242, бива још једном репротонован преко Д-канала. То додатно повећава електростатичко одбијање између протона на His291 и H_2O лиганду у бинуклеарном комплексу, што коначно доводи до избацивања *preludovano* протона са PLS-а ка П-страни мембране (корак 7).

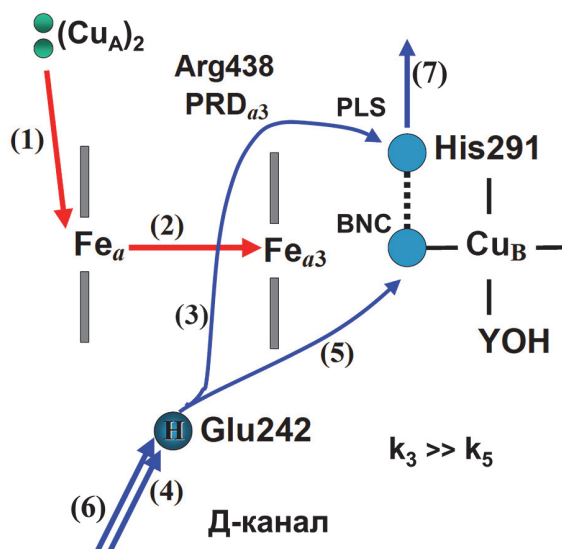
Дакле, репротоновањем протон донора се може контролисати ослобађање протона са PLS-а. С друге стране, тако се такође контролише и улазак новог електрона у систем, јер је редукција хема *a* једино могућа кад је Glu242 у стабилном, протонованом стању [29]. Оваквом контролом протока електрона се обезбеђује да се електрони узимају и конзумирају у активном месту по принципу један по један. То даље значи да се шема корака у механизму приказаном на Слици 5 циклично понавља са сваком новим уласком електрона. Како је четири електрона потребно за потпуну редукцију O_2 до $2\text{H}_2\text{O}$, приказана секвенца корака биће четири пута поновљена, пре него што се затвори цео каталитички циклус овог ензима.

Експериментални подаци за $\text{O} \rightarrow \text{E}$ прелаз [17], могу се интерпретирати тако да сугеришу механизам у коме се транспорт протона за пумпање дешава пре трансфера електрона до BNC-а тј. док се електрон још увек налази на хему *a*. Супротно томе, друга студија која се бави $\text{F} \rightarrow \text{O}$ прелазом [18] предлаже трансфер протона до PLS тек након трансфера електрона до бинуклеарног центра. Овако различити резултати сугеришу да оксидативна и редуктивна фаза каталитичког циклуса нису потпуно идентичне у свим механистичким детаљима, поред очигледне разлике у хемији и кинетици процеса. Зато треба напоменути да приказана шема (Слика 5) стриктно важи само за оксидативни део каталитичког циклуса, а у нешто модификованом облику и за редуктивни део. Наиме, у редуктивном делу, кораци 2 и 3 су спрегнути и иду симултано, док је корак 5, трансфер протона до OH^- лиганда у BNC, спрегнут са потпуним и коначним трансфером електрона до Cu_B центра.

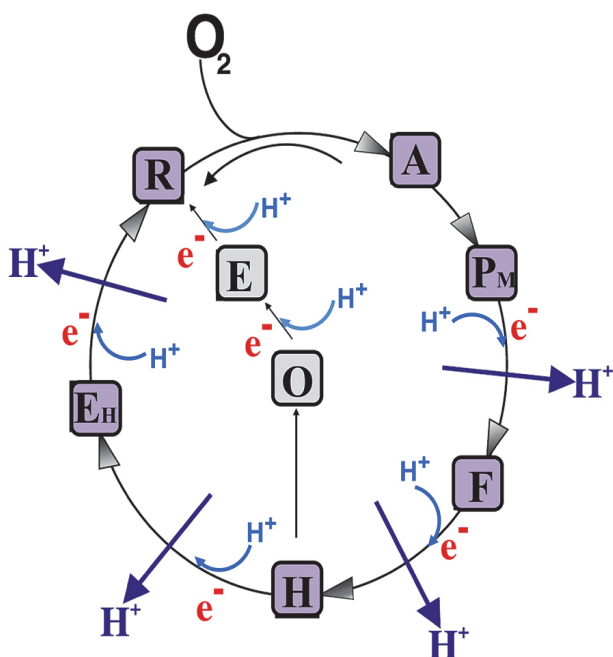
Трансфер протона са Glu242 на PLS (током $\text{O} \rightarrow \text{E}$ прелазу) доводи до значајног повећања редокс потенцијала хема a_3 , што доводи до стабилизације његовог редукованог облика. Ово, пак, делује повратно и још више повећава силу која покреће (*driving force*) трансфер протона на PLS. Другим речима, повећање популације протонованог His291 доводи до увећања популације редукованог хема a_3 , и обрнуто. Може се рећи да у овом кораку, електрон и протон повлаче један другог до енергетски стабилнијег интермедијерног стања, при чему ће се они налазити на хему a_3 и His291(PLS). Наиме,

без електрона, протон трансфер је енергетски неповољан, баш као што је без протона, електрон трансфер такође неповољан. Међутим, симултани пренос електрона и протона постаје енергетски повољан процес. Прелаз се у овом случају дешава посредством термалних флукуација система и одражава статистичку и спрегнуту природу реакције.

У каталитичком циклусу, CuO пролази кроз више фаза, при чему се оне разликују по редокс стању металних центара и стањима протоновања лиганата и супстрата у бинуклеарном комплексу. Све ове различите фазе (R, A, P, F, H, O, E) се могу у принципу детектовати спектроскопским и другим експерименталним методама, мада некада није могуће једнозначно одредити тачно стање протоновања кисеоничних лиганата и интермедијера. На Слици 6, љубичасти квадрати представљају фазе главног циклуса, који се може поделити на оксидативни ($\text{R} \rightarrow \text{H}$) и редуктивни део ($\text{H} \rightarrow \text{R}$). Термин оксидативни се односи на то да су метални центри (Fe_{a_3} и Cu_B) формално оксидовани, јер дају своја 3 електрона за редукцију молекула кисеоника, а четврти



Слика 5. Шема описаног механизма пумпања протона у цитохром оксидази. Приказана је секвенца корака у току једног циклуса пумпања тј. након уласка једног електрона у систем. Протон и електрон трансфер кораци су означени плавим, односно црвеним стрелицама. На почетку циклуса, дозор протона Glu242 је протонован, док су два потенцијална протон акцептора, His291 (PLS) и OH^- лиганд у BNC, приказани празним кружићима тј. у депротонованом стању. Могу се формирати два одвојена протон-транспортна водена низа – један води до PLS-а, а други до BNC-а. Од пресудне важности је да је брзина трансфера протона са Glu до His много већа него између Glu и OH^- у BNC ($k_3 \gg k_5$). У супротном би изостало пумпање протона и сви протони узети са *H*-страни би били утрошени за протоновање кисеоничних интермедијера у бинуклеарном центру.



Слика 6. Каталитички циклус цитохром ц оксидазе. Квадрати представљају стање бинуклеарног хем a_3 -Cu_B комплекса. У регуларном циклусу, по један протон се пумпа (плаве стрелице) са унутрашње ка спољашњој страни мембране за трансфер сваког електрона (означен са e^-) до BNC. Трансфер сваког електрона до BNC-а је такође повезан са узимањем *сујстிரат* *прото*на са H-стране (светло плаве стрелице), који затим учествују у протоновању кисеоничних интермедијера у активном центру.

електрон донира Tug244; док се у редуктивној фази, метални центри редукују електронима који улазе у систем. Оксидативни део започиње са фазом R (редукован, Fe[III] Cu[I]), и наставља се са фазом A (кисеонични адукт, Fe[III]-O₂ Cu[I]), P_M (перокси, Fe[IV]=O Cu[II] Tug-O•), F (ферил-окси, Fe[IV]=O Cu[II] Tug-O⁻), и H (хидрокси, Fe[III] Cu[II]). У одсуству спољашњег електрон донора, метастабилна оксидована фаза H се може релаксирати до фазе O (оксидован, Fe[III] Cu[II]), која се даље редукује назад до фазе R преко фазе E (Fe[III] Cu[I]). Међутим, ако каталитичка реакција тече континуирано тј. постоји несметани доток електрона, фаза H се редукује назад до фазе R преко фазе E_H (Fe[III] Cu[I]). У главном (регуларном) циклусу, обе дела (оксидативни и редуктивни) су повезана са пумпањем по два протона (плаве стрелице), по један протон за пренос сваког електрона до BNC-а. Сваки пренос електрона до BNC-а је такође повезан са узимањем супстрат (хемијских) протона са H-стране, који се затим транспортују до активног центра. Међутим, ако је систем релаксиран без присуства спољног донора електрона до фазе O, пумпање протона ће изостати у редуктивном делу (O→R). То је показано на ензиму који је изо-

лован у оксидованом облику и држан у анаеробним условима тј. није био укључен у регуларни *turnover*.

Ефикасност *прото*нске *пумпе*

Треба имати на уму да су реакције, које се дешавају у цитохром оксидози приликом пумпања протона, реверзибилне и зато су важне енергије њихових активационих комплекса и кинетичке баријере.

Пумпање протона преко мембране је ендергони процес, који захтева доста енергије и зато мора бити спрегнут са хемијском редукцијом у активном месту ензима, која може обезбедити довољно енергије. На основу редокс потенцијала система: O₂/H₂O ($E^0 = 800$ mV) и цитохром *c* [Fe³⁺/Fe²⁺] ($E^0 = 300$ mV), може се закључити да је укупна расположива енергија егзергонне редокс реакције по једном електрону око 500 meV. С друге стране, потребно је уложити рад од 400–440 meV, да би се два наелектрисања по једном електрону пренела наспрот мембранском потенцијалу од 200–220 mV. Дакле, ефикасност цитохром оксидазе, као протонске пумпе је негде између 80–90%, када ради пуним капацитетом, наспрот високих вредности *pmf*-а. При тако високим вредностима *pmf*-а, укупна *driving force* енергија ова два спрегнута процеса је само око 60 meV. Цитохром оксидаза ради прилично близу еквилибријума два спрегнута процеса са високим степеном ефикасности и по томе се разликује од већине других ензимских система, као на пример фотосинтетичког реакционог центра или бактериородопсина. Међутим, рад близу равнотеже повећава и вероватноћу да ће се десити нежељене повратне реакције (враћања протона назад у пумпу). Такође је показано да је рад при таквим условима неминовно повезан са повећаним настајањем високо штетних реактивних кисеоничних врста, које изазивају оксидативни стрес, оштећења митохондријске мембране и ћелијску смрт. То је додатни услов који се ставља на терет ефикасности кинетичког *gating*-а. Другим речима кинетичке баријере морају да буду тако постављене да могу да остваре једносмерност и фина контролу целог процеса.

ЗАКЉУЧАК

У знатној мери су проучени и истражени бројни аспекти функционисања цитохром ц оксидазе, за аеробне организме есенцијалног ензима, после много година уложеног рада и доприноса од стране великог броја експерименталиста и теоретичара. Упркос томе, само у току прошле године је у научним журналима високог квалитета публиковано више стотина радова о овом ензиму. Та чињеница говори у прилог тврдњи да је овај протеински комплекс и даље врућа тема у молекуларној биохемији и биоенергетици, а све више и у медицинској хемији, и да наставља несмањеном жестином да заокупља и фасцинира многе научнике и истраживаче широм света.

Abstract

CYTOCHROME C OXIDASE - A MOLECULAR PROTON PUMP AND ITS REACTION MECHANISM

Dragan M. POPOVIĆ, *Research Specialist, Department of Chemistry, University of California, One Shields Avenue, Davis, California 95616, USA*

Since its discovery, the function of cytochrome c oxidase (and other heme-copper oxidases) as a redox-driven proton pump has been subject of both intense research and controversy, and has been for a long time one of the key unsolved issues in bioenergetics and biochemistry. Despite the fact the mechanism of proton translocation is not yet fully understood on the molecular level, with the accelerating progress in this field many important details and principles have been learned. Some of these are reviewed here, together with a brief presentation of a novel proton pump mechanism, and a molecular basis for control of its efficiency.

ЗА ДАЉЕ ЧИТАЊЕ

1. P. Brzezinski, R.B. Gennis, Cytochrome c oxidase: exciting progress and remaining mysteries, *J. Bioenerg. Biomembr.* 40 (2008) 521–531.
2. K.L. Dürr, J. Koepke, P. Hellwig, H. Müller, H. Angerer, G. Peng, E. Ölkova, O.M.H. Richter, B. Ludwig, H. Michel, A D-pathway mutation decouples the *Paracoccus denitrificans* cytochrome c oxidase by altering the side-chain orientation of a distant conserved glutamate, *J. Mol. Biol.* 384 (2008) 865–877.
3. M.A. Sharpe, S. Ferguson-Miller, A chemically explicit model for the mechanism of proton pumping in heme-copper oxidases, *J. Bioenerg. Biomembr.* 40 (2008) 541–549.
4. J.P. Hosler, S. Ferguson-Miller, D.A. Mills, Energy transduction: proton transfer through the respiratory complexes, *Annu. Rev. Biochem.* 75 (2006) 165–187.
5. R.B. Gennis, Coupled proton and electron transfer reactions in cytochrome oxidase, *Front. Biosci.* 9 (2004) 581–591.

ЛИТЕРАТУРА

1. M. Wikström, Proton pump coupled to cytochrome c oxidase in mitochondria, *Nature* 266 (1977) 271–273.
2. G.T. Babcock, M. Wikström, Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration, *Nature* 356 (1992) 301–309.
3. S. Ferguson-Miller, G.T. Babcock, Heme/copper terminal oxidases, *Chem. Rev.* 7 (1996) 2889–2907.
4. A.A. Konstantinov, S. Siletsky, D. Mitchell, A. Kaulen, R.B. Gennis, The role of the two proton input channels in cytochrome c oxidase from *Rhodobacter sphaeroides* probed by the effects of site-directed mutations on time-resolved electrogenic intraprotein proton transfer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94 (1997) 9085–9090.
5. P. Mitchell, *Chemiosmotic Coupling in Oxidative and Photosynthetic Phosphorylation*, Glynn Research, Bodmin, 1966.
6. P. Mitchell, *Chemiosmotic Coupling and Energy Transduction*, Glynn Research, Bodmin, 1968.
7. G.T. Babcock, J.M. Jean, L.N. Johnston, G. Palmer, W.H. Woodruff, Time-resolved resonance Raman spectroscopy of transient species formed during the oxidation of cytochrome oxidase by dioxygen, *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 8305–8306.

8. G.T. Babcock, How oxygen is activated and reduced in respiration, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96 (1999) 12971–12973.
9. S.H. Rongey, M.L. Paddock, G. Feher, M.Y. Okamura, Pathway of proton transfer in bacterial reaction centers: second-site mutation Asn-M44→Aσπ restores electron and proton transfer in reaction centers from the photosynthetically deficient Asp-L213→Aσν mutant of *Rhodobacter sphaeroides*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90 (1993) 1325–1329.
10. P. Mitchell, J. Moyle, in: J.M. Tager, S. Papa, E. Quagliariello, E.C. Slater (Eds.), *Electron Transport and Energy Conservation*, Adriatica Editrice, Bari, 1970, pp. 575–587.
11. J. Moyle, P. Mitchell, Cytochrome c oxidase is not a proton pump, *FEBS Lett.* 88 (1978) 268–272.
12. M. Lorusso, F. Capuano, D. Boffoli, R. Stefanelli, S. Papa, The mechanism of transmembrane delta μ-H⁺ generation in mitochondria by cytochrome c oxidase, *Biochem. J.* 182 (1979) 133–147.
13. V.Yu. Artzatbanov, A.A. Konstantinov, V.P. Skulachev, Involvement of intramitochondrial protons in redox reactions of cytochrome a, *FEBS Lett.* 87 (1978) 180–185.
14. M. Wikström, K. Krab, Proton-pumping cytochrome c oxidase, *Biochim. Biophys. Acta* 549 (1979) 177–222.
15. P. Mitchell, Possible protonmotive osmochemistry in cytochrome oxidase, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 550 (1988) 185–198.
16. D.A. Mills, S. Ferguson-Miller, Understanding the mechanism of proton movement linked to oxygen reduction in cytochrome c oxidase: lessons from other proteins, *FEBS Lett.* 545 (2003) 47–51.
17. I. Belevich, D.A. Bloch, N. Belevich, M. Wikström, M.I. Verkhovskiy, Exploring the proton pump mechanism of cytochrome c oxidase in real time, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104 (2007) 2685–2690.
18. S.A. Siletsky, A.S. Pawate, K. Weiss, R.B. Gennis, A.A. Konstantinov, Transmembrane charge separation during the ferryl-oxo → oxidized transition in a nonpumping mutant of cytochrome c oxidase, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 52558–52565.
19. R. Sugitani, E.S. Medvedev, A.A. Stuchebrukhov, Theoretical and computational analysis of the membrane potential generated by cytochrome c oxidase upon single electron injection into the enzyme, *Biochim. Biophys. Acta* 1777 (2008) 1129–1139.
20. D.M. Popovic, A.A. Stuchebrukhov, Electrostatic study of proton pumping mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 1858–1871.
21. D.M. Popovic, J. Quenneville, A.A. Stuchebrukhov, Combined DFT and electrostatics study of the proton pumping mechanism in cytochrome c oxidase, *Biochim. Biophys. Acta* 1757 (2006) 1035–1046.
22. P. Hellwig, J. Behr, C. Ostermeier, O.-M.H. Richter, U. Pfitzner, A. Odenwald, B. Ludwig, H. Michel, W. Mantele, Involvement of glutamic acid 278 in the redox reaction of the cytochrome c oxidase from *Paracoccus denitrificans* investigated by FT-IR spectroscopy, *Biochemistry* 37 (1998) 7390–7399.
23. X. Zheng, D.M. Medvedev, J. Swanson, A.A. Stuchebrukhov, Computer simulation of water in cytochrome c oxidase, *Biochim. Biophys. Acta* 1557 (2003) 99–107.
24. D.M. Popovic, A.A. Stuchebrukhov, Proton pumping mechanism and catalytic cycle of cytochrome c oxidase: Coulomb pump model with kinetic gating, *FEBS Lett.* 566 (2004) 126–130.
25. H.J. Lee, L. Ojemyr, A. Vakkasoglu, P. Brzezinski, R.B. Gennis, Properties of Arg481 mutants of the aa(3)-type cytochrome c oxidase from *Rhodobacter sphaeroides* suggest that neither R481 nor the nearby D-propionate

- of heme a(3) is likely to be the proton loading site of the proton pump, *Biochemistry* 48 (2009) 7123–7131.
26. D.M. Popovic, A.A. Stuchebrukhov, Proton exit channels in bovine cytochrome c oxidase, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 1999–2006.
 27. D.M. Popovic, A.A. Stuchebrukhov, Two conformational states of Glu242 and pKas in bovine cytochrome c oxidase, *Photochem. Photobiol. Sci.* 5 (2006) 611–620.
 28. V.R.I. Kaila, M.I. Verkhovskiy, G. Hummer, M. Wikström, Glutamic acid 242 is a valve in the proton pump of cytochrome c oxidase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105 (2008) 6255–6259.
 29. D.M. Popovic, A.A. Stuchebrukhov, Coupled electron and proton transfer reactions during the O to E transition in bovine cytochrome c oxidase, *Biochim. Biophys. Acta* 1817 (2012) 506–517.



Тијана СТАМЕНКОВИЋ, Маријета ПЕТРОВИЋ, Татјана АНЂЕЛКОВИЋ, Александра ЗАРУБИЋА, Природно-математички факултет, Универзитет у Нишу, (e-mail: marijetapetrovic@gmail.com)

ПЕСТИЦИДИ - ФОТОЛИЗА И ФОТОКАТАЛИЗА

Значајно место међу процесима разлагања пестицида у природи, заузима фотолитика. Потребно је одређено време за њено одвијање, а као резултат се добијају мање токсични производи од почетних једињења. Као пример, изложена је фотолитика парахиона, која се показала као врло ефикасан процес његове разградње.

Процес фотокатализе има врло важну улогу као метода за уклањање пестицида из природних система. У овом случају, вршена је фотокаталитичка деградација метил парахиона, на катализатору на бази TiO_2 . Захваљујући својим изузетним особинама које му омогућавају да има улогу фотокатализатора, TiO_2 се показао као врло ефикасан у процесима разградње овог пестицида, и омогућава његову потпуну деградацију. На овај начин, смањује се његова количина у природи иј. смањује се ефекат његове токсичности, и иако се може у очувању здраве животне средине.

Процеси фотолитике и фотокаталитичке разградње израђени су комбинацијом метода тасне хроматографије и масене спектрометрије (engl. *Gas chromatography with mass spectrometry - GC-MS*), која се показала као врло прецизна и погодна за оваква испитивања.

Када упоредимо процесе фотолитике и фотокатализе, ефикасност разградње пестицида је прилично боља у процесу фотокатализе, јер је време одвијања овог процеса драстично мање у односу на време које је потребно за одвијање фотолитике. А иако се производи тиче, углавном се добијају исти, и при фотолитизи и при фотокатализизи.

Са развојем технологије и индустрије последњих деценија, загађеност животне средине све више расте. То је разлог због кога се све већа пажња поклања њеној заштити од загађивања, јер без здраве животне средине, нормално функционисање живог свега није могуће.

Загађујуће супстанце се у природи налазе свуда: у води, ваздуху и у земљишту. Неке од њих могу бити и хемикалије које људи употребљавају, примењују и које

им на први поглед делују безопасно. Један такав пример су пестициди, који се користе са намером да помогну човеку тако што сузбијају штетне организме и тиме повећавају приносе у пољопривреди. Неконтролисана примена пестицида може довести до нежељених последица, како на здравље људи, тако исто и корисних инсеката и животиња.

Мониторинг пестицида у природи подразумева процесе праћења њиховог кретања и трансформација. Физичко-хемијски процеси који се одвијају у природи имају велики утицај на разградњу пестицида, било да је реч о пестицидима који се налазе у води, атмосфери, земљишту или живим организмима. Што се тиче физичких процеса трансформације пестицида у природи, најбитнији су седиментација, адсорпција и испаравање, а када је реч о хемијским, најважнији процеси су оксидација, редукција, хидролиза и фотолитика.

Значајно место међу процесима разлагања пестицида у природи, заузима фотолитика. Постоје многобројни фактори који имају значајан утицај на брзину деградације, односно на стабилност пестицида. Најважнији је утицај Сунчеве енергије, а врло је битно и присуство других компонената у води, земљишту, атмосфери итд.

Последњих година све више се развијају нове технике уклањања пестицида из земљишта, али и из воде, где они на разне начине могу да доспеју нпр. спирањем, и тако је учине лошом за било какву намену. Једна од техника, која има све већу перспективу у решавању проблема загађења животне средине пестицидима, је фотокатализа. То су испитивања разградње пестицида на мање или потпуно нетоксичне продукте, у присуству неког катализатора и под утицајем светлосног зрачења. На тај начин се смањује загађеност воде, односно земљишта.

Молекули пестицида различито реагују на унутрашње и спољашње параметре, што се одражава на стабилност самог једињења. Унутрашњи утицај се јавља при дужем чувању, јер су поједини пестициди не-

стабилни и мењају структуру при дужем стајању, и услед разлагања или полимеризације, губе битне хемијске карактеристике. Због тога се оваквим пестицидима додају разна хемијска једињења тзв. стабилизатори, ради успорења наведених процеса. Многи пестициди имају висок степен стабилности за време чувања у оптималним условима али променом спољашњих услова чувања (температуре, притиска воде или кисеоника, рН, светлости), за неке од пестицида стабилност молекула се драстично смањује, скоро до тог степена да постану неактивни и неупотребљиви.

Према стабилности молекула пестицида у условима спољашње средине, пестициди се деле на:

- веома стабилне (време разлагања на нетоксичне компоненте дуже од 2 године),
- стабилне (време разлагања на нетоксичне компоненте од 6 месеци до 2 године),
- средње стабилне (време разлагања на нетоксичне компоненте од 1 до 6 месеци),
- слабо стабилне (време разлагања на нетоксичне компоненте краће од месец дана) [1].

Перзистентност и кретање пестицида у природним условима зависе од неколико фактора као што су растворљивост у води, константа апсорпције тла (K_{oc}) и време полуживота у земљишту DT_{50} (или ознаком $t_{1/2}$) а то је време које је потребно да се разгради 50% пестицида од почетне концентрације. Константа апсорпције тла (K_{oc}) зависи од адсорпционог коефицијента K_d и удела органског угљеника у земљишту $w(OC)$. Ова зависност је приказана једначином 1. Адсорпциони коефицијент K_d се дефинише као однос концентрације пестицида адсорбованих за земљиште (C_s) и концентрације пестицида у земљишном раствору (C_e) што је приказано једначином 2.

$$K_{oc} = \frac{K_d}{w(OC)} \cdot 100 \quad (1)$$

$$K_d = \frac{C_s}{C_e} \quad (2)$$

C_s и C_e се обично изражавају у јединицама ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$), а K_d , K_{oc} и $w(OC)$ су бездимензионе величине.

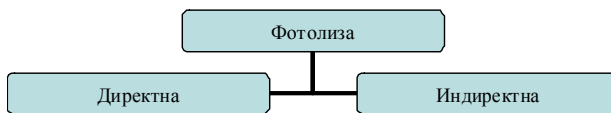
Пестициди могу бити загађујуће супстанциије и подземних вода уколико је њихов сорпциони коефицијент низак, а време полураспада дуго и имају високи степен растворљивости у води. Овај процес се често дешава јер су пестициди углавном поларна једињења, хидросолубилни и термолабилни чиме се умањује њихова токсичност и олакшава уклањање из животне средине [2].

ФОТОЛИЗА ПЕСТИЦИДА

Фотохемијске реакције се могу одвијати у ваздуху или води, али само када је присутно Сунчево зрачење. Најчешће се велике количине пестицида губе испаравањем у атмосферу и затим разграђују помоћу два главна деградациона пута. Први су фотохемијске реакције које су изазване Сунчевим зрачењем, а други су реакције изазване слободним радикалима. Продукти

који су на овај начин формирани могу али и не морају да буду токсичнији од полазне компоненте.

Сунчева светлост може се посматрати као енергија фотона који имају таласну природу. Молекули могу апсорбовати ту енергију што може изазвати раскидање хемијских веза. Енергија која је потребна да се раскину хемијске везе у молекулу пестицида обично износи од 70-120 kcal/mol што одговара таласним дужинама зрачења између 290-400 nm (UV област). Део Сунчевог светлосног зрачења припада овом опсегу таласних дужина, који је битан за фотодеградиацију пестицида. Проласком кроз атмосферу интензитет Сунчеве светлости опада око 10% у тропосфери, а таласне дужине <290 nm су апсорбоване у стратосфери због озона, па се као резултат тога добија податак да је приближно 5-6% од укупног интензитета зрачења онај интензитет светлости у UV области који је одговоран за фотодеградиацију пестицида. Таласне дужине између 400-460 nm које припадају видљивом делу спектра Сунчевог зрачења, долазе до Земљине површине али оне немају довољно енергије да раскину хемијске везе [3]. Хемијска једињења се могу разградити директним и индиректним путем (слика 1.).



Слика 1. Врсте фотоллизе

Директна фотоллиза

Пестициди могу директно реаговати са Сунчевим зрачењем када долази до раскидања хемијских веза. Типичне реакције у процесу фотоллизе пестицида на површини земље и биљкама, биће описане у даљем тексту.

Раскидање C-C везе и стварање кетил радикала (*engl. Norrish type I*) (реакција 1.) или карбонил угљеник у побуђеном стању који узима водоник од алкил групе (*engl. Norrish type II*) (реакција 2.) или од молекула растварача.

Раскидање C=C везе ароматичних једињења и добијање *cis/trans* геометријских изомера или *R/S* оптичких центара (реакција 3.).

Фотоиндуковано хомолитичко цепање везе је главни реакциони пут у фотолизи молекула. Када су у питању естри или кетони реакција декарбоксилације се наставља поред очигледног фотоиндукованог процеса хидролизе и зависи од структуре растварача који утиче на стабилност добијених радикала (реакција 4.). Веза C-халоген (Cl, Br и I) се такође раскида фотоиндуцијом (реакција 5.).

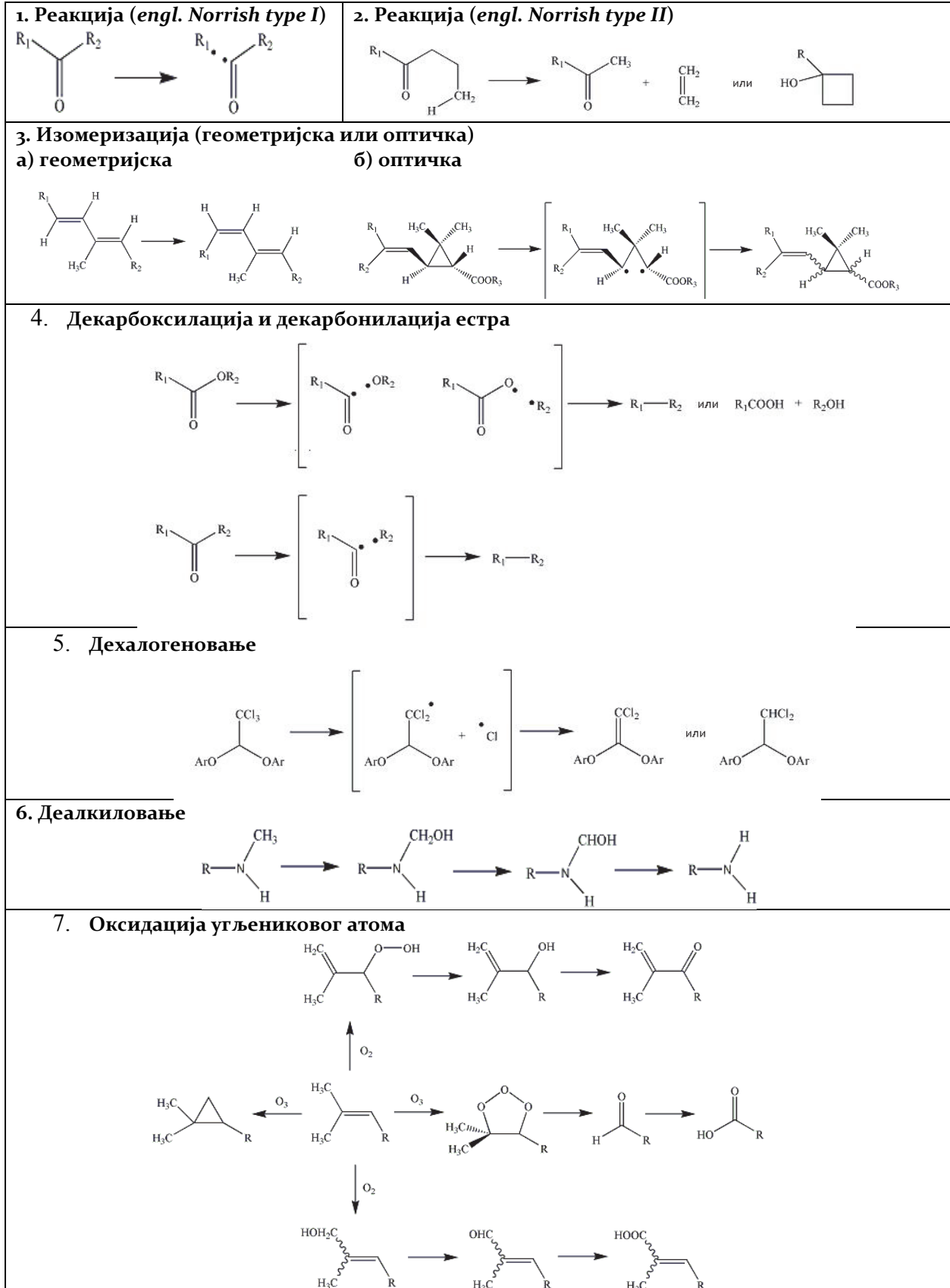
Деалкиловање путем оксидације са O_2 или реактивним врстама (ОН радикали) је такође познато (реакција 6.).

Оксидација, било угљеника или сумпора, један је од најважнијих процеса фотодеградиације (реакција 7.). Најпознатији пример је трансформација инсектицида О-арил фосфотионата где се мења О-алкил група

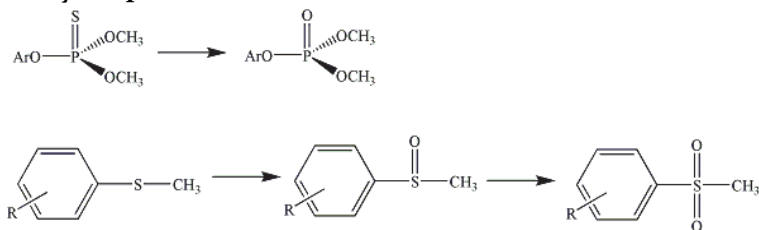
(обично метил) сумповим атомом и добија P=S (реакција 8. и реакција 9a).

Други процес је уређење у молекулу амида и карбамаата где кетил радикал који је добијен услед цепања N-C(=O) везе углавном прелази у *o*- или *p*- позицију

фенил прстена (реакција 9б). Формирање нове везе се обично јавља код оргонохлорних циклодиенских инсектицида у реакцији интрамолекуларске циклизације (реакција 10.) [4].



8. Оксидација атома сумпора

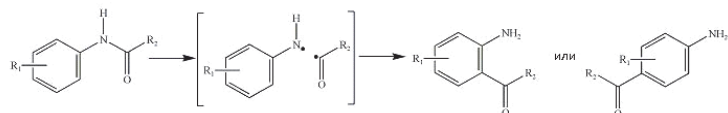


9. Премештање

а)

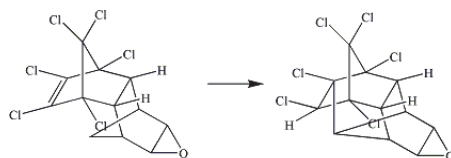


б)

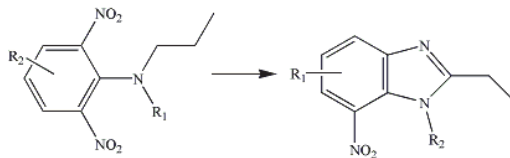


10. Циклизација

а)

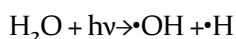


б)



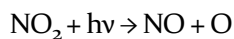
Индиректна фотолитизација

Светлост може изазвати фотолитизацију (раскидање хемијских веза) неких молекула у ваздуху па онда они ступају у реакцију са пестицидима. Најчешће су то следећи молекули O_3 , NO_2 , $\bullet OH$ и O_2 . Следећа реакција показује како реагује молекул воде када се изложи Сунчевом зрачењу.

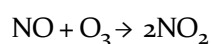
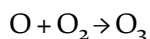


У овом случају долази до стварања слободних радикала који су нестабилни и уколико се довољно њих формира, реагују брзо са молекулима пестицида и на тај начин утичу на њихову деградацију.

Када се молекул азот(IV)-оксида изложи дејству Сунчевог зрачења, у области таласне дужине око 420 nm дешава се следећа реакција:



Настали атом кисеоника у атмосфери реагује са молекулом кисеоника и добија се озон који може да реагује са насталим азот(II)-оксидом и да се поново формира азот(IV)-оксид.

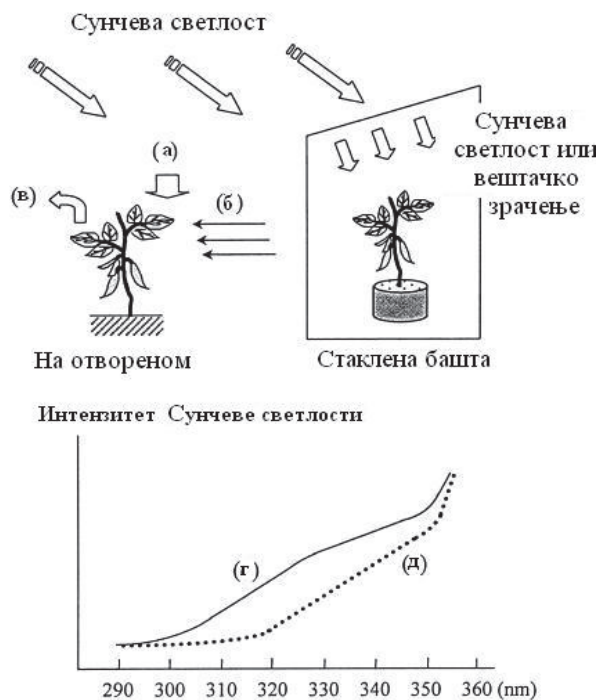


Ове оксидујуће компоненте реагују са молекулима пестицида и индиректним путем доприносе разградњи [5].

Фактори који утичу на процес фотолитизације у атмосфери

Спектрално зрачење које потиче од Сунца важан је параметар за ефекат фотолитизације, јер уколико је биљка заштићена и налази се у стакленој башти, стакло апсорбује значајну количину светлости у UV-B области (280-300 nm) што смањује фотолитизацију пестицида (слика 2.) [6]. Као пример, научници су испитивали фотолитизацију пестицида С-фенилотиона на парадајзу у стакленику који је направљен од кварца и борсиликантног стакла. Истраживања су показала да је интензитет Сунчеве светлости значајно смањен па није детектован ниједан од продуката фотолитизације овог пестицида [7]. Листови биљака су прекривени заштитним слојем који има улогу да смањује губитак воде и штити биљку од инфекција разних патогена. Овај заштитни слој се назива кутикула и састоји се од слојева пектина, кутина и епикутуларног воска на површини листа. Како су већина пестицида хидрофобни молекули, а површина листа биљке прекривена епикутуларним воском који је такође хидрофобан, на овај начин се молекули пестицида акумулирају на површини листа што повољно утиче на њихову фотолитизацију.

Ветар такође има повољан утицај на фотолитизацију пестицида, јер уколико се ови молекули налазе на мрачним местима, одатле се могу пренети на нека друга, која су озрачена Сунчевим зрацима, што погодује фотолитизацији. Уколико су молекули пестицида лако испарљивог карактера они могу лако да доспеју у ваздух па овај процес помаже њиховој фотолитизацији (слика 2.).



Слика 2. Различити параметри који утичу на процес фотодеградације пестицида на биљкама: а) таложeње, б) ветар, в) испаравање, г) интензитет Сунчеве светлости на отвореном, д) интензитет Сунчеве светлости у стакленој башти [6]

У подне, када Сунчеви зраци падају под правим углом, светлост од Сунца путује најкраће до Земље, тада озон као филтер задржава мање фотона и дешавају се фотохемијске реакције, док у раним јутарњим сатима и увече, када је Сунце под одређеним углом, светлост више путује кроз атмосферу и фотони су мање пропуштени.

Облаци такође имају утицај јер спречавају светлост да реагује са молекулима и да се формирају слободни радикали па је тада успорен процес деградације.

Повећана концентрација озона и неких слободних радикала може да убрза процес деградације.

У води степен деградације молекула пестицида опада са дубином услед смањења енергије зрачења која потиче од Сунца.

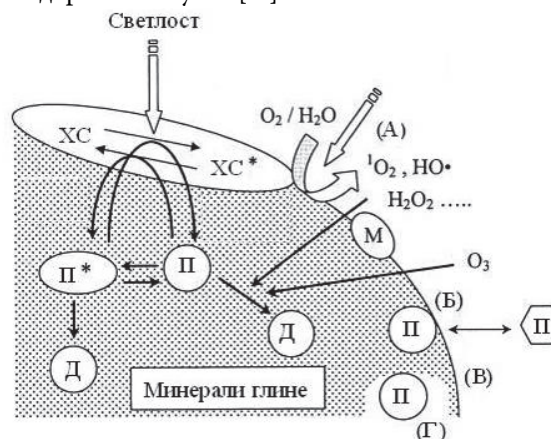
Неке хемикалије се не могу разложити под утицајем светлости, јер се енергија која је потребна за њихову разградњу, не налази у области спектра Сунчевог зрачења који допире до Земље. Али када се такав молекул апсорбује на чврсту површину честице из ваздуха, овај процес може утицати на промену веза унутар молекула а самим тим и на промену апсорбанце која је потребна за разградњу овог молекула. Међутим, честице из ваздуха могу имати негативан ефекат, када одбијају светлост у ваздуху па спречавају фотоне да дођу до молекула, а тако се смањује количина пестицида која се разлаже директним методом фотолизе.

Фактори који утичу на процес фотолизе у земљишту

Постоји пуно фактора који погодују фотолизу пестицида у земљишту, као и оних који ограничавају овај процес. Први негативни фактор би био смањење интензитета Сунчеве светлости која продире кроз површину земљишта и ишчезава на одређеној дубини. Постоји податак да дубина на којој се потпуно смањује интензитет Сунчевог зрачења износи 0,5 cm, мада се овај податак доста разликује зависно од структуре самог земљишта. Научници су мерили температуру земљишта на дубини од 0-2 cm и закључили да она варира до скоро 40 °C у подне и да се смањује током ноћи. Ова промена температуре утиче и на промену влажности земљишта, па већа влажност погодује активности и развоју микроорганизама који такође имају добар утицај у разградњи пестицида [8].

Пестициди се задржавају у земљишту у различитим степенима, зависно од интеракција пестицида са земљиштом, као и од самих особина пестицида. Најутичајнија је органска материја која се налази у земљишту, јер, уколико је њено присуство веће, већа је и адсорпција пестицида. Значајна је и рН вредност земљишта, јер се адсорпција повећава са смањењем рН за јонизабилне пестициде (нпр. атразин, 2,4-Т, пихлорам) [9].

Глина је друга важна компонента која може да утиче на фотодеградацију пестицида. Постоји линеаран однос између времена полуживота пестицида и процента глине у земљишту што је приказано на примеру пестицида металаксиле. Како ово једињење нема могућност апсорпције у UV области <290 nm, његова количина се ипак смањује са повећањем процената глине, што се објашњава уметањем молекула пестицида унутар кристалне решетке глине и раскидањем веза унутар молекула пестицида, па се фотолиза онда дешава индиректним путем [10].



Слика 3. Фотореакције на површини земљишта: А) фотоиндуковане реакције, Б) адсорпција-десорпција, В) спектралне промене, Г) унутрашњи филтер ефекат. П-пестицид, Д-деградациони производ, XC-хуминске супстанце, М-метал (оксид, хидроксид итд.) [12]

Гвожђе је један од најважнијих прелазних метала у земљишту и сматра се да оно игра велику улогу у фотоиндукованим редокс реакцијама, у којима се стварају реактивне врсте као што је •ОН. Већина Fe^{3+} и Fe^{2+} јона су пронађени у октаедарским структурама глина [11].

Површина глина је обично покривена хуминским супстанцама формирањем глина-метал-органичних комплекса које су узрок разних фотохемијских реакција, што је приказано на слици 3. Хуминске супстанце реагују са молекулом O_2 и стварају се веома реактивне компоненте 1O_2 , •ОН, супероксидни анјон O_2^{2-} и пероксид радикали, што указује на повољну фотолизу пестицида [12].

ФОТОКАТАЛИЗА ПЕСТИЦИДА

Фотокатализа представља убрзану (катализовану) фотореакцију. Реакција креће активирањем центара фотокатализатора помоћу светлосног зрачења (углавном је у питању UV област зрачења) и стварањем активних врста. Те активне врсте ће даље учествовати у извођењу реакције са једињењем које се налази у реакционој смеси (у нашем случају, са пестицидима).

Постоје две врсте фотокатализе: хомогена и хетерогена. Код хомогене катализе су катализатор и реагент (загађујућа супстанца) у истој фази, док код хетерогене имамо реагенте који су у једној фази и катализатор који је у другој фази (нпр. течна и чврста). Под појмом хетерогена фотокатализа, углавном се мисли на полупроводничку фотокатализу јер се она као метода најчешће користи [13,14,15].

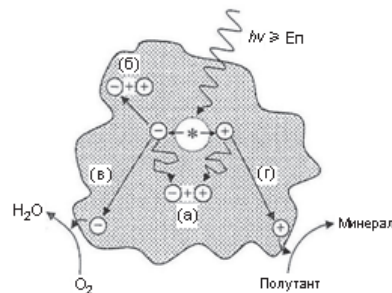
Полупроводничка фотокатализа

Код ове врсте фотокатализе, материјал који апсорбује светлост је полупроводник (нпр. TiO_2 – титан(IV)-оксид), јер такви материјали имају одговарајућу структуру. Полупроводници имају највиши ниво који је попуњен електронима и назива се *валентни ниво*, и најнижи ниво који је полупопуњен а зове се *проводни ниво*. Ова два нивоа раздвојена су *енергетским процепом* (E_p).

Дејством фотона, електрон може да пређе из валентне у проводну зону, и тако учествује у провођењу струје кроз материјал. Да би до тог прелаза дошло, енергија фотона мора бити већа или једнака од енергије процепа. Тако долази до стварања пара различито наелектрисаних честица: електрон-шупљина – e^-h^+ . Тај пар може да се рекомбинује (поново се споје) и ослободи топлоту – Δ , или честице одвојено могу да дођу до површине полупроводника где могу да реагују са адсорбованим врстама (нпр. са пестицидима).

На слици 4. приказани су могући процеси који се дешавају на површини, и унутар полупроводника: (а) рекомбинација у унутрашњости честице, (б) рекомбинација на површини честице, (в) редукција адсорбованог кисеоника (електронакцепторске врсте) на површини фотогенерисаним електроном до воде, и (г) оксидација неке адсорбоване загађујуће супстанце (електрондонорске врсте) до неорганичког облика, углавном

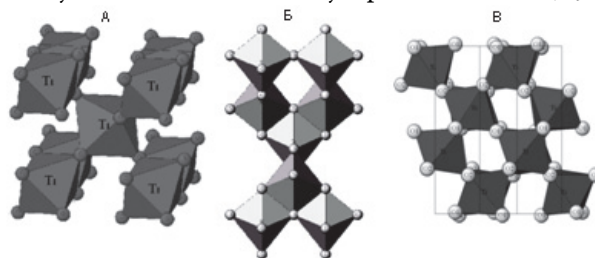
до CO_2 или H_2O или до неорганичке киселине, уколико загађујућа супстанца садржи неки хетероатом [15, 16].



Слика 4. Процеси унутар, и на честици полупроводничког катализатора.

TiO_2 као фотокатализатор

Постоје три кристалне модификације TiO_2 које се налазе у природи: анатаз (тетрагонални), рутил (тетрагонални) и брукит (орторомбични). Основна структурна јединица сва три полиморфна облика TiO_2 је деформисани октаедар, чија је структурна јединица изграђена од централног јона титанијума, који окружују шест јона кисеоника, као што је приказано на слици 5.



Слика 5. Кристалне модификације TiO_2 , А- рутил, Б-анатаз, В-брукит

На основу термодинамичких прорачуна, сматра се да је рутил најстабилнија фаза на свим температурама и притисцима од 60 кПа, док су анатаз и брукит метастабилне фазе, најстабилније на собној температури и атмосферском притиску. Обе кристалне структуре, анатаз и рутил, користе се као катализатори, али за већину реакција, анатаз ипак има већу каталитичку активност.

TiO_2 се углавном користи у облику праха (мада може и у облику танких филмова), суспендованог у воденом раствору загађујуће супстанце, који се онда излаже светлосном зрачењу [17, 18, 19].

Полупроводнички фотокатализатор би требало да буде хемијски и биолошки инертан, фотокаталитички активан, лак за производњу и употребу, и да може да се активира помоћу Сунчеве светлости, а TiO_2 најбоље испуњава ове услове. Једина мана му је то што не апсорбује зрачење у видљивом делу спектра, већ у UV делу, јер има енергију процепа од приближно 3,2 eV, што одговара UV области од око 380 nm, а то представља само 6% од укупног Сунчевог светлосног зрачења [15].

У случају разградње пестицида, углавном се и користи хетерогена фотокатализа, а као катализатор се, управо због горе наведених особина, најчешће користи TiO_2 . [20].

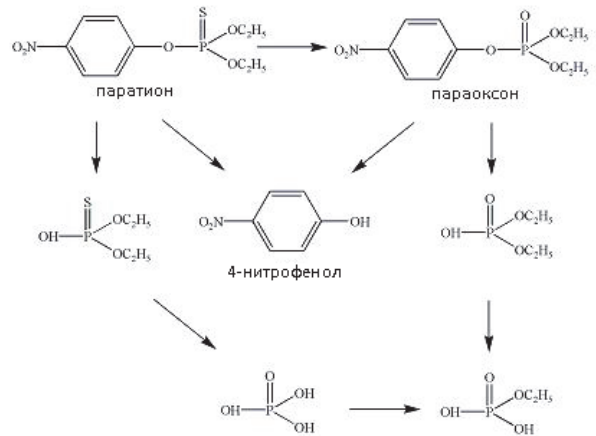
УТИЦАЈ ФОТОЛИЗЕ И ФОТОКАТАЛИЗЕ НА ПРИМЕРУ ПЕСТИЦИДА ПАРАТИОНА

Паратион (*o,o*-диетил *o*-(4-нитрофенил) фосфоротиоат) спада у групу органофосфорних пестицида који се користи за сузбијање инсеката и гриња. Због његове велике токсичности као и ризика излагања пољопривредних радника и птица, забрањена је његова примена на воћу и поврћу још 1992. год. Данас се понекад употребљава у производњи кукуруза, пшенице, памука или сунцокрета мада су многобројне светске организације забраниле његову употребу. Међутим у земљишту и води се налазе трагови овог пестицида, па је врло битно наћи ефикасну методу за његову разградњу.

Треба споменути да постоје две врсте паратиона, метил и етил паратион (који се иначе увек назива само паратион). Имајући у виду да су њихове особине скоро у потпуности идентичне, овде је описан процес фотолизе паратиона, а процес фотокатализе описан је на примеру метил паратиона.

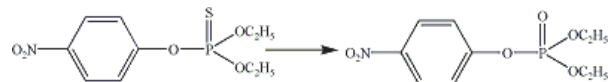
За потребе фотокаталитичке деградације метил паратиона, коришћен је катализатор на бази TiO_2 , у виду ситног праха, а као извор зрачења су употребљене две UV лампе. Током реакције, продукти разградње метил паратиона су праћени методом GC-MS, и на основу ових података, састављен је механизам фотокаталитичке разградње метил паратиона који је приказан на слици 6. [21].

Метода фотодеградације паратиона се заснива на излагању овог пестицида дејству UV зрачења. И у овом случају су продукти разградње праћени методама GC-MS и на основу добијених података предложена су два механизма разградње овог једињења. Механизам директне фотодеградације паратиона у ваздуху је приказан на слици 7. [5].



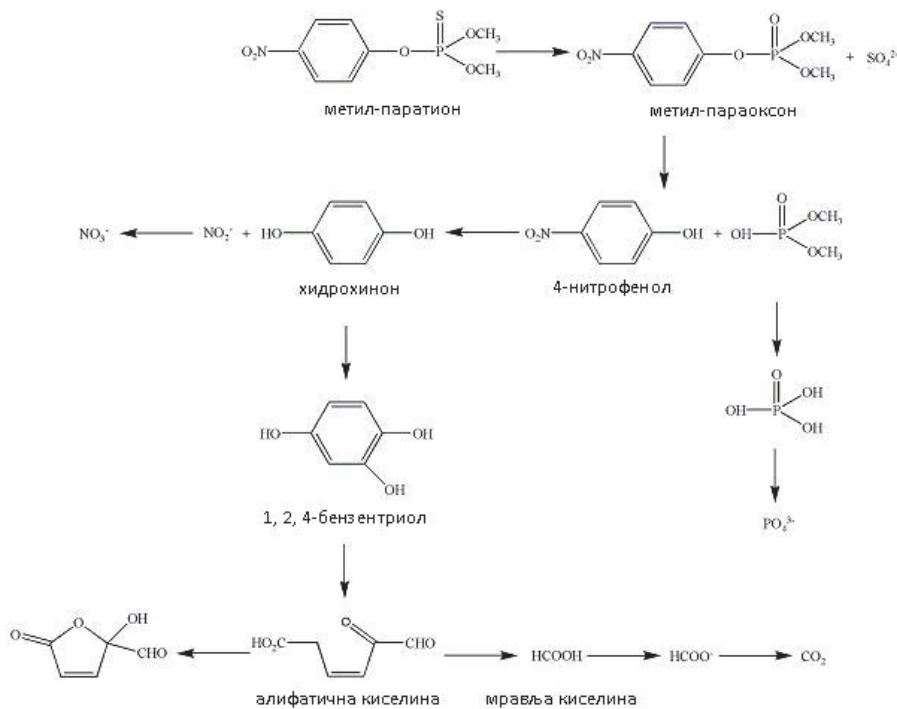
Слика 7. Механизам директне фотодеградације паратиона у ваздуху [5]

Механизам индиректне фотодеградације паратиона уз помоћ примарних OH радикала у атмосфери и ваздуху приказан је на слици 8. Хидроксирадикалска реакција омогућава разлагање паратиона до параоксона.



Слика 8. Механизам индиректне фотодеградације паратиона [5]

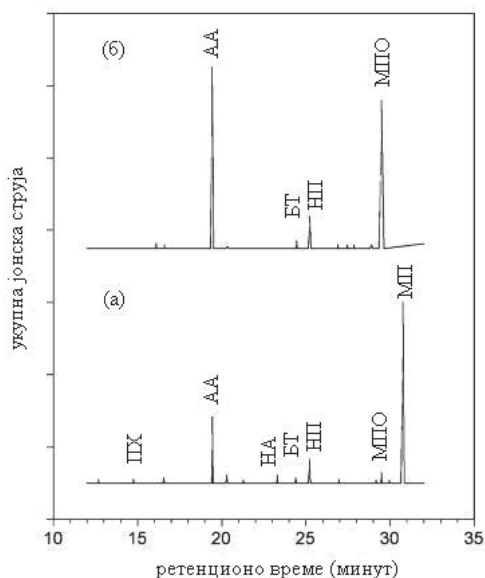
На слици 9. дата су два GC-MS спектра. На спектру **a** (доњи спектар), уочавају се пикови метил паратиона и продуката његове фотокаталитичке разградње након једног часа одвијања реакције, док се на спектру



Слика 6. Механизам фотокаталитичке разградње метил паратиона на TiO_2 [21]

δ (горњи спектар), виде пикови метил паратиона и продуката његове разградње након 3,5 часова.

На спектру а се види присуство метил паратиона (МП), метил параоксона (МПО) 4-нитрофенола (НП), 1,2,4-бензентриола (БТ), 4-нитроазола (НА), алифатичне киселине (АА), и у малим количинама хидрохинона и фенола (ПХ), док се на спектру δ види одсуство метил паратиона (МП), што значи да је његова разградња потпуна [21].



Слика 9. GC-MS спектар метил паратиона и продуката његове фотокаталитичке разградње а) након 1 часа, б) након 3,5 часова [21]

На основу добијених података и приказаних механизма фотолизе паратиона (директне и индиректне) и фотокатализе метил паратиона, види се да оба процеса имају исти почетни корак, а то је оксидација паратиона до параоксона (односно оксидација метил-паратиона до метил-параоксона). Параоксон се затим даље оксидује па се код оба процеса добијају идентични продукти. Да би се уклонио паратион у природној средини, потребно је да прође временски период од 10 дана па је основна разлика између фотолизе и фотокатализе у времену одигравања процеса али и добијања крајњих продуката, јер фотокатализа тече брже и добијају се једноставнији продукти, као што су CO_2 , PO_4^{3-} и NO_3^- , што је приказано на слици 6. Приказано испитивање показује могућност развоја метода, које могу да помогну његовом уклањању из природе, с обзиром на то да, као токсично једињење, овај пестицид представља велику претњу за очување здраве животне средине [21].

Abstract

PESTICIDES - PHOTOLYSIS AND PHOTOCATALYSIS

Tijana STAMENKOVIĆ, Marijeta PETROVIĆ, Tatjana ANĐELKOVIĆ, Aleksandra ZARUBICA, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Nis

Among all the processes of decomposition of pesticides in nature, photolysis is the most important. It takes some time for the reaction to be done, but as a result there are less toxic products than the initial component. Here is pre-

sented photolytic degradation of parathion, which has proven to be very efficient process for its removal from nature.

Photocatalysis has very important role as a process for removing pesticides from natural systems. In this case, photocatalytic degradation of methyl parathion is presented, on the TiO_2 based photocatalyst. Thanks to its exceptional characteristics, TiO_2 has proven to be very effective in degradation of methyl parathion, and ensures its complete degradation, which means that its quantity in environment is reduced, as well is its toxic effect. Therefore, photocatalysis helps to maintain a healthy environment.

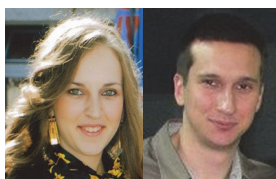
Photolytic and photocatalytic degradation processes were monitored with GC-MS technique, which proved to be very accurate and suitable for such tests.

When we compare photolysis and photocatalysis, we see that the efficiency of pesticide degradation is better with photocatalytic process, because it takes much less time for the reaction to be done. And degradation products are mostly the same, in both photolytic and photocatalytic process.

ЛИТЕРАТУРА

- Meljnikov N. N., (1974). Himija i tehnologija pesticidov, Himija, Moskva.
- Barceló D., Hennion M.C., (1997). Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, p. 3.
- Watkins D. (1974). Some implications of the photochemical decomposition of pesticides. Chem Ind 185-190.
- Toshizuki K. (2004). Rev Environ Contam. Toxicol., Photodegradation of Pesticides on Plant and Soil Surfaces, Springer-Verlag 182:1-195.
- Plimmer J., Johnson W. (1991). Pesticide Transformation Products: Fate and Significance in the Environment: Pesticide Degradation Products in the Atmosphere American Chemical Society, 275-284.
- Kleier D., (1994). Environmental effects on the photodegradation of pesticides. In: Comparing Glasshouse & Field Pesticide Performance, vol II. BCPC Monograph No. 59. The Brighton Crop Protection Council, Farnham, Surrey (UK), pp 97-109.
- Fukushima M., Fujisawa T., Katagi T., Takimoto Z., (2003). Metabolism of fenitrothion and conjugation of 3-methyl-4-nitrophenol in tomato plant (*Lycopersicon esculentum*). J. Agric Food Chem 51:5016-5023.
- Miller G., Herbert V., Miller W., (1989). Effect of sunlight on organic contaminants at the atmosphere-soil interface. In: Reactions and Movement of Organic Chemicals in Soils. Special Publication No. 622. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 99-110.
- Picó Z., Font G., Moltó J.C., Mañes J., (2000). J. Chromatogr. A 885, 251.
- Sukul P., Spittler M., (2001). Influence of biotic and abiotic factors on dissipating metalaxyl in soil. Chemosphere 45:941-947.
- Sherman D., (1989). Crystal chemistry, electronic structures, and spectra of Fe sites in clay minerals: application to photochemistry and electron transport. In: Coyne LM, Blake DF, McKeever SWS (eds) Spectroscopic Characterization of Minerals and Their Surfaces. ACS Symposium Series 415. American Chemical Society, Washington, DC, pp 284-309.
- Zepp R.G., Baughman G.L., Schlotyhauer P.F., (1981). Comparison of photochemical behavior of various humic substances in water: I. Sunlight induced reactions of aquatic pollutants photosensitized by humic substances. Chemosphere 10:109-117.
- Wu C.H., Chang C.L. (2006). Decolorization of Reactive Red 2 by advanced oxidation processes: Comparative studies of homogeneous and heterogeneous systems. Journal of hazardous materials 128 (2-3): 265-72.

14. Linsebigler A.L., Lu G. and Yates J.T. (1995). Photocatalysis on TiO₂ Surfaces: Principles, Mechanisms and Selected Results. *Chemical Reviews* 95 (3): 735.
15. Stamenković T. (2012). Fotokatalitička razgradnja metilen plavog na katalizatoru na bazi TiO₂, Master rad, Prirodno-matematički fakultet, Niš.
16. Serpone N. and Emeline A.V. (2002). Suggested terms and definitions in photocatalysis and photocatalysis. *Int. J. Photoenerg.* 4, 91-913.
17. Carp O., Huisman C.L., Reller A. (2004). Induced reactivity of titanium dioxide. *Progress in Solid State Chemistry*, 32: 33-177.
18. Petrović M. (2012). Uticaj različitih parametara na fotokatalitičku razgradnju metilen plave boje upotrebom TiO₂ katalizatora na tankom filmu, Master rad, Prirodno-matematički fakultet, Niš.
19. Tanaka K., Capule M.F.V., Hisanaga T. (1991). Effect of crystallinity of TiO₂ on its photocatalytic action. *Chemical Physics Letters*, 187: 73-76.
20. Kiš E. E., Bošković G. C., Kiš F. E. (2011). Društveni i ekonomski značaj katalize, Tehnološki fakultet u Novom Sadu, Hemijski pregled, vol. 52, br. 5, str. 122-129
21. Moctezuma E., Lezva E., Palestino G., de Lasa H. (2007). Photocatalytic degradation of methyl parathion: Reaction pathways and intermediate reaction products, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 186 71-84.



Рада ЈОВАНОВИЋ и Иван МРКИЋ, студенти биохемије, Хемијски факултет, Универзитет у Београду
е-пошта: rada10.16@gmail.com, mrkicivan@gmail.com

КСАНТОФИЛИ - СТРУКТУРЕ И УЛОГЕ

Ксантофили су изопреноиди са гуњачким изолиненским ланцем који садржи до 13 коњугованих двоструких веза и функционалну групу са кисеоником. На оба краја молекула ксантофила налази се хрсин.

Ксантофили су природни пигменти који се налазе у биљкама, дају боју плодова и имају улогу у заштити фотосинтетичког апарата.

У даљем тексту објашњена је биосинтеза и структура ксантофила, као и њихова улога у биљном и животињском свету са акцентом на њихово антиоксидативно и фотопротективно дејство.

УВОД

Ксантофили су жути, наранџасти или црвени природни пигменти. Заједно са антоцијанима и хлорофилом чине боју многих биљних плодова, цвећа и лишћа [1,2]. Људи и животиње их уносе храном, па ксантофили дају боју жуманцету јаја, перју, очној мрљи и значајни су пигменти крвне плазме [3].

По хемијској структури ксантофили су тетратерпени, а по хемијским и физичким особинама припадају липидима. Прецизније, спадају у тетратерпеноидне органске пигменте каротеноиде који садрже кисеоник у облику хидрокси, оксо или епокси групе.

Биосинтеза ксантофила одвија се у пластидима, а њихово присуство у биљци је приметно у јесењем периоду када је количина хлорофила смањена због хладноће. Најбитнија улога ксантофила је учествовање у фотосинтези у виду помоћних пигмената [4].

Каротеноиди помажу у фотосинтези тако што:

- Апсорбују светлост на таласним дужинама на којима хлорофил не апсорбује и на тај начин чине фотосинтезу ефикаснијим процесом [4].
- Апсорбовану светлост транспортују до хлорофила у реакционом центру фотосистема I, односно II,

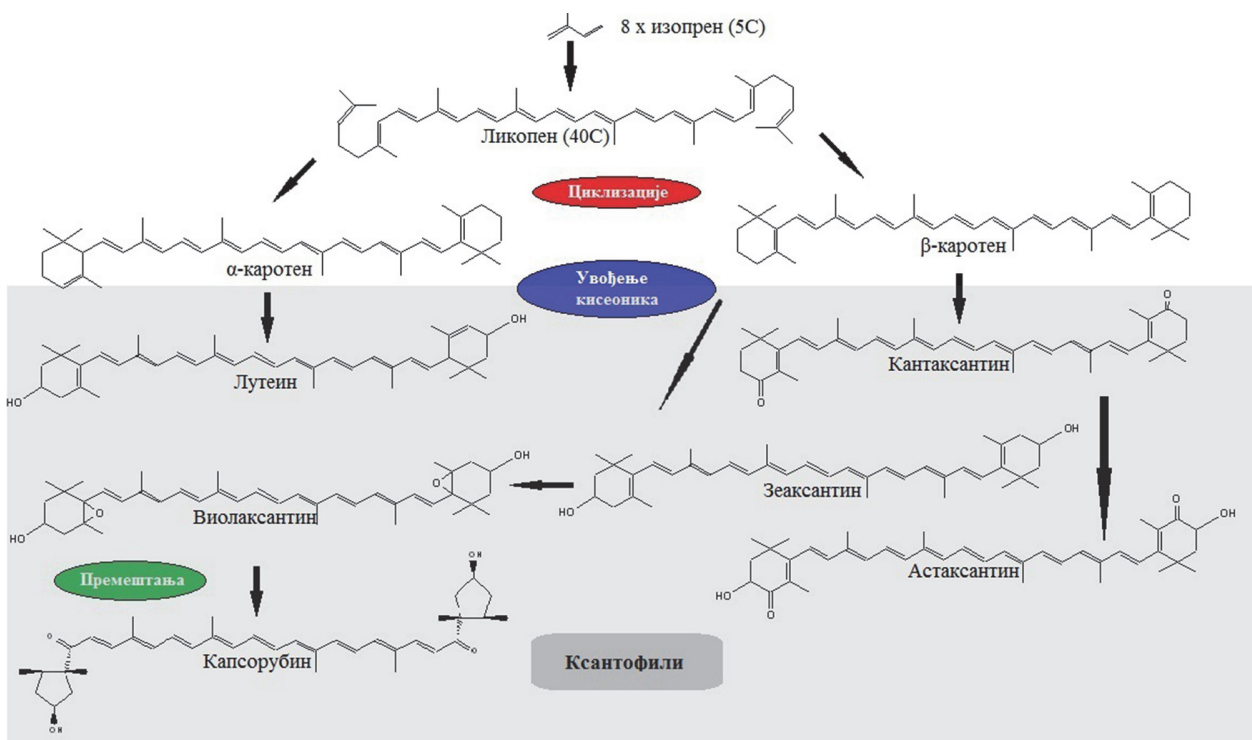
- Када зрачење превазилази капацитет фотосинтетског апарата, ксантофили апсорбују вишак енергије и емитују је у облику топлоте [5,6].
- Преузимају вишак енергије триплетног хлорофила, који настаје током високог интензитета Сунчевог зрачења.

БИОСИНТЕЗА

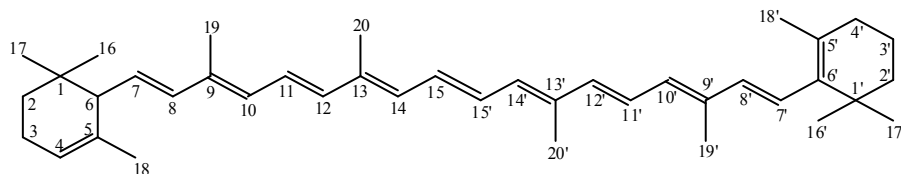
Сви каротеноиди се добијају из α- и β-каротена. Прво се синтетише ликопен из 8 изопренских јединица (слика 1). Спајањем 4 изопренске јединице формира се геранил-гераниолфосфат. Спајањем „реп-реп“ два молекула геранил-гераниолфосфата настаје фитоеен, засићенији прекурсор ликопена. Из фитоеена се ензимском дехидрогенизацијом добија ликопен. Циклизацијом ликопена настају каротени, који се увођењем кисеоника трансформишу у ксантофиле [1,7].

СТРУКТУРА КСАНТОФИЛА

Ксантофили су органска једињења средње поларности, растварају се у алкохолима, као и у смешама петролетра и алкохола. Њихова поларност потиче од присуства кисеоничних група. На супротним крајевима молекула ксантофила налазе се два прстена, који могу бити петочлани или шесточлани. Средњи део молекула чини алифатични низ коњугованих двоструких веза [1]. Коњуговане везе омогућавају апсорпцију у видљивом делу спектра услед чега су ова једињења обојена. Такође, коњуговане двоструке везе омогућавају да ксантофили имају својства антиоксиданаса [7]. Двоструке везе ксантофила су углавном у транс положају, али постоје и цис-облици. Основна структура ксантофила је β,β-каротен (слика 2) и њихова имена се изводе на основу β,β-каротена [1].



Слика 1. Биосинтеза ксантофила



Слика 2. Структура β,β -каротена

УЛОГА

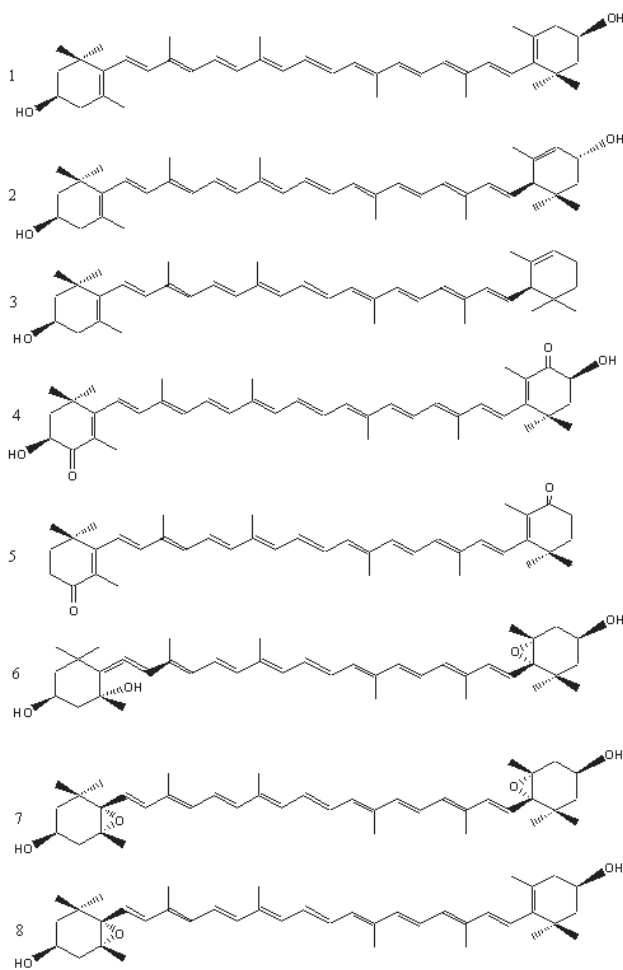
Ефикасна фотосинтеза је од основног значаја за живот биљке. Међутим, када је фотосинтетички апарат изложен јакој светлости, може доћи до његове деструкције. У том циљу биљке су развиле механизме који је штите од фотодеструкције и један од тих механизма је циклус ксантофила [6].

У вишим биљкама постоје три каротеноидна пигмента који су активни у ксантофилном циклусу: виолаксантин (5,6:5',6'-диепокси-5,5',6,6'-тетрахидро- β -каротен-3,3'-диола), антераксантин (3R,3'S,5'R,6'S)-5,6'-дихидро-5,6'-епокси- β,β -каротен-3,3'-диола и зеаксантин (β,β -каротен-3,3'-диола). Током светлосног оптерећења и при сниженом рН виолаксантин се деепоксидацијом трансформише у антераксантин и зеаксантин који служе као фото-заштитни пигменти. Зеаксантин је у стању да преузме енергију са триплетног хлорофила (форма хлорофила који настаје када је транспортни ланац електрона у потпуности редукован, тј. при јаком Сунчевом зрачењу) и да је емитује као топлоту. Овим процесом се спречава настајање синглетног кисеоника који је јако реактиван и може изреаговати са околним липидима, односно протеинима. Деепоксидацију ката-

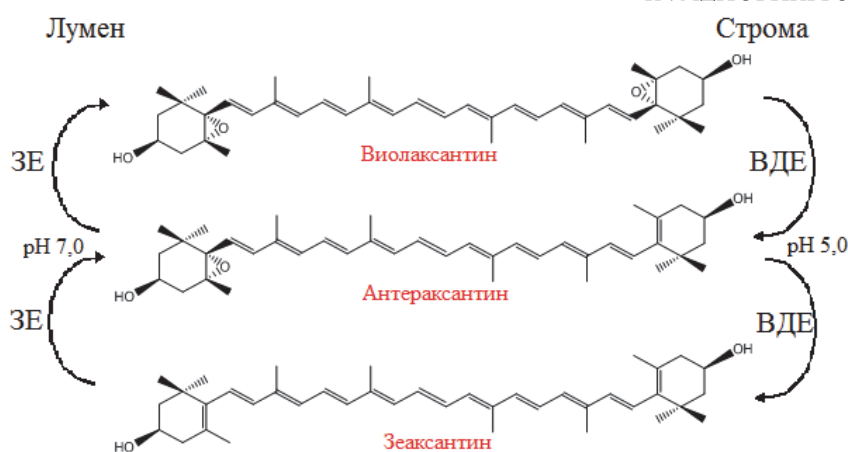
лизује ензим *виолаксантин-деепоксидаза*. Промене у ксантофилском циклусу дешавају се у опсегу од пар минута (деепоксидација) до пар сати (епоксидација). Под додатним стресом епоксидација може трајати и данима. Повратну реакцију тј. претварање зеаксантина у виолаксантин катализује ензим *зеаксантин-епоксидаза* [6].

Мутиране биљке које не могу да синтетишу ксантофиле су изузетно осетљиве на јако Сунчево зрачење и оне тешко опстају, из чега је значај ксантофила очигледан [8].

Катаракта и дегенерација жуте мрље, водећи узроци слепила код старијих особа, проузроковани су слободним радикалима који настају под утицајем плаве светлости. За лутеин (β,ϵ -каротен-3,3'-диола) и зеаксантин који су присутни у ретини и жутој мрљи (одатле потиче и карактеристична боја исте) показано је да штите од катаракте и дегенерације жуте мрље [9]. Осим тога, лутеин има антиканцерогено дејство, јача имунитет и смањује ризик од кардиоваскуларних болести. Лутеин од ког потиче жута боја жуманцета кокошијих јаја, и зеаксантин се користе као заштита од Сунца у облику таблета [6].



Слика 3. Структуре ксантофила: зеаксантин, (1), лутеин (2), криптоксантин (3), астаксантин (4), кантаксантин (5), неоксантин (6), виолаксантин (7), антераксантин (8)



Слика 4. Ксантофилски циклус, ZE- зеаксантин-ероксидаза, VDE- виолаксантин-деероксидаза

Ксантофил β -криптоксантин ((3R)- β , β -каротен-3-ол) је провитамин А и антиоксиданс. Он смањује ризик од рака плућа, простате и дебелог црева, као и реуматоидног артритиса, што је потврђено студијама на животињама [11].

Астаксантин (3,3'-дихидрокси- β -каротен-4,4'-дион) има јако антиинфламаторно дејство и снажан је антиоксиданс. Има велики потенцијал у лечењу кардиоваскуларних болести. Досадашња клиничка испитивања показала су смањење биомаркера оксидативног стреса и запаљенских процеса, као и изостанак нежељених ефеката приликом узимања астаксантина [12, 13, 14]. Осим тога, ово једињење је један од адитива који се користи за исхрану животиња јер побољшава боју и укус меса у исхрани [15].

Кантаксантин (β , β -каротен-4,4'-дион) је дикетокетокетонид који делује као јак антиоксиданс. Штити мембране ћелија од пероксидације и има антиканцерогено дејство. Студије на животињама показују да штити и од рака коже. Користи се као адитив у исхрани и козметичким препаратима. Може имати и токсично дејство. Истраживања показују да се кантаксантин може нагомилати у ретини и довести до ретинопатија [16].

Виолаксантин, неоксантин и антераксантин ((3R,3'S,5'R,6'S)-5',6'-дихидро-5',6'-епокси- β , β -каротен-3,3'-диол) су ксантофили често присутни у дијеталној исхрани богатој антиоксидансима. Недавно је показано да неоксантин штити од рака простате и хемијски изазваног рака код животиња [15].

ЗАКЉУЧАК

На основу досадашњих истраживања, може се закључити да ксантофили имају изузетно важну улогу у природи, пре свега у заштити фотосинтетичког апарата од фотодеструкције. Осим тога, као антиоксиданси помажу у превентиви рака, јачају имунитет и имају потенцијал у суплементацији при лечењу кардиоваскуларних болести. Иако механизми дејства ксантофила још увек нису довољно истражени, досадашња знања прикупљена о њима показују да од њих можемо имати вишеструку корист.

Abstract

STRUCTURES AND ROLES

Rada JOVANOVIĆ and Ivan MRKIĆ

Xanthophylls are isoprenoid oxygen compounds with long polyene chain containing up to 13 conjugated double bonds. At both ends of a xanthophyll molecule is a ring. Xanthophylls are natural pigments produced in plants, whose role is to protect the photosynthetic apparatus, and which represent the color of the fruit. Also, xanthophylls are provitamins A. In following text are explained the structure and biosynthesis of xanthophylls, their role in plant and animal kingdom with focus on their antioxidant and fotoprotective effect.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бојана Грујић-Ињац, Стеван Лајшић. Хемија природних производа, Филозофски факултет, Универзитет у Нишу, Ниш 1983.

- Александра М. Јеличић, Љубинка Б. Рајаковић. Антоцијанини – Биљни пигменти. Хемијски преглед, 70 (3) (2005) 79-88.
- Prakash Bhosale, Paul S. Bernstein, Microbial xanthophylls, Appl Microbiol Biotechnol (2005), 68: 445-455
- Nelson L. David, Cox M. Michael. Lehninger, Principles of Biochemistry, W.H. Freeman and Company, New York, 2005.
- Christian Wilhelm, Dirk Selmar. Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. Journal of Plant Physiology 168 (2011) 79-87
- Barbara Demming-Adams and William W. Adams. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. Trends in plant science 1 (1996) 21-26.
- Namitha K.K. and Negi P.S. Chemistry and Biotechnology of carotenoids. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 50 (2010) 728-760.
- Krishna K. Niyogi, Olle Bjorkman and Arthur R. Grossman. The roles of specific xanthophylls in photoprotection. Plant Biology 94 (1997) 14162-14167.
- Le Ma and Xiao-Ming Lin. Effects of lutein and zeaxanthin on aspects of eye health. J Sci Food Agric 90 (2010) 2-12.
- Бојан Вујић. Шта даје боју јајету? Хемијски преглед, 2 (2008) 36-39.
- Henry Jackson, Cristi L. Braun, Hansgeorg Ernst. The Chemistry of Novel Xanthophyll Carotenoids, The American Journal of Cardiology (2008), Vol 101, Issue 10, 50-57.
- Fredric J. Pashkow, David G. Watumull, Charles L. Campbell, Astaxanthin: A Novel Potential Treatment for Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Disease, The American Journal of Cardiology (2008), Vol 101, Issue 10, 58-68.
- Robert G. Fassett and Jeff S. Coombes. Astaxanthin: A Potential Therapeutic Agent in Cardiovascular Disease. Marine Drugs 9 (2011) 447-465.
- Robert G. Fassett and Jeff S. Coombes. Astaxanthin, oxidative stress, inflammation and cardiovascular disease. Future Cardiology 5(4) (2009) 333-342.
- D.E. Breithaupt, Modern application of xanthophylls in animal feeding – a review (2007), Trends in Food Science & Technology, Volume 18, Issue 10, 501-505.
- Agnieszka Sujak. Interactions between Canthaxanthin and Lipid Membranes-Possible Mechanisms of Canthaxanthin Toxicity. Cellular & Molecular Biology Letters 14 (2009) 395-410.



ВЕСТИ из ШКОЛЕ ВЕСТИ за ШКОЛЕ



Бојан ПОЉАК, студент студијског програма ПРОФЕСОР ХЕМИЈЕ, Универзитет у Београду Хемијски факултет, bojanpoljak@yahoo.com

СЦЕНАРИО ЗА ЧАС: МАСТИ И УЉА

Разред: осми разред основне школе

Тип часа: обрада новог градива

Циљеви часа:

- Оспособљеност ученика да разликују масти и уља на основу њиховог хемијског састава
- Оспособљеност ученика да предвиде физичка и хемијска својства масти и уља на основу њиховог хемијског састава

Потребан материјал за час:

- Табла, креда
- Радни лист
- Супстанце (маст, уље, стеаринска киселина, олеинска киселина, n-хексан, сапун, натријум-хидроксид, натријум-хлорид, етанол, дестилована вода)
- лабораторијски прибор и посуђе (чаше, епрувете, штапић, газа, шпиритусна лампа)

Корак 1. Формирање група и обнављање прејиходно наученој градива. Ученици формирају шест група тако што се ученици из две клупе окрену једни ка другима. Сваки ученик у групи добија радни лист са питањима за обнављање градива у вези с реакцијом адидије водо-

ника на алкене, препознавањем структурне формуле полихидроксилног алкохола глицерола и о реакцији естерификације (радни лист бр.1 у прилогу). На нивоу групе ученици се могу договарати и једни другима објашњавати одговоре, али је важно да свако пише одговор. Када одговоре на питања, по један ученик из сваке групе на табли пише одговор на једном задатку, а остали проверавају своје одговоре.

Корак 2. Демонстрирање оледа и индивидуално иоуњавање радној листи. Ученици се врате на места пре формирања група. Наставник показује маст и уље, а ученици записују у радном листу какво је агрегатно стање масти и уља на собној температури. Затим наставник показује стеаринску и олеинску киселину, а ученици записују у радном листу какво је агрегатно стање засићене, односно незасићене масне киселине на собној температури. Након тога наставник демонстрира оглед – испитивање растворљивости уља и масти у води и неполарном растварачу (n-хексану). Сваки ученик записује запажања у радни лист. Наставник показује сапун направљен у школској учионици и најављује оглед у коме ће од масти добити сапун. Током

рада објашњава шта ради: Раствара 5 g NaOH у 15 cm³ воде и додаје 15 cm³ етанола. У чашу од 100 cm³ сипа 26 g NaCl и 75 cm³ дестиловане воде. У чашу од 250 cm³ сипа 10 cm³ растопљене масти и постепено додаје раствор NaOH уз стално мешање и загревање. Добијену смешу загрева све док не престане да пени. Када добијена смеша престане да пени прекида загревање, додаје раствор NaCl и меша. Када се смеша охлади, цеди кроз газу и испира дестилованом водом. Поступак прављења сапуна је описан и у радном листу тако да ученици могу да прате рад наставника.

Корак 3. Одговарање на питања у радном листу и извештавање групе. Након изведених огледа ученици се поново окрећу једни ка другима и формирају групе

као на почетку часа. Наставник дели ученицима радни лист бр. 2 (у прилогу) са питањима на која они одговарају на основу информација у радном листу и онога што су уочили током демонстрирања огледа. Ученици имају пет до шест минута да одговоре на питања, а затим свака група саопштава одговоре које наставник записује на табли и проверава да ли су све групе дошле до истих одговора. Изузетак је одговор на прво питање у огледу бр. 3 које би један ученик из неке од група написао на табли, а остали би проверили своје одговоре. На крају наставник објашњава ученицима зашто је било потребно да се подсети реакције адисије водоника на двоструку везу и да се тај поступак примењује у индустријском добијању биљних масти из уља.

ПРИЛОГ:

Изглед табле приликом извештавања група.

	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група	
Масти су у	чврстом	чврстом	чврстом	чврстом	чврстом	чврстом	агрегатном стању
садрже већи проценат	засићених	засићених	засићених	засићених	засићених	засићених	масних киселина
Уља су у	течном	течном	течном	течном	течном	течном	агрегатном стању
садрже већи проценат	незасићених	незасићених	незасићених	незасићених	незасићених	незасићених	масних киселина

Вода је	поларан	поларан	поларан	поларан	поларан	поларан	растварач
Велики број	неполарних	неполарних	неполарних	неполарних	неполарних	неполарних	ковалентних веза постоји у молекулу триацилглицерола
Масти и уља се не растварају у	поларним	поларним	поларним	поларним	поларним	поларним	растварачима
Масти и уља се растварају у	неполарним	неполарним	неполарним	неполарним	неполарним	неполарним	растварачима

Сапуни су соли виших масних киселина	ДА	ДА	ДА	ДА	ДА	ДА
--------------------------------------	----	----	----	----	----	----

Радни лист бр. 1

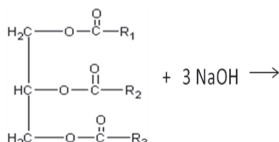
Обнављање
<p>1. Довршите следеће једначине хемијских реакција:</p> $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3 + \text{H}_2 \longrightarrow$ $\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3 + \text{H}_2 \longrightarrow$
<p>2. Заокружите слово које одговара формули трохидроксилног алкохола.</p> <p>а) $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ б) $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HC}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \end{array}$ в) $\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$</p> <p>Напишите тривијални назив тог трохидроксилног алкохола и назив према IUPAC номенклатури.</p> <p>Тривијални назив: _____ Назив према IUPAC номенклатури: _____</p>

Оглед бр.2

1. Заокружите тачан одговор. Вода је *поларан* / *неполаран* растварач.
2. Заокружите тачан одговор. У наведеном примеру молекула триацилглицерола постоји велики број *поларних* / *неполарних* ковалентних веза између атома угљеника.
3. На основу запажања у току извођења огледа и одговора на питања бр. 1 и 2 закључујете да се масти и уља **не растварају** у _____ растварачима, а **растварају** у _____ растварачима.

Оглед бр.3

1. Довршите једначину хемијске реакције



На основу тврдње да сапуни настају у реакцији триацилглицерола са хидроксидима алкалних метала, одговорите на друго питање.

2. Сапуни су соли виших масних киселина. ДА/НЕ

Abstract

FATS AND OILS

Bojan POLJAK

In this paper the elaboration of the lesson **Fats and oils** is presented. The teaching/learning methods involve individual and group work of students based on the experiments that are demonstrated by teacher.

49. РЕПУБЛИЧКО ТАКМИЧЕЊЕ ИЗ ХЕМИЈЕ ЗА УЧЕНИКЕ ОСНОВНИХ ШКОЛА

Овогодишње, 49. по реду, РЕПУБЛИЧКО такмичење из хемије за ученике основних школа, у организацији Српског хемијског друштва (СХД) и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, одржано је 11. и 12. маја 2013. године у Краљеву, у просторијама основне школе "Светозар Марковић". Републичка комисија је радила у саставу: др Милан Николић (председник), др Милош Милчић (заменик председника), др Рада Баошић (секретар СХД-а), др Снежана Мандић, др Тамара Тодоровић, др Наталија Половић, мр Биљана Томашевић, Радојка Ђурђевић, Александар Савић и Игор Матијашевић, уз драгоцену помоћ Лидије Живановић. Свечано отварање такмичења уприличено је у просторијама Краљевачког позоришта, уз богат културно-уметнички програм у извођењу ученика школе домаћина и присуство представника локалне самоуправе и школске

управе. Додели награда најбоље пласираним такмичарима присуствовао је проф. др Живослав Тешић, председник СХД-а. Све похвале за одличну организацију такмичења иду колективу школе домаћина, на челу са директорком Драгицом Спајић и наставником хемије Љиљаном Божовић.

У категорији "Тест и експериментална вежба" учествовала су 73 ученика VII разреда и 54 ученика VIII разреда. У категорији "Тест и истраживачки рад" учествовало је 28 ученика VII и VIII разреда. Одлични резултати постигнути су у све три такмичарске категорије. Наводимо овде листе награђених ученика, уз имена њихових наставника, као и називе основних школа и места у којима се оне налазе. Резултате такмичења, као и комплетан стручни материјал, можете наћи на сајту такмичења: www.mojahemija.org.

VII РАЗРЕД - ТЕСТ И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ВЕЖБА

Пласман	Ученик	Основна школа	Место	Наставник	Ранг
1. место	Лука Обрадовић	Ђеле кула	Ниш	Катица Николић	I
2. место	Никола Савић	Петар Кочић	Земун	Борка Панајотовић	I
3. место	Николај Великинац	Учитељ Таса	Ниш	Мирослава Шурдиловић	I
4. место	Ана Марјановић	Стеван Сремац	Београд	Даница Баца	I
5. место	Лидија Марковић	Радоје Домановић	Врање	Љиљана Стевановић	I
6. место	Илија Анастасијевић	Др Јован Цвијић	Смедерево	Драгана Пириватрић	I
7. место	Марија Димитријевић	Прва о.ш. краља Петра II	Ужице	Милка Удовичић	II
8. место	Анастасија Димитријевић	Вук Караџић	Врање	Зорица Коловић	II
9. место	Филип Матић	Прва обреновачка о.ш.	Обреновац	Маријана Новитовић	II
10. место	Андреј Ковачевић	Алекса Дејовић	Севојно	Мирјана Којадиновић	II
11. место	Вања Обрадовић	Вук Караџић	Београд	Љиљана Грковић	II
12. место	Магдалена Јовићевић	Сретен Младеновић Мика	Ниш	Татјана Станковић	II
13. место	Дамјан Чубраковић	Математичка гимназија	Београд	Јован Драгел	II
13. место	Предраг Цветковић	Ђура Јакшић	Јелашница	Владана Митић	II

15. место	Никола Илић	Јосиф Панчић	Београд	Миомир Ранђеловић	II
16. место	Момчило Топаловић	Краљ Петар I	Београд	Слободанка Динић	II
17. место	Матеја Милошевић	Прва крагујевачка гимназија	Крагујевац	Сања Симић	II
18. место	Богољоб Терзин	Свети Сава	Кикинда	Лела Станчић	II
18. место	Вук Бибић	Вожд Карађорђе	Ниш	Снежана Мишић	II
20. место	Катарина Галић	Војвода Степа	Београд	Драгица Кусуља	III
21. место	Михаило Сворцан	Иво Андрић	Београд	Јелена Дробњаковић	III
21. место	Срђан Радовић	Петар Петровић Његош	Врбас	Тамара Дакић	III
23. место	Матеја Филиповић	Милан Илић Чича	Аранђеловац	Миодраг Бараћ	III
23. место	Јелена Филиповић	Вук Караџић	Врање	Зорица Коловић	III
25. место	Сара Куљанин	Стари град	Ужице	Оливера Куљанин	III
26. место	Александар Тртица	Гаврило Принцип	Земун	Мирјана Марковић	III

VII РАЗРЕД - ТЕСТ И ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ВЕЖБА

Пласман	Ученик	Основна школа	Место	Наставник	Ранг
1. место	Теодора Миленковић	Прва Обреновачка о. ш.	Обреновац	Маријана Новитовић	I
2. место	Ђорђе Вучковић	Јован Курсула	Варварин	Владимир Вучковић	I
3. место	Димитрије Ђорђевић	Учитељ Таса	Ниш	Мирослава Шурдиловић	II
4. место	Вукан Миловановић	Краљ Петар I	Београд	Слободанка Динић	II
5. место	Матеја Глигоријевић	Мито Игумановић	Косјерић	Љиљана Јокимовић	II
6. место	Јована Ивановић	Јован Јовановић Змај	Панчево	Милица Чавошки	II
7. место	Никола Новаковић	Херој Срба	Осипаоница	Момчило Цветковић	II
8. место	Анамарија Николетић	Скадарлија	Београд	Слободанка Новаковић	III
9. место	Јелена Ребић	Бранко Радичевић	Београд	Смиљана Павловић	III
10. место	Ива Маркићевић	Бранислав Нушић	Београд	Весела Рађеновић	III
11. место	Павле Величковић	Љубица Радосављевић Нада	Зајечар	Оливера Виденовић	III
12. место	Андријана Минић	Стеван Дукић	Београд	Гордана Милијић	III
13. место	Стефан Стојановић	Бранко Миљковић	Ниш	Данијела Тешић	III
14. место	Андреј Кукурузар	Аврам Мразовић	Сомбор	Драгослав Кнежевић	III
15. место	Владан Михајловић	Душан Радовић	Ниш	Тања Крстић	III

VII И VIII РАЗРЕД - КАТЕГОРИЈА: ТЕСТ И ИСТРАЖИВАЧКИ РАД

Пласман	Ученик	Разред	Основна школа	Место	Наставник	Ранг
1. место	Дамјан Чубраковић	VII	Математичка гимназија	Београд	Јован Драгељ	I
2. место	Ђорђе Вучковић	VIII	Јован Курсула	Варварин	Владимир Вучковић	I
3. место	Николина Филиповић	VII	Кизур Иштван	Суботица	Славица Меденица	I
4. место	Јована Каламковић	VII	Светозар Марковић-Тоза	Нови Сад	Далиборка Радомировић	II
5. место	Љубица Миловић	VII	Математичка гимназија	Београд	Јован Драгељ	III
6. место	Алекса Којадиновић	VII	Душан Јерковић	Ужице	Брана Арсовић	III
7. место	Исидора Агатоновић	VIII	Бранко Радичевић	Београд	Смиљана Павловић	III
8. место	Милош Богдановић	VIII	Радован Ковачевић-Максим	Лебане	Весна Дојчиновић	III
9. место	Теодора Гавриловић	VIII	Краљ Петар I	Ниш	Слађана Јовић	III
10. место	Алекса Цветановић	VII	Јосиф Костић	Лесковац	Оливера Тасић	III

49. РЕПУБЛИЧКО ТАКМИЧЕЊЕ ИЗ ХЕМИЈЕ УЧЕНИКА СРЕДЊИХ ШКОЛА

У Новом Саду је од 10. до 12. маја 2013. одржано XLIX РЕПУБЛИЧКО такмичење из хемије ученика средњих школа у организацији Српског хемијског друштва, Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије и Хемијског факултета Универзитета у Београду. Домаћин је била гимназија „Исидора Секулић“. Такмичење је у потпуности успело и протекло је у пријатној атмосфери. Томе је у великој мери допринео колектив гимназије домаћина, са директорком мр Ружицом Вукобратовић, који је беспрекорно припремио такмичење. Требало би посебно истаћи уложене напоре професорки хемије Иване Рашковић, Драгане Ристић и Драгане Ликић, као и Видака Раичевића, бившег ученика гимназије „Исидора Секулић“, добитника бронзане медаље на прошлогодњој међународној хемијској олимпијади.

У категорији Тест и практични део учествовало је 49 ученика I разреда, 44 ученика II разреда и 46 ученика III и IV разреда. У категорији Тест и самостални истраживачки рад такмичило се 12 ученика I и II разреда и 2 ученика III и IV ра-

зреда. Учествовали су ученици из 72 школе. У припреми и жирију такмичења били су ангажовани: др Душан Сладић, др Нико Радуловић, др Драгица Тривић, др Ђенђи Ваштаг, др Ирена Новаковић, др Полина Благојевић, др Сања Гргур-Шипка, др Александра Маргетић, др Маја Шумар-Ристовић, мр Татјана Божић, Срђан Туфегџић, Милица Миленковић, Драган Златковић, Марко Јеремић, Биљана Ракочевић, мр Мирјана Војић, мр Верица Милићевић и мр Александра Симић. Постигнути су одлични резултати, захваљујући добром раду такмичара и ментора. На такмичењу је одбрана и екипа такмичара за 45. Међународну хемијску олимпијаду, која треба да се одржи од 15. до 24. јула 2013. у Москви. Екипу ће чинити четири првопласирана такмичара из III и IV разреда у категорији тест и практични рад. Наводимо списак награђених и похваљених ученика у свим такмичарским категоријама, називе школа и места из којих су дошли, као и имена ментора који су припремили ученике за ово такмичење.

I РАЗРЕД - ТЕСТ И ПРАКТИЧНИ ДЕО

Пласман	Име и презиме ученика	Назив школе	Место	Име и презиме ментора	Ранг
1.	Павле Крављанац	Прва београдска гимназија	Београд	Слободанка Пријић	I

2.	Стефан Стојановић	Гимназија	Лесковац	Драгољуб Димитријевић	II
3.	Јован Стојковић	Гимназија „Бора Станковић“	Врање	Снежана Маринковић	III
4.	Андреј Стефан Ђулум	Средња школа „22. октобар“	Жабал	Сања Јурукоски	III
5.	Јелена Станић	Гимназија	Чачак	Душица Јовановић	III
6.	Денис Митов	Медицинска школа	Зајечар	Данијела Милановић	VI

II РАЗРЕД - ТЕСТ И ПРАКТИЧНИ ДЕО

Пласман	Име и презиме ученика	Назив школе	Место	Име и презиме ментора	Ранг
1.	Алекса Милосављевић	Средња школа „Свилајнац“	Свилајнац	Марија Јевремовић	I
2.	Владимир Антонијевић	Гимназија „Светозар Марковић“	Јагодина	Марија Поповић Станић	II
3.	Иван Ваје	Математичка гимназија	Београд	Аника Влајић	III
4.	Никола Зарић	Гимназија	Чачак	Данка Тановић	IV
5.	Никола Паприца	XIV београдска гимназија	Београд	Наташа Диздаревић	V
6.	Селена Симић	Гимназија „Бора Станковић“	Ниш	Љиљана Миладиновић	VI

III И IV РАЗРЕД - ТЕСТ И ПРАКТИЧНИ ДЕО

Пласман	Име и презиме ученика	Назив школе	Место	Име и презиме ментора	Ранг
1.	Марко Нешић	Средња школа Крупањ	Крупањ	Милија Тешкић	I
2.	Давид Копривица	Ваљевска гимназија	Ваљево	Момир Станојевић	II
3.	Исидора Бањац	XIII београдска гимназија	Београд	Оливера Јеленковић	II
4.	Драган Миладинов	Гимназија „Јован Јовановић Змај“	Нови Сад	Дејан Радовановић	III
5.	Наталија Арсић	Прва београдска гимназија	Београд	Слободанка Пријић	III
6.	Ивана Петровић	Гимназија «Исидора Секулић»	Нови Сад	Ивана Рашковић	III
6.	Лука Марошанин	Гимназија Обреновац	Обреновац	Снежана Бабић	III
8.	Петар Бурсаћ	Средња школа „Свети Сава“	Сомбор	Нада Данојевић	III

I И II РАЗРЕД - ТЕСТ И САМОСТАЛНИ ИСТРАЖИВАЧКИ РАД

Пласман	Име и презиме ученика	Назив школе	Место	Име и презиме ментора	Ранг
1.	Алекса Јовановић	IX београдска гимназија	Београд	Милица Петровић	I
2.	Анастасија Ђорђевић	Гимназија	Лебана	Петар Ивановић	II
3.	Лазар Карић	Прва крагујевачка гимназија	Крагујевац	Мица Ђоровић-Станојевић	III
4.	Селена Симић	Гимназија „Бора Станковић“	Ниш	Љиљана Миладиновић	IV

III И IV РАЗРЕД - ТЕСТ И САМОСТАЛНИ ИСТРАЖИВАЧКИ РАД

Пласман	Име и презиме ученика	Назив школе	Место	Име и презиме ментора	Ранг
1.	Вељко Цветковић	Гимназија „Бора Станковић“	Ниш	Љиљана Миладиновић	I
2.	Немања Миловановић	Средња школа „Бранислав Нушић“	Сокобања	Мимоза Ђорђевић	II



ИЗВЕШТАЈ О ОДРЖАНОМ ПРОГРАМУ СТРУЧНОГ УСАВРШАВАЊА НАСТАВНИКА ХЕМИЈЕ:

АПРИЛСКИ ДАНИ ЗА НАСТАВНИКЕ ХЕМИЈЕ

Двадесет четврти семинар за наставнике хемије, у организацији Српског хемијског друштва и Хемијског факултета, одржан је 29. и 30. априла 2013. године у Београду. Први дан семинара одржан је на Технолошко-металуршком факултету, а други на Хемијском факултету. Учесће на Априлским данима пријавио је 401 наставник хемије, а у раду је учествовало 334 наставника (списак имена 67 пријављених наставника, који нису дошли, наведени је на крају извештаја). Поред наставника из Србије и ове године су били гости из региона – три наставнице хемије из Добоја.

Према програму током два дана одржано је осам предавања:

1. **Проф. др Љуба Мандић**, Универзитет у Београду, Хемијски факултет: *Од неактивної до йоксичної...-диоактивација суїстијанци*

2. **В. проф. др Славица Ерић**, Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет: *Антидиотипици – стурктурура и механизми дејства*

3. **Проф. др Јасна Ђонлагић**, Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет: *Значај развоја и примене йоплимерних материјала*

4. **Мр Биљана Томашевић и в. проф. др Драгица Тривић**, Универзитет у Београду, Хемијски факултет: *Хемијска йисменост и креативност*

5. **Мр Бранко Ј. Дракулић**, Универзитет у Београду, Институт за хемију, технологију и металургију: *Интиер- и интирамолекулске интиеракције*

6. **Др Татјана Вербић**, Универзитет у Београду, Хемијски факултет: *Пуфери – састав, хемијска својства и значај*

7. **В. проф. др Сунчица Мацура**, Универзитет у Крагујевцу, Факултет педагошких наука: *Прејуреке и ослонци за инклузивно образовање*
8. **Јасмина Ђелић**, Завод за вредновање квалитета образовања и васпитања, Београд: *Оквир за вредновање квалитетног рада школа и унапређивање наставе хемије*

Теме овогодишњих Априлских дана одређене су тако да доприносе научној и хемијској писмености наставника и, преко њих, ученика, ослонац су за функционализацију садржаја хемије обухваћених наставним програмима и за илустровање значаја хемије (прве три теме у програму Априлских дана). У избору тема водило се рачуна о очекиваним резултатима учења хемије дефинисаним кроз стандарде, а чије достизање је праћено проблемима у разумевању појмова (теме о међумолекулским интеракцијама и пуферима). Изабаране теме наставници могу користити у пракси за објашњавање улоге и значаја хемије, за побољшање хемијске писмености младих и њихове мотивисаност за учење хемије.

И ове године настављено је припремање наставника хемије за инклузивно образовање којим школе одговарају на различитост свих ученика. Размотрене су препреке (уски концепт инклузивног образовања - занемаривање ученика без сметњи којима је такође потребна додатна подршка, недовољна сарадња са колегама и родитељима, недостатак образовања о инклузивном образовању, негативни ставови и уверења), као и ослонци за развој инклузивног образовања (постојећа пракса и знање о инклузији, планирање наставе за све ученике, опажање разлика међу ученицима као могућности за учење, коришћење доступних ресурса за подршку учењу, развијање језика праксе и тимског рада, култивисање позитивних ставова према инклузији и развијање одговорности за учење/подучавање свих ученика).

Последња тема доприноси разумевању нове улоге наставника хемије у развоју школа коју оквир за вредновање квалитета рада школа подржава и подстиче: рад у школским тимовима, самовредновање рада и планирање на основу података, пружање подршке ученицима кроз различите школске активности, професионално усмеравање ученика, планирање и управљање професионалним развојем наставника, комуникација у школи, располагање ресурсима школе и др.

На тај начин настојало се да се и ове године наставницима обезбеде релевантне теме за наставну праксу, би-

ло да су у питању садржаји хемије или нови захтеви који се од наставника и школа очекују.

Проф. др Снежана Бојовић представила је монографију академика Живорада Чековића: Употреба молекула - хемијски есеји о молекулима и њиховим применама, а координатори Центра за научно-истраживачки рад студената, Јелена Драгојловић, и Волонтерског центра Хемијског факултета, Александар Ђорђевић, представили су активности оба центра и позвали наставнике да укључе ученике у активности у вези с промоцијом хемије.

После одржаних предавања првог дана организовано је традиционално *колеџијално дружење*, а после одржаних предавања другог дана *тврдина* у оквиру које су наставници информисани о такмичењима ученика основних и средњих школа из хемије, у организацији Српског хемијског друштва и Министарства просвете, науке и технолошког развоја (МПНТР). Посебна пажња посвећена је организацији такмичења на нивоу општина и проблему достављања тестова школама – домаћинима такмичења, јер према новом упутству МПНТР то више није задужење школских управа. Предложено је формирање општинских актива наставника хемије који ће преузети организацију такмичења на општинском нивоу и комуникацију са Републичком комисијом и Српским хемијским друштвом. Дискутовано је о променама пропозиција за део такмичења „Тест и истраживачки рад“ и закључено је да у будуће аутор истраживачког рада може бити само један ученик. У овом делу наставницима су се обратили проф. др Душан Сладић, доц. др Рада Баошић и доц. др Милош Милчић.

Априлске дане за наставнике хемије организовали су: Драгица Тривић, Биљана Томашевић, Катарина Путица, Верица Ступљанин, Александар Ђорђевић, Јелена Драгојловић, Весна Милановић, Катарина Живановић, Маријана Јовић, Јелена Димитријевић, Маја Томановић, Тања Бијелић, Јелена Видић, Бојан Пољак, Катарина Радурловић, Јелена Радивојевић, Милош Вељовић и Владимир Вукотић. Свим колегама се захваљујем на великом залагању да програм Априлски дани и ове године оствари циљеве због којих се организује. Захваљујем се управама Српског хемијског друштва, Хемијског факултета и Технолошко-металуршког факултета за пружену подршку и помоћ у организацији и реализацији програма.

На крају, следи списак имена 67 наставника за чије учење је котизацију платила издавачка кућа НОВИ ЛОГОС, а који нису дошли на Априлске дане:

Име и презиме	Школа	Место/Општина
Сања Шушњар	ОШ "Јован Миодраговић"	Београд - Врачар
Рада Барић Ђорђевић	ОШ "Јајинци"	Београд - Вождовац
Драгана Милановић	ОШ "Бошко Палковљевић Пинки"	Београд - Земун
Анита Банковић	ОШ "Јелица Миловановић"	Београд - Сопот
Светлана Марковић	ОШ "Живојин Жика Поповић" Раброво	Кучево
Мирослав Живановић	ОШ "Ђура Јакшић" Топоница	Мало Црниће
Живорад Поповић	ОШ "Професор Брана Пауновић" Рашанац	Петровац на Млави
Воја Степановић	ОШ "Војвода Степа" Липолист	Шабац - град
Биљана Здравковић	ОШ "Вожд Карађорђе"	Лесковац - град
Света Павловић	ОШ "Јосиф Панчић" Манојловце	Лесковац - град
Петар Ивановић	ОШ "Радоје Домановић" Бошњаце	Лебане
Катица Николић	ОШ "Ђеле кула"	Ниш - Медијана
Марина Јовановић	ОШ "Аца Синадиновић" Лоћика	Алексинац
Милорад Отовић	ОШ "Десанка Максимовић" Катун	Алексинац

Слађана Стојановић	ОШ "Деспот Стефан Лазаревић"	Бабушница
Биљана Јелић	ОШ "Ратко Павловић-Ћићко"	Прокупље
Соња Живковић	ОШ "Стојан Новаковић"	Блаце
Раденка Тодоровић	ОШ "Бранко Перић" Рудна Глава	Мајданпек
Весна Прекрповић	ОШ "Иво Лола Рибар"	Нови Сад
Светлана Зеремски	ОШ "Јован Јовановић Змај" Сремска Каменица	Нови Сад
Марија Радаковић	ОШ "Јован Поповић" Сусек	Беочин
Татјана Сабо Ђорђевић	ОШ "Братство-јединство" Куцура	Врбас
Злата Ђулибрк	ОШ "Братство-јединство" Куцура	Врбас
Милош Коцић	ОШ "Ратко Павловић-Ћићко" Ратково	Оџаци
Љиљана Ђорић	ОШ "Бреково" Бреково	Ариље
Светлана Милошевић	ОШ "Богосав Јанковић" Кремна	Ужице-град
Ангелина Јестровић	ОШ "Доситеј Обрадовић"	Крушевац-град
Слађана Дубовац	ОШ "Јован Јовановић-Змај" Мудраковац	Крушевац-град
Валентина Недељковић	ОШ "Велизар Станковић-Корчагин" Велики Шиљеговац	Крушевац-град
Милка Таталовић	ОШ "Коста Абрашевић"	Београд - Раковица
Ирена Панов Стаменов	ОШ "Доситеј Обрадовић" Умка	Београд - Чукарица
Ненад Марковић	ОШ "Ђорђе Јовановић" Селевац	Смедеревска Паланка
Мила Дабић	ОШ "Дражевац" Дражевац	Београд - Обреновац
Олгица Савић	ОШ "Бранко Радичевић" Мелница	Петровац на Млави
Маријана Радаковић	ОШ "Лаза К. Лазаревић"	Шабац-град
Весна Коларић	ОШ "Лаза К. Лазаревић"	Шабац-град
Светлана Митровић	ОШ "Трајко Стаменковић"	Лесковац-град
Горан Тасић	ОШ "Милутин Смиљковић" Винарце	Лесковац-град
Снежана Јовановић	ОШ "Његош"	Ниш - Пантелеј
Сандра Радоњић	ОШ "Др Зоран Ћинђић" Брзи Брод	Ниш - Медијана
Александра Петровић	ОШ "Иван Горан Ковачић"	Нишка Бања
Снежана Мишић	ОШ "Иван Горан Ковачић"	Нишка Бања
Надежда Илић	ОШ "Бранислав Нушић" Доња Трнава	Ниш-Црвени Крст
Ирена Митић	ОШ "3.октобар"	Бор
Бојан Тролић	ОШ "Јован Грчић Миленко"	Беочин
Владислава Соваковић	ОШ "Филип Вишњић" Моравић	Шид
Лепосава Рапаић	ОШ "Вељко Дугошевић"	Рума
Татјана Милосављевић	ОШ "Свети Сава"	Житиште
Јелена Ђорђевић	ОШ "Бранко Радичевић"	Оџаци
Данијела Ратков Жебелан	ОШ "Бранко Радичевић"	Панчево-град
Данијела Милачић	ОШ "Милош Црњански" Иланца	Алибунар
Данка Милићевић Тасић	ОШ "Нада Матић"	Ужице-град
Иван Митић	ОШ "Димитрије Туцовић"	Чајетина
Александра Митић	ОШ "Димитрије Туцовић"	Чајетина
Ивана Живановић	ОШ "Филип Филиповић"	Чачак-град
Милица Ковачевић	ОШ "Вук Караџић" Каона	Лучани
Нада Ђуровић	ОШ "Краљ Александар I"	Горњи Милановац
Снежана Рајовић	ОШ "Ђура Јакшић"	Крагујевац-град
Немања Ћирковић	ОШ "Светозар Марковић" Лапово (варошица)	Лапово
Крстиња Петровић	ОШ "Вук Караџић"	Кнић
Гордана Мирковић	ОШ "Момчило Поповић-Озрен"	Параћин
Ивана Трифуновић	ОШ "Браћа Вилотијевић"	Краљево-град
Љиљана Цветковић	ОШ "Вук Караџић" Витошевац	Ражањ
Радица Марковић	ОШ "Деспот Стефан" Горњи Степош	Крушевац-град
Јелена Малешевић	Средња школа "Свети Сава"	Лозница-град
ДУЊА Јурић	Спортска гимназија Београд	Београд - Савски Венац
Иванка Радоњић	Средња школа "Свети Сава"	Кладово

У Београду, 7.5.2013.

Драгица Тривић