

Ministerul Educației și Cercetării  
Universitatea POLITEHNICA Timișoara

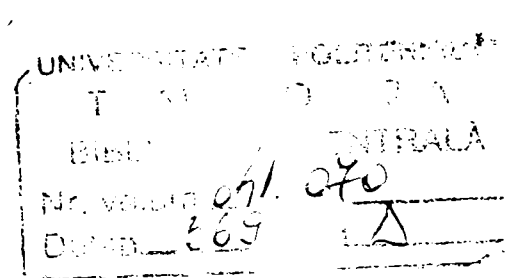
Facultatea de Chimie Industrială și Ingineria Mediului  
Catedra de Chimie și Tehnologii Organice

**Ing. Radu Florina Adriana**

CONTRIBUȚII LA OBTINEREA ȘI CARACTERIZAREA  
UNOR DERIVAȚI AI ACIDULUI ABIETIC

**Teză de doctorat**

BIBLIOTECA CENTRALĂ  
UNIVERSITATEA "POLITEHNICA"  
TIMIȘOARA



Conducător științific

**Prof. Dr. Ing. ALFA XENIA LUPEA**

-2003-

## CUPRINS

<b>1. INTRODUCERE</b>	<b>1</b>
1.1. Definirea Problemei	1
1.2. Structurarea Tezei	3
<b>2. OBIECTIVELE TEZEI</b>	<b>5</b>
<b>3. ACIDUL ABIETIC. SURSE, METODE DE SEPARARE. DERIVAȚI</b>	<b>6</b>
3.1. Resursele naturale	6
3.2. Compoziția chimică a rășinii de conifere	11
3.2.1. Monoterpenele din oleorezină	14
3.2.2. Sesquiterpenele din oleorezină	18
3.2.3. Acizii rezinici din oleorezină	21
3.2.3.1. Nomenclatura și biosinteza acizilor rezinici	21
3.2.3.2. Reactivitatea chimică a acizilor rezinici	24
3.2.3.3. Biodegradabilitatea acizilor rezinici	26
3.3. Colofoniu și derivații săi	28
3.3.1. Colofoniul	28
3.3.1.1. Definire, compoziție chimică	28
3.3.1.2. Procedee de obținere a colofoniului	29
3.3.1.3. Caracteristicile fizico- chimice ale colofoniului	33
3.3.1.4. Derivații colofoniului	34
3.3.2. Toxicologia colofoniului și a derivaților săi	37
3.4. Evoluția cercetării fundamentale și aplicative privind acidul abietic și sărurile sale cu metale alcaline și amine	42
3.4.1. Metode de izolare și purificare a acidului abietic din colofoniu	42
3.4.2. Elucidarea structurii acidului abietic prin metode moderne de analiză	48
3.4.3. Referințe bibliografice privind obținerea și caracterizarea sărurilor acidului abietic	54
3.4.3.1. Metode de obținere și caracterizare a sărurilor acidului abietic cu metale alcaline	54
3.4.3.2. Metode de obținere și caracterizare a sărurilor acidului abietic cu amine alifatic și alchilolamine	56
3.4. Concluzii preliminare	58
<b>4. CONTRIBUȚII ORIGINALE</b>	<b>60</b>
4.1. Izolarea și purificarea acidului abietic din colofoniu	60
4.1.1. Izolarea acidului abietic din colofoniu	61
4.1.2. Separarea și purificarea acidului abietic levogir	63
4.2. Obținerea sărurilor acidului abietic cu metale alcaline	67
4.3. Obținerea sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic	69
4.3.1. Încercări experimentale preliminare	69
4.3.2. Sinteza propriu-zisă sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic	75
4.4. Metode de analiză	77
4.4.1. Analiza colofoniului	77
4.4.2. Determinarea parametrilor fizici ai compușilor sintetizați	78
4.4.3. Determinarea indicilor caracteristici ai acidului abietic	79
4.4.4. Determinarea caracteristicilor superficiale ale sărurilor acidului abietic	81
4.5. Determinarea activității microbiologice a sărurilor acidului abietic	86
4.5.1. Considerații teoretice	86
4.5.2. Materiale și aparatură	87
4.5.3. Protocolul de lucru	87
4.5.3.1. Prepararea mediilor de cultură	87
4.5.3.2. Prepararea soluțiilor stoc și a rondelilor de filtru impregnate cu substanța de testat	88
4.5.3.3. Prepararea culturilor tinere de 24 de ore	88
4.5.3.4. Însămânțarea inoculului și aplicarea rondelilor pe mediul	89

	de cultură specific	
	4.5. 3. 5. Incubarea cutiilor și citirea rezultatelor obținute	89
	4. 5. 4. Protocolul de lucru prin metoda diluțiilor în agar	89
4.	6. Analiza biodegradabilității primare a sărurilor acidului abietic	91
	4. 6. 1. Scurte considerații	92
	4. 6. 2. Analiza biodegradabilității sărurilor acidului abietic	92
	4. 6. 2. 1. Reactivii folosiți	92
	4. 6. 2. 2. Materiale și aparatură	93
	4. 6. 3. Protocolul de lucru	93
	4. 6. 3. 1. Pregătirea probelor în vederea analizei	93
	4. 6. 3. 2. Determinarea spectrofotometrică a gradului de biodegradabilitate a sărurilor acidului abietic	93
<b>5.</b>	<b>REZULTATE. DISCUȚII</b>	<b>96</b>
	5.1. Influența unor parametri ai procesului de izolare a acidului abietic din colofoniu asupra randamentului de separare și purității sale	96
	5. 1.1. Durata de refluxare a amestecului colofoniu:solvent de extracție	96
	5. 1.2. Temperatura de refluxare a amestecului colofoniu:solvent de extracție	98
	5. 1.3. Numărul de recristalizări	99
	5. 1.4. Concluzii parțiale	100
	5.2. Considerații privind obținerea acidului abietic levogir de înaltă puritate	101
	5.3. Stabilirea condițiilor optime pentru sinteza sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic	102
	5.3.1. Influența temperaturii de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic	105
	5.3.2. Influența duratei de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic	107
	5.3.3. Influența raportului molar dintre reactanți asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic	
	5.4. Analiza structurală a compușilor sintetizați	110
	5.4.1. Analiza spectrală de IR	110
	5.4.2. Analiza cromatografică de HPLC a acidului abietic	116
	5.4.3. Analiza de rezonanță magnetică nucleară ( <sup>1</sup> HRMN) a sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic	118
	5.4.4. Analiza prin spectrometrie de masă	123
	5.4.4.1. Analiza colofoniului și a sărurilor acidului abietic cu metale prin DTMS	123
	5.4.4.2. Analiza prin spectrometrie de masă a sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic	129
	5.5. Analiza proprietăților capilar active ale compușilor sintetizați	134
	5.5.1. Conținutul de substanță activă din compușii sintetizați	134
	5.5.2. Determinarea punctului Krafft	134
	5.5.3. Determinarea concentrației critice micelare (CMC) a sărurilor acidului abietic	134
	5.5.3.1. Determinarea concentrației critice micelare prin măsurarea tensiunii superficiale a soluțiilor apoase de săruri	134
	5.5.3.2. Determinarea concentrației critice micelare prin metoda conductometrică	141
	5.5.4. Determinarea puterii de umectare a sărurilor acidului abietic	150
	5.5.5. Determinarea capacității de spumare a sărurilor acidului abietic	154
	5.5.5.1. Determinarea înălțimii de spumare	154
	5.5.5.2. Determinarea stabilității spumei formate	156
	5.5.6. Determinarea capacității de emulsionare a sărurilor acidului abietic	161
	5.6. Determinarea activității antimicrobiene a compușilor sintetizați	163
	5.7. Studii privind biodegradarea primară a sărurilor acidului abietic	168
<b>6</b>	<b>CONCLUZII FINALE</b>	<b>176</b>
	<b>BIBLIOGRAFIE</b>	<b>180</b>
	<b>ANEXĂ</b>	

## 1. INTRODUCERE

### 1.1. Definirea Problemei

Coniferele produc un vast și divers sortiment de compuși bioactivi, de natură organică, din care marea lor majoritate nu par a participa direct la procesele de creștere și dezvoltare a organismului vegetal. Acești compuși cunoscuți în ansamblu sub numele de **rășini** și care în literatura de specialitate sunt denumiți **metaboliți secundari**, pentru a-i deosebi de metaboliții primari (fitosteroli, aminoacizi, nucleotizi, acizi grași), sunt adesea distribuiți în mod diferențiat printre grupurile de compuși, limitați taxonomic din organismul vegetal. Marea majoritate a acestor rășini de conifere au în componența lor **terpenoide** atât sub formă hidrocarbonată (**terpene**) cât și sub formă oxigenată (**acizi rezinici**). Terpenoidele sunt substanțe compuse din unități formate din grupe de cinci atomi de carbon, biosintetizate fie pe calea acetat/mevalonat fie pe calea gliceraldehid -3 fosfat/piruvat [1].

Studiile efectuate de către chimiști asupra compușilor terpenoidici au permis încă, de la începutul secolului 20, atât stimularea dezvoltării tehnicilor de separare și de analiză (spectroscopie de IR, UV-VIS, RMN, EI-SM respectiv ESI-SM a cromatografiei sub diferitele ei forme), în scopul elucidării structurilor chimice, cât și punerea la punct a procedeeelor și metodelor de sinteză chimică a lor [2,3,4,5,].

Încercările experimentale de la începutul anilor nouăzeci, de descoperire și recunoaștere a proprietăților biologice ale acidului abietic și derivaților săi cu schelet terpenic se orientează în prezent pe găsirea de noi recepturi pentru industria de medicamente, detergenți, insecticide, ierbicide, compuși de aromă etc. Această apreciere crescândă a efectelor biologice foarte diverse produse de acidul abietic și derivații săi a condus prompt la o reevaluare a rolurilor posibile pe care acești compuși îl joacă în plante în special în contextul interacțiunilor ecologice [6].

Așa cum menționează Croteau, Kutchan și Lewis [1], mulți dintre compușii naturali par să arate acum că posedă o importantă capacitate de adaptare și protecție împotriva infecțiilor microbiene ca și substanțe care atrag insectele polenizatoare dar și ca **agenți alelopatici – substanțe care influențează competiția între speciile de plante**. Aceste funcțiuni ecologice afectează profund supraviețuirea plantei, motiv pentru care cercetătorii consideră că cel mai potrivit termen pentru acești compuși este de *produse naturale ale plantei* pentru a sugera faptul că acestia acționează în primul rând asupra altor specii.

Pornind de la funcțiile ecologice pe care acidul abietic și unii dintre derivații săi terpenoidici, în calitate de metaboliți secundari îl au, dar având în vedere și diversitatea și rolul mereu crescând al preparatelor alimentare, farmaceutice și cosmetice în viața oamenilor, preocuparea crescândă a consumatorilor, și nu numai, pentru obținerea acestor produse prin tehnologii nepoluante (*'clean technologies'*), la ora actuală se cristalizează o tendință de reconsiderare profundă a atitudinii cercetătorilor și producătorilor consacrați față de imensul potențial oferit de metaboliții secundari (terpenoide) din conifere [7].

În acest context general se încadrează și tema de cercetare propusă față de imensul potențial pe care metaboliții secundari din conifere în principal **acidul abietic și derivații săi terpenoidici** îl au, atât în sensul folosirii lor ca materii prime ieftine în diverse industrii, cât și ca factori de ecologizare a mediului ambiant.

În mod concret s-a încercat pe parcursul acestui studiu de cercetare, punerea la punct a unor metode și procedee de izolare și purificare cât mai nepoluante a acelor produși (săruri ale acidului abietic cu metale alcaline, cu anumite amine alifactice primare, secundare terțiare, etanolamine etc.) ce necesită costuri mici de fabricație și care prin proprietățile superficiale, biologice și în unele cazuri cu bune capacități de biodegradare, pot fi folosite fie ca materiale alternative la cerințele actuale ale unor sectoare din industria substanțelor tensioactive fie ca produse finite care pot fi valorificate direct pe piață pentru a satisface nevoile consumatorilor.

Astfel împreună cu Institutul Național de Biologia Dezvoltării București, pe baza rezultatelor experimentale expuse în cadrul acestei teze, am reușit brevetarea un procedeu de izolare și purificare a **acidului abietic levogir** de înaltă puritate din colofoniu [8], acid care a fost apoi folosit ca materie primă pentru obținerea unor derivați a căror proprietăți fizice, chimice și biologice le permit să fie utilizate într-o largă diversitate de sectoare industriale. Astfel unul din derivații acidului abietic, și

anume abietatul de sodiu, după studierea proprietăților sale biologice active, a fost folosit ca ingredient în compoziția unei creme dermatologice cu caracter bactericid, produsul reușind să fie premiat la Salonul Internațional de Inventică Brussell din anul 1996 și ulterior brevetat [9].

Structura complicată a compușilor care fac obiectul studiului de cercetare, tendința lor de transformare în structuri macromoleculare din categoria polimerilor [10] și caracterul alcalin al sărurilor, au făcut dificil de aplicat tehnicile cromatografice de gaz și lichid (cu excepția acidului abietic care a putut fi analizat calitativ și cantitativ prin metoda HPLC). Din acest motiv pentru analiza structurală a derivaților acidului abietic am folosit tehnica de  $^1\text{H}$ RMN combinată pentru certitudine cu spectrometria de masă. Deoarece din punct de vedere al bazei materiale, spectrometria de masă este abia la început la noi în țară, analizele derivaților acidului abietic au fost efectuate cu ajutorul aparaturii și softului deținute de colectivul de cercetare din cadrul Institutului FOM pentru Fizica Atomică și Moleculară, Amsterdam.

Pe de altă parte dacă în ceea ce privește amidcele acidului abietic referințele bibliografice sunt numeroase fie că este vorba despre sinteza în condiții optime a acestor substanțe, sau despre proprietățile lor fizico-chimice și biologice și domeniile de utilizare, nu același lucru putem să spunem despre intermediarii care apar în aceste reacții de condensare ale acidului abietic cu amine (mono sau poli) alifatică, aromatice sau mixte, etanolamine etc., și anume sărurile sale de amoniu. Informațiile puține și adesea laconice (menționarea lor doar ca intermediari nestabili în procesele de obținere a amidelor, sau ca substanțe prin intermediul cărora are loc purificarea acizilor rezinici, rezumate ale unor patente, publicitate la unele produse ale unor firme de prestigiu din domeniul agenților de curățare a lucrurilor din gospodăriile casnice care au în compoziția lor acești compuși) [11, 12, 13] au permis efectuarea de cercetări privind posibilitatea obținerii unor reprezentanți ai acestor intermediari ai reacției de amonoliză a acidului abietic și investigarea proprietăților lor tensioactive.

Cercetările experimentale efectuate în acest scop mi-au permis punerea la punct a unor sinteze pentru unii reprezentanți din această categorie în condiții de reacție mult mai blânde decât cele necesare în cazul obținerii amidelor corespunzătoare (presiune atmosferică, temperaturi de reacție mai mici de  $50^\circ\text{C}$ , lipsa unor catalizatori scumpi și dificil de procurat, aparatură simplă și ușor de montat și manipulat) și cu randamente de reacție bune. În plus investigațiile efectuate pentru determinarea proprietăților lor au scos în evidență faptul că unii dintre acești produși pot fi folosiți fie ca agenți de emulsionare (cele care au în molecula lor monoamine alifatică primare și secundare), fie ca agenți de spumare (cele obținute prin reacții cu etanolamine) sau chiar ca agenți de spălare (reprezentanți din ambele categorii). Testele de biodegradabilitate primară efectuate conform standardelor UE au scos în evidență faptul că multe dintre aceste săruri sunt ușor degradate de microorganismele din apă, existând situații când procentul de bio-degradare a fost superior celui corespunzător dodecilbenzensulfonatului de sodiu (DBSS) sau dodecil sulfatului de sodiu (DSS) luați ca standarde.

De asemenea majoritatea reprezentanților acestor compuși obținuți s-au dovedit a avea proprietăți bacteriostatice / bactericide atât față de bacteriile Gram Pozitive cât și față de cele Gram Negative, iar pentru unele săruri chiar proprietăți fungistatice ceea ce le permite folosirea lor ca ingrediente în compoziția unor soluții și /sau unguente antiseptice.

Având în vedere pe de o parte terenul virgin de cercetare autohtonă cu privire la derivații acidului abietic cu proprietăți tensioactive și biologice active, există premisele ca rezultatele studiilor experimentale care au stat la baza elaborării acestei teze să aducă o contribuție importantă la îmbogățirea patrimoniului științific național. De asemenea, luând în considerare imensul potențial oferit de pădurile de rășinoase din nordul și nord-estul României (70% molid, genul *Pinus*), compușii sintetizați ar putea să ofere și o soluție alternativă mai ieftină și mai ecologică (folosirea rășinii de conifere fără distrugerea masei lemnoase) la compușii cu caracter tensioactiv dar provenind din produsele petroliere.

## 1.2. Structurarea Tezei

*Capitolul doi* pune în evidență relevanța domeniului abordat în contextul priorităților cercetării științifice prin enumerarea obiectivelor principale ale tezei de doctorat, în timp ce în *capitolul trei* se prezintă stadiul actual al cercetărilor științifice din domeniul care face obiectul tezei de doctorat. La începutul capitolului se evidențiază pe scurt imensul potențial oferit de coniferele din specia *Pinus* prin producerea de **oleorezină**, un amestec complex, natural format din compuși aparținând clasei terpenelor, și care prin prelucrare conduce la două produse larg folosite într-o gamă variată de domenii industriale și anume terebentina și **colofoniul**. În continuare o atenție mărită este acordată acestui produs din urmă prin prezentarea categoriilor existente la ora actuală pe piața mondială, a procedeelelor care permit obținerea acestor categorii de colofoniu, a compoziției sale chimice punându-se accent pe fracțiunea care conține **acizii rezinici**, a proprietăților fizico-chimice, biologice și toxicologice cu implicațiile pe care le au aceste caracteristici pentru viața omului și a mediului ambiant. Paragrafe separate sunt alocate datelor de literatură privind **acidul abietic** cu referire în special la procedeele de izolare și purificare a **enantiomerului său levogir** cel care de fapt se găsește și în stare naturală în oleorezină și care prezintă activitate biologică activă, a metodelor de analiză folosite de cercetători de-a lungul timpului pentru identificarea, elucidarea structurii și în final valorificarea acestuia în diverse scopuri. De asemenea se face referire la reacțiile pe care acidul abietic le poate da prin intermediul **grupării carboxil** punându-se accentul pe acelea care dau naștere la **abietății alcalini** și respectiv de **amoniu**. În finalul capitolului se trec în revistă rezultatele cercetărilor publicate anterior cu privire la sinteza unor **abietăți**, la proprietățile lor tensioactive, biologice, precum și la posibilele domenii de utilizare a lor funcție de aceste proprietăți.

*Capitolul patru intitulat parte experimentală*, prezintă contribuțiile proprii la dezvoltarea cunoașterii științifice prin elaborarea a unui procedeu de izolare din colofoniu și purificare a **acidului abietic levogir**, respectiv a unor procedee de sinteză a **abietăților de sodiu (atât sarea neutră cât și complexă)** și **potasiu**, a **sărurilor de amoniu ale acidului abietic cu mono-, di-, trietanolină, trietilamină, izobutilamină și di-izo-butilamină**, utilizarea în premieră a spectroscopiei de masă folosind diferite tehnici de ionizare (impact electronic, (EI), impact electronic prin pulverizare, ESI, ionizare chimică (Ag)) pentru elucidarea structurii sărurilor respective, elaborarea unei metode de analiză calitativă și cantitativă prin HPLC a acidului abietic obținut, precum și a unei metode spectrofotometrice de determinare a procentelor de biodegradare a abietăților de amoniu în locul metodelor cromatografice sau a celei standardizate de către legislația europeană și americană, mult mai simplă și mai ieftină.

Influența unor parametri tehnologici (temperatură de reacție, pH-ul mediului, catalizatorii folosiți, raportul molar al reactanților care participă la reacții, solvenții folosiți la purificarea produselor obținute) asupra randamentelor proceselor descrise anterior, precum și alegerea acelei combinații de parametri care să asigure un randament optim sunt prezentate în *capitolul cinci*. Un paragraf special este alocat elucidării structurilor compușilor obținuți prin analiza spectrelor de IR, MS și <sup>1</sup>H-RMN. În ultima parte a acestui capitol sunt interpretate și corelate cu diverși factori (structura compușilor care fac obiectul analizei, pH-ul mediului, temperatură, metoda de analiză folosită, etc.) rezultatele experimentale care caracterizează sărurile acidului abietic din punct de vedere al proprietăților tensioactive, microbiologice și de biodegradabilitate.

În *capitolul șase* se enumeră principalele concluzii care se desprind din analiza rezultatelor cercetării. Capitolul de referințe bibliografice încheie modul de structurare a tezei, în anexă fiind prezentate analizele spectrale și cromatografice efectuate asupra produșilor sintetizați.

## 2. OBIECTIVELE TEZEI

Deși la prima vedere chimia acidului abietic și a sărurilor sale pare să-și fi dezvăluit complet toate secretele, la o cercetare mai atentă se poate constata că încă mai există zone în care lucrurile nu sunt complet clare. Un exemplu în acest sens îl oferă sărurile cu metale alcaline care deși se fabrică și se utilizează pe scară largă într-o varietate de domenii de foarte mult timp, oferă surprize din punct de vedere structural în sensul că în funcție de raportul acid abietic:bază, dar mai ales de tipul de enantiomer folosit la sinteză se poate obține o sare neutră sau din contră o sare complexă. Tot legat de sărurile alcaline ale acidului abietic cunoscute ca substanțe cu proprietăți tensioactive, cercetări recente au evidențiat anomalii ale comportamentului acestora în soluții la concentrații inferioare concentrației critice micelare când în mod normal nu ar trebui să existe surprize. Un alt aspect care a fost puțin investigat de cercetătorii din domeniu îl constituie posibilitatea sintezei unor săruri stabile ale acidului abietic cu unele amine alifatiche și alchilolamine cunoscute mai demult doar ca intermediari nestabili în reacțiile de amidoliză pentru obținerea amidelor acidului (abietati), ca substanțe cu proprietăți tensioactive, dar care au o activitate microbiologică bacteriostatică / bactericidă și chiar fungistatică apropiată cu a multor din compușii cationici activi. Spre deosebire însă de aceștia din urmă, sărurile acidului abietic cu unele amine pot fi biodegradate într-un procent care uneori depășește chiar și pe cel al unor tenside anionice cunoscute ca ușor biodegradabile.

Aceste aspecte împreună cu constatarea că țara noastră dispune de specii de conifere genul *Pinus sylvestris* în proporție de peste 70% din suprafața totală de pădure din partea de nord și nord-est, reprezentând astfel o sursă importantă de colofoniu, precum și colaborarea cu Institutul de Biologia Dezvoltării București în direcția obținerii unei creme dermatologice pe bază de săruri ale acidului abietic cu proprietăți biologice active ne-au îndreptățit să abordăm acest domeniu al derivaților acidului abietic.

Prin urmare scopul acestei teze a fost acela de a sintetiza compuși biologic activi și cu grad de biodegradare ridicat din categoria sărurilor acidului abietic. Aceste caracteristici combinate cu proprietățile amfilice ale acidului abietic determină posibilitatea utilizării lor fie ca agenți anionici de spumare, de emulsionare sau de udare cu capacități germicide similare sau uneori superioare agenților cationici activi dar care sunt însă mai greu biodegradabili ridicând problema limitării lor în preodusele cosmetice și de curățare din motive ecologice.

La începutul studiului experimental am reinvestigat posibilitatea obținerii unui acid abietic de înaltă puritate care să corespundă cerințelor impuse materiilor prime folosite la fabricarea unor produse cosmetice, acidul abietic furnizat de producătorii consacrați având o puritate care nu depășește 80%. Purificarea acidului abietic așa cum este cunoscut din referințele bibliografice este un proces anevoios care în mod obișnuit necesită un număr de 4-5 recristalizări. Din acest motiv am încercat să realizăm acest deziderat prin intermediul sărurilor acidului abietic cu baze organice optice active din categoria alcaloizilor (chinină, chinidină, cinconină etc.). Rezultatele obținute au condus la obținerea unui acid abietic cu puritate de peste 96% dar cu randamente nu foarte mari.

Pe lângă izolarea din colofoniu a unui acid abietic de înaltă puritate, interesul nostru major a fost sinteza și caracterizarea sărurilor acidului cu metale alcaline și mai ales cu amine alifatiche mono, di și tri substituie și derivații lor etanolaminici. Deoarece referințele bibliografice din acest domeniu nu sunt foarte multe, la început a fost nevoie de efectuarea unor încercări preliminare pentru determinarea acelor condiții de reacție care să determine obținerea sărurilor și nu a amidelor lor corespondente. Pentru elucidarea structurii compușilor sintetizați am utilizat în general metodele spectroscopiei de IR, combinate cu spectrometria de masă și RMN. După elucidarea structurii, compușii obținuți au fost testați din punct de vedere al activității coloidale și microbiologice.

Putem să spunem că în vederea definitivării studiilor de cercetare amintite anterior, au fost stabilite următoarele obiective concrete:

1. Analiza colofoniului în vederea depistării compușilor oxigenați ai acizilor rezinici folosind spectrometria de masă în variantele DTMS (Direct Temperature Resolved Mass Spectrometry) ca și tehnică de fingerprint și ESI-MS (Negative-Ion Electrospray Mass Spectrometry);

2. Izolarea acidului abietic din colofoniu și purificarea sa prin intermediul sărurilor sale cu baze organice optic active în scopul separării enantiomerului său levogir ;
3. Sinteza în condiții optime de reacție a sărurilor acidului abietic cu metale alcaline, amine alifatică și alchilamine; Determinarea influenței unor parametri de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor de amoniu și nu a amidelor corespondente ale acidului abietic;
4. Utilizarea metodelor moderne de analiză pentru investigarea structurii compușilor sintetizați. Aceste tehnici au inclus spectroscopia de IR, cromatografia lichidă de înaltă performanță, rezonanța magnetică de spin, spectrometria de masă (DTMS și ESI-MS);
5. Caracterizarea sărurilor acidului abietic din punct de vedere al proprietăților amfiflice în diferite condiții de pH (5-11), respectiv de temperatură (25-45°C);
6. Studiul proprietăților antimicrobiene ale derivaților acidului abietic cu metale alcaline și amine;
7. Determinarea gradului de biodegradare primară a compușilor sintetizați printr-o metodă spectrofotometrică având la bază proprietatea sărurilor respective de a forma un complex colorat cu un colorant organic solubil într-un solvent organic.



### 3. ACIDUL ABIETIC. SURSE, METODE DE SEPARARE. DERIVAȚI

Obiectivul acestui capitol este acela de a plasa munca de cercetare efectuată cu ocazia elaborării acestei teze într-un context istoric al domeniului chimiei compușilor terpenoidici. După o scurtă expunere a imensului potențial economic oferit de speciile de conifere din genul *Pinus* prin intermediul oleorezinei, pe plan mondial și autohton, capitolul relevă descoperirile, studiile și cercetările efectuate de-a lungul secolului XX, subliniind astfel rațiunea pentru care am ales această temă.

#### 3.1. Resursele naturale

În conformitate cu reglementările FAO, [14] produsele forestiere pot fi clasificate în două categorii principale:

1. Produse din lemn obținute în urma procesării mecanice a trunchiurilor de copaci, cum ar fi placaje, mobilă, cherestea, scânduri, lemn pentru foc etc.

2. Produse chimice forestiere. Această categorie poate fi împărțită la rândul ei în două grupuri de produse, alegând ca și criteriu de clasificare materia primă folosită pentru producerea lor.

Primul grup include produsele chimice din lemn, adică acele produse care sunt obținute prin procesarea chimică a materialului lemnos. Din perspectivă chimică acest grup este obținut prin utilizarea a trei componente principale din compoziția lemnului: lignina, celuloza și hemiceluloza [15].

Al doilea grup îl constituie produsele chimice forestiere nelemnoase care sunt obținute prin procesarea chimică a părților nelemnoase ale copacilor cum ar fi frunzele, fructele, florile, rășina secretată de unele dintre specii de copaci dar și a variatelor specii de plante care cresc în perimetrul pădurilor. Principalele produse care rezultă din această prelucrare sunt colofoniul, terebentina, extractele taninice, acidul galic și tanic, ulciurile esențiale și unele substanțe biologice active necesare în diverse recepturi farmaceutice și cosmetice [16].

Pinul reprezintă un nume comun pentru familia *Pinaceae*. Din această familie fac parte în principal acele conifere care produc o substanță amorfă, rășinoasă, numită **oleorezină**, conifere care se întind pe arii întinse în regiuni muntoase din emisfera nordică ( SUA, Canada, Rusia, Suedia, Norvegia, China, Franța, etc.). Adevărații pini din genul *Pinus* pot fi identificați după modul de aranjare a frunzelor și anume în fiecare specie un anumit număr de ace (de la 1 la 5) este conținut într-o teacă [17].

Rășina secretată de coniferele din genul *Pinus* conține atât substanțe toxice pentru sănătatea organismelor vii cât și compuși chimici benefici pentru o serie de ramuri economice cum ar fi cea farmaceutică, cosmetică, a adezivilor, substanțelor tensioactive (detergenți, agenți antispumanti, emulgatori, stabilizatori, etc.) [18].

**Oleorezina** se găsește de obicei depozitată în anumite canale, numite canale rezinice apărute în scoarța coniferelor, ce pot fi longitudinale sau transversale primele fiind de dimensiuni mai mari decât cele din urmă. Prin canalele transversale rășina poate fi secretată de plantă dar în cele mai multe cazuri se constată că în urma rănirii plantei, cantitatea de rășină sporește sau mai rar determină chiar formarea rășinii. În aceste cazuri se vorbește de "**rășini patogene**" spre deosebire de cele obișnuite numite "**rășini fiziologice**" [19]. Pentru scopuri industriale oleorezina se obține prin creșterea scoarței coniferelor cu formarea unor găuri în care se introduc tuburi subțiri de sticlă prin care se scurge rășina. Pentru această operație se alege doar copacii care au un diametru al trunchiului mai mare de 20 cm. Oleorezina se lasă să se scurgă prin tuburile de sticlă în vase speciale timp de 24 de ore, după care cantitatea obținută este conservată prin refrigerare [20]. Un muncitor poate în mod obișnuit în decursul unui an să colecteze aproximativ 1.5-2.0 tone de rășină cantitate, provenită de la circa 600 de copaci. Cea mai potrivită perioadă a anului pentru colectarea rășinii este considerată cea care se întinde între lunile mai și noiembrie.

La ora actuală se cultivă în întreaga lume aproximativ 20 de specii de conifere din genul *Pinus* pentru acest scop, printre care amintim: *Pinus palustris*, *Pinus elliottii*, *Pinus caribaceae*, *Pinus massoniana*, *Pinus yunnanensis*, *Pinus latteri*, *Pinus armandi*, *Pinus kesiya* var. *langbianensis* cultivați în special în regiuni din China și Malaysia [21], *Pinus australis*, *Pinus tanda*, din regiunile muntoase ale SUA și Canada, *Pinus pinaster* răspândit în special în Franța și regiunea munților

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Carpați, *Pinus sylvestri*, *Scotch fir* răspândiți în nordul Europei în Norvegia, Suedia, Scoția dar și în zona centrală și de sud-est a Europei (Polonia, Cehia nordul și estul României) etc. [22, 23].

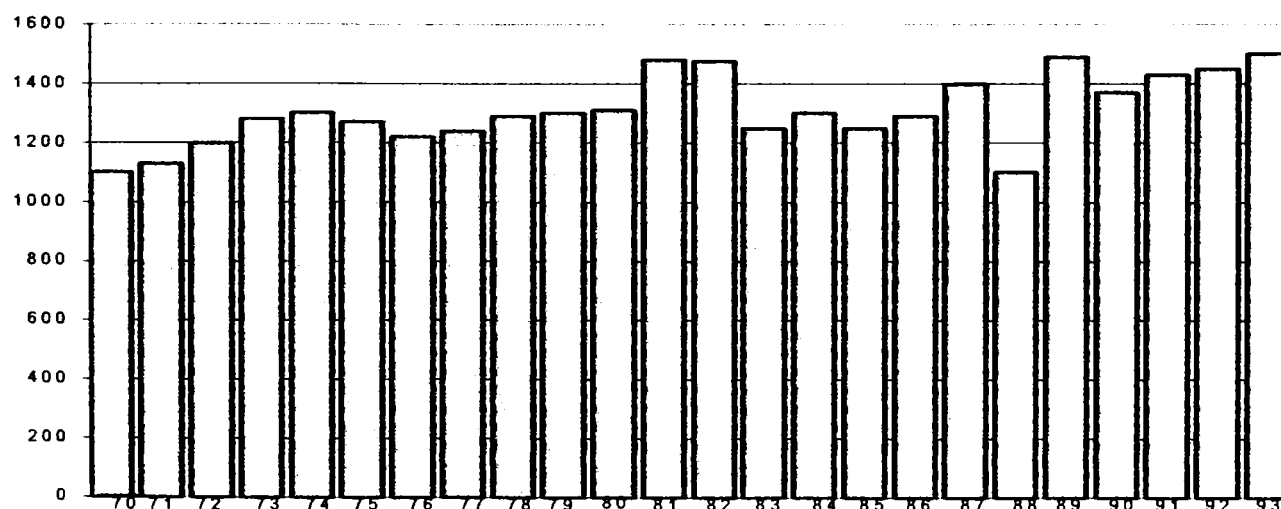
La nivelul anului 1999 fondul forestier românesc de conifere concentrat în zona județului Harghita se prezintă astfel: din totalul de 231 494 ha (suprafața județului), 228 614 ha (97%) sunt suprafețe ce aparțin pădurii. Din această suprafață 212 905 ha (93%) aparțin Regiei Naționale a Pădurilor - Romsilva, iar 15 709 ha (7%) persoanelor particulare. Pădurile sunt constituite preponderent din specii de rășinoase 73% din suprafața ocupată de păduri, foioasele reprezentând numai 27%. Proporția de participare a speciilor este: molid 65%, brad 7%, pin 7%, fag 19%, 2% alte rășinoase. În cadrul ocolului silvic Odorheiu Secuiesc, rășinoasele ocupă numai 7%, în cadrul ocolului silvic Praid 31%, iar în cadrul ocoalelor silvice Gheorgheni, Borsec și Miercurea Ciuc 92-95%. Structura pe clase de vârstă se prezintă astfel: I (1 - 20 ani) - 14%; II (21 - 40 ani) - 17%; III (41 - 60 ani) - 16%; IV (61-80 ani) - 29%; V (81 - 100 ani) - 17%; VI (> 100 ani) - 7%. Proporția pe clase de vârstă a coniferelor arată o structură corespunzătoare, suprafața ocupată de arborele exploatabil (clasa a III a) și preexploatabil (clasa a II a) fiind majoritară pentru obținerea oleorezinei [24].

În conformitate cu datele de literatură din speciile menționate mai sus se remarcă următoarele (Tabelul 3.1) care produc aproximativ 70% din întreaga producție de rășină.

**Tabelul 3.1. Principalele specii de pin producătoare de oleorezină [25]**

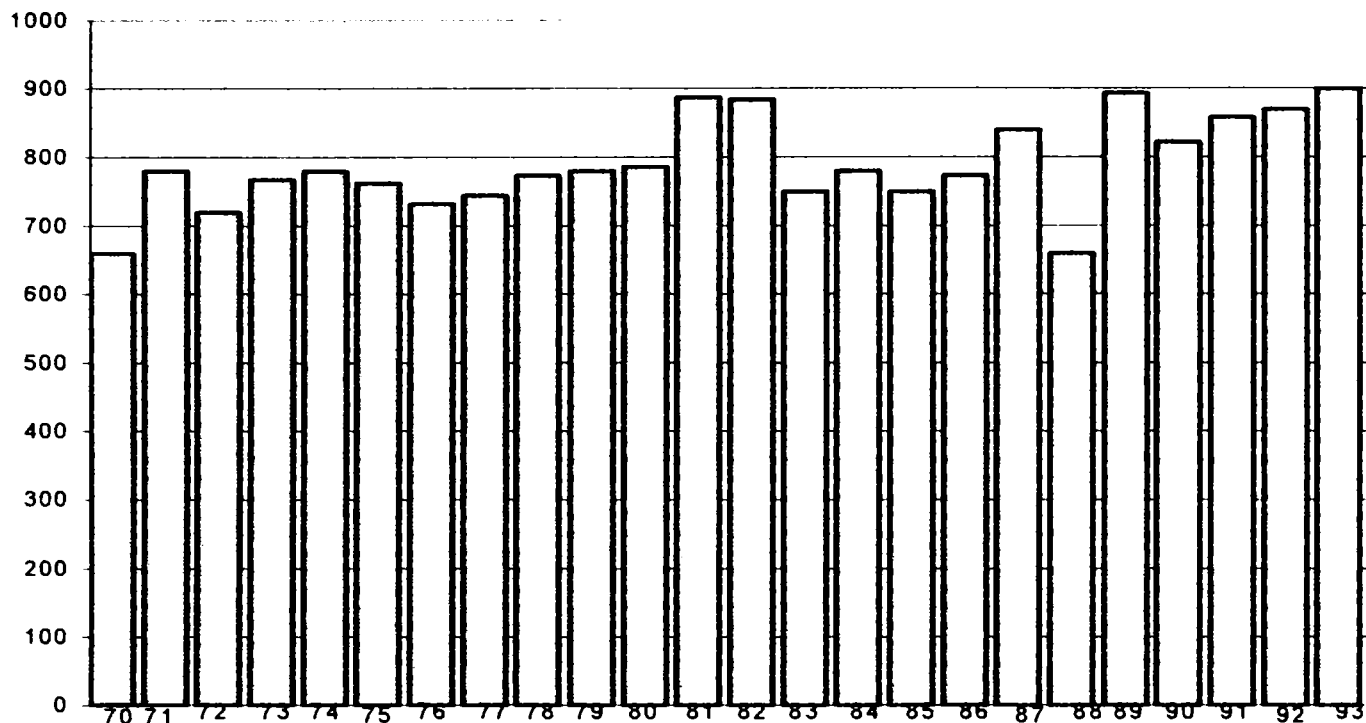
Nr. Crt.	Specia de pin	Aria geografică de răspândire	Cantitate de rășină colectată, [kg/copac/an]
1	<i>Pinus massoniana</i> Lamb	Sudul și sud-vestul Chinei	2,5-5,0
2	<i>Pinus kesiya</i> Royle ex Gord var. <i>langbianensis</i>	Malayesia și centrul Chinei	4-5
3	<i>Pinus yunnanensis</i>	Zona orientală a Rusiei și Mongoliei	4-5
4	<i>Pinus latteri</i> Mason	Malayesia	10
5	<i>Pinus elliotii</i> Engelm	S.U.A. și Canada	4

În ceea ce privește producția mondială de oleorezină trebuie menționat faptul că în perioada 1971 - 1993 producția a crescut cu aproximativ 36%, de la aproximativ 1100 mii tone în anul 1971 la circa 1500 mii tone rășină în anul 1993, evoluția producției mondiale de oleorezină fiind prezentată în graficul din figura 3.1.



**Fig. 3.1: Evoluția producției mondiale de oleorezină în perioada 1971-1993, [26]**

Trebuie menționat faptul că din întreaga cantitate produsă în această perioadă aproximativ 60% este furnizată de China [27], așa după cum arată și datele statistice prezentate în figura 3.2.

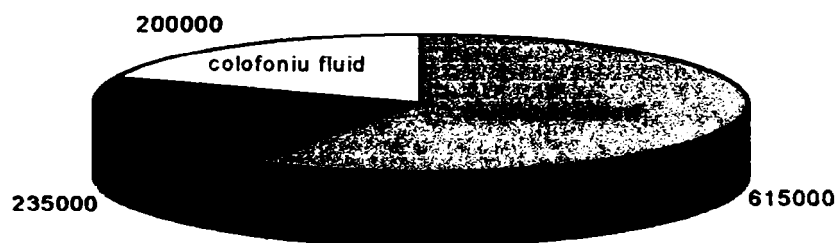


**Fig. 3.2: Evoluția producției de oleorezină în China în perioada 1971-1993, [26]**

Spre deosebire de situația din Republica China, în țările Europei tradițional producătoare de oleorezină se constată un declin în producția de oleorezină brută recoltată de pe plantațiile de pini proprii. Principala țară producătoare de rășină de pin dar și de produse derivate din aceasta rămâne Portugalia, țară favorizată atât de condițiile climatice (temperaturi ridicate care determină scurgerea unor cantități mari de oleorezină în marea majoritate a anului calendaristic) dar și de existența unor vaste suprafețe cu plantații de *Pinus Pinaster* [28]. În România datele direcțiilor silvice [24], indică o situație asemănătoare cu cea din Europa dar din motive diferite. Astfel dacă la ora actuală țări precum Franța, Germania, Norvegia, etc., preferă să importe oleorezină, respectiv colofoniu din China fiind mult mai ieftine decât cele obținute din producția internă, în țara noastră producția de rășină de conifer a scăzut dramatic fie din cauza defrișărilor masive și neplanificate, fie ca urmare a prăbușirii unor ramuri industriale tradițional consumatoare de produse derivate din aceasta și nu în ultimul rând din lipsa forței de muncă necesară pentru recoltarea oleorezinei.

În vederea utilizării practice, oleorezina este supusă distilării prin antrenare cu vapori de apă care duce la separarea în colofoniu, reziduul ce rămâne după distilare și terebentina, fracțiunea care distilă. Datele de literatură arată că rășina de conifer purificată în prealabil dă 70-80 % colofoniu și 20-10 % terebentină, restul fiind apă și alte substanțe [29].

Rapoartele statistice din anul 2000 arată că producția totală de colofoniu din lume, fie că se obține sub formă amorfă, fluidă, sau carbonată la nivel mondial a fost de 1 050 000 tone/an distribuită după cum arată figura 3.3.

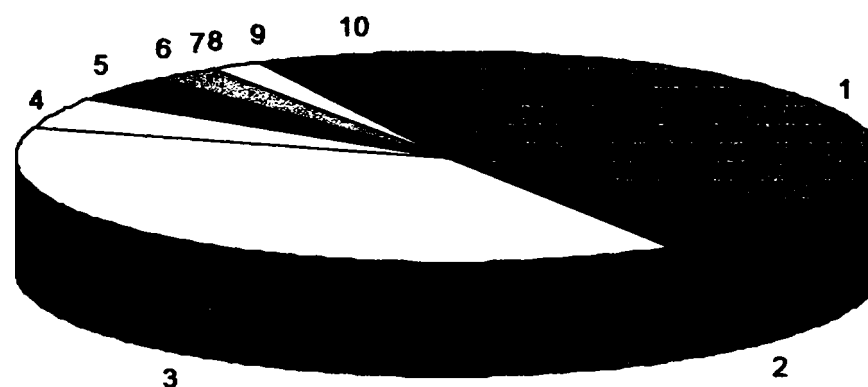


**Fig. 3.3: Distribuția producției mondiale de colofoniu în anul 2000, [26]**

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.2 Distribuția producției mondiale de colofoniu pe zone geografice în anul 2000, [26]**

Nr.crt.	Zona geografică	Cantitatea de colofoniu produsă[tone]
1	SUA	350000
2	Franța	85000
3	China	435000
4	Indonezia	53000
5	Brazilia	40000
6	Mexic	27000
7	India	26
8	Rusia	18000
9	Portugalia	15000
10	Alte țări	62000



1-SUA 2-India 3-China 4-Indonezia 5-Brazilia 6-Mexic 7-India 8-Rusia 9-Portugalia 10-alte tari

**Fig. 3.4: Distribuția producției mondiale de colofoniu pe zone geografice în anul 2000**

Așa după cum se observă atât din datele tabelului 3.2 cât și din figura 3.4 la ora actuală China este cel mai mare producător de colofoniu din lume și prin deducție și cel mai mare exportator. Datele de literatură prezentate în tabelele 3.3. și 3.4 confirmă această supoziție.

**Tabelul 3.3. Principalele companii importatoare de colofoniu din China, [30]**

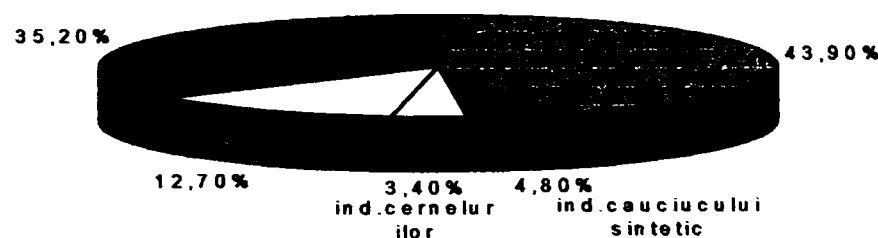
Nr. crt.	Țara importatoare	Compania importatoare	Cantitatea importată [tone/an]
1.	USA	1.Hercules & Co 2.Lawter	20000 10000
2.	Japonia	1.Alakawa 2.Mitsu	30000 10000-20000
3.	Germania	1.Hermann Ter Hell 2.Hoechst	30000 35000
4.	Marea Britanie	A.V.Pound	10000
5.	Elveția	Resina	10000
6.	Africa de Sud	Zhongran Company	8000

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.4. Destinația exportului de colofoniu chinezesc în perioada 1994-1999, [30]**

Țara (zona)/an	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Europa	122000	92900	68600	110300	151700	127000
Marea Britanie	38400	24700	30200	23300	13600	12100
Japonia	33300	49500	47400	36800	41500	66600
USA	12600	12700	1500	5500	11500	5400
Korea	11600	9800	7600	9000	11300	13100
Taiwan	15800	6900	2400	4300	5000	13100
Nigeria	3600	6500	7300	5100	4000	5100
Australia	2500	2100	1700	1100	1500	4600
Thailanda	2900	2100	1800	2500	1900	3900
Turcia	800	600	1700	1200	2100	2500
Altele	47400	7600	5700	5600	9800	7700
<b>Total</b>	<b>290900</b>	<b>215400</b>	<b>175900</b>	<b>204700</b>	<b>253900</b>	<b>261100</b>

Creșterea cantității de colofoniu în ultimii 20 de ani este explicată prin faptul, că la rândul lui acesta a început să fie o sursă de materie primă pentru diverse ramuri industriale după cum este relevant și în figura 3.5.

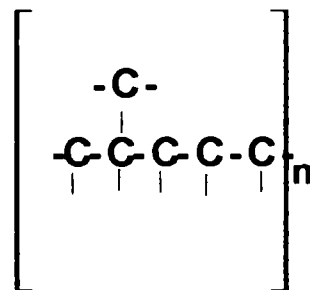


**Fig. 3.5: Principalele domenii de utilizare industrială a colofoniului**

În ceea ce privește producția de colofoniu românesc, aceasta s-a situat în anul 1988 în jurul valorii de 4000 tone iar importul de colofoniu chinezesc în același an s-a situat în jurul valorii de 1000 tone aceste cantități reușind să acopere necesitățile diverselor ramuri industriale. Cea mai mare cantitate de colofoniu era destinată industriei navale (47%), urmată de industria hârtiei (34%) a cauciucului sintetic (9%) a vopselelor și a cernelurilor pentru tipar (7%). Restul cantității a fost destinat ramurii electronice și industriei detergenților și produselor cosmetice [31]. A existat chiar tendința de a prelucra colofoniul brut în special cel importat cu scopul de a obține produse derivate care ulterior să fie exportate în țările din Comunitatea Europeană în special în Franța, Germania și Olanda. După 1990 producția de colofoniu autohton a înregistrat un recul la început mai slab până la jumătatea anului 1995 pentru ca după această dată scăderea producției să fie dramatică (900 tone/an, 1998) [32].

### 3. 2. Compoziția chimică a rășinii de conifere

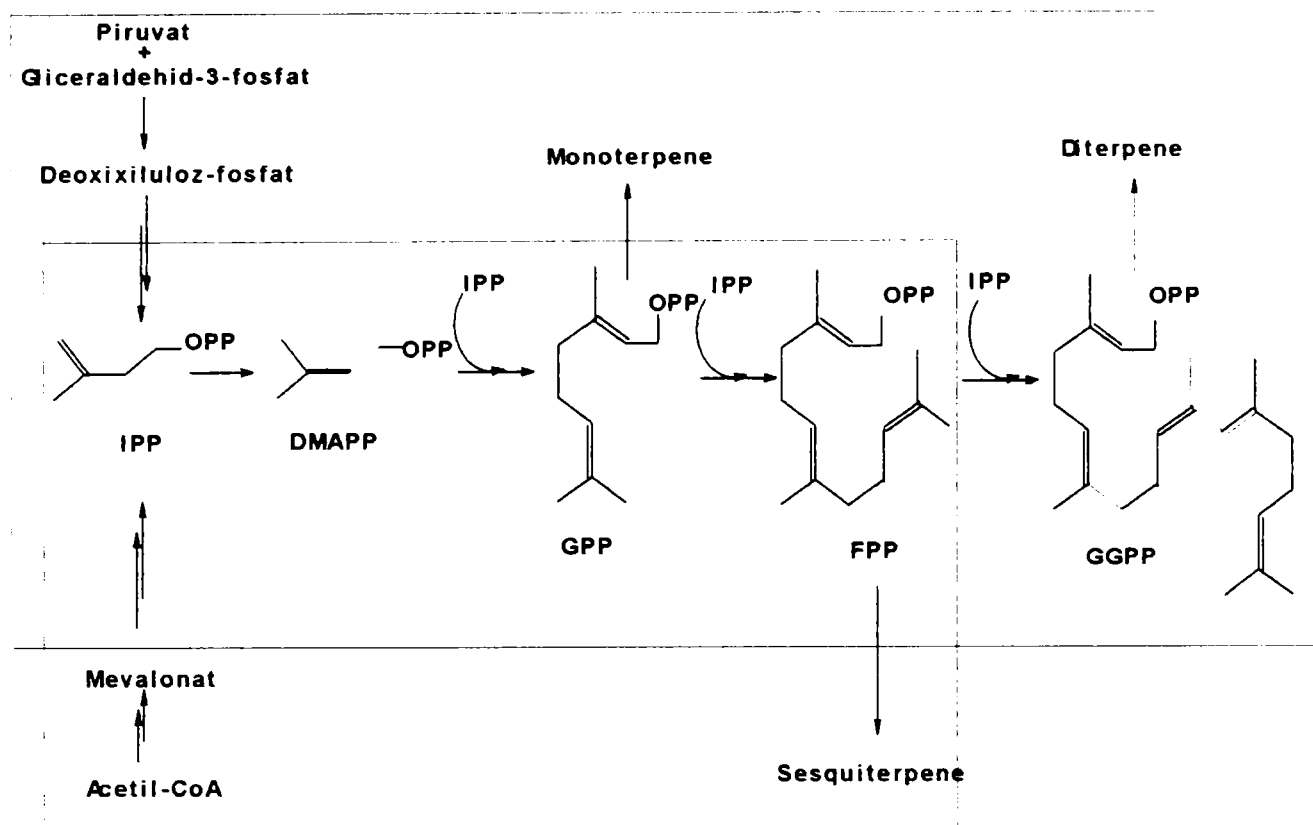
Din cele mai variate materiale vegetale au fost izolate încă de la începutul secolului numeroase hidrocarburi izomere cu formula moleculară  $C_{10}H_{16}$  numite *monoterpeni*. Tot în plante se găsesc *sesquiterpeni*  $C_{15}H_{24}$ , *diterpeni*  $C_{20}H_{32}$ , *triterpeni*  $C_{30}H_{46}$  [33,34]. În afară de aceste hidrocarburi sunt mai răspândiți în natură derivații lor oxigenați (alcooli, aldehide, cetone, epoxizi și acizi), uncori mai bogați sau mai săraci în hidrogen decât terpenii de bază, dar având același număr de atomi de carbon în molecule ca aceștia. Pentru toți acești produși naturali s-a introdus denumirea de *terpenoide*, compuși chimici ce conțin un schelet poliizopentanic prezentat mai jos:



aciclic sau ciclic. Atât terpenele cât și terpenoidele pot fi considerate ca fiind formate din două sau mai multe molecule de izopren unite prin legături 1-4 sau „cap la coadă” (*regula izoprenoidă*), care deși formală, a stat la baza clasificării acestei vaste clase de compuși naturali [35].



*Diterpenoidele* ( $C_{20}$ ) și *triterpenoidele* ( $C_{30}$ ) se obțin din gume și rășini vegetale nevolatile. În ceea ce privește biosinteza terpenelor, mulți ani s-a considerat că singura cale pentru producerea *izopentenil-difosfatului* (IPP) este cea a *acetat-mevalonatului*. Recent însă s-a dovedit că acest proces are loc la nivelul compartimentului reticular citosol-endoplasmatic al celulelor și țesutului vegetal. O cale alternativă care nu implică mevalonatul și care acționează la nivelul plastidelor plantelor superioare, este calea *piruvat-gliceraldehid-3-fosfat*, responsabilă de asemenea pentru producerea precursorului IPP [36]. După producerea IPP-ului și a *dimetil-alil-difosfatului* (DMAPP) prin izomerizarea IPP la nivel subcelular, au loc o serie de reacții de condensare a unităților  $C_5$  sub acțiunea unor enzime specifice numite *preniltransferaze*. Aceste reacții de condensare implică de fapt adăugarea a una, două, trei unități IPP la DMAPP pentru a genera precursorii specifici biosintezei fiecărei clase de terpene: *geranil-difosfat* (GPP), pentru monoterpene, *farnesil-difosfat* (FPP), pentru sesquiterpene și *geranil-geranil-difosfat* (GGPP), pentru diterpene (figura 3.6).



**Fig. 3.6: Principalele căi de biosinteză a precursorilor terpenelor în conifere**

Notă: **IPP**- izopentenil-difosfatului; **DMAPP**-dimetil-alil-difosfatului; **FPP**- farnesil-difosfat  
**GPP**-geranil- difosfat; **GGPP**-geranil-geranil- difosfat

După obținerea precursorilor aciclici, mono-sesqui- și diterpenele sunt generate sub acțiunea unor enzime specifice denumite terpensintaze (ciclaze) prin mecanismul reacțiilor de adiție electrofile specifice acestui tip de biosinteză [37, 38].

Din numărul mare de terpene și terpenoide care se cunosc la ora actuală în natură, se vor prezenta în continuare doar aceia care se găsesc în rășina de conifere din specia *Pinus*.

Compoziția oleorezinei de conifere studiată de o serie de cercetători [39, 40, 41, 42, 43], este formată în principal din monoterpene, sesquiterpene, acizi rezinici și uneori diterpene neutre.

Fracțiunea de terebentină formată în principal din mono- și sesquiterpene conține atât compuși cu caracter toxic pentru insecte și microorganisme patogene (*limonen*, *3-caren*) dar și alți agenți biologic activi care adesea acționează sinergetic pentru a descuraja apropierea insectelor de copaci. De asemenea, mono- și sesquiterpenele acționează și ca solvent pentru transportul acizilor rezinici cu masă moleculară mare la locul unde trunchiul lemnos a fost rănit de atacul insectelor sau al organismelor patogene. Sub acțiunea oxigenului atmosferic fracțiunea volatilă de mono- și sesquiterpene se evaporă lăsând o masă semicristalină de acizi rezinici care prin reacții de polimerizare oxidativă formează o barieră protectoare [44].

Totodată, studiile efectuate au demonstrat că din punct de vedere cantitativ componentele terpenice din oleorezină diferă de la o specie de pin la alta, de la o zonă geografică la alta și mai mult chiar de la un anotimp la altul în cazul în care recoltarea rășinii s-a realizat pe parcursul a diferite luni dintr-un an calendaristic de la o singură specie de conifer așa cum par să evidențieze rezultatele experimentale efectuate de Jantan, Song, Arrabal [20, 45, 46] rezultate prezentate în tabelele 3.5, 3.6 și 3.7.

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.5. Diferențele existente între speciile de pin din diferitele regiuni ale lumii, [20]**

Zona geografică	China		SUA	Europa
Reprezentantul speciei	P. massoniana Lamb	P.elliotti Engelm	P.virginiana Mill	P.occarpa Schiede
Genul de care aparține	Sylvestris	Australes	Contortae	Oocarpe
Alfa-pinen [%]	31.7	15.2	19.8	24.7
Beta-pinen [%]	1,2	12,4	16	0,2
Longifolen [%]	9,5	0	0	3,7
Cariopilen [%]	1,4	0	0	urme
Nr.de componente testate	39	24	25	33
Monoterpene [%]	34.3	32	37.6	26.3
Sesquiterpene [%]	13,7	0	0	4,1
Diterpene [%]	51,9	67,5	61,7	69,1

**Tabelul 3.6. Compoziția oleorezinei din specii de pin chinezesc, (%), [45]**

Specia Componente	1	2	3	4	5	6
Alfa-pinen	31.7	37.4	38.8	38.5	15,2	21.8
Camfen	0,5	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3
Beta-pinen	1,2	0,3	0,4	2,0	12,4	2,3
Mircen	0,4	0,2	0,5	0,5	0,4	0,6
Dipenten	0,5	0,2	0,5	1,7	3,2	0,8
Alfa-terpinen	urme	0,1	0,1	0,1	urme	0,1
Longifolen	9,5	-	2,1	-	-	1,7
β-trans Cargofilen	1,4	urme	urme	urme	-	0,3
Farnesen	0,5	0,3	0,1	0,1	-	0,2
8,15acid isopimaric	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0
acid pimaric	0,1	0,3	0,2	0,7	0,9	0,4
acid comunic	4,1	0,1	4,1	2,9	2,8	2,6
sandaracopimaric	1,3	3,7	1,2	1,4	3,8	1,3
acid isopimaric	0,2	10,9	1,1	1,4	11,2	14,0
acid levopimaric	21,5	24,3	28,5	31,0	26,0	7,7
acid dehidroabietic	1,7	1,2	2,7	2,6	2,05	0,7
acid abietic	10,9	8,2	8,2	5,5	4,7	20,1
acid neoabietic	9,9	2,7	8,5	8,7	11,3	4,2
acid mercusic	-	8,2	-	-	-	-

1. P.massoniana; 2. P.latteri; 3. P.kesiya var. langbianensis; 4. P.yunanensis; 5. P. Elliottii; 6.P.armandi



## CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Tabelul 3.7. Compoziția chimică a oleorezinei din *P. Pinaster* recoltată în luni diferite, [46]

Nr.crt.	Componente	Iunie [%]	Septembrie [%]	Noiembrie [%]
	<b>Monoterpene</b>			
1.	$\alpha$ - pinen	70,26	65,34	73,99
2.	canfen	0,63	0,61	0,69
3.	$\beta$ - pinen	18,60	24,13	14,27
4.	mircen	0,88	0,82	0,49
5.	$\alpha$ - felandren	0,07	urme	urme
6.	limonen	1,78	1,55	1,35
7.	$\alpha$ - terpinolen	0,67	0,32	1,01
8.	borneol	0,10	urme	urme
	<b>Sesquiterpene</b>			
9.	$\alpha$ - cupiden	0,11	0,23	0,05
10.	$\alpha$ - copen	0,14	0,14	0,04
11.	$\alpha$ - humulen	0,39	0,38	0,45
12.	$\gamma$ - cadinen	0,85	0,76	0,96
13.	$\delta$ - cadinen	urme	urme	urme
14.	longifolen	1,87	1,85	1,69
	<b>Diterpene neutre</b>			
15.	Isoabienol	1,07	0,64	1,21
16.	Noradiol	0,11	0,13	0,48
17.	Abienol	0,36	0,33	1,01
18.	Pimarinal	0,61	0,53	0,43
19.	Isopimarinal	0,82	0,91	0,80
	<b>Acizi rezinici</b>			
20.	acid isopimaric	8,48	6,04	9,47
21.	acid palustic și acid levopimaric	42,3	45,99	38,51
22.	acid dehidroabietic	13,36	3,40	3,77
23.	acid abietic	17,72	14,01	13,38
24.	acid neoabietic	0,68	16,69	17,26
25.	7,13,15abietatrienoic	0,68	0,63	0,81

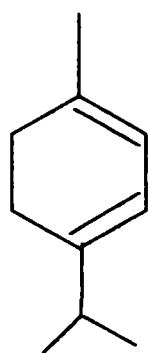
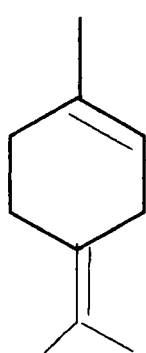
De asemenea s-a constatat că în urma procesului de distilare a oleorezinei fracțiunea mono- și sesquiterpenică trece în uleiul de terebentinei iar cea mai mare parte a acizilor rezinici rămâne în reziduu (aprox.90%). Compoziția uleiului de terebentină este dependentă de specia de pin și de zona geografică de răspândire a plantațiilor de pin [47]. Spre exemplificare fracția monoterpentică din uleiul de terebentină obținut din rășina de *P. balfourniana* conține aprox. 81%  $\alpha$ - pinen și doar 1,9%  $\beta$ - pinen în timp ce cea din *P. pseudotsuga menziesii* conține 31%  $\alpha$ - pinen și 36%  $\beta$ - pinen. O variație mai mare găsim în cazul uleiului de terebentină din *P.heldreichii* care conține 82,8% limonen și doar 11,5% pineni [46].

## 3.2.1. Monoterpenele din oleorezină

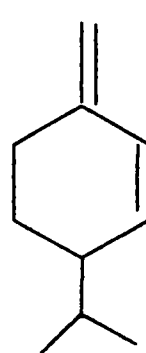
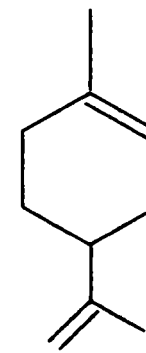
Monoterpenele se găsesc peste tot în natură și în marea majoritate a plantelor, din care cauză au fost exploatate încă din antichitate la obținerea parfumurilor, esențelor, a substanțelor fungicide, în recepturi farmaceutice sau ca materiale izolante. Mulți din reprezentanții acestei clase continuă să fie folosiți și astăzi în aceleași direcții, dar în schimb unele dintre ele au început să fie considerate materii prime pentru sinteza comercială a numeroase produse de înaltă valoare [48].

Prin definiție o monoterpene este un compus format din două unități de isopren totalizând cel puțin 10 atomi de carbon, scheletul de atomi de carbon putând fi atât ciclic cât și aciclic. În rășina de conifere și în pulpa lemnoasă abundă monoterpenele ciclice cu un singur inel dar mai ales cele biciclice. Un exemplu de monoterpene monociclică prezentă în cantități semnificative în unele specii de pin (*P. Pinea*, *P. Pinaceana*, *P. Lumholtzi*) este limonenul (figura 3.7). Alte exemple sunt  $\alpha$ -terpinolenul, (figura 3.7) semnificativ în *P.Sylvestris*;  $\beta$ - felandrenul (figura 3.7) component majoritar în *P. contorta*, iar terpinolenul se găsește ca și component minoritar în aproape toate speciile de pin [49].

## Monoterpene monociclice

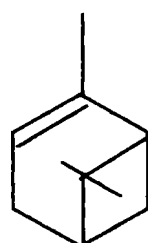
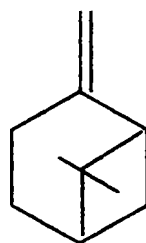
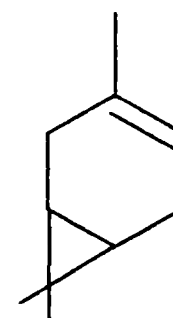
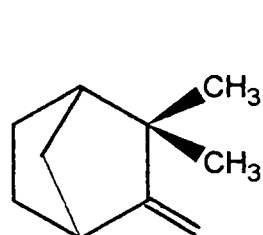
 $\alpha$  - terpinen

terpinolen

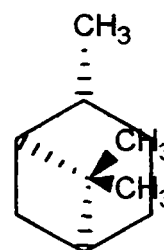
 $\beta$  - felandren

limonen

## Monoterpene biciclice

 $\alpha$  - pinen $\beta$  - pinen $\Delta^3$  - caren

camfen



cis-pinan

Fig. 3.7: Structurile moleculare ale principalilor componenți monoterpici din oleorezină

Terpenii biciclici din natură au o legătură dublă. Ei aparțin la șapte sisteme fundamentale saturate (figura 3.8), cu inel de șase atomi (turan, caran, pinan, isocamfan, fenchan, isobornilan) [35].

În rășina de conifere se găsesc doar terpenii din grupa turanului, caranului și a pinanului (figura 3.8). Categoria chimică cunoscută sub denumirea de "monoterpene biciclice" din rășina de conifere include 6 compuși simpli din clasa hidrocarburilor terpenice, 4 amestecuri alcătuite în principal din  $\alpha$ - și  $\beta$ -pinen alături de alte monoterpene mono- și biciclice, precum și alte 4 tipuri de hidrocarburi terpenice în cantități mai mici.

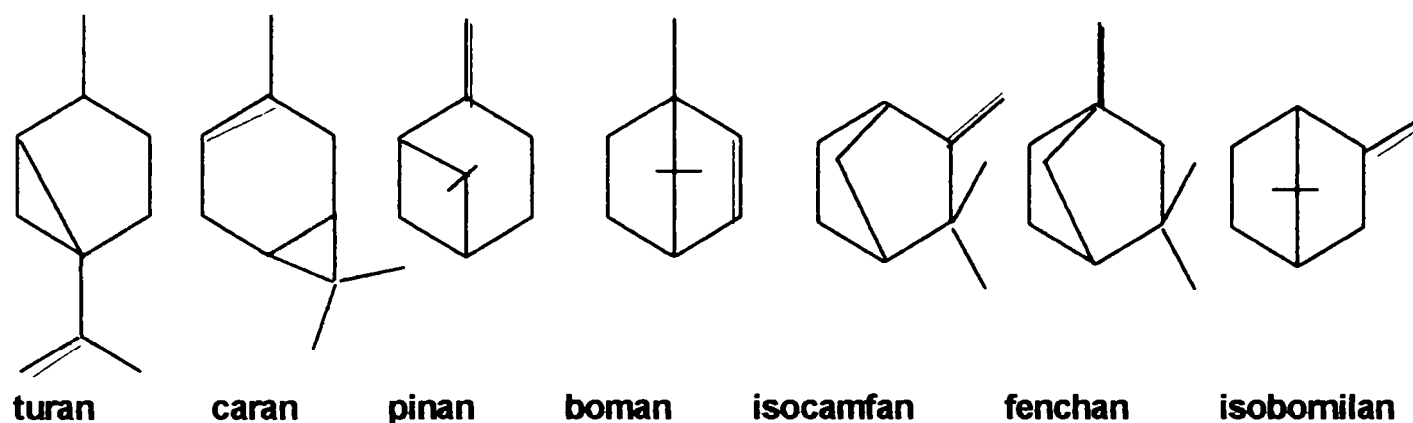


Fig. 3.8: Principalele grupe fundamentale de monoterpene biciclice

$\alpha$ - și  $\beta$ - Pinenul (figura 3.7) sunt monoterpene biciclice nesaturate, fiind din punct de vedere chimic izomeri de poziție.  $\alpha$ - Pinenul este 2,6,6-trimetil biciclo[3.1.1] 2 heptenă, în timp ce  $\beta$ - pinenul este 2 metilen-6,6, dimetil biciclo [3.1.1] heptanul.

Camfenul (figura 3.7) este 3-metilen- 2,2 dimetilbiciclo [2.2.1]heptan și este înrudit cu  $\beta$ - pinenul atât datorită faptului că ambii compuși au un schelet de 10 atomi de carbon dar și datorită faptului că ambii conțin un radical metilen în afara ciclului.

1- $\alpha$ - Pinenul este izomerul levogir al  $\alpha$ - pinenului.

Cis-pinanul (figura 3.7) și dihidropinenul reprezintă derivații saturați ai  $\alpha$ - și  $\beta$ - pinenului. Ei diferă doar prin faptul că cis-pinanul este unul din cei doi diasteroizomeri ai dihidropinenului în care gruparea 2-metil se găsește în poziția *cis* față de celălalt metil geamăn. Dintre cei 6 compuși monoterpencici biciclici  $\alpha$ - pinenul este de departe cel mai răspândit component în oleorezină, amestecurile de (+), (-)  $\alpha$ - pinen reprezentând aproximativ 60-80% din cantitatea de monoterpene din oleorezină dar și din uleiul de pin (produs secundar de la fabricarea pastei de hârtie și materie primă pentru obținerea colofoniului). Izomerul dextrogir al  $\alpha$ - pinenului poate fi găsit în concentrații de până la 95% în oleorezina speciilor de pin originari din Turcia în timp ce izomerul său levogir predomină în concentrații de 90-96% în rășina speciilor de pin din Spania și Austria [50].

Cele patru tipuri de amestecuri de terpene sunt formate în principal din  $\alpha$ - și  $\beta$ - pinen, acestea atingând împreună până la 80% din total amestec, restul fiind reprezentat fie de alte monoterpene biciclice (camfen, caren, etc.) fie de monoterpene monociclice (limonen) sau chiar de hidrocarburi aromatice (*p*-cimen) și terpenoide din clasa alcoolilor terțiari. Două din aceste amestecuri constituie producții clasice de distilare ai terebentinei, unul dintre ele fiind bogat în  $\alpha$ - pinen. (92-97%), CAS [65996-96-5], iar celălalt este bogat în  $\beta$ - pinen. (78-81%), CAS [65996-97-6]. Celelalte două tipuri reprezintă variante ale terebentinei cu utilizări în industria lacurilor și vopselelor [51, 52].

Monoterpenele prezente în rășina de pin se formează direct din precursorul aciclic geranil-difosfat (GPP) sub acțiunea enzimelor monoterpenciclaze fie la nivel plastidic fie la nivel celular. Astfel după generarea carbocationului intermediar prin ionizarea geranil-difosfatului, acesta suferă o adiție internă (ciclizare) la cele două duble legături. Aceste ciclizări sunt adesea însoțite de o serie de alte fenomene cum ar fi migrarea radicalului metil, transpoziția ionului hidrură înainte ca secvența de reacție să fie completă prin deprotonare sau cuplarea carbocationului cu un reactant nucleofil, cel mai adesea apa. În cazul unor specii de conifere, reacția conduce la formarea doar a unui singur izomer, fie  $\alpha$ - fie  $\beta$ - pinen. (figura 3.9) pe când în alte cazuri, aceeași reacție catalizată de aceleași enzime, conduce la formarea amestecului de izomeri, exemplul cel mai concludent fiind dat de biosinteza  $\alpha$ - și  $\beta$ - pinenului în *Abies grandis* într-un raport fix de 2:3 [53].

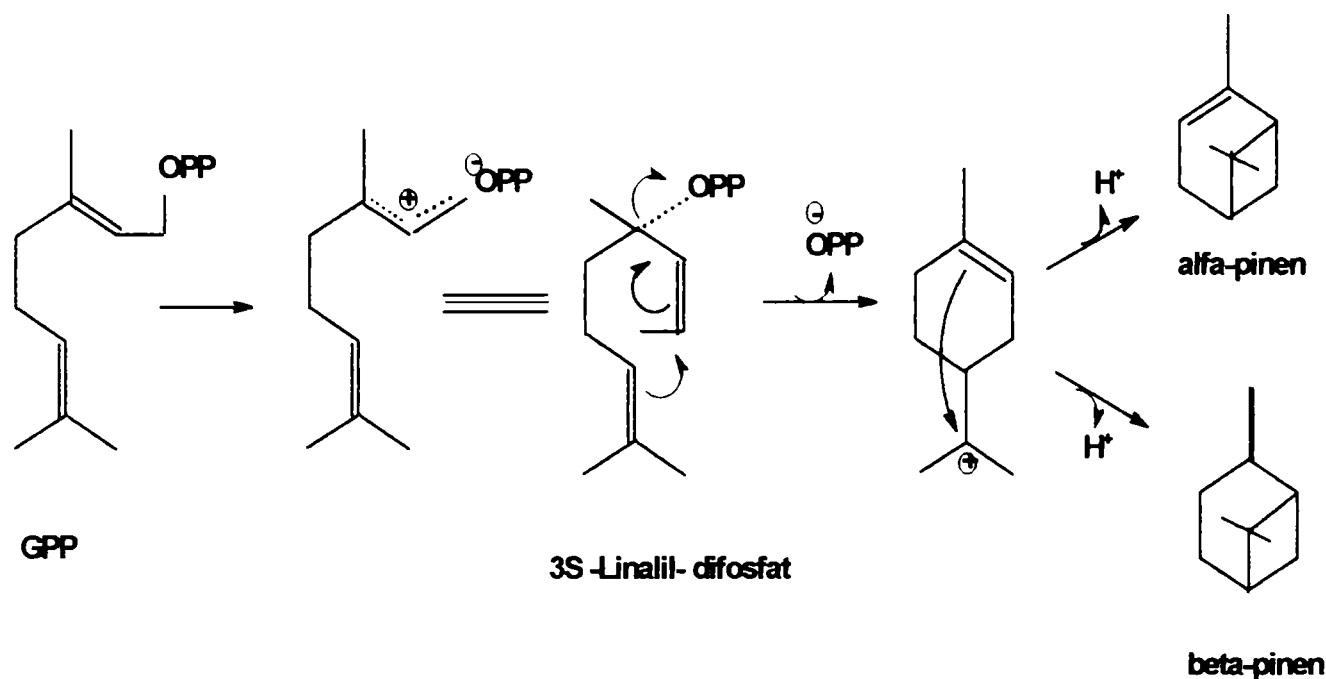


Fig. 3.9: Mecanismul reacției de ciclizare a geranil-difosfatului la  $\alpha$ - și  $\beta$ -pinen

Monoterpenele au în general toate o aromă puternică de brad chiar și la concentrații mai scăzute, motiv pentru care ele sunt ușor de recunoscut. În tabelul 3.8 sunt prezentate valorile unor caracteristici fizice ale  $\alpha$ - și  $\beta$ -pinenului, camfenului și cis-pinanului [54,55].

Tabelul 3.8. Caracteristicile fizice ale monoterpenelor prezente în rășina de pin, [54, 55]

Nr. crt	Component	Pct.de topire [°C]	Pct.de fierbere [°C/760mmHg]	Solub. în apă * [mg/l la 20°C]	Pres.vaporilor [mmHg/25°C]
1.	$\alpha$ -pinenului	-55	155-156	0,65	0,18-0,41
2.	camfen	-51-52	158,5-159,5	4,2	2,8
3.	cis-pinan	-53	169	0,5	-
4.	$\beta$ -pinen	-	165-166	2	0,18-0,41
5.	1- $\alpha$ -pinenului	-	-	0,5-0,6	-
6.	dihidropinen	-	164,5-165	0,5-0,6	-

Monoterpenele prezente în rășina de pin nu prezintă o reactivitate prea mare față de metale și mulți dintre polimerii lor sunt folosiți ca și curățitori în industria petrolieră și a circuitelor electronice. De asemenea în timpul ultimilor ani foarte multe studii au fost efectuate în direcția stabilirii activității antimicrobiene a monoterpenelor prezente în rășina de conifere [56-59]. Un exemplu care confirmă imensul potențial pe care monoterpenele din conifere îl au în dezvoltarea unor produse biologic active și totodată ecologice cu rol în distrugerea dăunătorilor care afectează uneori iremediabil pădurile de conifere îl constituie studiul amănunțit efectuat de Byers [60]. Acesta a constatat că în cazul expunerii coloniilor de fungi și/sau insecte care atacă trunchiul de lemn de conifere, unei atmosfere saturate în vapori de monoterpene izolate din rășina de *Pinus Pinea*, creșterea coloniilor este inhibată în unele cazuri complet iar insectele și larvele lor sunt distruse în proporție foarte mare. Camfenul s-a dovedit a fi cel mai puțin inhibitor,  $\alpha$ -pinenul are o activitate antifungică moderată în timp ce  $\beta$ -pinenul,  $\beta$ -felandrenul și 3-carenul au un caracter inhibitoriu puternic. Mircenul și limonenul s-au dovedit a fi cei mai toxici pentru insecte. În cazul în care aceiași reprezentanți au fost testați în mod individual pe medii de cultură ale aceluiași specii de fungi, mircenul și  $\beta$ -felandrenul s-au dovedit a fi cei mai toxici pentru majoritatea speciilor de fungi în timp ce  $\alpha$ -pinenul doar a încetinit dezvoltarea dar nu a inhibat-o. O posibilă explicație a acestui comportament contradictoriu pentru unii din reprezentanții fracției monoterpenice ai rășinii de pin ar fi că amestecul de monoterpene testate conține nu numai enantiomerul levogir al  $\alpha$ -pinenului dar și enantiomerul dextrogir care este mult mai toxic față de organismele vii [61]. De asemenea fracția monoterpenică din compoziția multor rășini de pin pare să

641.040  
369 A1  
Universitatea tehnică  
TIMIȘOARA  
Biblioteca centrală

favorizeze la rândul ei biosinteza unor compuși fenolici cum ar fi pinasilvanul care la rândul său are un caracter antifungic puternic [62].

### 3.2.2. Sesquiterpenele din oleorezină

Sesquiterpenele sunt compuși naturali formați prin unirea în relația "cap la coadă" a trei unități izoprenice în conformitate cu regula izoprenică, radicalul *izopropil* din 2 metil- butan fiind "capul" iar radicalul *etil* "coada". Numărul de ciclizări posibile ca și modificările secundare ulterioare care pot avea loc în cadrul acestei clase de substanțe naturale este impresionant. Astfel la ora actuală au fost izolați din cele mai diverse plante și analizați prin metode moderne peste 2500 de reprezentanți corespunzând la cel puțin 120 de tipuri de schelete de atomi de carbon. Deși în rășina de conifere fracțiunea sesquiterpenică se găsește în concentrații mici 2-5% în medie, mai rar în unele specii de pin în concentrații de 10%, totuși grație metodelor moderne de izolare și analiză (HPLC preparativă, GC-SM, RMN, EI-SM) s-au putut identifica aproximativ 45 de compuși sesquiterpenici [63, 64]. Cu toate că se găsesc în cantități mici în rășina de conifere, reprezentanții acestei clase (figura 3.10) joacă un rol decisiv în protejarea trunchiului de copac de atacul insectelor și microorganismelor. De asemenea unii din reprezentanții acestei fracțiuni sunt responsabili de producerea aromelor și esențelor caracteristice coniferelor [65].

Un exemplu de sesquiterpenă care este majoritară în aproape toate speciile de pin îl constituie *longifolenul* (figura 3.10). În cazul speciilor de pin răspândiți în China și Malaysia (*P. merkusii*, *P. insularis*), componenții majoritari din această grupă sunt *longipinenul* și *β-cariofilenul* (9,5%), în schimb în cazul speciilor din SUA, predominanți sunt *γ-humulenul* și *δ-selinenul* (9-10%). Ca și componenți minoritari prezenți în toate speciile de pin pot fi amintiți *β-farnesenul* și *α-bisabolenu*.

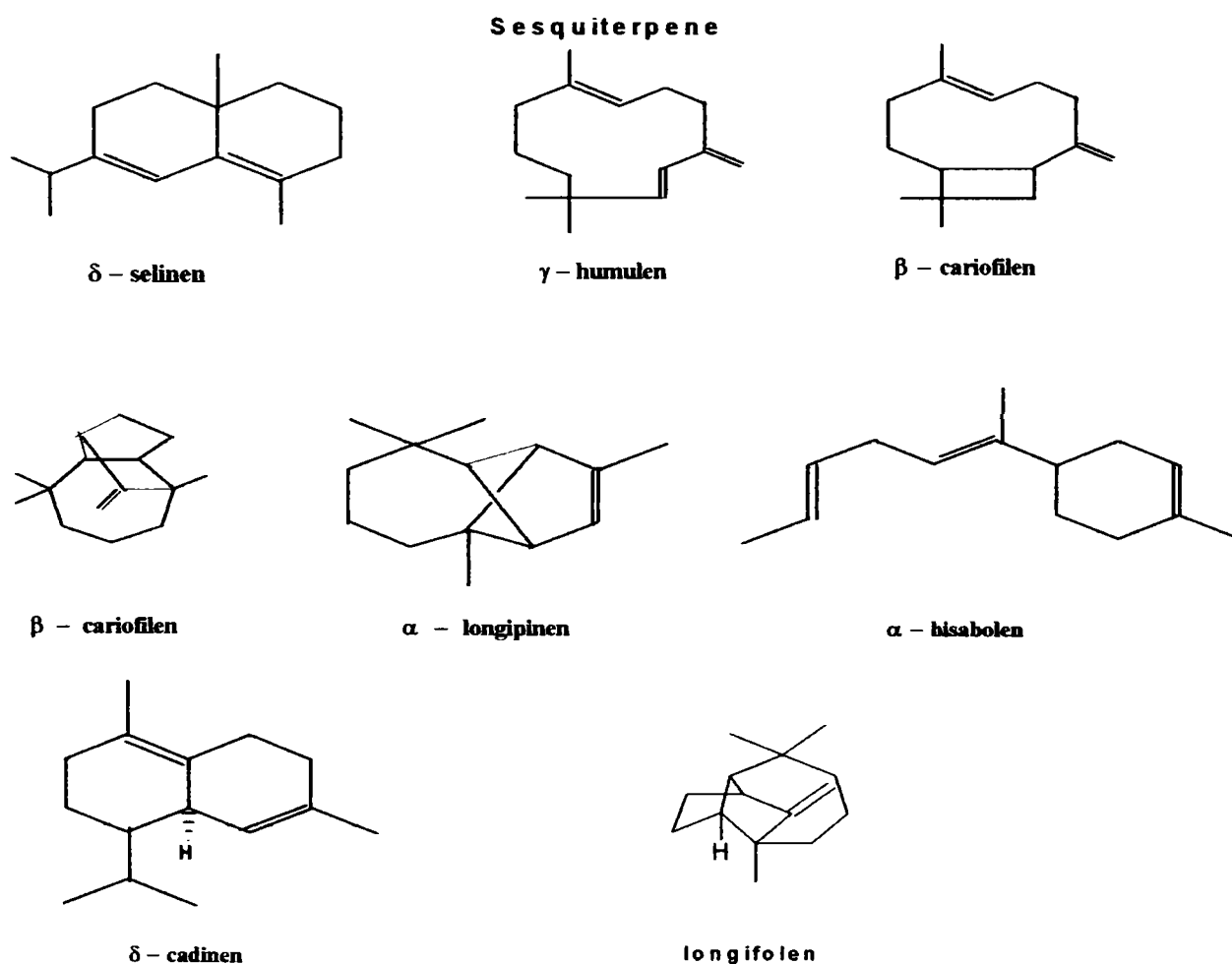


Fig.3.10: Structurile moleculare ale principalii reprezentanți sesquiterpenici din rășina de conifere

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

În conformitate cu regula izoprenică, formarea sesquiterpenelor ciclice are la bază transformarea biochimică a *farnesil-difosfatului* (FPP) prin reacții de ciclizare catalizate de enzime specifice, denumite sesquiterpensintaze. Acești catalizatori naturali sunt în general produși proteici cu masă moleculară cuprinsă între 40 000-70 000, cu un slab caracter lipofilic și care nu necesită alți cofactori decât ionii metalici bivalenți, de regulă  $Mg^{2+}$  sau  $Mn^{2+}$ .

Reacțiile de ciclizare în cazul sesquiterpenelor pot fi mult mai complexe decât în cazul biosintezei monoterpenelor din cauza flexibilității crescute și a numărului de duble legături din lanțul scheletic. Se admite astăzi, că primul pas în formarea enzimatică a sesquiterpenelor este ionizarea *trans,trans* *farnesil-difosfatului* la perechea de ioni carbocation-anion *alil-difosfat*, pas urmat apoi de transformările cationice implicând ciclizări și rearanjări ulterioare inclusiv migrări ale radicalului metil sau schimbări ale poziției sarcinii pozitive, culminate cu neutralizarea acestei sarcini fie prin pierderea unui proton fie prin legarea carbocationului de un reactant nucleofil exterior (apa, sau chiar anionul inițial difosfat). Deoarece formarea directă a ciclului de 6 atomi din precursorul aciclic *farnesil-difosfat* (FPP), este imposibilă din punct de vedere geometric, acesta suferă inițial o izomerizare de poziție când se formează *nerolidil-difosfatul* (NPP) care are reactivitatea și conformația geometrică adecvată pentru a se cicliza [66, 67, 68]. Croteau și colaboratorii, [69], studiind conversia enzimatică a  $[1-^3H]$ -FPP la *humulen* și respectiv la  $\beta$ -*cariofilenul*, au constatat că procesul începe cu ciclizarea *farnesil-difosfatului* la carbocationul *humulil* (1) care ulterior fie pierde un proton de la carbonul C-9 formând direct *humulemul* (2) sau are loc în continuare o nouă ciclizare prin atac electrofil al unui proton la dubla legătură din poziția 2,3 cu formarea carbocationului  $\beta$ -*cariofilil* (3), ciclizare urmată de pierderea unui proton când rezultă  $\beta$ -*cariofilenul* (4) după cum este exemplificat și în figura 3.11

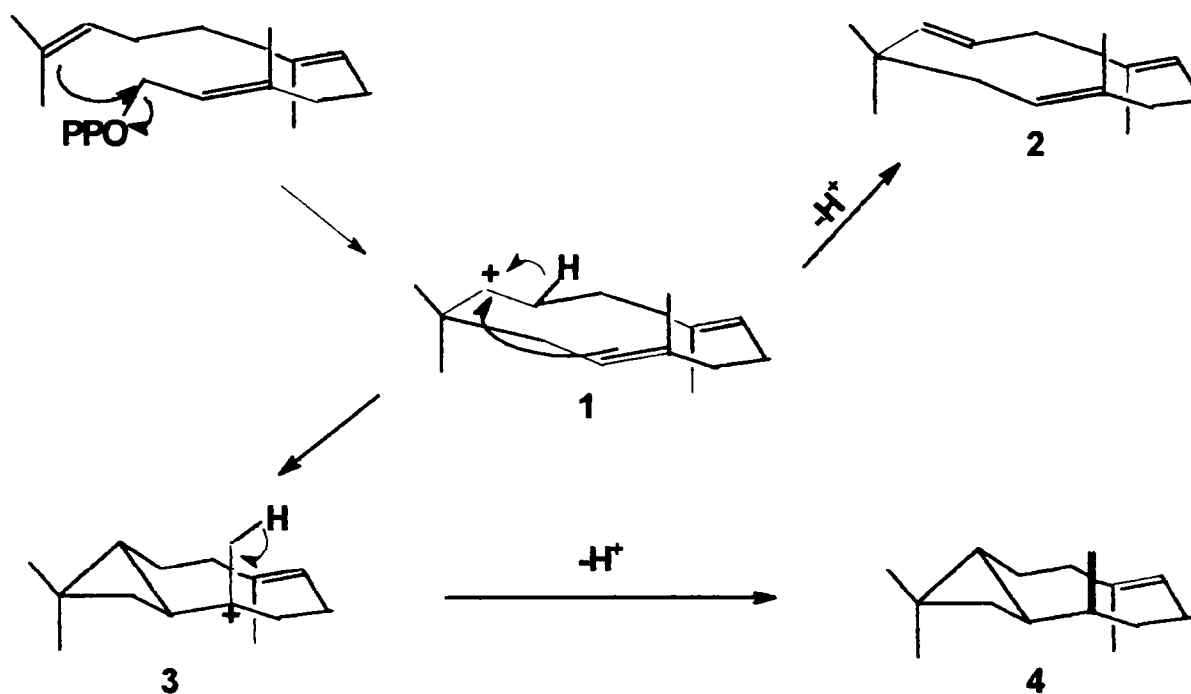


Fig. 3.11: Biosinteza humulenului și a cariofilenului în conifere

Deși studiile efectuate pentru descifrarea mecanismului reacției de biosinteză a  $\beta$ -*selinenui* sunt încă la început, se crede că scheletul biciclic al acestuia ar putea rezulta prin ciclizarea *geranil-difosfatului* la carbocationul eudesman (6) via germacren A (5), ciclizare urmată de deprotonare. În figura 3.12 este prezentată schema de biosinteză a  $\beta$ -*selinenui* (7).

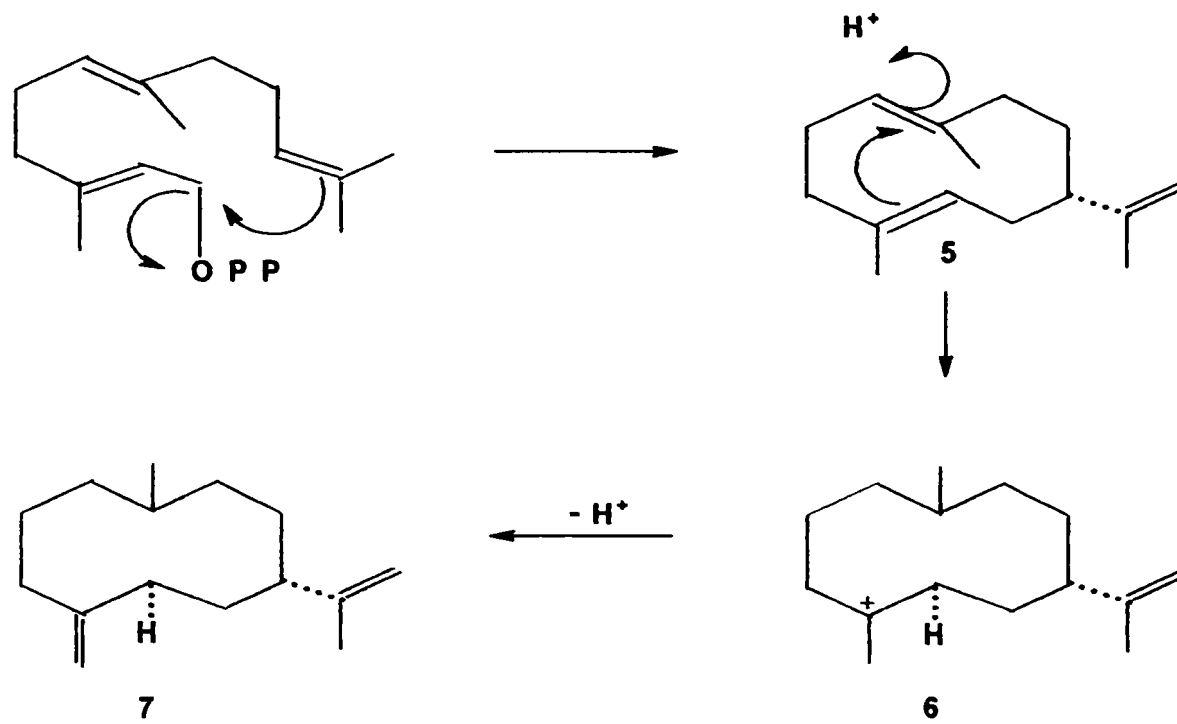


Fig. 3.12: Biosinteza  $\beta$ -selinenul în conifere

Biosinteza  $\delta$ -cadinenului a fost studiată de Benedict și colaboratorii [70]. Formarea sa pare să înceapă cu izomerizarea farnesil-difosfatului (FPP) la nerolidil- difosfat (NPP) urmată de ciclizare la carbocationul cis,trans- helmintogermacradienil (8), transformare care este însoțită de o schimbare în poziția 1-3. Procesul este definitivat prin rearanjări în interiorul ciclurilor și deprotonări care conduc în final la obținerea  $\delta$ -cadinenului (9).

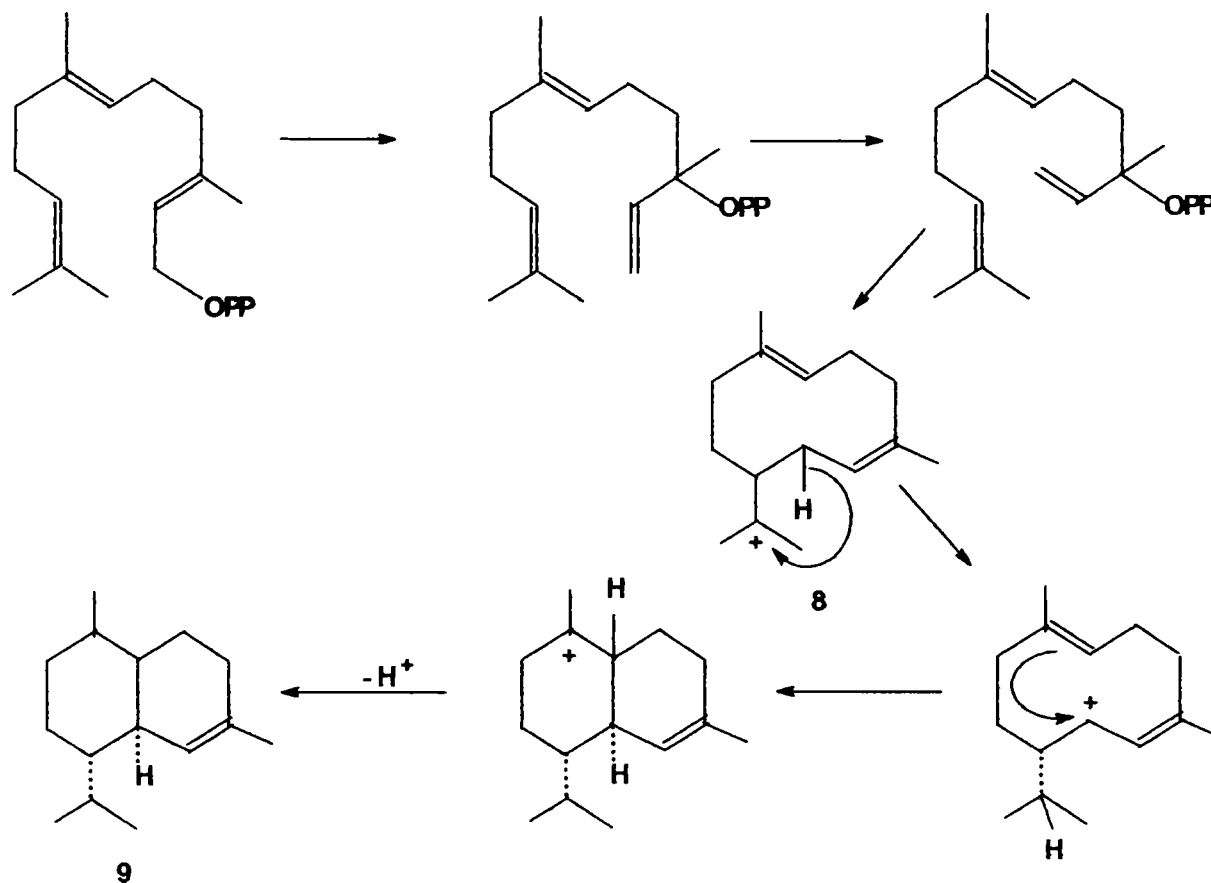


Fig. 3.13: Biosinteza  $\delta$ -cadinenului în conifere

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Izolarea și identificarea acestor sesquiterpeni a ridicat și ridică încă numeroase întrebări pentru cercetători, una dintre cele mai frecvente fiind: 'De ce plantele, fungii, insectele produc sesquiterpene ca și metaboliți secundari?'. Răspunsurile la această întrebare iau în considerare fie posibilul rol pe care unii din compușii acestei clase îl au ca ferohormoni, fiind astfel responsabili de comunicarea între indivizii aceleiași specii, fie pe cel de apărare prin prisma caracteristicilor senzoriale specifice pe care le au unii dintre ei (miros și aromă respingătoare uneori cu tendință lacrimogenă și chiar toxică față de atacatori) [71]. Nu trebuie neglijat nici rolul pur științific pe care această clasă de compuși naturali pare să îl aibe prin structura complexă a reprezentanților.

Astfel, structurile multor sesquiterpene pot servi ca prototipuri pentru chimiștii organicieni în proiectarea unor agenți biologic activi sau cu potențial chemoterapeutic superior. De asemenea, specialiștii în producerea aromelor și esențelor naturale pot folosi avantajul dat de stucturile unor sesquiterpene pentru a produce compuși cu proprietăți aromatice îmbunătățite [72].

#### 3.2.3. Acizii rezinici din oleorezină

##### 3.2.3.1. Nomenclatura și biosinteza acizilor rezinici

În rășina de conifere se găsesc în cantitate relativ mică compuși hidrocarbonați cu formula moleculară  $C_{20}H_{32}$  numite diterpene în schimb însă, se găsesc în cantitate apreciabilă derivații lor oxigenați în special carboxilați care se cunosc sub denumirea de acizi rezinici primari [19]. Astăzi se cunoaște că motivul pentru care speciile de conifere secretă acizi rezinici alături de mono- și sesquiterpene în ceea ce generic este cunoscut sub denumirea de oleorezină, este acela de apărare împotriva insectelor, larvelor acestora și a microorganismelor patogene care atacă scoarța copacului, dar totodată și de vindecare a rănilor apărute pe suprafață în cazul în care atacul a avut loc [73,74]. Spre deosebire de rășinile secretate de alte plante sau insecte din aceleași motive, oleorezina de conifere este produsă în cantități relativ constante indiferent de gravitatea răni [75], perioada de secreție este mai lungă (7-10 zile) [76], iar mecanismul prin care rășina asigură vindecarea rănilor produse de dăunători este acela de solidificare a acizilor rezinici pe măsură ce se evaporă terebentina. Acizii rezinici sau diterpenici prezenți în porțiunea nevolatilă a oleorezinei aparțin la două tipuri: pimaric și abietic (figura 3.14).

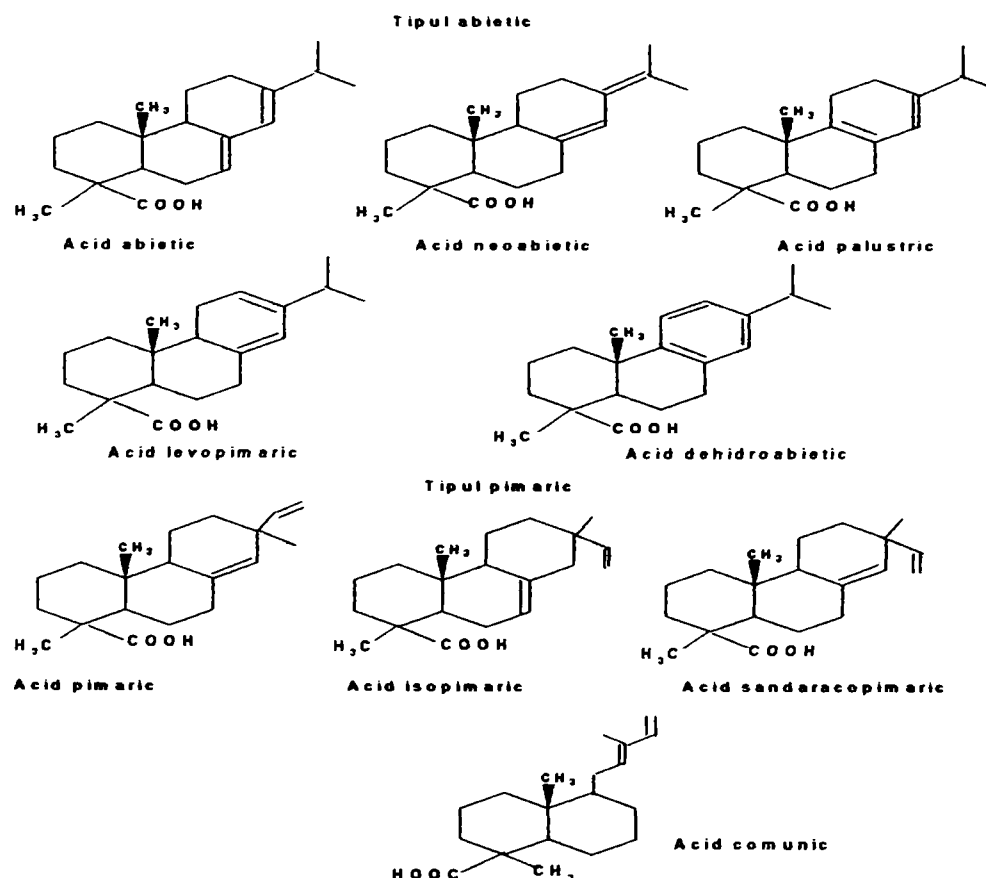


Fig 3.14: Principalele tipuri de acizi rezinici prezenți în conifere



### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Acizii rezinici se cunosc încă din secolul XIX, dar chimia acestor diterpenoide a luat o dezvoltare abia în "anii 30" odată cu elucidarea structurii acidului abietic [77], cel dintâi izolat din rășina de *Pinus abies*.

Studiul biosintezei acizilor rezinici a marcat progrese uimitoare la "mijlocul anilor '90" [78, 79, 80, 81, 82], precursorul formării scheletului de atomi de carbon pentru această clasă de terpene fiind *geranil-geranil-difosfatul* (GGPP) (fig.3.6). În acest caz pot avea loc două tipuri de ciclizări, uneori în cadrul aceleiași secvențe. Primul tip implică ionizarea *geranil-geranil-difosfatul* (GGPP) pentru a forma un carbocation reactiv, similar ca la biosinteza mono- și sesquiterpenelor, în timp ce al doilea tip de ciclizare este mai complex și la rândul său cuprinde două etape. În prima etapă protonarea la dubla legătură terminală din structura *geranil-geranil-difosfatul* (GGPP), conduce la ionul intermediar, *pimarenil*; ionizarea acestui ester difosfat în a doua etapă inițiază a doua secvență de ciclizare care adeseori este însoțită de rearanjări în interiorul nucleelor. Pentru exemplificare în figura 3.15 se redă mecanismul biosintezei abietadienei și respectiv al acizilor abietic și dehidroabietic.

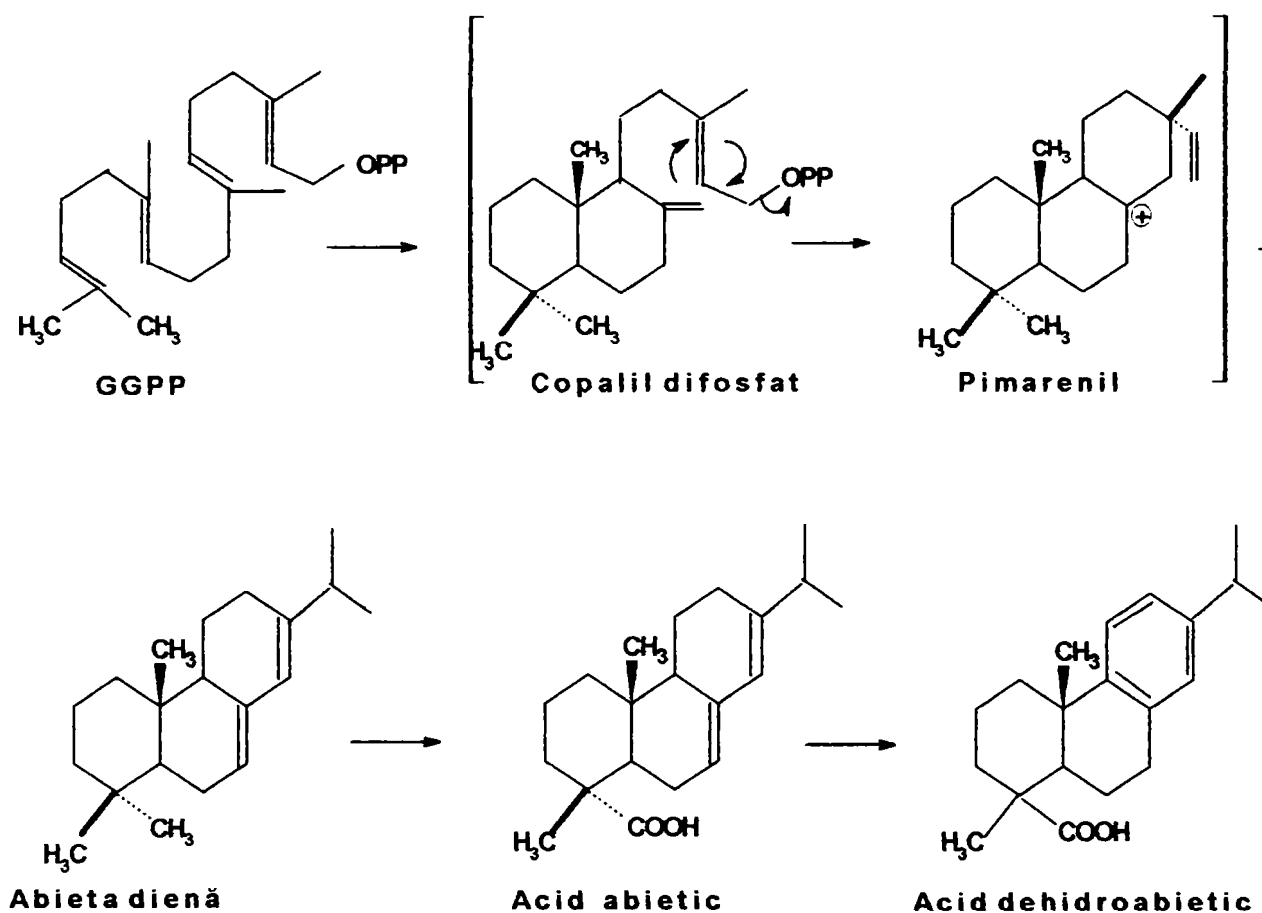


Fig. 3.15: Mecanismul biosintezei acizilor abietic și dehidroabietic via abietandienă în conifere

Biosinteza acizilor abietic și dehidroabietic are loc prin oxidarea grupării  $\text{CH}_3$  de la atomul de carbon C18 la gruparea carboxil. Această transformare este catalizată de o enzimă și anume *P450-dependent oxigenază* iar dehidrogenarea acidului abietic la acid dehidroabietic este catalizată de citocromul  *$\text{NAD}^+$ -dependent dehidrogenază* [83, 84]. Rolul funcțional al acizilor rezinici s-a bucurat de puțină atenție din partea cercetătorilor cu toate că unii dintre reprezentanți par a avea proprietăți insecticide și fungice și prin urmare aceștia au un rol important în vindecarea rănilor de pe trunchiurile copacilor. O rășină semifluidă, lipicioasă, vâscoasă care curge către locul atacat este considerată mult mai eficientă împotriva larvelor, a insectelor mature și chiar a microorganismelor, ca urmare a prinderii acestora în masa lipicioasă ca într-o capcană [85].

Dacă primul acid rezinic izolat din colofoniu obținut din rășina de *Pinus abies*, a fost acidul abietic, ceva mai târziu (Laurant, 1840) a fost izolat din rășina de *Pinus maritima* un acid rezinic numit acid pimaric, care a fost recunoscut apoi (Vesterberg A, 1887; Rusicka și colab., 1923) ca fiind un amestec format din *acid dextropimaric* și *levopimaric* [19]. Un rol important în descifrarea structurii acestei clase de compuși organici l-a avut la începutul secolului XX reacția de dehidrogenare

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

cu sulf. Astfel *acidul dextropimaric* (figura 3.16), care a fost identificat din punct de vedere structural în 1947 de Rusicka și colaboratorii [19], prin dehidrogenare cu S pierde grupările - COOH; - CH = CH<sub>2</sub> precum și radicalul -CH<sub>3</sub>, obținându-se hidrocarbura numită *pimantren*, care trece la rândul ei prin oxidare cu fericianură de potasiu în acid 1,7 - *fenantrendicarboxilic*:

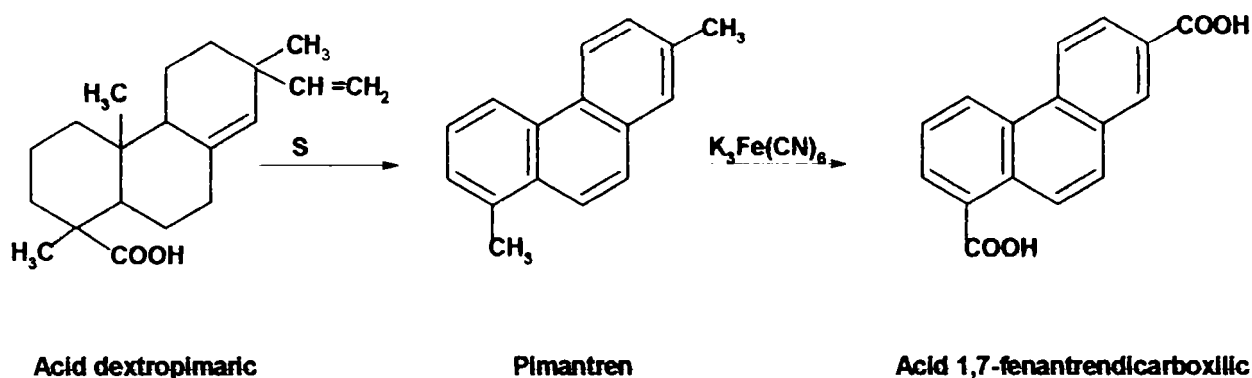


Fig. 3.16: Reacții de degradare a acidului dextropimaric

De menționat că *acidul dextropimaric* nu se izomerizează la încălzire sau tratare cu acizi.

*Acidul levopimaric* este un izomer de structură al acidului dextropimaric și nu antipodul optic cum s-a crezut multă vreme. El prezintă două duble legături conjugate putând forma un produs de adiție cu anhidrida maleică [19]. Prin dehidrogenare cu sulf sau cu paladiu, *acidul levopimaric* este transformat în hidrocarbura fenantrenică numită *reten*, care trece prin oxidare la fel ca și pimantrenul în acid 1,7 *fenantrendicarboxilic*, figura 3.17:

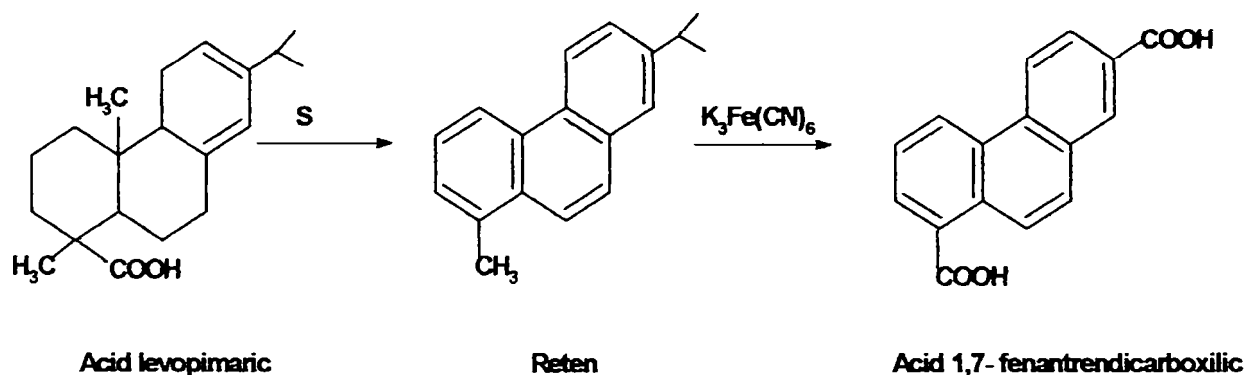


Fig. 3.17: Reacții de degradare a acidului levopimaric

Ulterior s-a constatat că *acidul levopimaric* formează *aducți dien* cu anhidrida maleică, acroleina, acrilonitrilul, acetatul de vinil. Pe baza reacției *Diels-Alder* a acidului levopimaric cu anhidrida maleică, (figura 3.18), Ehmer, [86] a putut pune la punct două metode de analiză, una volumetrică și cealaltă gravimetrică pe baza cărora se poate aprecia conținutul acidului din rășina de pin. Conform rezultatelor obținute pe baza celor două metode s-a constatat o scădere liniară a conținutului de *acid levopimaric* în timp, scădere care se datorează acțiunii oxigenului asupra rășinii, și nu izomerizării acidului, așa cum a explicat inițial Sandermann [87].

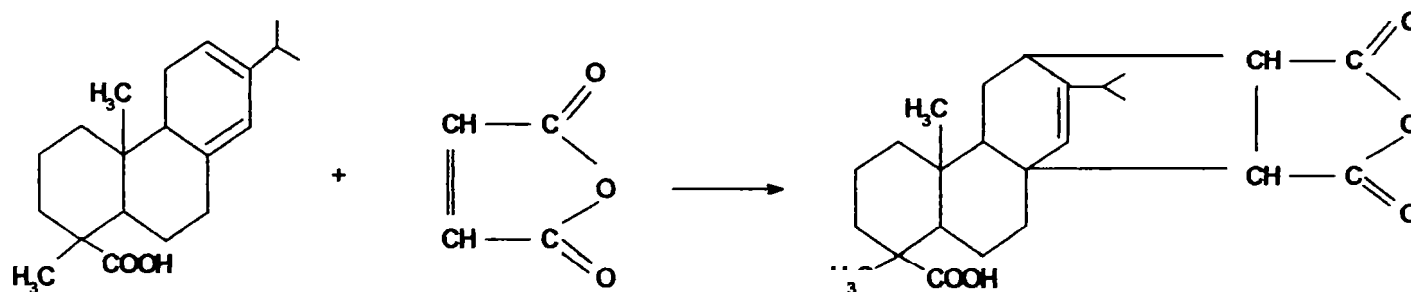


Fig. 3.18: Reacția Diels-Alder a acidului levopimaric cu anhidrida maleică

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Acidul palustric (figura 3.14) se poate izomeriza parțial prin încălzire la 170- 200°C în acid abietic și neoabietic conform reacției prezentată în figura 3.19:

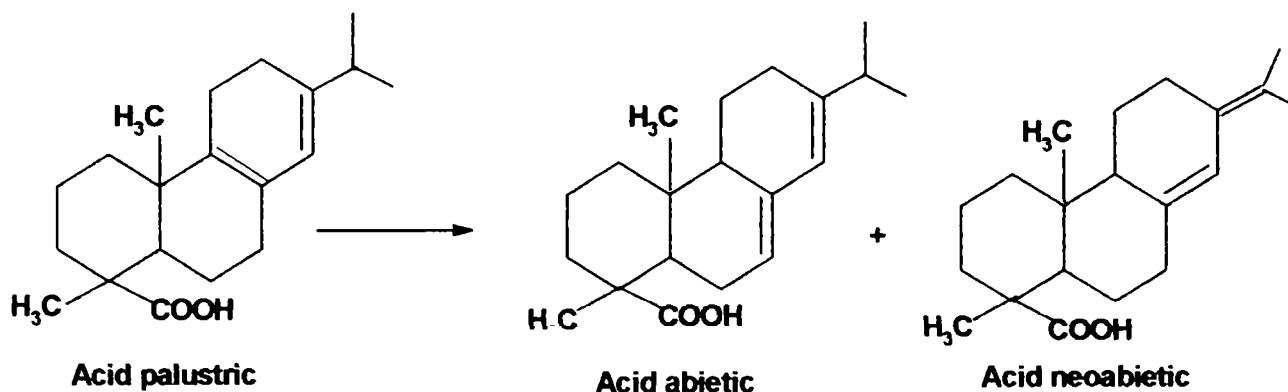


Fig. 3.19: Reacția de izomerizare a acidului palustric

Acidul palustric a fost sintetizat prin reducerea acidului dehidroabietic [19], conform schemei de reacții din figura 3.20:

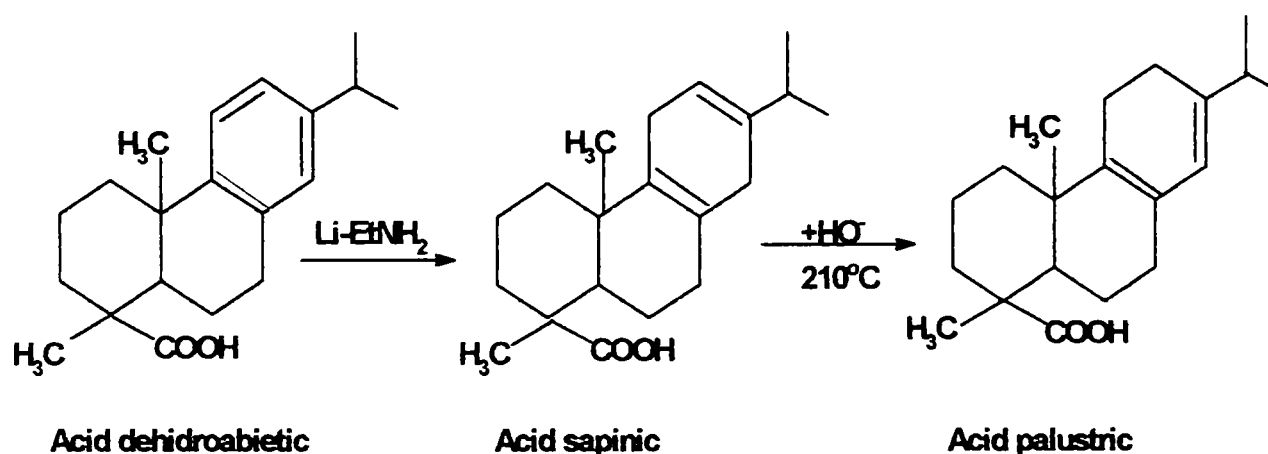


Fig. 3.20: Sinteza acidului palustric prin reducerea acidului dehidroabietic

#### 3.2.3.2. Reactivitatea chimică a acizilor rezinici

Acizii rezinici sunt în general rezistenți la acțiunea agenților chimici, iar izomerizarea acizilor neoabietic, palustric și levopimaric la acid abietic are loc în prezența acizilor minerali sau sub acțiunea temperaturilor înalte [88]. Cu toate acestea, acizii cu două duble legături conjugate pot suferi ușor izomerizări ce conduc la compuși mai stabili din punct de vedere termodinamic, acizii abietic și dehidroabietic fiind în final cei mai favorizați. Acest proces se petrece foarte des în mod natural în decursul operațiilor de obținere a pastei de hârtie, el fiind considerat ca principală cauză pentru existența unei concentrații crescute de acid abietic în apele reziduale de la fabricarea hârtiei [89].

Acizii rezinici pot suferi de asemenea reacții de dehidrogenare, clorurare, oxidare cu formarea unor produși derivați. De exemplu în cazul acidului abietic dehidrogenarea acestuia conduce la acid dehidroabietic, clorurarea acestuia poate să conducă la acid mono- sau diclordehidroabietic [90]. Trebuie menționat faptul că procesul de clorurare a acidului dehidroabietic la atomul de carbon C<sub>12</sub> și/sau C<sub>14</sub> tinde să intensifice caracterul hidrofob al derivaților clorurați și totodată să exercite o toxicitate față de organismele vii acvatice mult mai gravă decât toxicitatea acidului dehidroabietic. Oxidarea acidului abietic poate să determine obținerea de produși oxigenați aparținând la diferite clase [91] (figura 3.21). Mecanismul degradării oxidative a acizilor rezinici nu este nici la ora actuală pe deplin elucidat. Importanța care se acordă procesului de oxidare este pe deplin justificată având în vedere faptul că mulți dintre produșii oxigenați formați, în special cei din "categoria -oxo-" s-au dovedit a fi foarte toxici pentru flora și fauna acvatică dar și pentru numeroase persoane prin

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

producerea de alergii și afecțiuni ale pielii atunci când acestea intră în contact cu diverse produse care au în componența lor acid abietic sau derivați ai colofoniului [89].

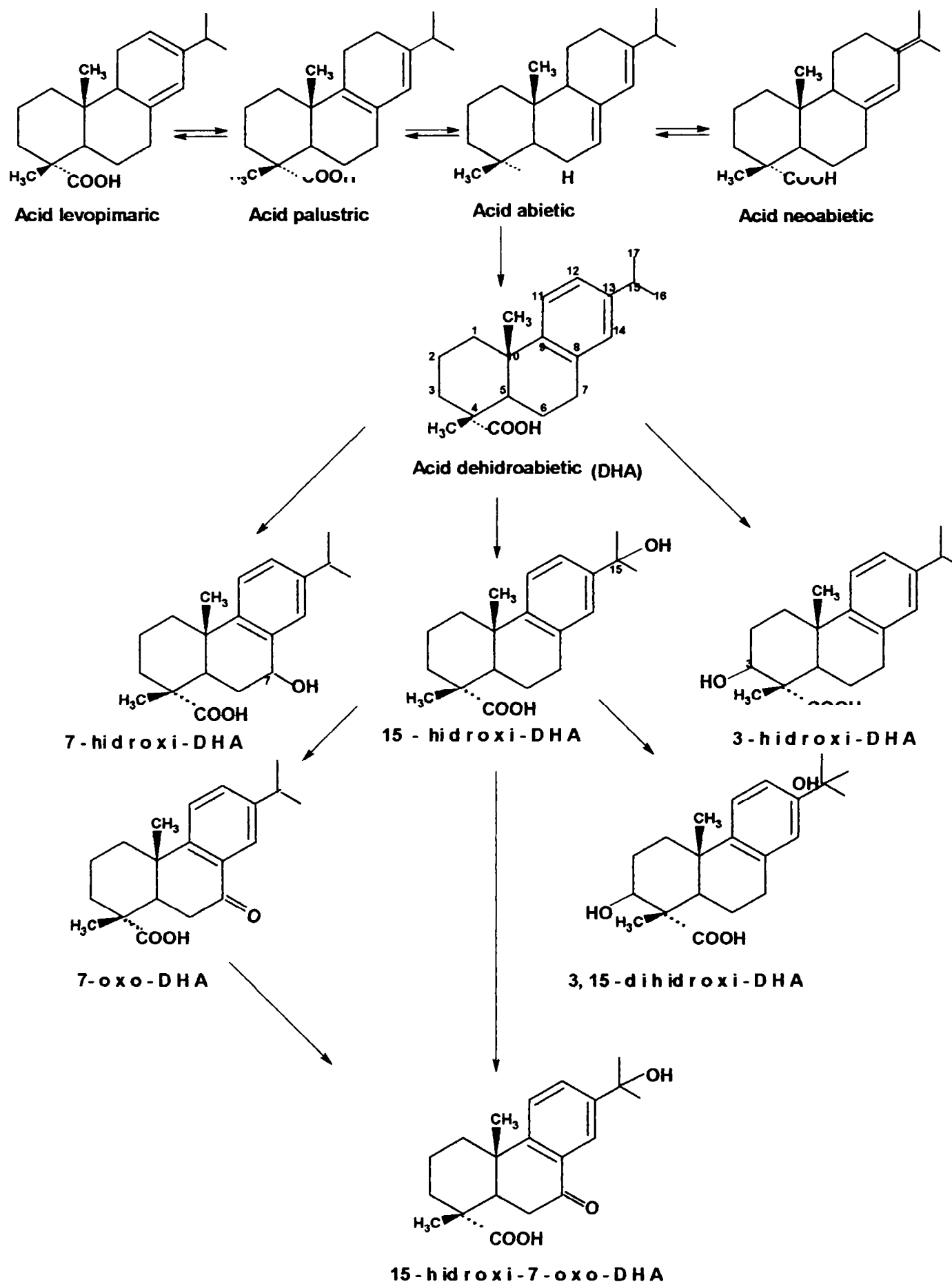


Fig. 3.21: Reacții de degradare oxidativă a acidului abietic

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Caracterul hidrofob al acizilor rezinici variază direct cu pH-ul și temperatura. Solubilitatea acizilor rezinici la 20°C. la valori ale pH-ului din intervalul acid până la neutru înregistrează în general valori mici (astfel pentru *acidul abietic* este de 3-5mg/l respectiv 4-6mg/l pentru *acidul dehidroabietic*). Solubilitatea acestor acizi crește însă pe măsură ce valoarea pH-ului mediului se apropie de valorile corespunzătoare ale pK-ului (6,4 pentru *acidul abietic*, 5,7 pentru *acidul dehidroabietic*). La valori ale pH-ului ce depășesc pe cele ale pK-ului, conținutul apelor reziduale în acizi rezinici crește mult datorită în special existenței într-o cantitate apreciabilă a formelor lor ionizate. Aceste forme ionizate pot acționa ca și substanțe tensioactive formând micelii care determină în final creșterea concentrației de acizi rezinici până la circa 18% volume în cazul *acidului abietic* [92]. Cercetătorii Peng și Roberts [93] au determinat solubilitatea în apă a opt acizi rezinici care ulterior au fost izolați din rășină prin tehnici de extracție din fază solidă și gaz cromatografie și au ajuns la concluzia că solubilitatea acestora este dependentă de structura lor. Astfel s-a constatat că *acidul dehidroabietic* este cel mai solubil în schimb acizii din tipul pimaric sunt mai puțin solubili.

Investigând legătura dintre biodisponibilitatea acizilor rezinici și pH-ul mediului în timpul tratamentului biologic de epurare a apelor reziduale din industria hârtiei, Werkar și Hall [94], au ajuns la concluzia că există o relație directă între solubilitate, disponibilitate și nivelul pH-ului apelor reziduale în sensul că, schimbări mici ale valorilor de pH conduc la creșteri importante de cantități de acizi rezinici îndepărtați din ape în timpul epurării.

#### 3.2.3.3. Biodegradabilitatea acizilor rezinici

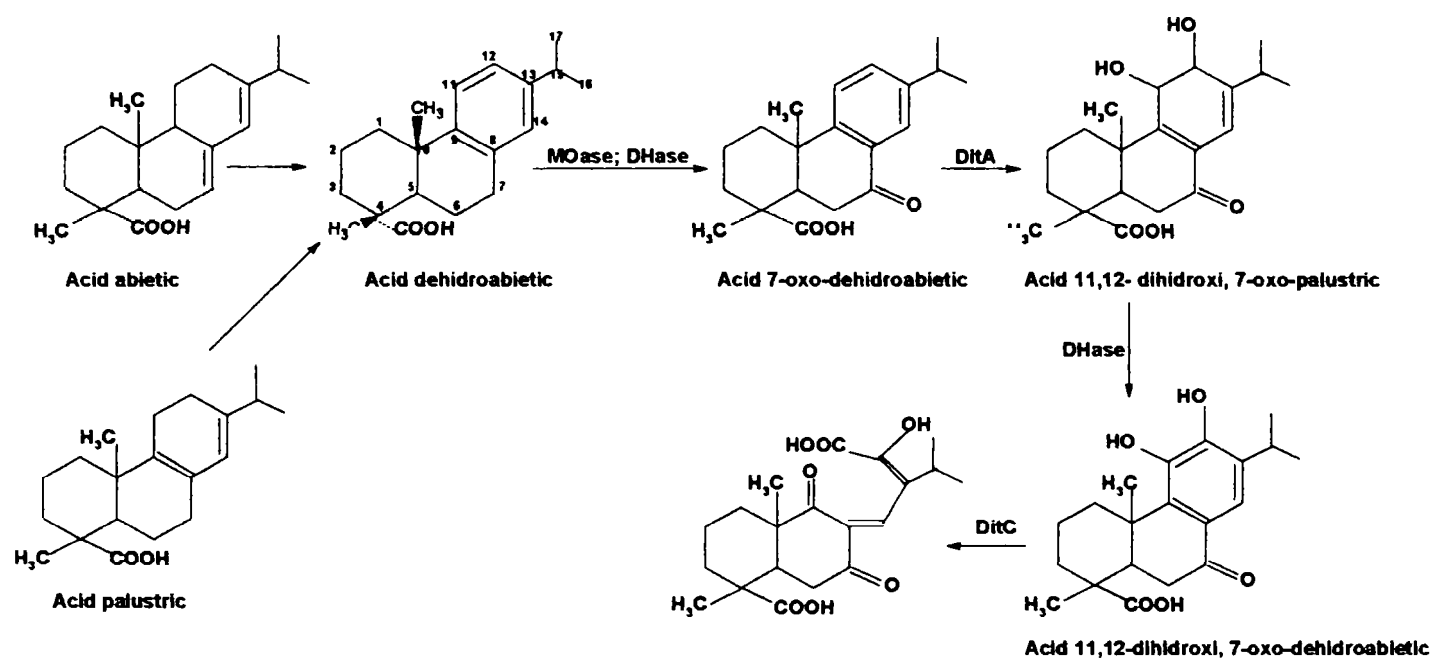
Comunitatea științifică a început recent să identifice speciile de microorganisme care ar putea folosi acizii rezinici ca sursă de carbon. Mecanismul biodegradării acizilor rezinici este la ora actuală parțial cunoscut. Studiile începute în anii '70 de către Hemmingway și Greaves au relevat faptul că anumite microorganisme izolate din albiile a două râuri din nord-estul SUA și din nămolul rezultat de la o stație de epurare a apelor reziduale au fost capabile să degradeze în proporție de 85-95% acizii rezinici [95].

Din amestecul de acizi luat în studiu acizii *dehidroabietic*, *palustric* și *levopimaric* au fost degradați cel mai rapid, urmând apoi acizii *abietic* și *neoabietic* în timp ce acizii *pimaric* și *izopimaric* au rezistat la degradare. Alte studii efectuate în aceeași perioadă au identificat un număr apreciabil de bacterii din genurile *Arthrobacter*, *Alcaligenes entrophus*, *Pseudomonas* și *Flavobacterium resinovorum* care folosesc în special tipul abietic pentru necesarul de carbon [96]. Microorganismele izolate din apele pirolignoase rezultate de la fabricarea hârtiei au arătat preferința pentru tipul abietic incluzând acizii *abietic*, *dehidroabietic* și derivatul său acid *7-oxodehidroabietic*. Aceleași specii de microorganisme pot însă să degradeze și unii din derivații clorurați ca acid *12-clorodehidroabietic*, dar nu și izomerii acid *14-clorodehidroabietic* sau acid *12,14-diclorodehidroabietic*. De asemenea s-a descoperit că, deși aceste specii sunt capabile să oxideze o mulțime de substanțe organice, metanolul și acetati care se găsesc în cantități mari în apele reziduale de la fabricarea hârtiei, nu au fost degradați. Tulpinile acestor microorganisme au folosit între 65-95% din cantitatea de acid *dehidroabietic* prezent în apă într-un interval de timp de 48 ore [97].

Un alt studiu datând din 1999 [92] a relevat faptul că anumite bacterii acrobe gram-negative izolate din efluențele rezultate de la epurarea apelor uzate din industria hârtiei au putut să se dezvolte pe medii conținând acid *dehidroabietic*, *abietic* și *palustric*. În schimb studiul a arătat că nici una din speciile de microorganisme izolate nu s-a putut dezvolta pe medii conținând acizii din tipul pimaric [95]. Faptul că microorganismele preferă tipul abietic și nu cel pimaric a fost explicat prin descifrarea mecanismului biodegradării *acidului dehidroabietic* [96]. Procesul de biodegradare începe cu oxidarea atomilor de carbon din pozițiile C-3 și C-7 urmat de hidroxilarea la pozițiile C-11, C-12. Aceste transformări determină clivajul nucleului aromatic, producând acid 2-izopropil-malic, și doi compuși monociclici (4-metilen-3-metilcarboxilic ciclohexanonă și 4-metilen-3-metilcarboxilic ciclohexanol). Acești compuși sunt apoi oxidați în continuare la alți intermediari care sunt mai ușor de degradat. Mecanisme similare au fost propuse pentru degradarea acizilor abietici de către speciile de *Pseudomonas* și *Alcaligenes entrophus* când are loc într-o primă etapă oxidarea la C-7 urmată de transformarea acizilor în difenoli via dien-dioli. În etapa următoare are loc hidroxilarea la atomul de carbon C-5, și apoi o serie de reacții de oxidare conduc la obținerea de diacizi [97]. Studiile efectuate de Yu și Mohn [98, 99] au condus la formularea unui mecanism de biodegradare a acizilor aparținând

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

tipului abietic de către microorganismele aparținând speciei *Pseudomonas abietaniphilia*, mecanism prezentat în figura 3.22:



**Fig. 3.22: Mecanismul biodegradării acizilor abietic și palustric de către specia *Pseudomonas abietaniphilia*, BKME-9**

Abrevieri: Moase-monooxigenază; Dhase- dehidrogenază

DiTA-dioxigenază responsabilă pentru reacția de hidroxilare la nivelul ciclului;

DiC- dioxigenază responsabilă pentru reacția de distrugere a ciclului

Și în acest caz se poate constata că biodegradarea acizilor abietic respectiv palustric presupune într-o primă fază, reacții de dehidrogenare care conduc la obținerea acidului dehidroabietic care apoi în etapele următoare, suferă sub acțiunea diferitelor enzime specifice produse de microorganismele speciei *Pseudomonas abietaniphilia* reacții de oxidare la atomul de carbon din poziția C-7, reacții de hidroxilare în pozițiile C-11, C-12, urmată de o reacție de dehidrogenare la aceleași poziții pentru ca în final enzime specifice să înceapă distrugerea ciclurilor de atomi de carbon din structura compușilor oxidați obținuți anterior.

### 3.3. Colofoniu și derivații săi

#### 3.3.1. Colofoniul

##### 3.3.1.1. Definiere, compoziție chimică

În conformitate cu Pine Chemicals Association, Inc PCA, termenul de colofoniu (CAS 8050-09-7) se referă la un amestec de diterpenoide (în special acizi rezinici) care este obținut ca reziduu la distilarea diferitelor rășini de conifere. Din punct de vedere chimic se poate aprecia că acesta reprezintă o soluție de acizi rezinici dizolvați în terpeni [100]. După Othmer, colofoniul conține aproximativ 90% rășini acide și 10% fracțiuni neutre.

**Rășinile acide** sunt acizi monocarboxilici ale nucleelor hidrofenantrenice alchilate. Acizii cu două duble legături au formula empirică  $C_{19}H_{29}COOH$ , gruparea carboxil fiind atașată atomului de carbon terțiar și este închisă de jur împrejur de alte grupări. Reacțiile grupării carboxil sunt dificil de determinat, iar tăria acizilor componenți poate fi apreciată pornind de la următoarele constatări:

- 1) pot fi precipitați dintr-o soluție alcalină de  $Na_2CO_3$ ;
  - 2) sărurile aminelor lor sunt descompuse de acidul boric.
- Rășinile pot fi clasificate în două grupe : - tipul abietic;  
-tipul pimaric

în concordanță cu următoarele caracteristici :

a) Prin dehidrogenarea cu catalizatori de Pd/C, la 350°C tipul abietic, care are un radical izopropil în poziția 13 ( figura. 3.14) produce reten (13-izopropil-4-metil-fenantren), iar tipul pimaric care are configurația primară a grupărilor metil și vinil în poziția 13 (figura 3.14) produce pimantren (1.13-dimetil-fenantren). hidrocarburi terpenice a căror formule structurale sunt reprezentate în figurile 3.17 respectiv 3.16 .

Dehidrogenarea parțială a tipului abietic în condiții blânde la 260 -270°C conduce la obținerea acidului dehidroabietic, în timp ce în cazul tipului pimaric este obținută hidrocarbura, 4,13 dimetil-13 etil-11,12,13,14 -tetrahidrofenantren.

b) Dublele legături ale acizilor făcând parte din primul tip, sunt conjugate, în timp ce ale acizilor din tipul pimaric nu pot fi conjugate datorită naturii cuaternare a atomului de carbon din poziția 13. În aceste condiții însă acesta suferă o disproporționare atât în pozițiile 8-9 cât și în pozițiile 14-15 care produc un amestec de acizi dihidroabietici și hidroabietici[101].

Compoziția acizilor rezinici din fracțiunea acidă a colofoniului așa cum a fost stabilită de cercetările lui Fiessa și Campbell [102], este prezentată în tabelul nr.3.9.

**Tabelul 3.9. Compoziția acizilor rezinici din colofoniu după Campbell, [102]**

Nr.crt.	Acidul rezinic	Procentul[%]
1.	Acid pimaric	4
2.	Acid sandaracopimaric	4
3.	Acid comunic	1
4.	Acid palustric	8
5.	Acid isopimaric	11
6.	Acid abietic	38
7.	Acid dehidroabietic	18
8.	Acid neoabietic	3

Procentul de acizi rezinici în colofoniu variază cu materia primă de la care se pornește în obținerea produsului (tabelul nr.3.10) respectiv cu specia de conifer de la care a fost recoltată oleorezina (tabelul nr.3.11) [103, 16].

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.10. Conținutul acizilor rezinici în diferitele categorii de colofoniu [103]**

Nr. Crt.	Componentul rezinic	Colofoniu din uleiul de pin [%]	Colofoniu din rășină [%]	Colofoniu din lemn [%]
1.	Acid pimaric	2	3	3
2.	Acid palustric	18	10	10
3.	Acid isopimaric	18	11	7
4.	Acid abietic	20	45	35
5.	Acid dchidroabietic	4	8	20
6.	Acid neoabietic	18	7	4

**Tabelul 3.11. Conținutul acizilor rezinici în colofoniul diferitelor specii de pin, [16]**

Acidul Specia de pin	1	2	3	4	5	6	7	8
P. massoniana	34,2	36,6	13,6	5,0	8,8	0,0	1,9	0,0
P. yunnanensis	21,9	46,7	12,6	5,5	6,0	5,8	2,1	0,0
P. kesiya	27,1	37,3	13,7	8,6	7,4	3,8	2,2	0,0
P. latteri	19,7	28,4	5,1	5,6	0,0	15,4	7,4	18,4
P. elliotii	18,2	26,9	13,3	9,1	4,3	24,0	3,8	0,0

1- acid palustric      3- acid neoabietic      5- acid pimaric      7- ac. sandaracopimaric  
2- acid abietic      4- acid dehidroabietic      6- acid isopimaric      8- acid mercusic

Fracțiunile neutre sunt alcătuite în proporție de 60% din esteri ai acizilor rezinici și ai acizilor grași prezenți în rășinile de conifere, acizi grași care se găsesc în general și în alte produse naturale, însă predominând acizii oleic, linoleic, linolenic și stearic. Proporția resturilor de alcool în esterii rezinici, în fiecare tip de rășină este diferită și în cea mai mare parte neidentificată. Din fracția nesaponificabilă a colofoniului din oleorezină unii cercetători [104,52] au izolat și caracterizat următoarele substanțe:

**Tabelul 3.12. Componentele fracției nesaponificabile și constantele lor fizice, [52]**

Nr. crt	Componentul	Formula moleculară	Constante fizice
1.	Hydrocarbură aciclică	$C_{27}H_{56}$	p.t = 60 [°C]
2.	Diterpenă traciclică	$C_{26}H_{32}$	p.t. = 192 [°C]
3.	Diterpenă alcoolică	$C_{20}H_{32}O$	$n_D^{20} = 1,5106$ ; $[\alpha]_D^{20} = + 8,4$
4.	Hydrocarbură cristalină	$C_{31}H_{64}$	p.t. = 117 [°C]
5.	Alcool sesquiterpenic	$C_{15}H_{24}O$	p.t. = 68 [°C] p.t. = 153-158 [°C]

Din fracțiunea nesaponificabilă a colofoniului din lemn, Cox a izolat 3,5-dimetoxi-stilbenul [19], iar Harris a izolat aldehida acidului izodextropimaric și urme de hidrat terpenic [105].

#### 3.3.1.2. Procedee de obținere a colofoniului

În funcție de tipul de materie primă și de condițiile de distilare, la ora actuală în lume se disting mai multe tipuri de colofoniu și anume:

- colofoniul obținut prin distilarea oleorezinei;
- colofoniu din uleiul de pin brut;
- colofoniu obținut direct din trunchiul de copac.

Toate cele trei tipuri de colofoniu menționate anterior sunt similare din punct de vedere al compușilor chimici prezenți, dar se diferențiază între ele prin raporturile în care se găsesc diferitele componente [106].

Procedul de obținere a colofoniului din oleorezină, folosit pe scară largă în China, Malaiczia, Rusia cuprinde în mare 3 etape: topirea, purificarea și distilarea prin antrenare cu vapori de apă a



### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

olcorczinci. El decurge în regim discontinuu în cazul în care capacitatea de prelucrare a fabricii nu depășește 2000 tone oleorezină anual, și continuu atunci când această capacitate depășește 3000 tone anual. În mod concret oleorezina brută colectată prin procedee manuale sau mecanice descrise în paragraful 3.1. este încălzită în recipiente prevăzute cu pereți dubli prin care circulă aburul, la temperaturi de 90-95°C până când aceasta se transformă într-o masă fluidă. Această masă fluidă este apoi purificată prin precipitare ca urmare a scăderii temperaturii și spălată cu apă pentru îndepărtarea impurităților. Precipitatul obținut este trecut într-un vas sau o coloană de distilare când sub acțiunea vaporilor de apă se obține distilatul (**uleiul de terebentină**) și reziduul amorf (**colofoniul**) [107].

În SUA se aplică așa numitul *procedeu Olustee* (figura 3.23) care presupune două operații de bază și anume: 1. curățirea rășinii brute și 2. distilarea prin antrenare cu vaporii de apă [108]. Curățirea rășinii brute e necesară pentru îndepărtarea impurităților solide (scoarță de copac, ace de pin, insecte moarte, etc.) precum și acelor solubile în apă (care au ajuns în butoaiele cu rășină brută odată cu apa de ploaie). Impuritățile solide se îndepărtează prin filtrare iar cele solubile prin spălarea olcorczinci cu apă caldă. În unele cazuri în care rășina a fost depozitată în butoaie metalice și nu de plastic, este posibilă și o impurificare cu compuși ai fierului (oxizi). Cum prezența oxizilor fierici duc la schimbarea culorii rășinii în brun închis ceea ce va determina obținerea unor compuși de distilare inferiori din punct de vedere al calității, îndepărtarea acestora se face prin adăugarea obligatoriu la filtrare a unor cantități de acid oxalic (0,6-1,2 kg/tonă).

Rășina odată curățată este apoi supusă procesului de distilare prin antrenare cu vaporii de apă într-o blază de distilare în care agentul termic, aburul, are rolul atât de a încălzi rășina cât și de a facilita distilarea prin antrenare a vaporilor de terebentină. În scopul de a facilita deplasarea rășinii din vana de recepție către vasul de amestecare și mai departe spre blaza de distilare, aceasta trebuie încălzită și diluată prin adaos de terebentină obținută dintr-o distilare anterioară, cantitatea adăugată fiind astfel calculată încât conținutul acesteia în rășină să fie de 30-40%. Trecerea rășinii din vasul de amestecare spre filtrare și apoi spre tancurile de spălare se face cu ajutorul aburului acesta fiind responsabil și de atingerea unei temperaturi în vasul de amestecare de 85-100°C. În tancurile de spălare rășina fierbinte este spălată în contracurent cu apă caldă, apa adăugându-se într-un raport de 10:1. După spălare, rășina este lăsată să decanteze peste noapte. După expirarea acestei perioade, stratul apos de la baza tancului este trimis în bazinul de depozitare a apelor uzate, stratul intermediar de emulsie este trimis la vana de recepție pentru reprocesare iar stratul superior de rășină spălată este uscat și pompat către tancul de alimentare a blazei de distilare. În timpul operației de distilare, vaporii de terebentină antrenați de curentul de abur sunt evacuați pe la partea superioară și dirijați către un condensator unde are loc separarea apei, după care terebentina este trecută peste un strat de săruri higroscopice în deshidrator pentru eliminarea cât mai completă a apei. După terminarea operației de distilare (aprox. 90-150 min), colofoniul fierbinte este evacuat pe la partea inferioară a blazei și depozitat în containere speciale pentru răcire lentă și solidificare.

În ceea ce privește *colofoniul obținut din uleiul de pin* acesta se obține pe scară largă în SUA și în țările din nordul Europei (Norvegia, Suedia, Danemarca). Uleiul de pin brut reprezintă un amestec de acizi rezinici, acizi grași în mare majoritate nesaturați și substanțe nesaponificabile într-o cantitate mai mică după cum reiese din datele tabelului 3.13.

**Tabelul 3.13. Compoziția chimică a uleiului de pin brut obținut la fabricarea hârtiei, [109]**

Nr. Crt.	Componente	Procente [%]
	<b>Acizi grași</b>	<b>30-35</b>
1.	Acid oleic	45-50
2.	Acid linolic	45-50
3.	Acid palmitic	5-7
	<b>Acizi rezinici</b>	<b>35-60</b>
4.	Acid abietic	30-40
5.	Acid neoabietic	10-20
	<b>Substanțe nesaponificabile</b>	<b>5-10</b>
6.	β- sitosterol	25-30

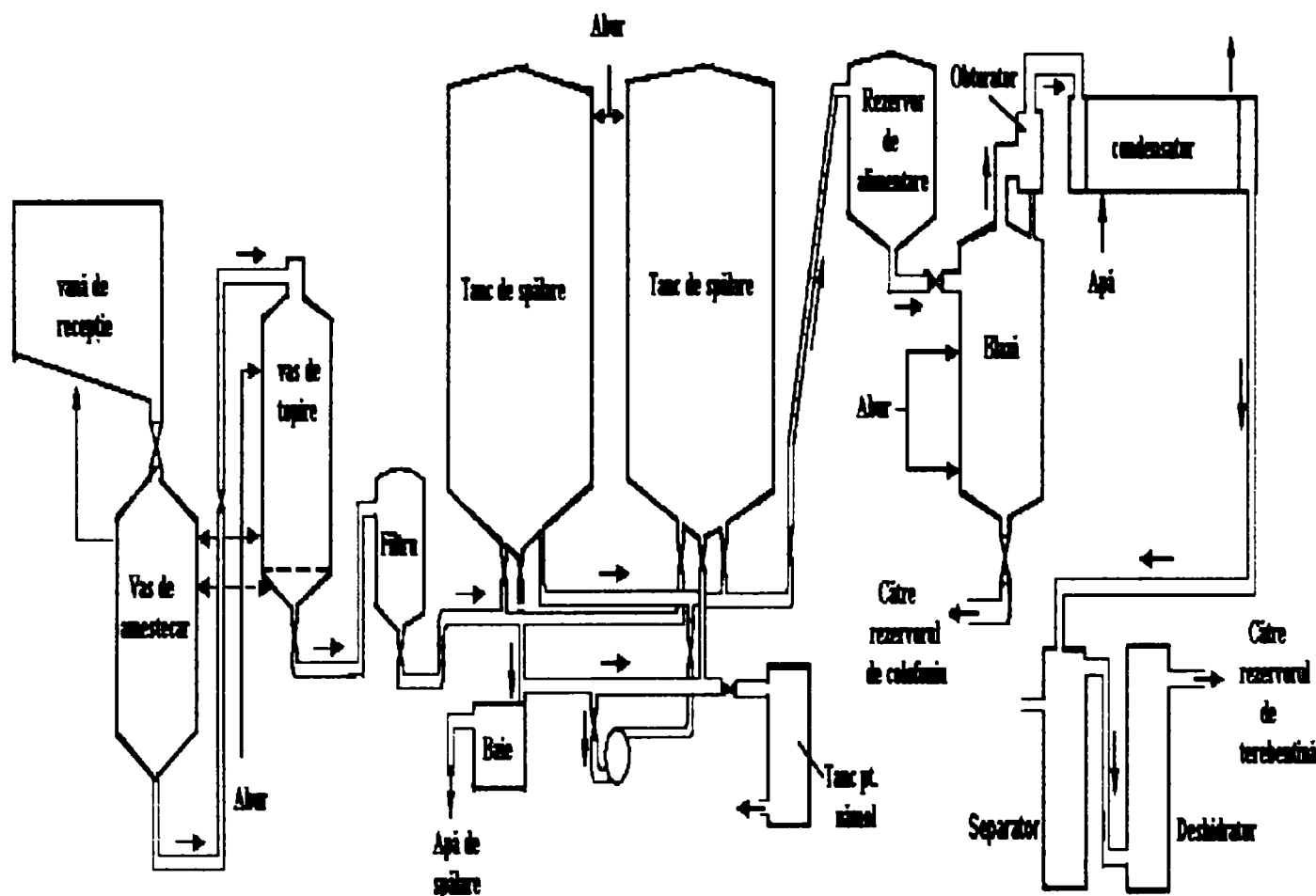


Fig. 3.23.: *Procedul Olustee de fabricare a colofoniului din oleorezina de conifere*

Această categorie de colofoniu se obține în urma separării prin adăugare de acid sulfuric a sărurilor de sodiu a acizilor rezinici și a acizilor grași, săruri obținute în procesul de fabricare pastei de lemn din industria hârtiei [110]. Proporțiile în care variază componentele în uleiul de pin se datorează acțiunii diverșilor factori dintre care mai importanți sunt specia de conifer, vârsta copacului, eficiența sistemului de recuperare a uleiului, perioada de prelucrare, etc. Aceste variații de compoziție se concretizează în intervale de valori pentru constantele lor fizico-chimice:

Tabelul 3.14. **Caracteristicile fizico-chimice ale uleiului de pin brut, [111]**

Nr.crt.	Caracteristica fizico-chimică	Valoare
1.	Densitatea relativă	0,95-1,24
2.	Indicele de aciditate[mgKOH/g]	100-175
3.	Indicele de saponificare[mgKOH/g]	120-180
4.	Indicele de iod [mgI <sub>2</sub> /100g]	140-150
5.	Punctul de fierbere[°C]	120-145

Procedul de obținere a acestei categorii de colofoniu (figura 3.24) constă dintr-o serie de distilări a uleiului de pin brut când alături de colofoniu se obțin și alte produse cum ar fi uleiul de pin distilat, acizi grași de înaltă puritate, uleiuri volatile. Se poate constata din datele prezentate în tabelele de mai sus și din figura 3.25 că uleiul de pin brut reprezintă o sursă nepuizabilă de izolare a unei serii de compuși pornind de la acizii rezinici, la acizii grași nesaturați de puritate avansată și mai recent chiar o sursă de  $\beta$ -sitosterol precursor al unor hormoni sexuali sau al unor steroizi corticali. Singurul dezavantaj îl constituie faptul că dintr-o tonă de pastă de lemn se obțin aproximativ 35 kg de ulei de pin brut [112]. Cu toate acestea fabricile de produse forestiere din SUA și nu numai, folosesc ca punct de plecare pentru obținerea colofoniului din ce în ce mai mult acest produs secundar de la fabricare hârtiei (247 000 tone metrice de colofoniu din uleiul de pin obținut în 1998 în SUA, față de 197 tone

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

metrice de colofoniu din olcorezină) [113]. Acest fapt se datorește numeroaselor avantaje oferite de uleiul de pin brut:

1. prin conținutul ridicat în acizi grași nesaturați uleiul de pin brut oferă o mai mare stabilitate la oxidare și prin urmare o stabilitate a culorii mai bună;
2. dat fiind faptul că uleiul de pin brut reprezintă un produs secundar de la fabricarea hârtiei, prețul și aprovizionarea cu această materie primă sunt privite de către producătorii de colofoniu ca fiind mult mai sigure decât dacă s-ar folosi olcorezina;
3. acizii grași din compoziția uleiului de pin brut sunt prezenți în stare liberă și nu în formă esterificată ca și în cazul grăsimilor animale și vegetale și deci nu mai este necesară hidroliza acidă pentru a-i elibera.

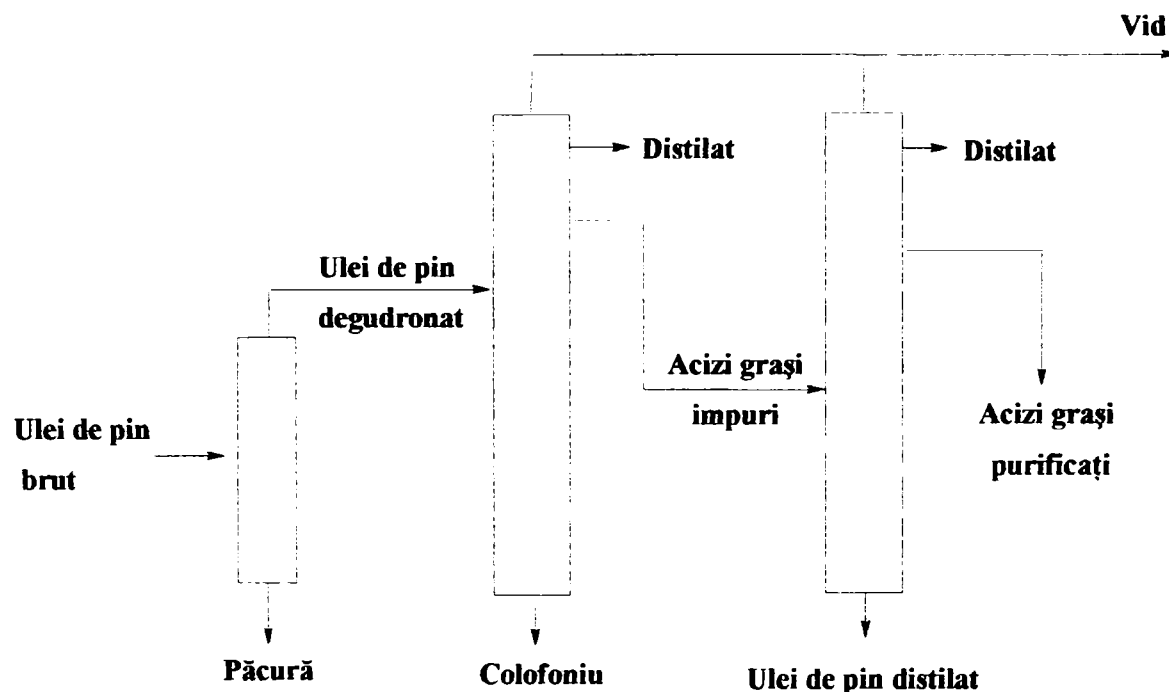


Fig. 3.24: Schema tehnologică de obținere a colofoniului din uleiul de pin brut

Colofoniul din trunchiul copacilor se obține prin tăierea și mărunțirea bucăților de lemn urmată de extracția rășinii din masa lemnoasă cu solvenți organici. Extractul este apoi supus unei serii de distilări în urma cărora se obțin variate fracții conținând terpene și terpenoide monociclice (distilate) și colofoniul (reziduu).

Acest procedeu a fost aplicat în special în SUA constituind la începutul secolului XX principala sursă de colofoniu pentru o serie întreagă de sectoare industriale, materia primă provenind din pădurile virgine din sud-estul țării. Cu toate acestea, producția americană anuală de colofoniu din lemn a început să scadă la jumătatea "anilor '50" de la 316 000 tone la mai puțin de 20 000 în 1998. De asemenea se remarcă aceeași tendință descrescătoare a cantității de colofoniu obținut direct din trunchiul coniferelor și în Rusia și Europa de Nord, datele statistice relevând că la ora actuală ponderea producției de colofoniu din trunchiul de lemn reprezintă mai puțin de 5% din totalul producției mondiale de colofoniu [22]. Metoda cea mai des folosită pentru obținerea colofoniului din trunchiul coniferelor datează din anii 1950 când s-a folosit lemnul de *Pinus Sylvestris* ca materie primă și care în general parcurge următoarele etape:

1. distilarea cu vapori de apă (210-230°C) când se obțin 3 fracțiuni uleioase [I -120°C; II - (120-140°C); III - (140-160°C)];
2. distilarea celor trei fracțiuni uleioase când rezultă următoarele fracțiuni: pentru I -11 fracțiuni, II și III - câte 7 fracțiuni, și reziduu;
3. tratarea reziduuului obținut din distilarea fracțiunilor II și III prin alcalinizare, extracție cu eter, evaporare și apoi acidifiere când se obține o masă amorfă, corespunzătoare acidului abietic;
4. tratarea diferitelor fracții în vederea punerii în evidență a diferitelor hidrocarburi (trans-p-mentan, p-cimen, reten, 7-izopropil, 1,4dimetil-tetradeca-hidrofenantren etc.) [114].

**3.3.1.3. Caracteristicile fizico- chimice ale colofoniului**

La temperatura mediului ambiant, colofoniul se prezintă ca o masă solidă transparentă sau având o colorație slab gălbui, (figura 3.25) cu un miros și gust slab de terebentină și o fragilitate asemănătoare sticlei obișnuite [115]. Densitatea colofoniului are valori cuprinse între 1,07-1,08 fiind mai greu decât apa și insolubil în ea. Dacă colofoniul este ținut la lumină sau într-o atmosferă umedă cu timpul culoarea acestuia se schimbă de la galben pal la portocaliu sau chiar brun închis. O posibilă explicație a acestui fenomen ar fi oxidarea acidului abietic [116, 117].



*Fig. 3.25: Colofoniu obținut din rășina de conifere*

Deși la ora actuală se pot lua în considerare diferite criterii pentru aprecierea calității colofoniului în scopul orientării lui spre acele sectoare care asigură optimul de valorificare, marii producători de pe piața mondială au hotărât de comun acord că prețul de comercializare și implicit calitatea colofoniului să fie stabilite în funcție de culoarea și valorile punctului de înmuiere. După culoare, colofoniul este clasificat pe grade de calitate folosindu-se notațiile și semnificațiile scalei de culoare USDA acceptată în practica comerțului internațional [22]. Astfel colofoniul având gradul de calitate WW se prezintă ca o masă sticloasă de culoare pală fiind cel mai de dorit și indicat pentru procesarea ulterioară. Colofoniul având gradul G imediat inferior (culoare galben deschis) este cel mai des comercializat și folosit pe scară industrială. Un colofoniu având gradul X ,transparent este rar de obținut și deci furnizat pe piață. Gradele care reprezintă culori de brun, roșu închis, brun roșcat și negru (N, M, K, I, H) indică un colofoniu de calitate inferioară care rareori este indicat pentru obținerea derivaților săi [118].

Deoarece colofoniul are mai degrabă o structură asemănătoare sticlei decât corespunzătoare stării cristaline, în acest caz se vorbește mai degrabă de punct de înmuiere decât de punct de topire. În medie limitele de variație a punctului de înmuiere pentru colofoniu se găsesc în intervalul 70-85°C. Cu cât colofoniul are o valoare a limitei maxime mai mare cu atât acesta este considerat de o calitate mai bună.

Deși la ora actuală nu există standarde de apreciere a calității colofoniului recunoscute unanim de toți producătorii și beneficiarii acestei categorii de produs, fiecare companie producătoare având propriile norme interne de calitate, recent, Societatea Americană pentru Testarea Materialelor (ASTM) a pus la punct o serie de metode standard de determinare a materiilor insolubile, conținutului de fer, cenușă, de uleiuri volatile, pentru determinarea indicelui de aciditate și saponificare, etc., [119]. fără însă a impune pentru aceste caracteristici limite minime sau maxime care să fie respectate de producători, astfel că fiecare companie producătoare din lume își are propriile norme interne de calitate. Cele expuse mai sus pot fi confirmate de datele tabelului 3.15:

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.15. Valori admise pentru aprecierea calității colofoniului în comerțul mondial, [120]**

Țara producătoare	Culoare [grade]	Punct de înmuiere [°C]	Indice de aciditate [mgKOH/g]	Indice de saponificare [mgKOH/g]	Substanțe nesaponificabile [%]
Portugalia	WW	Min. 70	165-171	171-177	4,3-5,5
Brazilia	X/WW	70-78	155-170	165-185	max. 10
Indonezia	X/WW	75-78	160-200	170-210	max. 10

În ceea ce privește China, cel mai mare producător de colofoniu din oleorezină din lume, valorile admise pentru aprecierea calității colofoniului în scopuri comerciale sunt standardizate și prezentate în tabelul 3.16:

**Tabelul 3.16. Constantele fizico-chimice ale colofoniului chinezesc obținut din oleorezină, [16]**

Categoria	Super	I	II	III	IV	V
Aparența	Transparent	Transparent			transparent	
Culoare	Galben pai	Galben pai	Galben	galben intens	galben brun	Galben roșcat
Punct de înmuiere [°C]	74-80	76-83	75-84	75-84	74-80	74-80
Indice de aciditate [mgKOH/g]	166	166	165	165	164	164
Substanțe nesaponificabile [%]	5	5	2,5	2,5	3	3
Insolubile în alcool [%]	-	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04
Cenușă [%]	0,01	0,02	0,03	0,03	0,04	0,04

Deoarece colofoniul este un amestec de compuși cu caracter mai degrabă acid iar obținerea produselor derivate din acesta depinde de aciditatea lui funcțională, un indice de aciditate ridicat reprezintă o indicație a unei calități mai bune a acestuia. Colofoniul de cea mai bună calitate are un indice de aciditate cuprins între 160-170. Există însă excepții care se referă în special la colofoniul obținut din oleorezina de *P. merkusii*, care datorită prezenței acidului mercuric are un indice de aciditate de 190 [mgKOH/g] [47].

Procentul de materii nesaponificabile indică cantitatea de materii neacide din colofoniu, astfel că cu cât acest procent e mai mic cu atât calitatea colofoniului e mai bună. Colofoniul va fi considerat de bună calitate dacă acest procent nu depășește 10% în caz contrar colofoniu nu poate fi folosit în continuare ca atare pentru obținerea derivaților săi [121].

#### 3.3.1.4. Derivații colofoniului

Derivații colofoniului, așa numitele produse reprocessate, reprezintă produsele obținute în urma prelucrării colofoniului prin hidrogenare, esterificare cu glicerină, pentaeritritol, aminoacilare, etc. Acești derivați se împart în două categorii în funcție de procesele chimice la care este supus colofoniul și anume :

- colofoniu modificat;
- derivați ai colofoniului.

Din prima categorie fac parte în principal *colofoniul hidrogenat*, *colofoniu disproporționat* *colofoniul maleat*, *colofoniul polimerizat* [122].

Din a doua categorie a produselor reprocessate din colofoniu fac parte *sărurile acide și rășinile colofonice*. În continuare voi prezenta câteva caracteristici și utilizări ale acestor produse folosite din ce în ce mai mult în diferite ramuri industriale. Ca și sursă de documentare am folosit standardele chinezești de calitate având în vedere că la ora actuală majoritatea acestor produse provin din China.

*Colofoniul hidrogenat* reprezintă un amestec heterogen solid transparent sau având o colorație alb gălbui și proprietăți rezistente la acțiunea oxigenului atmosferic, obținut prin hidrogenarea la presiuni de 13MPa și temperaturi de 220-250°C pe catalizator de Pd/C. Este des folosit în industria

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

adezivilor ca adaos în scopul creșterii aderenței acelor adezivi cu puncte de înmuiere ridicată și sensibili la presiuni ridicate, de asemenea în industria alimentară, farmaceutică și a aliajelor folosite în electronică [16]. Condițiile de calitate standardizate pentru colofoniul hidrogenat sunt prezentate în tabelul 3.17:

**Tabelul 3.17. Caracteristicile de calitate ale colofoniului hidrogenat (GB/T14020-92), [16]**

Categoria	Super	Calitatea I	Calitatea a-II-a
Aspectul	Transparent	Transparent	Transparent
Culoarea	Super	I	I
Acid abietic [%]	2	2,5	3,0
Acid dehidroabietic [%]	10	10	15
Punctul de înmuiere [°C]	72	71	70
Indicele de aciditate [mgKOH/g]	162	160	158
Impurități [%]	0,03	0,03	0,04
Oxigen absorbit [%]	0,2	0,2	0,3
Substanțe nesaponificabile [%]	7,0	8,0	9,0

*Colofoniul disproporționat* este un amestec de compuși rezinici în special din clasa acizilor (acid dehidro-, dihidro-, și tetrahidroabietic) obținut prin procesarea la temperaturi de peste 200 °C în condiții catalitice (Pd depus pe cărbun activ) a colofoniului. Acest produs este folosit ca și emulgator pentru obținerea cauciucului sintetic [123]. Condițiile de calitate standardizate pentru *colofoniul disproporționat* sunt prezentate în tabelul 3.18:

**Tabelul 3.18. Caracteristicile de calitate ale colofoniului disproporționat (ZBB72002-84), [16]**

Categoria	Super	Calitatea I
Culoarea nu mai închisă decât	1	3
Acid abietic [%]	0,2	0,5
Acid dehidroabietic [%]	52,0	45,0
Punctul de înmuiere [°C]	75	75
Indicele de aciditate [mg KOH/g]	155,0	150,0
Substanțe nesaponificabile [%]	10,0	12,0

*Colofoniul maleic* reprezintă un aduct al colofoniului cu anhidrida maleică principalul component care participă la această reacție fiind acidul pimaric. Industrial se fabrică două categorii de colofoniu maleic care diferă între ele prin conținutul de anhidridă maleică [124]. Principala utilizare a colofoniului maleic o constituie folosirea lui ca agent de încleiere în industria hârtiei. Condițiile de calitate standardizate pentru *colofoniul maleic* sunt prezentate în tabelul 3.19:

**Tabelul 3.19. Caracteristicile de calitate ale colofoniului maleic (ZBB72001-84), [16]**

Categoria	115	103
Aspectul	Transparent	Transparent
Culoarea	Roșu-brun	Roșu-portocaliu
Punctul de înmuiere [°C]	≥ 106	≥ 84
Indicele de aciditate [mg KOH/g]	≥ 220,0	≥ 178,0
Indicele de saponificare [mg KOH/g]	≥ 280,0	≥ 190,0
Aductul cu anhidrida maleică [%]	≥ 47	≥ 10
Impurități [%]	≤ 0,06	≤ 0,06

*Colofoniul polimerizat* este fabricat prin polimerizarea acizilor rezinici din tipul abietic, în cataliză acidă, principalul component al acestui produs fiind dimerul acidului rezinic cu formula moleculară (C<sub>40</sub>H<sub>68</sub>O<sub>4</sub>) [125]. *Colofoniul polimerizat* prezintă un punct de înmuiere înalt, o bună rezistență la acțiunea oxigenului din aer și o capacitate mare de a putea fi ușor amestecat cu rășinile sintetice. Aceste calități îl recomandă pentru a fi utilizat în industria cernelurilor de tipar dar și ca

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

material de protecție anticorozivă. Condițiile de calitate standardizate pentru *colofoniul polimerizat* sunt prezentate în tabelul 3.20.

**Tabelul 3.20. Caracteristicile de calitate ale colofoniului polimerizat (ZBB72008-89), [16]**

Categoria	115	140
Aspectul	Transparent	Transparent
Culoarea	≤ 0,03	≤ 3
Punctul de înmuiere [°C]	≥ 110-120	≥ 135-145
Indicele de aciditate [mg KOH/g]	≥ 145,0	≥ 140,0
Insolubilitatea în alcool [%]	≤ 0,03	≤ 0,0
Solubilitatea în apă caldă [%]	≤ 0,20	≤ 0,20

*Sărurile acide ale colofoniului* se obțin prin reacțiile dintre acizii rezinici prezenți în colofoni cu baze sau oxizi metalici. Principalii reprezentanți ai acestui grup de produse sunt săpunurile de calciu, potasiu ai acizilor rezinici, precum și săpunurile de potasiu ale colofoniului disproporționat [126].

*Rășinile colofonice* sunt produse obținute în marea lor majoritate în industria chimică din China prin esterificarea colofoniului obținut ca atare sau a colofoniului modificat cu diferiți alcooli. Acești esteri ai colofoniului sunt larg folosiți în industria cernelurilor de tipar, ca agenți de protecție anticorozivă și ca agenți de lipire pentru diferite tipuri de adezivi. De asemenea, unii dintre ei sunt aprobați pentru utilizare în industria băuturilor răcoroase (esterul glicerinei cu colofoniul parțial hidrogenat sau esterul glicerinei cu colofoniul) [127].

Condițiile de calitate standardizate pentru *rășinile colofonice* sunt prezentate în tabelul 3.21:

**Tabelul 3. 21. Caracteristicile de calitate ale rășinilor colofonice (ZBB72008-89), [16]**

Denumirea rășinii	Culoarea (Gardner)	Punctul de înmuiere [°C]	Indicele de acidit. [mg KOH/g]	Solubilitatea (C6H6: rășină) 1:1
Esterul metilic al colofoniului	≤ 3	Lichid vâscos	≤ 10	-
Esterul glicerinic al colofoniului	≤ 10	≥ 85	≤ 10	sol.limpede
Esterul dietilenglicolic al colofoniului	≤ 7	35-40	≤ 10	sol.limpede
Esterul metilic al colofoniului hidrogenat	≤ 2	lichid vâscos	≤ 10	sol.limpede
Esterul dietilenglicolic al colofoniului hidrogenat	≤ 8	30-40	≤ 15	sol.limpede
Esterul glicerinic al colofoniului polimerizat	≤ 11	≥ 120	≤ 10	sol.limpede
Esterul glicerinic al colofoniului hidrogenat	≤ 8	≥ 78	≤ 10	sol.limpede
Esterul glicerinic al colofoniului maleic	≤ 10	≥ 130	≤ 30	sol.limpede
Esterul glicerinic al colofoniului disproporționat	≤ 8	≥ 80	≤ 10	sol.limpede

Notă : Sistemul de apreciere a culorii Gardner este scalat între 2- 18, 2 fiind alb, iar 18 negru

**3.3.2. Toxicologia colofoniului și a derivaților săi**

Colofoniul este un produs comercial foarte important folosit de secole în diferite sectoare industriale. Datele statistice din perioada 1988-1989 evidențiază faptul că din întreaga cantitate de colofoniu produsă pe plan mondial (1200 mii tone) aproximativ 66% a fost folosită în industria hârtiei, a adezivilor și a cernelurilor [128]. În plus, proprietățile sale fizice, chimice și mecanice speciale îl fac să fie folosit în ultimul timp și în sectoare din industria electronică, cosmetică, alimentară etc. Un exemplu concludent în acest sens îl constituie raportul Asociației Nord Americane pentru Teste Toxicologice care evidențiază faptul că la sfârșitul "anilor '80" existau pe piața americană peste 300 de tipuri de produse tehnice care conțineau colofoniu sau derivați ai acestuia [129]. De asemenea, în conformitate cu datele furnizate de Inspectoratul Național de Analize Chimice Suedez, o cantitate de aproximativ 20 000 tone de colofoniu (1995) obținut din ulciul de pin a fost folosit la fabricarea a 17 tipuri de produse suedeze.

Testele toxicologice efectuate pe șoareci, șobolani și porci de Guineea folosind ca materiale colofoniu și derivatul său hidrogenat au la bază recomandarea organizației EPA, către Pine Chemicals Association, Inc.(PCA) din martie 1992. Datele de toxicitate acută orală existente la nivelul Agenției de Protecție a Mediului a Statelor Unite (EPA), referitoare la acești compuși testați relevă netoxicitatea lor. Valorile LD<sub>50</sub> variază în funcție de categoria de colofoniu testată (din oleorezină, ulei de pin sau trunchi de copac) și sunt în toate cazurile mai mari de 4000 mg/kg corp. În ceea ce privește colofoniu hidrogenat valorile LD<sub>50</sub> sunt ceva mai mari de 3200 mg/kg corp. Testele de toxicitate pe termen lung reflectă de asemenea netoxicitatea colofoniului și a derivatului său hidrogenat. În acest scop colofoniu a fost testat pe o perioadă de 90 zile. Materialul de testat a fost administrat în dieta șobolanilor din rasa Sprague-Dawley în concentrații de 0,01; 0,05; 0,2; 1,00; și 5,0%, în doze de 0, 10, 50, 200, 1000, și 5000 mg/kg corp/zi. Parametrii evaluați au inclus aprecierea semnelor clinice, greutatea corporală, creșterea în greutate, pofta de mâncare, teste hematologice, greutatea organelor interne și patologia microscopică. S-a constatat că toate animalele la care au fost administrate doze cu 5% concentrație agent de testare au murit într-o săptămână ca urmare a refuzului de a mai mânca, iar câteva animale cărora le-a fost administrată doza de 1% au prezentat scăderi în greutate ca urmare a diminuării apetitului. Nu s-au observat modificări hematologice, modificări ale compoziției urinei la nici un nivel de concentrație a dozei. De asemenea studiile histopatologice nu au raportat nici o schimbare. Pe baza acestor studii s-a putut stabili că valoarea dozei de la care nu se mai observă nici un efect, "așa numita valoare NOEL" este de 0,2% atât în cazul colofoniului cât și a derivatului său hidrogenat. Testarea acestor compuși privind potențialul carcinogenetic s-a făcut pe o perioadă de 2 ani pe șobolani folosind diferite biopsii. În nici unul din cazuri nu s-a demonstrat evidența carcinogenității, efectul major fiind imposibilitatea de a crește în greutate în situația când a fost administrată doza cea mai concentrată.. S-a obținut astfel o doză tolerată maximă [130].

În concluzie, din datele existente până în prezent în evidența organizației care se ocupă de testarea potențialului toxicologic al substanțelor care intră în componența produselor utilizate de oameni în viața de zi cu zi, putem să afirmăm că în ceea ce privește colofoniul și derivatul său hidrogenat aceștia nu sunt toxici pentru organismul animal, nu prezintă potențial carcinogen sau efecte negative ale funcției de reproducere la subiecții femele.

Cu toate acestea dată fiind diversitatea de produse care au în componență colofoniu și/sau derivați ai săi s-a evidențiat și apariția unor cazuri de dermatite, alergii, eczeme și alte iritații ale epidermei atât la persoanele care lucrează în companiile producătoare dar și la simplii consumatori care vin în contact pe diferite căi cu aceste produse. Astfel, sunt deja cunoscute cazurile destul de numeroase de iritații și eczeme din rândul personalului care lucrează în industria hârtiei și a adezivilor pe bază de colofoniu care sunt încorporați în pasta de hârtie pentru a deveni impenetrabilă la umiditate[131]. La sfârșitul anilor '80 și începutul anilor '90 s-au semnalat cazuri de alergii la persoanele care lucrează în industria electronică unde se folosește colofoniul și unii din derivații săi ca material cu caracter acid pentru îndepărtarea filmului de oxid de la suprafața metalului [132, 133].

Uleiul de pin cu conținut de 2-20% colofoniu folosit adesea ca emulgator în compoziția fluidelor nepolare de separare, de regulă ulciuri vegetale, "cutting fluids" din industria lubrifianților, produce de asemenea alergii ale pielii [134]. Chiar și bandajele adezive care au încorporat colofoniu, folosite în clinici și spitale s-au dovedit a induce iritații ale pielii copiilor sub 9 ani, acest aspect fiind cunoscut lumii medicale încă din anii '20. Cu toate acestea colofoniul nu poate fi înlocuit cu alte



### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

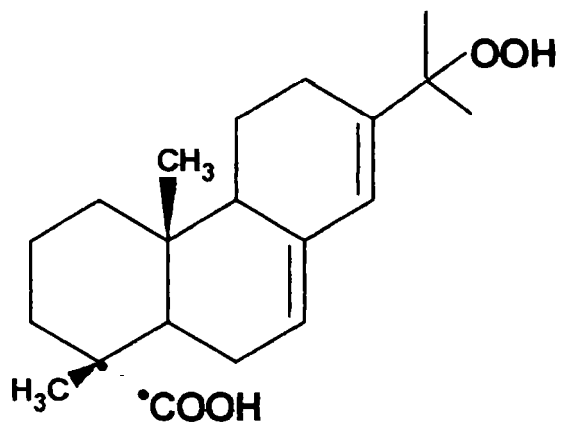
materiale inofensive cu rol adeziv în situația în care se cere o aderență puternică (cazurile de hemoragie venoasă) [135].

Cazuri de iritare a ochilor și a tenului au fost semnalate și la unele persoane care au folosit rimel având încorporat în rețeta de fabricație și derivați ai colofoniului cum ar abietolul [136, 137]. Existența acestor semnalări și a multor cazuri asemănătoare în evidențele dermatologice de la o serie de clinici, a ridicat din partea cercetătorilor chimiști întrebarea: 'Care din compus/compuși din compoziția colofoniului și /sau derivaților săi, induc o sensibilitate sau chiar stări grave de iritări ale epidermei și aparatului respirator?'. Cercetările efectuate până în prezent sunt departe de a ne lămurii asupra compusului chimic care generează alergiile, unele dintre rezultate fiind confuze sau chiar contradictorii. Această nelămurire a problemei pare să aibă la bază, pe de o parte complexitatea compoziției colofoniului, iar pe de altă parte, există posibilitatea ca acești derivați să fie indirect răspunzători de apariția alergiilor sau dermatitelor ca urmare a faptului că mai conțin în compoziția lor urme de colofoniu brut [2]. Un alt impediment în obținerea unor rezultate concludente și reproductibile, îl constituie faptul că reprezentanții acizilor rezinici pot varia ca și compoziție cu tipul materiei prime folosite pentru izolare, cu metoda de procesare a materiei prime, cu condițiile de ambalare și depozitare a produsului. Luând ca punct de plecare faptul că majoritatea compușilor chimici (aprox.90%) prezenți în colofoniu aparțin acizilor rezinici ( **paragraful 3.3.1.1, tabelul 3.8**) precum și faptul că acizii rezinici din tipul abietic sunt mai sensibili la acțiunea oxigenului atmosferic decât cei aparținând tipului pimaric și că pot conduce la o serie de derivați peroxidici, hidroxoperoxidici, epoxizi, etc. care la rândul lor pot să creeze reacții alergice, o serie de cercetători [138-140], s-au oprit la studierea din punct de vedere al inducerii de stări alergice de către acizii rezinici din tipul abietic. În plus acestia sunt compușii majoritari (50-75%) în colofoniu. Testele efectuate pe *porcii de guinea* au relevat faptul că acizii abietic și dehidroabietic în stare pură au o activitate alergenica mică, în schimb produsii lor de oxidare (figura 3.26) sunt agenți puternic alergeni. [141, 142], unii dintre ei fiind clasificați ca având gradul V de sensibilitate (între 80-100% răspunsuri pozitive la testele toxicologice efectuate pe animale). De asemenea, testele efectuate mai relevă și următoarele situații interesante:

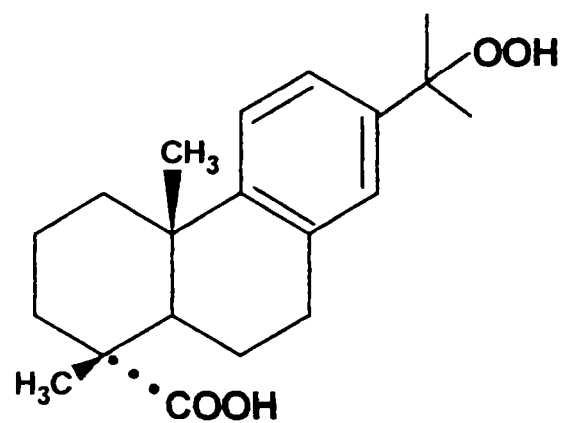
1. În cazul în care substanța testată a fost colofoniul care a avut în compoziție produșii oxigenați respectivi, pe persoane în general predispuse la alergii, numărul cazurilor pozitive a fost cu peste 70% mai mare decât dacă produșii de oxidare au fost testați în mod separat pe același lot (tabele 3.22, 3.23, 3.24).

2. Dintre componentele testate în mod separat, *acidul 15-hidroperoxiabietic(15-HPA)* și respectiv *acidul 15-hidroxiperodehidroabietic (15-HPDA)* s-au dovedit a fi cei mai puternici agenți alergeni fiind clasificați cu gradul V de sensibilitate. *Acidul 11.13-epoxi abietic ( $\beta$ -epoxi- A)* poate fi considerat un agent alergic mediu (între 30-40% cazuri pozitive), în timp ce *acidul 7-oxodehidroabietic (7-O-DeA)* a dat cele mai puține cazuri de alergii (10-15%).

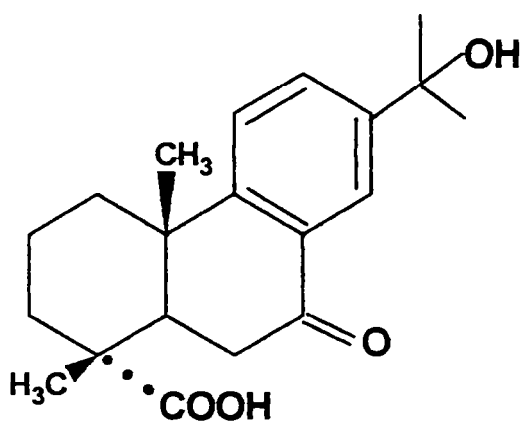
3. Un fenomen interesant apare în cazul compusului *acidul 15-hidroperoxiabietic (15-HPA)*, care deși s-a dovedit a fi un puternic agent alergic rezultatele obținute nu pot fi reproductibile în acest caz datorită faptului că acesta are o sensibilitate crescută la acțiunea oxigenului atmosferic [143].



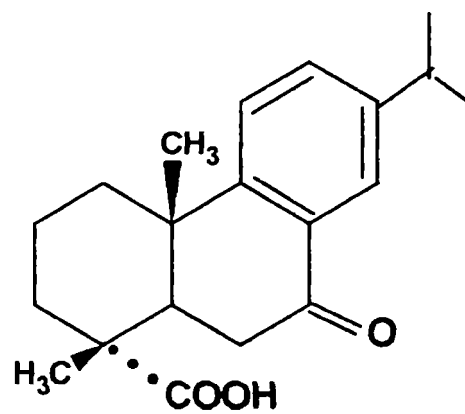
**Acid 15-hidroperoxiabietic  
(15- HPA)**



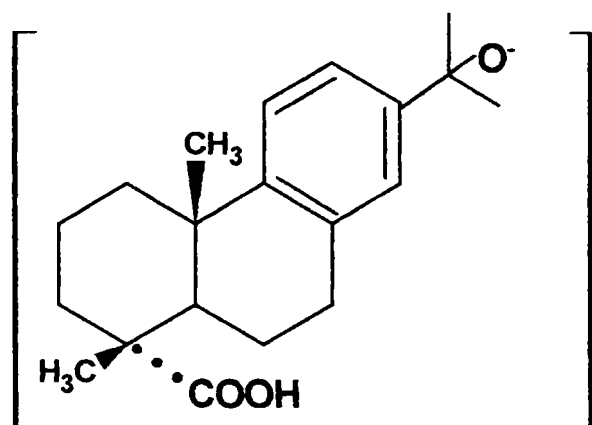
**Acid 15-hidroperoxidehidroabietic  
(15-HPDA)**



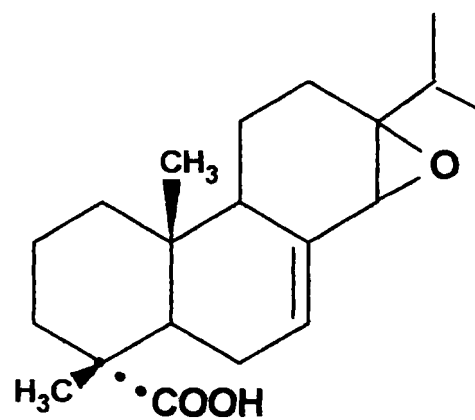
**Acid 15- hidroxi-7-oxodehidroabietic**



**Acid 7- oxodehidroabietic  
(7-O-DeA)**



**Bis(acid dehidroabietic-15-il) peroxid  
(15-DAP)**



**Acid 13,14-epoxiabietic  
( $\alpha$  - epoxi-A)**

*Fig. 3.26: Principalii derivați oxigenați ai acizilor abietici cu caracter alergen*

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

**Tabelul 3.22. Rezultatele acțiunii alergice a derivaților oxigenați ai acizilor abietici, [139, 143]**

Compusul testat	Concentrația substanței testate [%]	Nr. cazuri pozitive/Total cazuri testate
15- HPA	5	15/15
	1	25/44
$\alpha$ - epoxi-A	5	3/12
	1	1/12
$\beta$ - epoxi- A	5	5/12
	1	2/12
15-DAP	2	0/12
15-HPDA	5	10/10
	1	10/10
7-O-DeA	5	0/11
	1	0/11

Notă: 15- HPA- acid 15-hidroperoxiabietic;  $\alpha$ - epoxi-A- acid 13,14-epoxi abietic;  
 $\beta$ - epoxi- A- acid 11,13-epoxi abietic; 15-DAP-bis(acid dehidroabietic-15-il) peroxid; 15-HPDA- acid 15-hidroperoxidehidroabietic; 7-O-DeA- acid 7-oxodehidroabietic

**Tabelul 3.23. Rezultate obținute la testarea unor derivați oxigenați ai acizilor abietici cu caracter alergic pe perioade diferite de expunere, [139, 143]**

Perioada de testare[lună]	Nr. persoane testate	Nr. de cazuri pozitive			
		Colofoniu	7-O-DeA (1%)	7-O-DeA (5%)	$\beta$ - epoxi- A (5%)
1	163	6	0	Netestat	Netestat
2	159	6	netestat	Netestat	Netestat
3	437	24	netestat	0	2

**Tabelul 3.24. Rezultatele testelor alergice a unor derivați oxigenați ai acizilor abietici în colofoniu și luați separat, [139,143]**

Nr. persoanelor testate pozitiv	7-O-DeA		$\beta$ - epoxi- A		Colofoniu din oleorezină (20%)	Colofoniu din ulei de pin (20%)
	5%	1%	5%	1%		
1	+	-	-	-	+	-
2	++	+	-	-	-	-
3	+++	++	-	-	-	-
4	+++	+++	-	-	-	-
5	+++	+++	-	-	-	-
6	+++	+++	+	+	-	-

Notă: 7-O-DeA- acid 7-oxodehidroabietic;  $\beta$ - epoxi- A- acid 11,13-epoxi abietic

În ceea ce privește derivații colofoniului, studiile referitoare la potențialul alergic s-au focalizat asupra compuşilor rezultați în urma tratării colofoniului cu anhidridă maleică, acizi fumaric și maleic prin reacții de tip Diels-Alder, a produşilor de esterificare cu polialcooli, de regulă glicerol sau pentaeritritol precum și a derivaților lor hidrogenați [2]. Așa cum a fost menționat în **paragraful 3.3.1.4.** produşii Diels-Alder ai colofoniului se folosesc la fabricarea hârtiei ca și agenți care măresc rezistența acesteia față de apă dar intră și în componența cernelurilor de tipar. Colofoniul modificat prin esterificare își găsește aplicații în special ca agent de lipire, dar se adaugă și în compoziția cernelurilor a vopselelor și în rețeta de fabricație a gumei de mestecat ca emulgator. Derivații hidrogenați sunt în general folosiți ca emulgatori ai procesului de polimerizare la fabricarea cauciucului sintetic [144].

Din categoria produşilor Diels- Alder, *acidul maleopimaric* (MPA) și colofoniul tratat cu acid fumaric s-au dovedit a induce reacții alergice sporadice [145], iar din cea a produşilor de esterificare *gliceril-1 monoabietatul* (GMA) pare să posede un potențial alergic (tabelele 3.25; 3.26; 3.27).

*CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ*

**Tabelul 3.25. Rezultatele testării MPA și GMA asupra pacienților de la Spitalul Karolinska, Stockholm , Suedia, [146,147]**

Perioada de testare [lună]	Nr. cazuri testate	Nr. cazuri pozitive la colofoniu(20%)	Nr. cazuri pozitive MPA/GMA	Nr. cazuri pozitive la colofoniu și MPA/GMA	Nr. cazuri pozitive la MPA/GMA dar nu și la colofoniu
<i>MPA 1,2%</i>					
1	222	7 (32%)	13 (5,9%)	3	10
2	665	41 (6,2%)	11 (1,7%)	4	7
3	185	11 (5,9%)	1 (0,5%)	1	0
Total	1072	59 (5,5%)	25 (2,3%)	8	17
<i>MPA 0,6%</i>					
4	271	13 (4,8%)	10 (3,7%)	4	6
5	146	9 (6,02%)	0	0	0
Total	417	22 (5,3%)	10 (2,4%)	4	6
<i>GMA 5,4%</i>					
6	315	15 (4,8%)	10 (3,2%)	5	5

**Tabelul 3.26. Rezultatele testării cu diferiți compuși ai colofoniului la Centrul de dermatologie Lisabona, Portugalia, [146,147]**

Compusul testat	Conc.compusului [%]	Nr. Pacientului									Total cazuri pozitive
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Colofoniu Portughez	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9 (1,4%)
CMAF	20	-	-	-	-	-	-	+	-	-	1 (0,2%)
CMFA	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9 (1,4%)
GMA	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
MPA	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

Notă: CMAF -colofoniu modificat cu acid fumaric; CMFA -colofoniu modificat cu aldehidă formică; GMA- gliceril-1 monoabietat; MPA- acidul maleopimaric

**Tabelul 3.27. Rezultatele testelor alergice față de MPA în diferite clinici din Europa, [146,147]**

Nr. crt.	Locul testării	Nr. pacienți	Cazuri pozitive la colofoniu	Cazuri pozitive la MPA (0,6%)
1.	Depart. de dermatologie a spitalului din Odense, Danemarca	317	18 (5,7%)	2
2.	Clinica de dermatologie Dortmund, Germania	300	4 (1,3%)	0
3.	Depart. de dermatologie a Spitalului Gentofte, Danemarca	130	9 (6,9%)	0
4.	Depart. de dermatologie a Spitalului Wycombe, Anglia	100	6 (6%)	0
5.	Clinica de dermatologie, Strasbourg, Franța	65	2 (3,1%)	0
6.	Depart. de dermatologie a Spitalului Sf. Rafael, Leuven, Belgia	200	10 (5%)	2

Se poate observa că în cazul testelor efectuate în Suedia (tabelul 3.25), numărul cazurilor pozitive la acțiunea MPA, variază în funcție de perioada de testare și de concentrația compusului testat (între 0,5% - 5,9% cazuri pentru concentrații de 1,2% respectiv 0- 3,7% cazuri pentru o concentrație de 0,6%). Din totalul de 1072 pacienți testați în primele trei luni, doar 2,3% au prezentat reacții alergice față de MPA (1,2%), iar dintre aceștia 17 nu au prezentat sensibilitate față de colofoniu nemodificat. Un procent de 2,4% pacienți dintr-un total de 417, au prezentat reacții pozitive față de

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

MPA (0,6%) din care 6 pacienți au reacționat negativ față de colofoniu nemodificat în perioada a 4-a, în schimb nu s-a semnalat nici o reacție pozitivă față de același compus în perioada a-5-a.

În ceea ce privește comportamentul pacienților testați față de GMA (5,4%) doar 3,2% au răspuns pozitiv iar dintre aceștia doar 5 pacienți n-au fost alergici față de colofoniul nemodificat. În schimb în cazul testelor efectuate în Lisabona (tabelul 3.26.) nu s-au înregistrat reacții alergice față de GMA și MPA ci doar la CMFA (20%).

Testele efectuate pe pacienți din clinicile dermatologice din diferite țări ale Europei de Vest (tabelul 3.27.) au arătat că doar 2 pacienți din Danemarca respectiv Belgia au reacționat pozitiv față de MPA (0,6%) din totalul de 317 respectiv 200 de persoane testate, în rest răspunsurile au fost negative.

Din datele prezentate putem să tragem concluzia că dată fiind complexitatea compoziției chimice a colofoniului precum și a derivaților săi care la rândul lor pot conține în cantități mici componenți nemodificați sau care au suferit degradări oxidative pe parcursul perioadei de stocare, capacitatea colofoniului de a induce reacții alergice în diferite stadii trebuie să fie privită ca rezultatul combinație între compușii modificați și cei care sunt stabili la influența diferiților factori de natură endo- sau exogenă.

### **3.4. Evoluția cercetării fundamentale și aplicative privind acidul abietic și sărurile sale cu metale alcaline și amine**

#### **3.4.1. Metode de izolare și purificare a acidului abietic din colofoniu**

Încercările experimentale de izolare a acidului abietic din colofoniu au avut la început ca scop determinarea structurii acestuia și atribuirea unei formule chimice [78]. Astăzi se pune mai mult accentul pe purificarea acidului izolat fiind dovedit faptul că un acid cu grad de puritate ridicat nu cauzează reacții toxice sau alergice organismelor vii. Datele de literatură [148-150], menționează o largă varietate de metode și procedee de izolare a acidului abietic din colofoniu fiecare prezentând avantaje și dezavantaje dar care în mare pot fi reduse la următoarele patru :

*Metoda lui Levy*, constă în principiu dintr-o distilare fracționată a rășinii de conifere în vid urmată de o cristalizare a distilatului din metanol. Produsul obținut este purificat prin topire la 178-192°C, urmată de o răcire dinamică la 10-15°C. Puritatea produsului obținut nu depășește 68% iar randamentul de obținere a acidului abietic este cuprins între 55-60%. Metoda este greoie necesită o aparatură complicată, consumul de solvent și utilități este mare iar produsul obținut nu are o stabilitate în timp trecând într-un amestec de acizi rezinici izomeri cu acidul abietic. Schema bloc de operații este prezentată în figura 3.27 a).

*Metoda lui Cohn* constă din fierberea la reflux a unui amestec format din colofoniu și alcool metilic în prezență de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrat timp de 12 ore. Amestecul este apoi lăsat să se răcească încet până la apariția unei mase impure de cristale de acid abietic (aproximativ 12 ore respectiv 5 ore în cazul când se dispune de cristale pure de acid abietic care s-au adăugat ca germeni de cristalizare masei de amestec. După separarea masei de cristale de soluția mămă și spălare cu soluție apoasă de metanol, aceasta este recristalizată din metanol absolut și uscată sub vid. Produsul obținut prin această metodă are o puritate cuprinsă între 70-75% (pct. topire 156-161°C), randamentul de obținere fiind de 60-65%. Metoda mai prezintă dezavantajul că produsul obținut este impurificat cu un produs galben, greu de îndepărtat, format probabil din acțiunea H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> asupra impurităților operații este prezentată în figura 3.27 b).

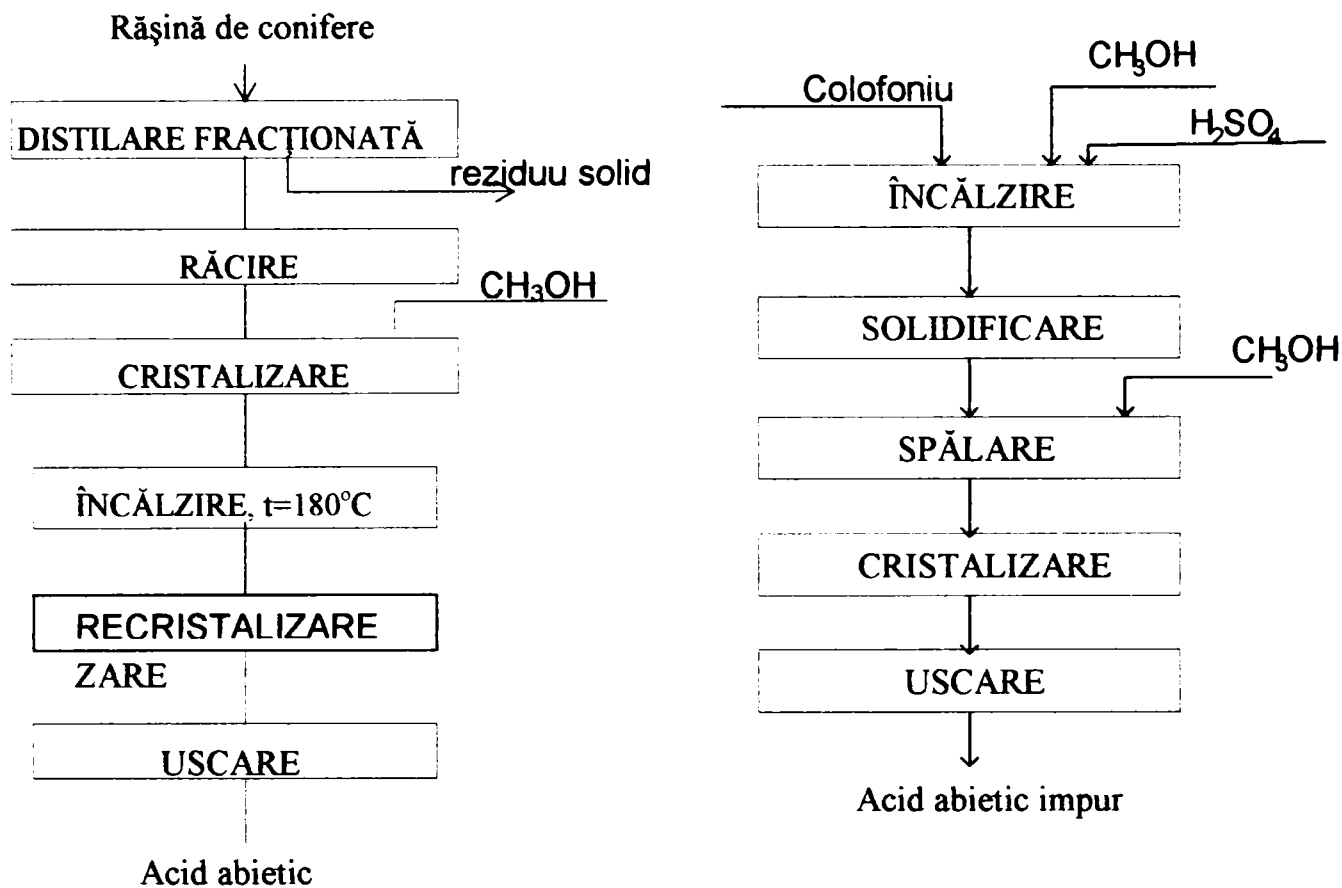


Fig. 3.27. : Scheme bloc de operații pentru obținerea acidului abietic prin: a) metoda lui Levy; b) metoda lui Cohn

*Metoda lui Knecht și Hibbert.* Obținerea acidului abietic prin această metodă a constat din dizolvarea la temperatura camerei a colofoniului într-o cantitate echivalentă de acid acetic glacial după care amestecul a fost lăsat la întuneric timp de o săptămână, perioadă în care s-au separat cristalele de acidul abietic. Masa de cristale a fost filtrată și recristalizată repetat (aproximativ de 20 ori) din acid acetic, metanol și etanol. Această metodă este anevoioasă, consumatoare de timp și reactanți iar puritatea produsului obținut nu este superioară celei obținute prin metodele descrise anterior. Schema bloc de operații este prezentată în figura 3.28.

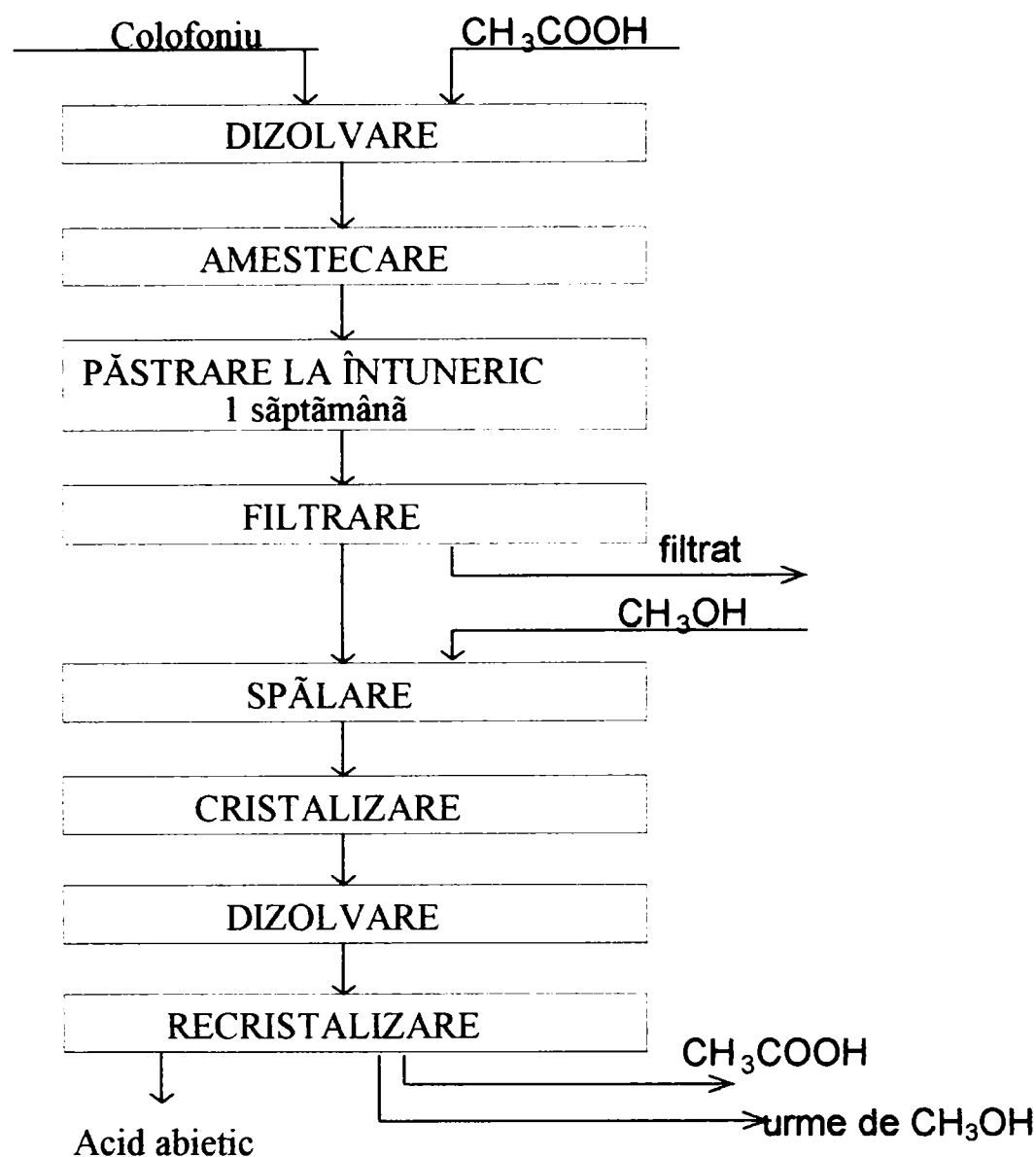


Fig.3.28.: Schema bloc de obținere a acidului abietic prin metoda lui Kmecht și Hibbert

*Metoda lui Steele.* Dacă observația după care colofoniu conține anhidrida acidului abietic este acceptată și ținându-se cont de acest fapt în toate metodele de izolare a acidului abietic din colofoniu, procesul esențial va fi unul de hidratare.

Metoda de preparare a acidului abietic din colofoniu după Steele constă în principiu din următoarele etape: (1). Cantități aproximativ egale de colofoniu alb și acid acetic au fost încălzite timp de 2 ore într-un vas de reacție cu reflux.

(2). Amestecul a fost filtrat fierbinte printr-o hârtie de filtru cu pori mari, iar filtratul a fost răcit la temperatura camerei sau mai jos.

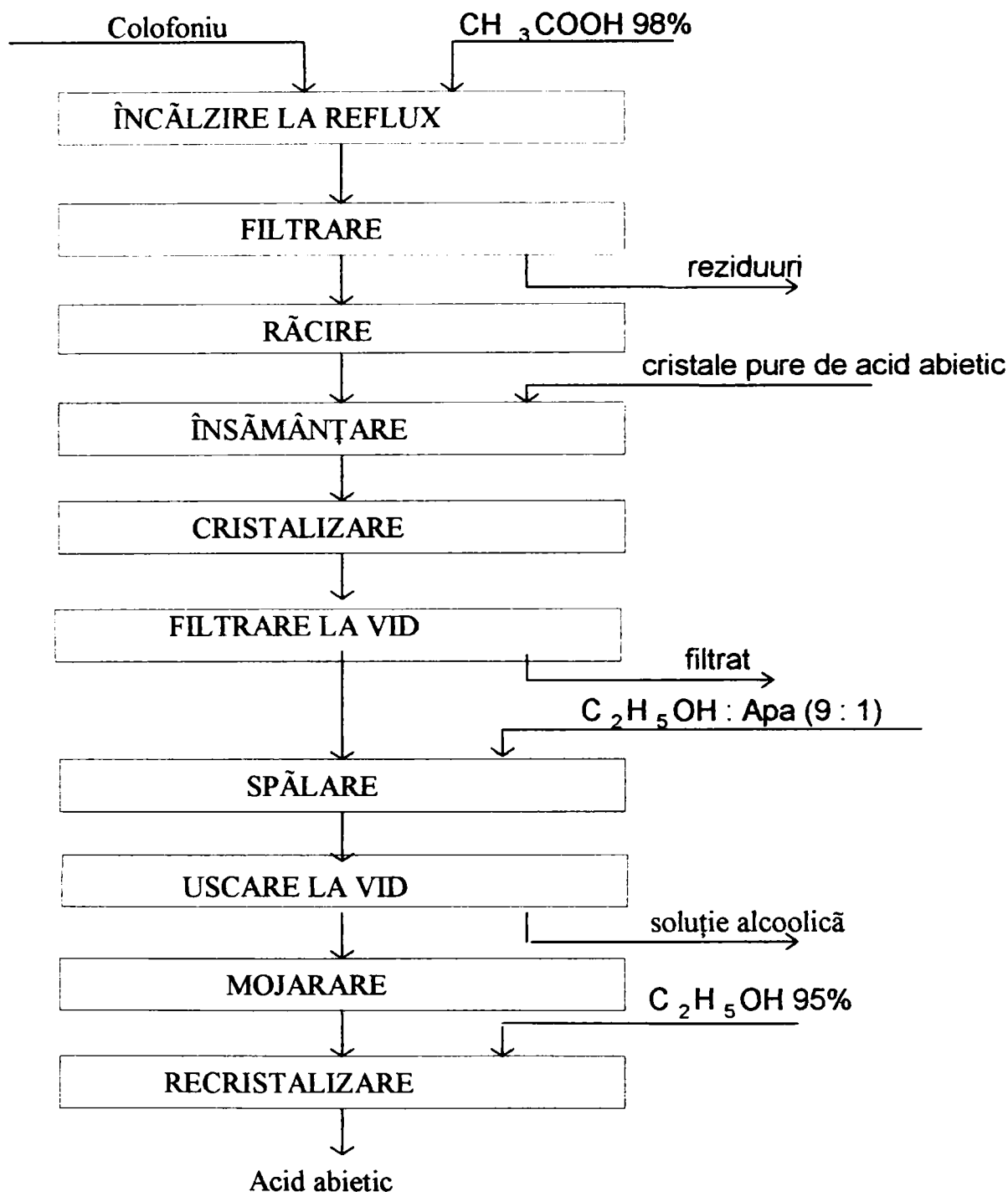
(3). Câteva cristale de acid abietic au fost adăugate pentru a începe cristalizarea sau dacă acest produs nu este la îndemână, soluția este lăsată să stea peste noapte, când spontan va avea loc cristalizarea. Dacă soluția a fost "alimentată" cu acid abietic, cristalizarea începe în decurs de o oră, iar lichidul devine o masă solidă de cristale.

(4). Produsul a fost filtrat pe o pânză Buncher la vid, iar filtratul a fost lăsat la întuneric timp de 24 ore pentru a obține o nouă recoltă de cristale.

(5). Substanța de pe filtru a fost separată pe cât posibil de soluția mamă și spălată cu părți succesive de amestec alcool etilic : apă (9 : 1) sau cu alcool denaturat până când filtratul devine slab colorat.

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Produsul obținut a fost uscat la 40°C în atmosferă lipsită de oxigen. În final s-au obținut aproximativ 350 g de acid, ținându-se cont și de a II-a recoltă de material recuperat din soluția mamă. Produsul separat mai sus, a avut valori ale punctului de topire cuprinse între 155-159°C. În continuare produsul a fost recristalizat din alcool etilic de concentrație 95%, obținându-se un produs cu punct de topire de 158-162°C. Schema bloc de operații este prezentată în figura 3.29.



**Fig. 3.29: Schema bloc de obținere a acidului abietic prin metoda lui Steele**

Alcoolul etilic (96%) a fost considerat mai eficient decât metanolul sau acetatul de etil, pentru recristalizarea acidului abietic, din 100 g acid abietic impur după o primă recristalizare din etanol randamentul a fost cu 30% mai mare decât dacă recristalizarea s-ar fi făcut din metanol. Puritatea acidului recristalizat din alcool etilic a fost de 75% față de numai 55% în cazul acidului abietic recristalizat din acetat de etil. Purificarea acidului abietic brut este în mod obișnuit o sarcină laborioasă solicitând cristalizări numeroase din alcool esteri organici, acizi carboxilici. De asemenea, se poate întâmpla ca în timpul recristalizărilor repetate impuritățile constituite din acizi rezinici izomri ai



### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

acidului abietic, ca urmare a încălzirii să se izomerizeze, trecând alături de acidul abietic levogir sub forma enantiomerului său optic dextrogir [151].

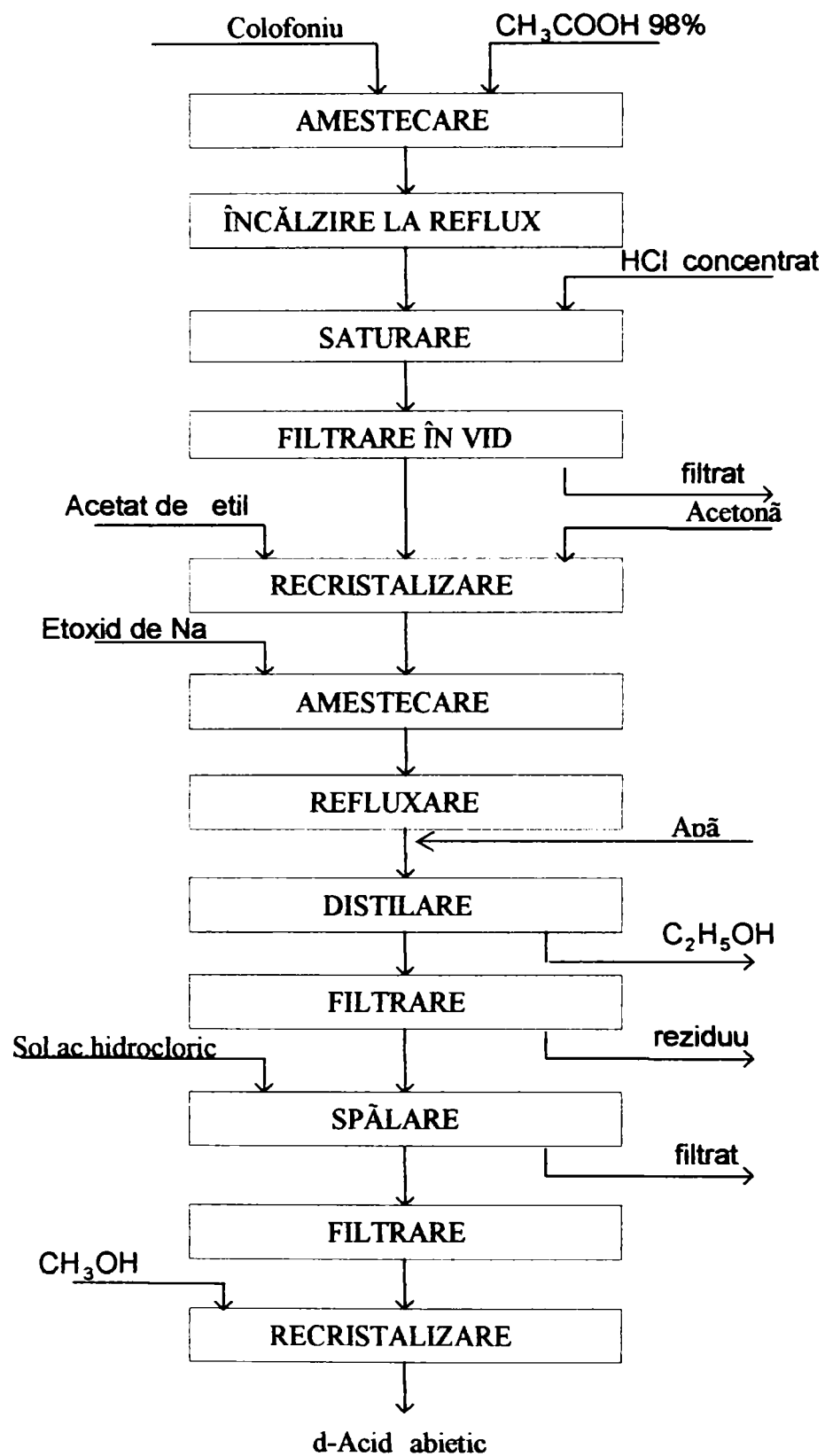
Pentru purificarea acidului abietic izolat din colofoniu, Kesler a utilizat metoda sării complexe de sodiu. Astfel în timp ce acidul abietic este solubil în etanol, sarea complexă e greu solubilă (0,25 mg/l) și insolubilă în apă. Pentru obținerea sării complexe a fost necesară izomerizarea în prealabil a acidului conținut în colofoniu pentru că în forma dextrogir nu se obține sarea complexă ci cea neutră. Pentru izomerizarea acidului d- abietic la acid l-abietic, Kesler a folosit acidul clorhidric sub formă de soluție apoasă 10% concentrație.

Colofoniul a fost dizolvat în alcool etilic fierbinte, astfel încât să se obțină o soluție de 33%. În continuare soluția de rășină a fost izomerizată prin adăugarea a 200 ml soluție de acid clorhidric 10 %, sub agitare continuă timp de 5 minute. Etapa următoare a constat în neutralizarea mai întâi a acidului clorhidric cu o soluție de hidroxid de sodiu și adăugarea unui exces de soluție alcalină astfel încât să se neutralizeze circa o cincime din cantitatea de acid abietic conținut în colofoniu. După răcire cristalizează sarea complexă de sodiu ( $C_{19}H_{29}COONa \cdot 3C_{20}H_{30}O_2$ ), care după separare și spălare cu alcool, se tratează cu acid clorhidric soluție 1N când se obține acidul abietic de puritate înaltă [152]. Avantajul folosirii sării complexe pentru separarea acidului de cantitățile de impurități prezente în colofoniu în special de produșii de oxidare ai acizilor rezinici primari constă în absența recristalizărilor numeroase, operații consumatoare de timp și solvenți adesea toxici cazul metodei lui Steele precum și în absența distilării fracționate cazul metodei lui Levy

O purificare mult mai eficace este pe calea sărurilor lui cu baze organice, câteva dintre aceste săruri fiind preparate de Balas , Dupont și Desalbre [153].

Conversia acidului abietic levogir în dextrogir s-a realizat prin intermediul acidului diclorhidroabietic care este cristalin și ușor de purificat. Acest acid a putut fi obținut direct din colofoniu prin saturare cu HCl concentrat într-un vas de reacție etanș. Astfel, un amestec de colofoniu și acid acetic 98% a fost introdus într-un vas de reacție și încălzit la fierbere timp de 4 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la 0°C și saturat cu HCl concentrat fiind menținut timp de 2 săptămâni la temperatura camerei. După filtrare în vid, partea solidă a fost supus recristalizării din acetonă și, ulterior, din acetat de etil, obținându-se acid diclorhidroabietic. Același procedeu se folosește și dacă se pornește de la acid abietic obținut prin una dintre metodele de izolare din colofoniu. În continuare a au fost adăugate, în părți egale la intervale de 5-10 minute 200 ml soluție fierbinte de etoxid de sodiu (17,5 g sodiu și 175 cm<sup>3</sup> etanol absolut). Amestecul de reacție a fost încălzit la reflux timp de o oră după care s-a adăugat apă pentru dizolvare și excesul de etanol a fost distilat. Săpunul-reziduu a fost apoi diluat în 3 litri de apă. Soluția a fost filtrată și filtratul acidificat cu soluție de acid hidroclic, obținându-se un precipitat alb. După filtrare și recristalizare din metanol, s-a obținut acidul d-abietic [18]. Schema bloc de operații este prezentată în figura 3.30.

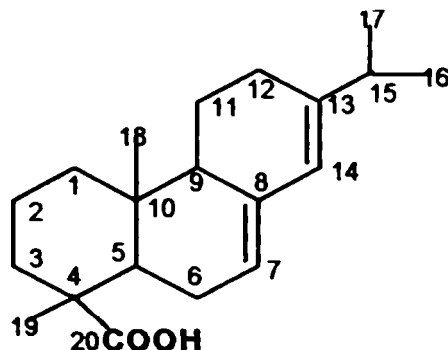
CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ



*Fig. 3.30: Conversia l-acidului abietic în d-acid abietic*

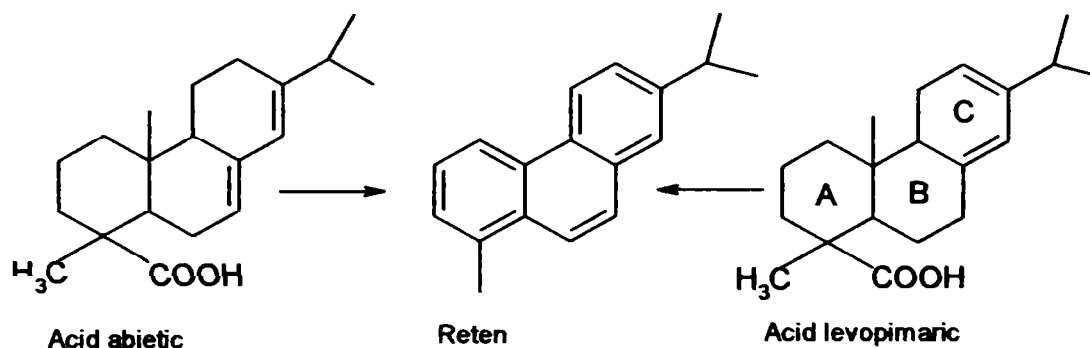
**3.4.2. Elucidarea structurii acidului abietic prin metode moderne de analiză**

Acidul abietic CAS [514-10-3], (acid 13-izopropilpodocarpa-7,13-dien-15-oic) [33] (figura 3.31), izolat din colofoniu a format obiectul a numeroase studii de analiză structurală având un schelet hidrofenantrenic așa cum rezultă din dehidrogenarea cu sulf (Vesterberg 1903, [19]) sau cu paladiu depus pe cărbune care duce la o hidrocarbură aromatică, retenul  $C_{18}H_{18}$  (figura 3.17), reacție în care se elimină în afară de gruparea carboxil și un metil care nu poate fi decât un metil angular. Din această constatare și ținând seama de principiul construcției izoprenice, s-a dedus scheletul moleculei.

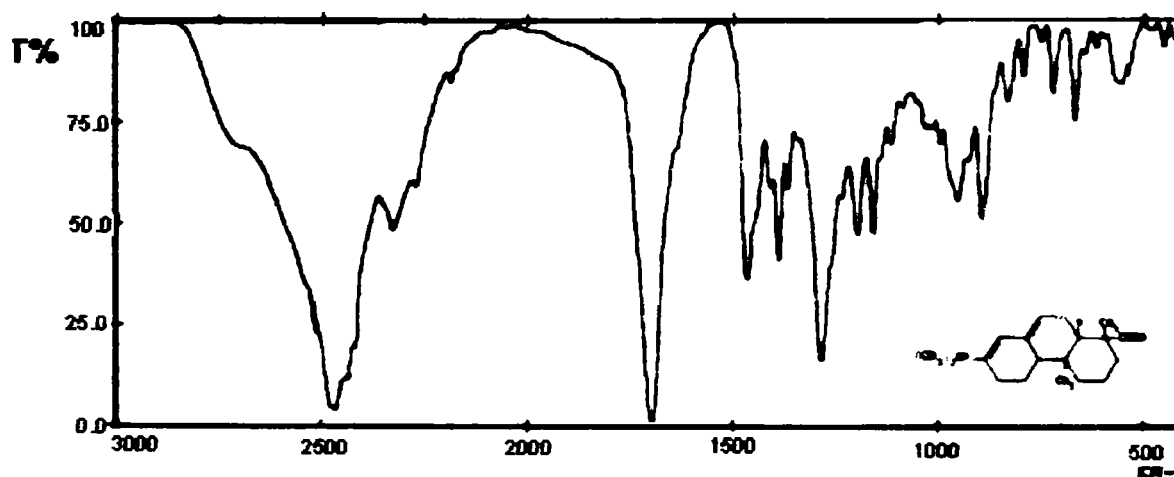


**Fig. 3.31: Formula structurală a acidului abietic**

Locul celor două duble legături, a fost stabilit atât prin degradări oxidative sistematice, așa cum indică transformările de mai jos, cât și prin analiza spectrale de UV, Raman [154] și IR [155]



Astfel în spectrul de absorbție în ultraviolet acidul abietic are o bandă principală la 241nm ceea ce sugerează că cele două duble legături sunt distribuite pe două din cele trei inele. În spectrul Raman se remarcă vibrațiile din regiunea  $1600\text{cm}^{-1}$ , iar în spectrul de IR vibrația de valență a legăturii  $\text{C}=\text{O}$ , apare la  $1690\text{cm}^{-1}$  iar absorbțiile atribuite cuplajului vibrației de deformare a grupei OH cu vibrația de valență  $\text{C}=\text{O}$  apar la  $1420$  respectiv la  $950\text{cm}^{-1}$  acestea fiind considerate drept caracteristici pentru identificarea acidului abietic. În figura 3.32 se prezintă spectrul de IR al acidului abietic în pastilă de bromură de potasiu [155].



**Fig. 3.32: Spectrul de vibrație - rotație a acidului abietic în KBr, [155]**

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Analiza structurii acidului abietic prin rezonanță magnetică nucleară ( $^1\text{H}$ -RMN și  $^{13}\text{C}$ -RMN) a furnizat informații despre prezența unor grupări funcționale și despre structura lor parțială prin intermediul deplasărilor chimice ( $\delta_{\text{H}}$  respectiv  $\delta_{\text{C}}$ ). De asemenea, constantele de cuplare dintre protoni au ajutat la identificarea protonilor învecinați ceea ce a permis elucidarea poziției celor două duble legături, spectrele de RMN demonstrând că dublele legături din structura acidului abietic sunt conjugate dar distribuite fiecare pe câte un ciclu de 6 atomi de carbon. Cu toate acestea rezoluția spectrelor de  $^1\text{H}$ -RMN simple este adesea insuficientă pentru a permite calcularea tuturor constantelor de cuplaj importante care să ducă la stabilirea cu certitudine a structurii moleculare a unui compus organic. De aceea, în acest caz s-a apelat la *dublă rezonanță* care a dus la simplificarea spectrelor prin decuplarea spinilor protonilor, adică la reducerea multiplicității semnalelor reușindu-se astfel localizarea dublelor legături la atomii de carbon C7, respectiv la C13, (figura 3.31). Totodată s-a reușit să se demonstreze că gruparea carboxil este situată aproape de planul comun al ciclurilor hexagonale și de cealaltă parte a planului față de radicalii metilici respectiv izopropil. O altă utilizare a RMN-ului de dublă rezonanță a fost posibilitatea localizării moleculelor de acid abietic și a interacțiunilor sale cu componenții fosfolipidici ai membranelor celulare în scopul descifrării mecanismului de acțiune cu caracter toxic pentru unele organisme [156, 157, 158]. În figura 3.33 se prezintă spectrele de rezonanță magnetică nucleară  $^1\text{H}$ -RMN (a) și  $^{13}\text{C}$ -RMN (b) ale acidului abietic obținute cu ajutorul unui spectrometru tip Bruker DRX-300, folosind ca solvent cloroformul deuterat iar ca etalon trimetilsilanul (TMS) [155].

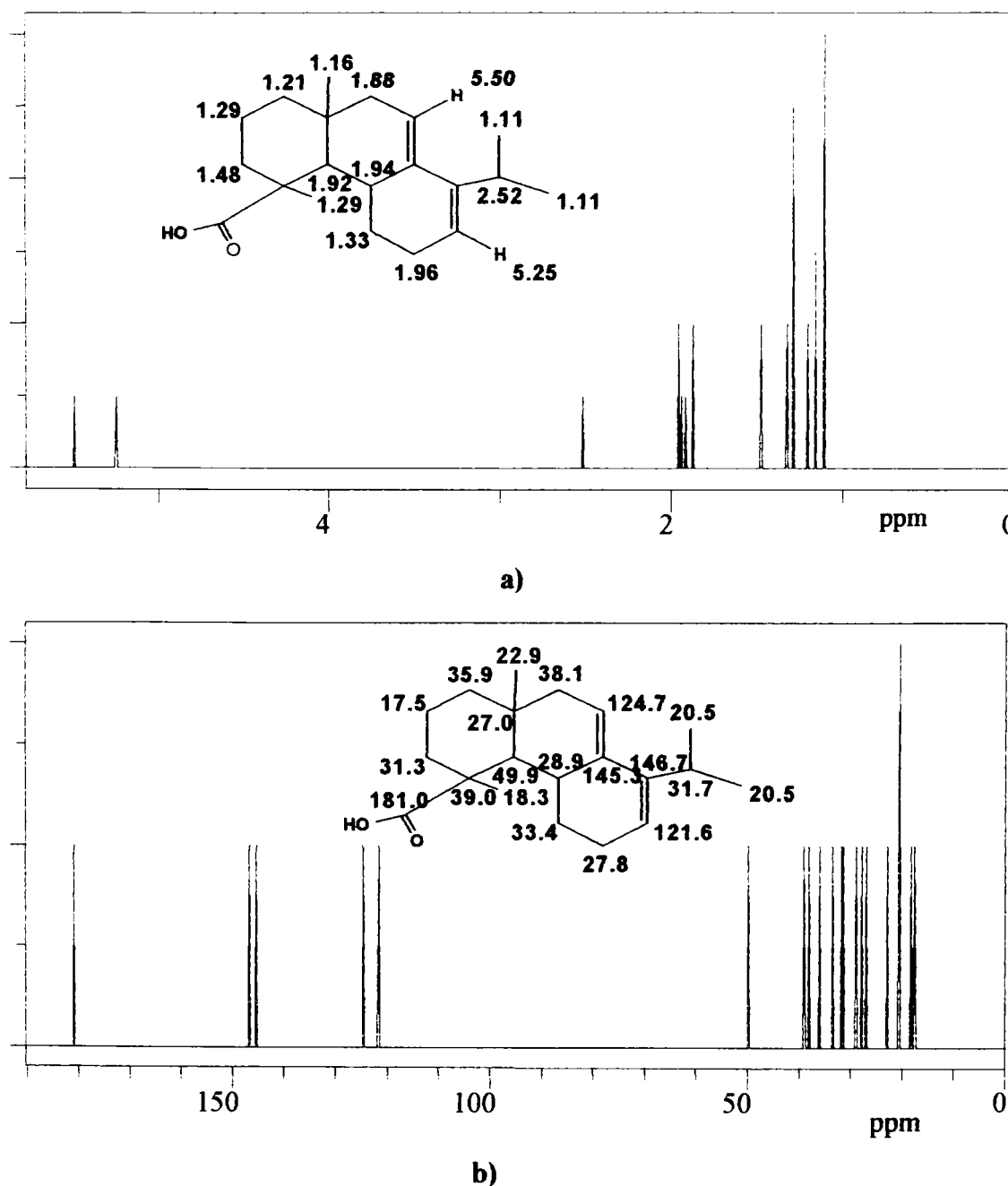
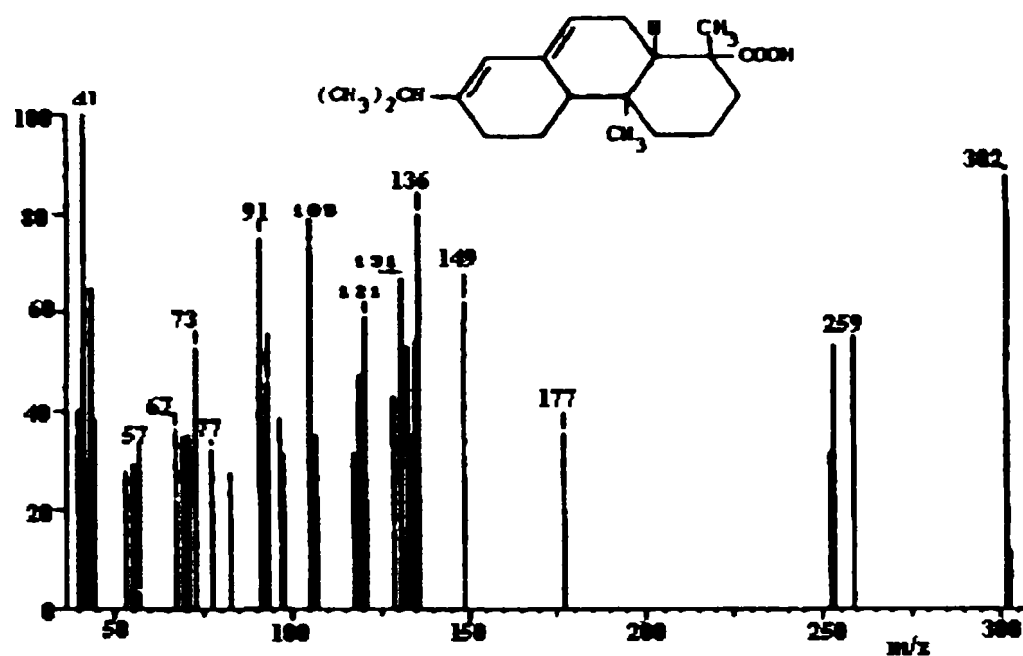


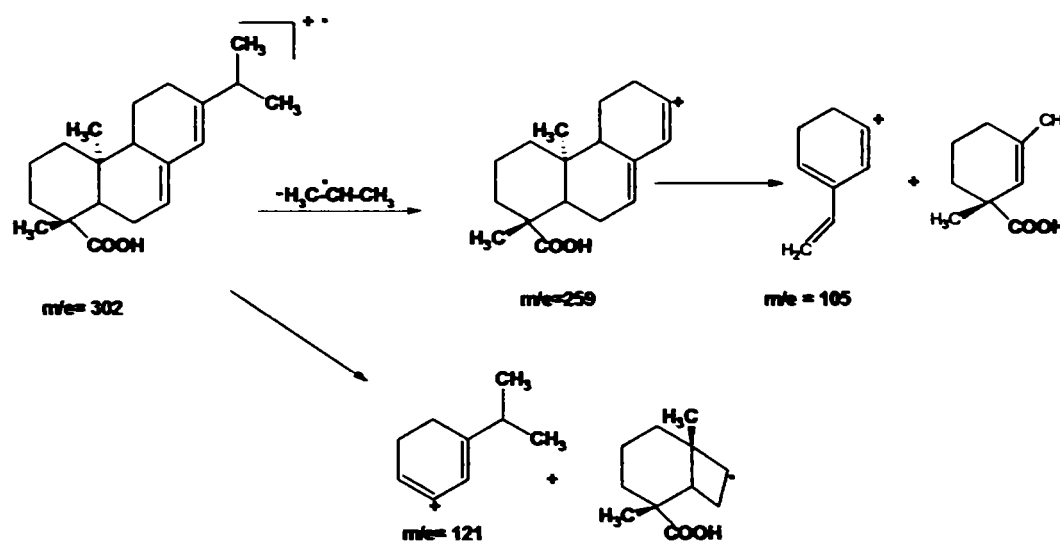
Fig. 3.33: Spectrele de  $^1\text{H}$ -RMN (a) și  $^{13}\text{C}$ -RMN (b) ale acidului abietic în  $\text{CDCl}_3$  [155]

CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Spectrometria de masă prin ionizare electronică (EI-MS) a fost de asemenea de un real folos pentru elucidarea structurii acidului abietic astăzi spectrul său de masă putând fi găsit în bazele de date care au acest profil. În figura 3.34 a) este prezentat spectrul de masă obținut prin EI-MS la 70 eV al acidului abietic iar în figura 3.34 b) sunt redate câteva exemple referitoare la posibilele căi de fragmentare ale ionului molecular de acid abietic.



a)



b)

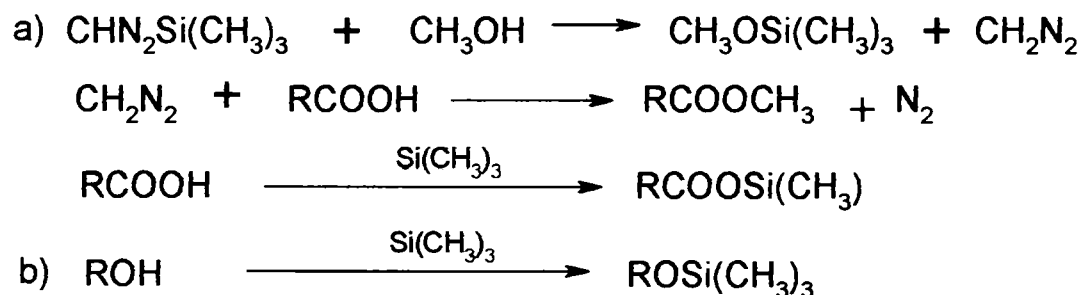
Fig. 3.34: a) Spectrul de masă (EI-MS, 70eV) al acidului abietic; b) principalele căi de fragmentare ale ionului molecular de acid abietic

Această repartizare a celor două duble legături pe două cicluri diferite și-a găsit aplicații în posibilitatea sintezei unor compuși oxigenați prin reacții de oxidare selectivă a unei singure duble legături, compuși care sunt similari celor obținuți în prima etapă a procesului de biodegradare a acidului abietic de către microorganisme. Folosirea acestor compuși oxigenați sintetizați ca și precursori ai reacțiilor de rupere a ciclurilor a permis accesul la descifrarea mecanismului biodegradării acidului abietic prin obținerea pe cale chimică a produșilor similari celor de biodegradare [160].

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

Odată stabilită formula structurală a acidului abietic, acesta a putut fi determinat cantitativ din cele mai diverse surse: colofoniu, apele uzate de la fabricile de prelucrare a lemnului, hârtiei, din compoziția vopselelor utilizate pentru tablouri, fresce, din rășinile utilizate de antici pentru astuparea amforclor. etc. Primele metode de analiză a conținutului de acid abietic au fost cele **cromatografice** și în special **gaz cromatografia (GC)**. Această tehnică se folosește în special când amestecul de analizat are o compoziție complexă (ex. oleorezina), dar o cerință importantă pe care trebuie să o îndeplinească probele de analizat este aceea de a fi suficient de volatile pentru a putea să străbată coloana cromatografică în fază gazoasă ceea ce înseamnă că se exclud acei compuși cu greutate moleculară mare. Trebuie menționat însă că în cazul compușilor macromoleculari din clasa diterpenoidelor cu tendință de polimerizare, impedimentul slabei volatilități a fost rezolvat prin cuplarea CG cu MS. Compușii trebuie de asemenea să fie stabili termic pentru a evita descompunerea acestora în fază gazoasă. În cazul acidului abietic și în general al acizilor rezinici este necesară derivatizarea pentru a crește volatilitatea și stabilitatea acestora în fază gazoasă. La începutul utilizării GC se folosea ca agent de derivatizare diazometanul ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) acizii fiind transformați în esteri metilici. Astăzi însă diazometanul a fost abandonat în mare parte datorită toxicității și instabilității sale fiind înlocuit cu trimetilsilildiazometan ( $\text{CHN}_2\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ) care reacționează cu metanolul în amestec la temperatura camerei conducând la trimetilsililmetanol și diazometan conform reacțiilor din figura 3.35 (a). Acesta din urmă reacționează cu acidul analizat în modul obișnuit [161].

O altă metodă de derivatizare este trimetilsililarea care conduce atât la formarea de esteri cât și de eteri trimetilsililici în conformitate cu reacțiile din figura 3.35 (b). Un dezavantaj al acestei metode de derivatizare îl constituie susceptibilitatea produșilor derivatizați rezultați la hidroliză ca urmare a prezenței urmelor de apă. De asemenea, această metodă este mai dificil de aplicat în cazul acidului abietic și al compușilor diterpenoidici în general, ca urmare a faptului că în cazul cuplării cromatografiei de gaz cu spectrometria de masă, spectrele de masă ale acestor compuși nu pot fi comparate cu cele raportate în literatura de specialitate [162, 163] motiv pentru care încă în cazul acidului abietic se folosește metilarea ca procedură de derivatizare.



**Fig. 3.35: Proceduri de derivatizare: metilarea grupelor carboxil prin trimetilsilildiazometan(a); trimetilsililarea grupelor carboxil și hidroxil cu un agent de silatizare (b)**

Recent a fost pusă la punct o nouă procedură de derivatizare a acizilor rezinici care fac obiectul monitorizării nivelului lor în apele uzate de la fabricarea hârtiei prin analiză cu ajutorul electroforezei capilare în ciclodextrine. Procedura implică reacția dintre acizii rezinici și un colorant de fluorescență 4-brom metil-7 metoxicumarina în prezența carbonatului de potasiu. Atât analizele de HPLC cât și cele de MS au relevat că derivatizarea a decurs fără a se forma produși secundari iar esterii au fost obținuți în cantități cuantificabile [164].

Pentru determinarea conținutului în acid abietic din rășinile folosite de către romani pentru sigilarea amforelor cu provizii și băutură, Dominguez a pus la punct o nouă metodă de derivatizare a acizilor rezinici care constă în tratarea probelor analizate cu metilcloroformiat (MCF) într-un mediu de reacție alcătuit dintr-un amestec de acetonitril/apă/metanol/piridină într-un raport de 7:1:1:2, pentru obținerea esterilor, operație utilă mai ales că scurtează timpul afectat derivatizării și folosește cantități foarte mici de probă [165].

Progrese majore au fost făcute nu numai în legătură cu tehnicile de derivatizare dar și în legătură cu umplutura coloanelor cromatografice. Astfel s-a ajuns la concluzia că un bun suport cromatografic pentru compușii terpenoidici îl constituie azotatul de argint (complex  $\pi$ ) simplu sau impregnat în gel de silice în cadrul analizei preparative de HPLC și TLC. În acest context se

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

menționează cercetările lui Lam [166], care a reușit să dezvolte o tehnică de cromatografică preparativă, pentru separarea acizilor rezinici în cantități de ordinul gramelor sub formă de esteri metilici, pe bază de azotat de argint impregnat cu gel de silice

În cazul în care compoziția amestecului de analizat este formată din compuși diterpenoidici greu volatili ca urmare a caracterului polar sau ionic ceea ce nu corespunde cu cerințele GC, se poate folosi cu succes tehnica analizei cromatografiei de lichid de înaltă performanță (HPLC). Această metodă este adecvată unui număr mai mare de compuși organici în comparație cu tehnica GC. Spre deosebire de CG, temperatura de lucru este de regulă menținută la valoarea temperaturii camerei ceea ce permite analizarea și a acelor compuși care nu sunt stabili termic și în plus nu este nevoie de procedura preliminară de derivatizare. Un alt avantaj al utilizării HPLC îl constituie faptul că există posibilitatea folosirii detectoarelor de UV. Principalul dezavantaj al HPLC-ului față de GC în cazul analizei acidului abietic din amestecurile de acizi rezinici este imposibilitatea de a determina formele izomere ale acidului în mod individual. Din amestecurile de diterpenoide acidul abietic este separat în mod obișnuit prin trecerea unei soluții alcoolice (metanol) de probă printr-o coloană C8-C18 cu fază inversă, prin eluare, folosind un amestec de eluenți alcătuit din acetonitril/apă sau metanol/apă în diferite rapoarte, detectarea prezenței acidului fiind asigurată de un detector de UV/VIS, [130, 167]. În figura 3.36 este redat un exemplu de cromatogramă a unui amestec de acizi rezinici, folosind un aparat HPLC Waters 2690 cu coloană tip C8 (250x 2,0 mm) cu fază inversă, faza mobilă fiind un amestec de acetonitril/apă 80:20 (vol/vol).

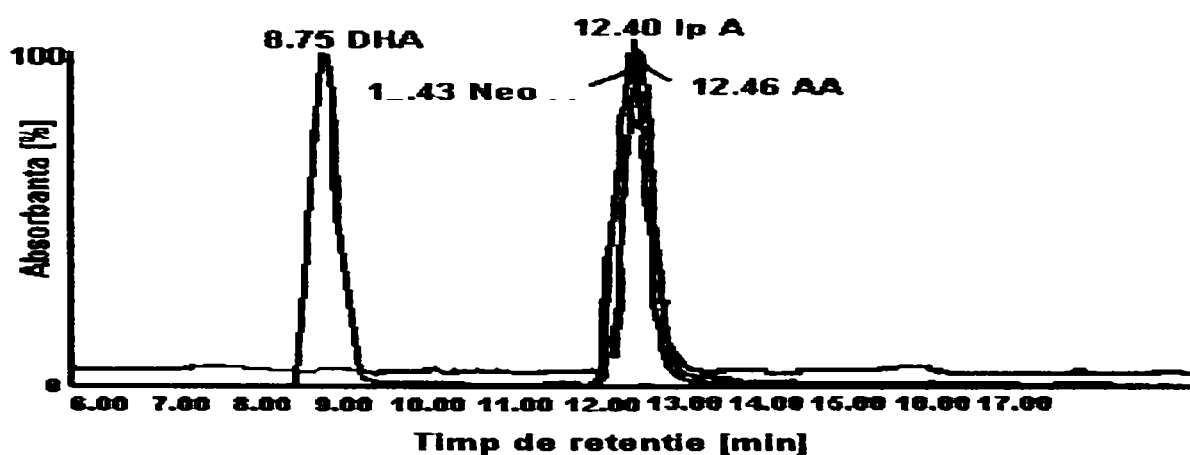


Fig. 3.36: Exemplu de cromatogramă a unui amestec de acizi rezinici obținută prin tehnica de HPLC, [167]

Cei patru reprezentanți ai acizilor rezinici (acizii dehidroabietic (DHA), neoabietic (Neo.A), izopimaric (IpA), abietic (AA)), au putut fi detectați într-un interval de timp de 8-13 min. Cu toate că tehnica de analiză a compușilor organici prezintă avantaje în sensul asigurării unei sensibilități și reproductibilități a rezultatelor obținute, se observă și din acest exemplu imposibilitatea separării clare a timpilor de retenție corespunzători izomerilor de poziție ai acidului abietic [168]. Pentru o bună separare a componentelor acide din amestecul de acizi rezinici, este recomandabil ca pH-ul fazei mobile să fie cât mai scăzut (sub 6 în cazul acidului abietic) pentru a împiedica ionizarea acestora [169,170]. Combinarea cromatografiei de lichide folosită în scopuri preparative cu GC-MS pentru analiza fracțiilor HPLC colectate a dat rezultate mult mai precise în special în cazul determinării compoziției în compuși diterpenoidici a unor vopsele pe bază de rășini de conifere folosite de pictorii renaștenști [171].

Amestecurile mai complexe cum sunt produsele finite (vopsele, adezivi, produse cosmetice,) care conțin în compoziția lor acid abietic care se găsește sub formă polimerizată și care sunt greu volatile sau puțin solubile în solvenți organici sunt deseori dificil de analizat prin metodele cromatografice chiar dacă ele sunt cuplate cu spectrometria de masă. Din aceste motive Direct Temperature Resolved Mass Spectrometry, (DTMS), este o tehnică foarte potrivită pentru analiza compușilor diterpenoidici în general și în special a derivaților acidului abietic cu structură complexă [172,173]. În figura 3.37 sunt reprezentate schematic etapele ce trebuie parcurse în cazul metodei de analiză DTMS.

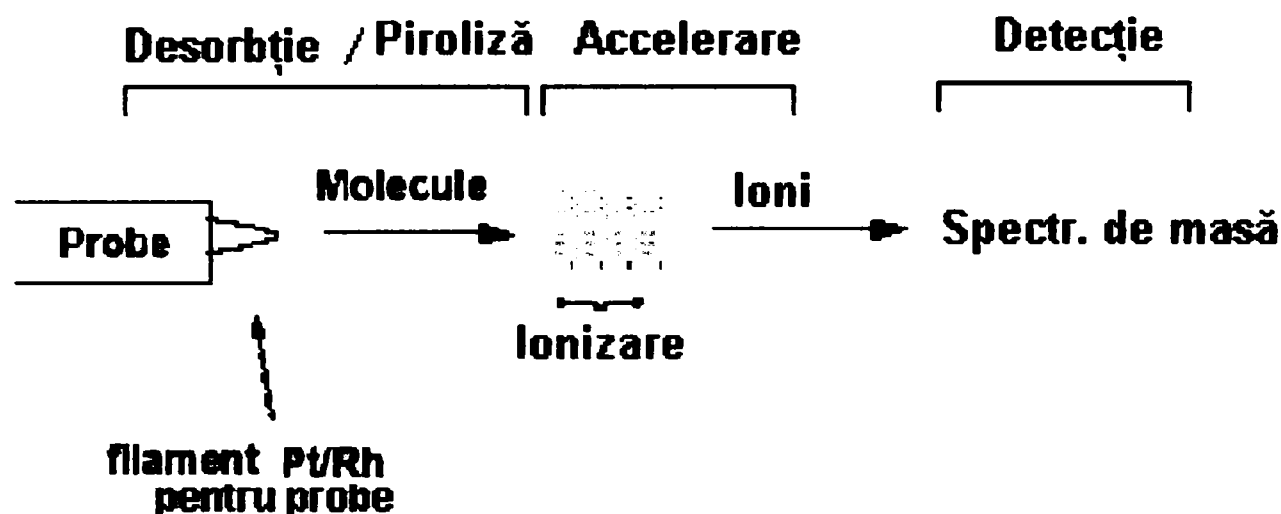


Fig.3.37: Diagrama etapelor de lucru pentru metoda DTMS

În cazul acestei metode, proba de analiză este încălzită prin intermediul unui filament de Pt/Rh (9/1) având diametrul de 100 micrometri, filament plasat chiar în camera de ionizare. În acest mod odată cu încălzirea probei, evaporarea și piroliza ei are loc și ionizarea moleculelor volatilizate. În cadrul acestei metode se pot aplica diferite moduri de ionizare, cum ar fi de exemplu ionizarea electronică (EI) sau ionizarea chimică (CI). De asemenea pentru analiza compușilor diterpenoidici este preferabilă o ionizare electronică de energie joasă (16eV) în scopul minimizării fragmentării compușilor analizați și astfel să se poată obține informații referitoare la structura moleculară a compușilor. Ca urmare a faptului că în interiorul camerei de ionizare vidul este de ordinul  $10^{-4}$  Pa oxidarea (arderea) probei este imposibilă. Separarea compușilor din proba de analizat se face în funcție de volatilitatea compușilor, aceștia fiind separați în ordinea crescătoare a masei lor moleculare prin creșterea graduală a temperaturii probei. Compușii cu masă moleculară mai mică (acizi grași, anumiți acizi rezinici în formă monomerică, ceruri) se volatilizează la temperaturi mai joase, în timp ce fracțiile macromoleculare (formele polimerice ale acizilor rezinici, proteine, polizaharide, săruri cu metale ale acidului abietic) sunt separate la temperaturi mai înalte printr-o degradare pirolitică, în paralel, în fiecare secundă fiind înregistrat spectrul lor de masă. Ionul total curent (TIC) (figura 3.38), rezultat prin

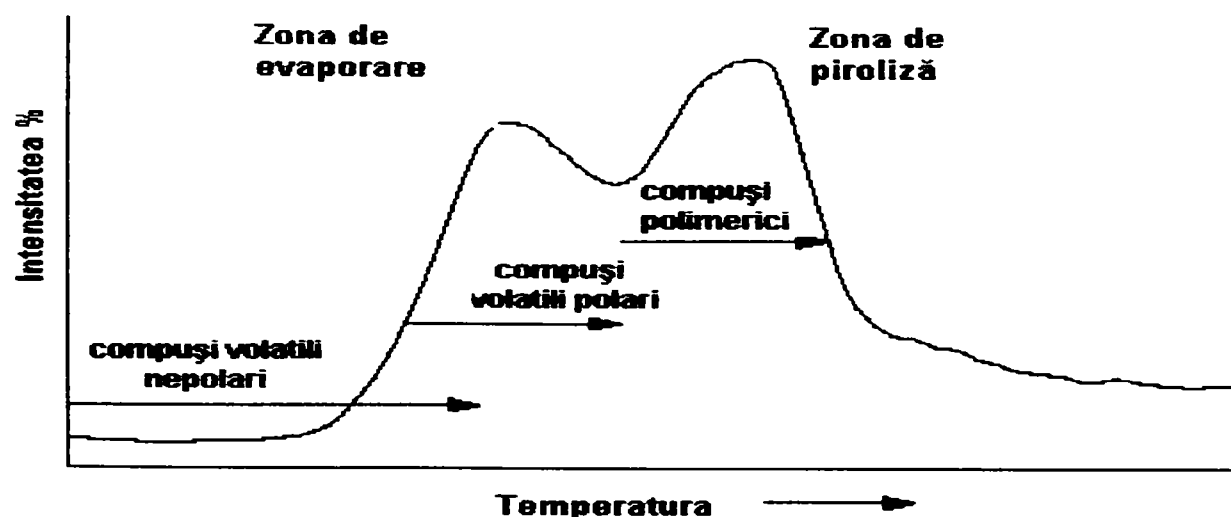


Fig.3.38: Modul de reprezentare grafică a ionului curent total (TIC)

înregistrare, va furniza informații atât despre partea volatilă cât și despre cea polimerică din probă. Datele experimentale pot fi reprezentate și sub forma spectrului de masă care, în acest caz este un spectru de masă total care asigură o imagine completă despre compoziția calitativă și adeseori



### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

cantitativă a probei analizate. Avantajele acestei metode sunt marcată și sensibilitate de ordinul picomolilor, aplicabilitatea ei la diferite clase de compuși organici și nu numai, absența etapelor de pregătire a probelor și timpul scurt al analizei efective (ordinul minutelor) [173].

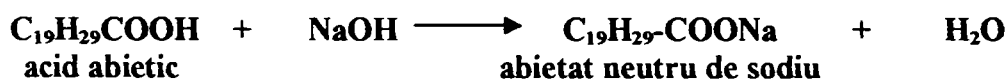
Din această scurtă trecere în revistă a stadiului de dezvoltare a metodelor de analiză care se folosesc la ora actuală pentru investigarea compușilor diterpenoidici în general, respectiv a acidului abietic în particular, putem deduce următoarele **concluzii** :

1. Cromatografia de gaz se aplică de cele mai multe ori cuplată cu spectrometria de masă în analiza acizilor rezinici dar cu rezerve în situațiile în care în probele supuse analizei conțin numeroși compuși oxigenați polari care nu pot fi detectați prin această tehnică, conducând astfel la erori în interpretarea rezultatelor.
2. Cromatografia de lichid cu varianta ei HPLC s-a dovedit a fi o tehnică adecvată pentru investigarea rapidă și cu sensibilitate apreciabilă a acidului abietic, la ora actuală cunoscându-se o serie de variante unele chiar standardizate. Principalul dezavantaj al acestei metode rămâne însă imposibilitatea detectării izomerilor de poziție ai acidului abietic.
3. Analiza RMN în diferitele sale variante este potrivită pentru elucidarea structurii unor compuși noi derivați ai acidului abietic cum ar fi esterii, amidele și uneori sărurile de amoniu.
4. Spectrometria de masă folosită singură ca metodă de fingerprint (DTMS-ul cu diferite variante de ionizare) pentru identificare unor compuși noi sau a aceluia care nu pot fi detectați prin alte metode analitice, sau cuplată cu metodele cromatografice s-a dovedit de departe cea mai avantajoasă în cazul diterpenoidelor furnizând cele mai detaliate informații privind atât analiza calitativă cât și cea cantitativă.

#### **3.4.3. Referințe bibliografice privind obținerea și caracterizarea sărurilor acidului abietic**

##### **3.4.3.1. Metode de obținere și caracterizare a sărurilor acidului abietic cu metale alcaline**

Încercările experimentale [151,152] au relevat faptul că dacă se tratează o soluție alcoolică de acid abietic cu o cantitate stoechiometrică de soluție de hidroxid de sodiu de o anumită concentrație, se obține abietatul de sodiu conform reacției:



Dupont și colaboratorii săi [174] au obținut abietatul acid de sodiu prin tratarea unei soluții alcoolice a acidului abietic cu o pătrime din cantitatea necesară de NaOH pentru neutralizare. La concentrații mici ale soluției alcoolice de acid abietic se separă după un anumit timp cristale în formă de ace. Sarea obținută este un abietat de sodiu acid cu formula moleculară:  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{Na} \cdot 3 \text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$  cu punct de topire 170-175°C și rotația specifică  $[\alpha] = -80^\circ$ . Sarea este solubilă în alcool pentru o concentrație până la 2,5%, altfel este greu solubilă atât în etanol cât și în apă.

Produșii izomorfi cu acid abietic (1-pimaric, sapinic, alpinic) nu dau săruri acide, motiv pentru care sarea complexă a acidului abietic permite separarea acestuia de ceilalți acizi primari prezenți în rășinile de conifere. Pentru obținerea cantitativă a sării complexe a acidului abietic, este însă necesar izomerizarea acidului, care poate avea loc sub acțiunea soluției apoase de acid clorhidric 10% sau sub formă de gaz. În această situație s-a constatat că pentru o anumită concentrație a sării, randamentul reacției crește la început cu durata procesului, ajungând la un maxim 75%, după care scade datorită modificărilor pe care le suferă acidul abietic sub acțiunea acidului clorhidric.

Ellingson și colaboratorii [175] au obținut sărurile alcaline de sodiu și potasiu ale acidului abietic sub formă cristalină și foarte pure prin neutralizarea acidului cu baze diluate urmată de concentrarea în vid și două recristalizări din etanol. Abietatii metalelor grele s-au obținut din abietatul de sodiu și clorurile respectiv sulfații metalelor grele. Sărurile solide obținute s-au spălat cu benzen fază la care abietatii metalelor grele se solubilizează și astfel pot fi purificați. Cercetătorii au obținut abietatul de staniu în benzen din clorura de staniu și abietatul de sodiu când s-a format un produs cu formula  $\text{Sn}(\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2)_2 \cdot 4(\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2)$ .

Steele descrie o metodă pentru obținerea sărurilor acidului abietic cu metale grele (Mn, Pb, Co, Ni, Fe, Cr) asemănătoare cu cea descrisă de Ellingson. Cercetătorii au constatat de asemenea, că

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

toate sărurile, cu excepția sării bazice de crom, au fost solubile în benzen, precum și faptul că sărurile de fier și crom conțin un exces de acid abietic.

Edmund și Wilmington [176] au obținut abietati alcalini prin următorul procedeu: acidul abietic suspendat într-un fluid s-a neutralizat cu alcalii sub formă de hidroxizi sau carbonați. De menționat că, pentru precipitarea sărurilor alcaline sub formă cristalină, s-a adăugat un solvent care nu este miscibil cu fluidul în care se afla suspendat acidul abietic, dar nici cu soluțiile de alcalii. Cercetătorii au folosit ca și solvent gazolină. Astfel, amestecând o parte colofoniu conținând urme de acid abietic cu două părți acetonă fierbinte și folosind aceeași cantitate de hidroxid de sodiu s-a constatat că masa de sare neutră a fost prea mică pentru ca metoda să fie considerată cantitativă. Dacă, însă, s-a adăugat soluție de acid clorhidric de diferite concentrații, s-a constatat că, pentru o anumită concentrație a acidului, randamentul de reacție crește cu creșterea timpului de reacție, atinge un maxim (datorită faptului că acidul anorganic determină izomerizarea acidului abietic prezent în colofoniu), după care scade ca urmare a denaturării acidului rezinic de către acidul clorhidric.

Hoganei a folosit pentru obținerea abietatului alcalin următoarea rețetă: 30 g acid abietic s-au dizolvat în 60 g alcool etilic de concentrație 96%. Soluția alcoolică obținută s-a tratat cu soluție de hidroxid de sodiu respectiv potasiu de 10% concentrație. Amestecul de reacție s-a distilat în vid, până la sec, când s-au obținut abietatii respectivi, sub formă cristalină de culoare albă [177].

Chiar dacă au fost puse la punct metode de sinteză a sărurilor cu metale alcaline acestea se formează și pe cale naturală [2]. Spre deosebire de acidul de la care provin, sărurile de sodiu și potasiu sunt solubile în apă și exercită proprietăți tensioactive care la fac utile în industria săpunurilor dar nu numai. Astfel abietatul de sodiu și-au găsit aplicații și în industria hârtiei atât ca adeziv [178], dar și ca principalii compuși care pot să reducă conținutul de acizi rezinici din apele uzate de la fabricarea hârtiei [179], iar abietatul de potasiu se folosește ca emulgator în reacțiile de polimerizare de la fabricarea cauciucului sintetic [180, 181].

De fapt chiar procedeu în sine de fabricare a pastei de lemn are ca scop solubilizarea acizilor rezinici din masa lemnoasă prin saponificare iar modificări ale valorii pH-ului atât în domeniul alcalin cât și în cel acid vor influența vizibil comportamentul abietatilor alcalini. Dacă apele de la fabricarea pastei de lemn au un pH acid  $< 5,6$ , atunci abietatii metalici solubili până la această valoare vor începe să precipite sub forma acidului abietic, sau moleculele de sare vor începe să se asocieze între ele sub formă de micelii comportându-se ca și sărurile acizilor grași prezenți și ei în apele pirolignoase de la fabricarea pastei de lemn. De asemenea, aceștia se pot asocia cu alte substanțe organice prezente în apă cum ar fi lignina. Acest fenomen de asociere se poate observa și cu ochiul liber prin apariția unui strat de spumă la suprafața de separare lichid-aer dar mai ales prin măsurători ale tensiunii interfaciale care demonstrează o scăderea mai mare a valorii acestei mărimi în prezența abietatilor metalici dar totodată și în prezența în soluția apoasă a acidului abietic. O valoare alcalină a pH-ului determină de asemenea posibilitatea precipitării acidului abietic în situațiile în care tăria ionică a soluției depășește o concentrație a ionilor de sodiu de 2M. Cercetările experimentale au relevat faptul că pentru a împiedica precipitarea acizilor rezinici în apele reziduale din industria prelucrării lemnului sunt necesare de luat o serie de condiții și anume: un raport al fracției de acizi rezinici/acizi grași de 1:1 sau 1:2; o concentrație a sărurilor anorganice de sodiu și/sau calciu de 0,1-0,3 M; diluarea apelor uzate alcaline până la valori ale pH-ului de 6,3-6,5, precum și o temperatură care să depășească 30°C în faza de epurare [182, 183].

Cercetări destul de recente [95] au remarcat că atât acidul cât sărurile sale cu metale alcaline au proprietăți amfipatice, acidul abietic prin faptul că este nevolatil și greu solubil în apă cu tendință de asociere în forme dimere sau trimere acumulându-se la interfața aer-lichid, iar sărurile prin partea lor hidrofilă se vor ancora în stratul apos în timp ce partea lor hidrofobă este respinsă la suprafața în faza gazoasă. Această proprietate are o importanță deosebită în procesul de biodegradare a acidului abietic și a sărurilor sale metalice după cum o demonstrează și rezultatele experimentale cu privire la scăderea tensiunii interfaciale soluțiilor apoase ce conține acid abietic, la suprafața de separare aer-lichid în cazul în care soluția a fost inoculată cu *Mortierella isabelina*. Se presupune că această variație a tensiunii interfaciale este rezultatul unei creșteri a concentrației de compuși cu proprietăți tensioactive care determină astfel trecerea din faza gazoasă și solubilizarea acidului abietic în faza lichidă. Totodată s-a presupus că acești compuși cu proprietăți tensioactive ar putea proveni chiar din procesul de biodegradare al acidului abietic având în vedere că specia de microorganism inoculată transformă acidul în compuși mai puțin toxici prin intermediul unor reacții de hidroliză la început la atomul de carbon C2 iar apoi la atomul C15 sau C16. Prezența acidului abietic sub formă de abietati

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

alcalini scurtează perioada de biodegradare de la 14 zile la 9 zile dacă se folosește aceeași specie de microorganism [184].

Cercetătorul Rudolf Lorenz [185]. a constatat că soluțiile de abietati de sodiu și potasiu suferă o rapidă îmbătrânire care se manifestă prin modificarea tensiunii superficiale, rezultând o corelare foarte bună între valorile tensiunii superficiale calculate după relația Gibbs și cele măsurate pe soluții proaspăt preparate

Abietatii de sodiu și potasiu sunt substanțe cristaline, de culoare albă, având puncte de topire ridicate 220-225°C (219°C), conductanțele la 20°C au valori de 4,5 mS respectiv 4,8mS. [186], indicii de refracție,  $[n_D^{20}] = 1,55443$  respectiv 1,5448 [187], rotațiile specifice a soluțiilor de concentrație 1M în apă,  $[\alpha]_D^{20} = -75^\circ$  respectiv  $-80^\circ$ . Sărurile sunt solubile în apă, cu formare de spumă abundentă la agitare. La încălzire se descompun prin decarboxilare. De asemenea, pot avea proprietăți antimicrobiene față de unele specii de fungi [188].

#### 3.4.3.2. Metode de obținere și caracterizare a sărurilor acidului abietic cu amine alifatică și alchilolamine

Primele încercări de obținere a compușilor cu azot ai acidului abietic au fost făcute încă de la începutul "anilor 30" când s-a observat că acesta în prezența amoniacului (gazos sau sub formă de hidroxid de amoniu) pot conduce în funcție de anumite valori ale temperaturii la săruri de amoniu sau la amide. Astfel dacă acidul abietic este tratat cu amoniac gazos în exces și încălzit treptat se obține într-o primă etapă sarea sa de amoniu sub forma unui fluid vâscos de culoare galben-grun care dacă este încălzit în continuare până la 200°C, prin eliminare de apă se transformă în amida corespunzătoare [189]. Reacția de amonoliză poate fi redată schematic astfel:



În cazul în care amoniacul se înlocuiește cu amine se obțin în prima etapă, când temperatura de reacție nu este prea mare, săruri numite săpunuri care prin încălzire trec ulterior în amide substituie. Formarea amidei din sarea de amoniu nu este un proces direct de eliminare de apă din această sare. Fiind sărurile ale unor acizi slabi cu baze slabe (amoniac sau amine), sărurile de amoniu ale acizilor abietici disociază la cald în acid și amoniac (sau amine). Amoniaca sau amina se adăunează apoi la grupa carbonil a acidului dând intermediarul tetraedric de adiție din care se elimină molecula de apă [190,191]

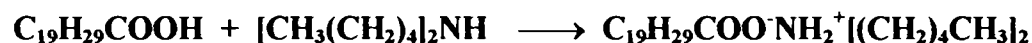
Pe baza reacției dintre acidul abietic și aminele alifatică (di-amilamina, l-bornilamina) [153,192] s-a putut purifica acidul izolat din colofoniu sau din contră s-a realizat separarea enantiomerului levogir din amestecul de acizi rezinici conținuți în colofoniu. Pentru a asigura însă un randament bun de purificare sau separare trebuie luat acidul într-un anumit exces și nu amina, o temperatură de reacție relativ moderată iar timpul de reacție nu trebuie să depășească 30 min. În plus s-a constatat că în cazul aminelor alifatică di și trisubstituie, sărurile respective au proprietăți capilar-active putând fi folosite ca agenți emulsionanți la prelucrarea fracțiunilor grele petroliere [193]. De asemenea în urma cercetărilor s-a reușit obținerea și de săpunuri ca urmare a reacțiilor dintre acidul abietic și poliamine preferându-se în aceste cazuri și adausul de acizi grași nesaturați aceștia din urmă formând amide cu o grupare amino din poliamine. Astfel amestecul mol la mol dintre acidul abietic și acidul oleic adus în fază fluidă prin încălzire la temperaturi de 90-95°C, s-a tratat cu un mol de dietilentriamină sub agitare continuă și la temperaturi de 120-125 °C până când probele prelevate din reactor și titrate cu hidroxid de sodiu 0,1N, în prezență de fenolftaleină, au arătat că un singur mol de acid a fost neutralizat. În urma reacției acidul oleic formează amide cu o grupare amino iar celelalte grupări amino- din molecula triaminei sunt transformate în săruri prin reacția cu acidul abietic [194]. Tratarea acidului dehidroabietic cu amine alifatică în anumite condiții poate conduce la obținerea unor agenți anionici folosiți ca umectanți în industria textilă. [195].

Reacția acidului abietic de înaltă puritate cu hexametildiamină în etil-metil-cetonă la temperaturi sub 70°C a condus la obținerea unui precipitat cu formula moleculară  $H_2N(CH_2)_6NH_3^+ C_{19}H_{29}COO^-$  care s-a dovedit a fi stabil doar la adăugarea unei soluții de HCl 10%

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

astfel încât pH-ul să fie neutru. Suspensia astfel obținută are caracteristici tensioactive dar și germicide putând fi folosită la curățarea toaletelor [196].

Cercetări recente au relevat faptul că acidul abietic poate forma săruri și cu monoaminele alchilate. Un exemplu în acest sens îl constituie metoda de obținere a sării de N,N-di-amilamină. O soluție acetonică formată din acid abietic și N,N-di-amilamină supusă fierberii timp de 10 min a condus la obținerea sării brute cu un randament de peste 90%. După purificarea acesteia din etanol s-a constatat că după cea de a patra recristalizare sarea are o puritate de peste 90,7%. Reacția ce stă la baza procesului este redată mai jos:



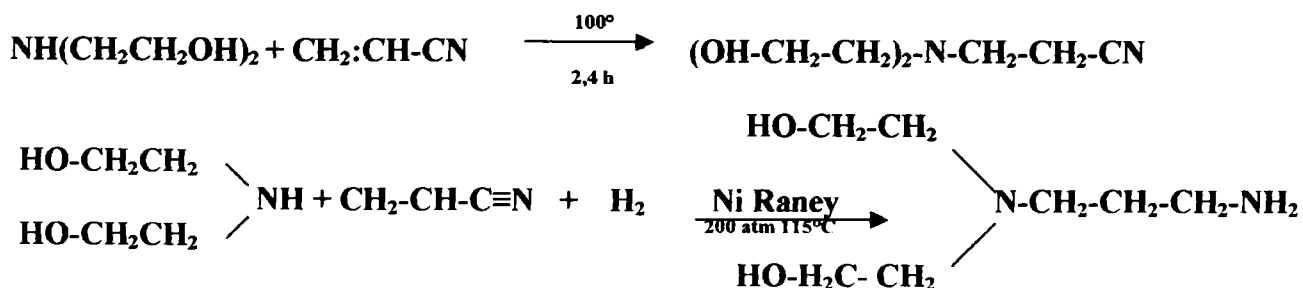
Sarea obținută poate fi folosită fie ca intermediar în procesul de purificare a acidului abietic, acesta putându-se regenera prin tratarea sării cu acid acetic glacial și recristalizare din etanol, sau poate fi folosită ca agent antimicrobian, inhibând complet sporularea *Periculariei Orizae* [197].

În funcție de structura aminei (amină primară, amină secundară), raportul stoichiometric acid : amină, temperatura de reacție, timpul de reacție, sărurile respective pot fi mai mult sau mai puțin stabile în sensul că fie cu timpul trec în amida sau din contră refac acidul de la care au provenit, pot fi folosite ca detergenți, insecticide, plastifianți în special cele provenite din reacția acidului cu poliamine alifatică, ca emulgatori pentru emulsii de tip U/A. Sărurile acidului abietic cu amine alifatică cu resturi alchil formate din 4-6 atomi de carbon sunt substanțe solide care se prezintă sub formă de pulberi în general de culoare albă sau alb gălbuie, solubile atât în apă cât și în alcool, având un pH de 7,5-8, nu spumează la agitare dar în schimb marea lor majoritate pot fi folosite ca agenți de emulsificare [189].

Acidul abietic poate reacționa și cu alchilolaminele în condiții mult mai bune decât cu aminele, sărurile acestuia fiind mai stabile decât cele similare obținute cu acizii grași saturați și/sau nesaturați. Astfel la tratarea separată a acizilor stearic, oleic respectiv abietic în aceleași condiții cu trietanolamina s-au obținut compuși solubili în apă, cu proprietăți de spumare dar cu stabilități diferite în apă și anume cel mai rapid s-a descompus cu refacerea acidului inițial cel obținut cu acid stearic (după 6 ore), după care a urmat compusul obținut cu acid oleic (24 ore), iar cel cu acid abietic s-a descompus mai greu (după câteva zile) [198].

Recent s-a constatat că produsul obținut prin tratarea acidului abietic cu N,N-bis (2-hidroxiethyl) propiondiamină la temperaturi de 40-45 °C, folosind acetona ca solvent de reacție, timp de 20-30min este o sare de amoniu a acidului abietic solubilă în apă dar și în alcool. Determinarea caracteristicilor tensioactive (tensiune superficială, CMC, capacitate de spumare, umectare emulsionare, spălare) a relevat faptul că sarea respectivă poate fi folosită atât ca și agent de spălare cât și ca agent de spargere a emulsiilor petroliere.

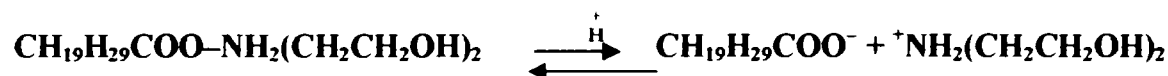
O schemă de obținere a N,N-bis (2-hidroxiethyl) propiondiamină a pornit de la reacția dietanolaminei cu acetonitril la 100°C timp de 2,4 ore. În continuare amestecul de reacție s-a distilat în vid obținându-se nitrilul propionic al dietanoaminci. Produsul obținut după hidrogenare la presiuni de 200 atm și 115°C în prezența catalizatorului Ni Raney a condus la obținerea, cu randament de 76% a dietanol propiondiaminei. Acesta în continuare s-a amestecat cu o cantitate în exces de acid abietic în conformitate cu cele descrise mai sus. Randamentul de obținere a sării acidului a fost de 88% iar puritatea produsului după 3 recristalizări din alcool a fost de 91% [199]. Reacțiile care stau la baza obținerii aminei sunt prezentate mai jos:



S-a reușit obținerea și de săruri ale amestecului de acizi grași și acid abietic prin tratare cu cantități egale (în g) de combinații ale β-aminoalchilalcoholilor, solubile în alcool, dar și în apă.

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

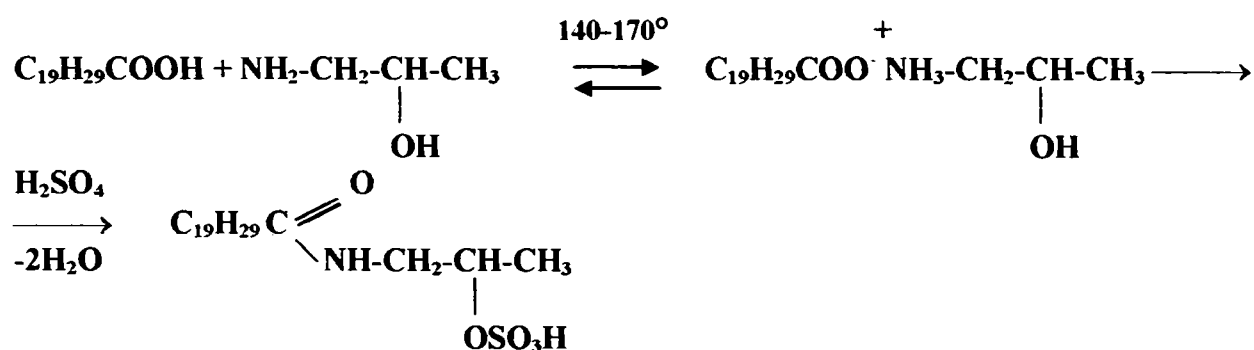
Adaosul de acid abietic determină o îmbunătățire a proprietăților tensioactive a sărurilor astfel obținute ca rezultat al slabei disocieri chiar și la tratare cu o soluție alcoolică de HCl conform reacției:



Prođușii de reacție ai acidului abietic cu mono și dietanolamină au fost tratați cu iodură de metil, după următoarea rețetă: 462 părți de sare a acidului abietic cu alchilolamină au reacționat cu 140 părți de produși halogenură de metil în scopul de a le îmbunătăți proprietățile de agenți de emulsionare [200].

Adaosul la cald, la temperaturi de 85-90°C, de săruri cu mono, di- sau trietanolamină ale amestecului de acizi grași și acid abietic unei cantități stocchiometrice de ceară tare, determină obținerea unei emulsii de tip A/U care poate fi utilizată, prin adaus de colorant liposolubil și o cantitate de apă fierbinte până când aceasta trece în emulsie de tip U/A, ca peliculă hidrofugă. S-a constatat de asemenea că sărurile acidului abietic cu mono, di- sau trietanolamină scad tensiunea superficială a soluțiilor apoase cu creșterea numărului de atomi de carbon, puterea de spumare crește până la 12 atomi de carbon, după care aceasta scade cu creșterea atomilor de carbon. De asemenea, s-a observat creșterea pH-ului cu creșterea atomilor de carbon iar abietatul de trietanolamoniu, a dat cele mai bune rezultate la emulsionare [189].

S-au obținut produși capilari activi și prin tratarea acidului abietic cu izoalchilolamine, după care gruparea -OH secundară s-a condensat cu un acid anorganic polibazic. Procesul de esterificare a sării a constat în încălzirea la 140-170°C timp de 15 minute a unui amestec echimolecular sare de amoniu-acid sulfuric, folosind în acetonă. În prima etapă sarea de amoniu pierde o moleculă de apă transformându-se în amida corespunzătoare după care, sub acțiunea acidului sulfuric aceasta se esterifică la gruparea hidroxil din poziția β, trecând în forma esterului sulfuric, conform reacțiilor:



Produși capilari activi s-au sintetizat și prin tratarea sărurilor acidului abietic cu izoalchilolamine cu acid boric în raport de 1: 0,3, sare: acid boric, prin încălzire la 110-140°C timp de 60 de min [201].

#### 3.4. Concluzii preliminare

Din referințele bibliografice prezentate în acest capitol se pot trage următoarele concluzii:

1. Chimia rășinilor de conifere este complexă dar în cea mai mare parte acestea sunt alcătuite din compuși aparținând unei clase de produși naturali cunoscută sub denumirea de terpeni, compuși organici constituiți din unități izoprenice
2. Componentele semnificative din compoziția oleorezinei aparțin mai ales claselor monoterpenelor biciclice (compuși cu 10 atomi de carbon), acizilor rezinici diterpenoidici (derivați oxigenați ai diterpenelor având 20 atomi de carbon în moleculă) și mai puțin sesquiterpenelor (compuși cu 15 atomi de carbon) indiferent de regiunea geografică, specie sau anotimpul de recoltare a rășinii;
3. Din clasa monoterpenelor biciclice se disting ca și pondere α- și β- pinenul (peste 80% din totalul monoterpenelor sau aproximativ 34% din substanța uscată), longifolenul este reprezentativ pentru clasa sesquiterpenelor iar din clasa diterpenoidelor ciclice se disting acizii levopimaric palustric și abietic ponderea lor totală variind între 50-65% din totalul substanței uscate ;
4. Dintre cele trei clase de compuși prezenți în oleorezină, ponderea o deține clasa acizilor rezinici (51-67%) urmată de clasa monoterpenelor biciclice (39-23%) iar la urmă clasa sesquiterpenelor cu valori cuprinse între 1-9,5%.
5. Prin distilarea oleorezinei de conifere din specia *Pinus* se obține terebentina (distilatul) și reziduu amorf, colofoniul. Acesta la rândul său constituie punctul de plecare pentru o serie de alți produși

### CAPITOLUL 3. STUDII DE LITERATURĂ

- (acid abietic de diferite grade de puritate, săruri cu metale alcaline și tranziționale, amine alifatic, aromatice și etanolamine esteri, compuși polimerizați, aducți Diels - Alder ), produși care frecvent intră în competiție cu rășinile sintetice și unele produse derivate din industria petrochimică în ceea ce privește domeniile de utilizare.
6. Din datele ce reflectă compoziția chimică a oleorezinei de conifere și a produselor sale de distilare se pot trage concluzii privind direcțiile economice de utilizare a acestora, se pot constitui aprecieri pentru caracterizare diferitelor specii de pin în special a acelor care din punct de vedere morfologic sunt similare.
  7. Acizii rezinici și în special acidul abietic principalul component al colofoniului sunt obținuți fie prin procesul de distilare a acestuia, fie ca produși secundari eliberați în apele naturale în timpul procesării materialului lemnos de rășinoase în vederea obținerii pastei de lemn, precursor pentru fabricarea hârtiei.
  8. Acizii rezinici, diterpenoide naturale tricyclice cu o singură grupare carboxil aparțin în general la două tipuri - abietic și pimaric și în marea majoritate sunt rezistenți la degradări chimice. Compușii aparținând tipului pimaric pot ușor suferi reacții de izomerizare conducând la izomeri mai stabili din punct de vedere termodinamic, acizii abietic și dehidroabietic fiind în final cei mai favorizați;
  9. Complexitatea și varietatea componentelor prezente în rășina de conifere a permis utilizarea celor mai moderne tehnici instrumentale de analiză. Astfel ca metoda de referință pentru identificarea și cuantificarea compușilor terpenici și terpenoidici a fost folosită *Gaz-Cromatografia (GC) și mai ales gaz cromatografia cuplată cu spectrometria de masă (GC-MS)*, cu o multitudine de variante legate atât de temperatură, pH, condiții de eluare cât și de tipul coloanelor, al umpluturii lor și al aparatului de detecție, al metodelor de derivatizare și tehnicilor de ionizare;
  10. Pentru separarea și cuantificarea rapidă a acizilor rezinici s-a apelat la *Cromatografia Lichidă de Înaltă Performanță (HPLC) respectiv (LC-MS)* cu specificarea că prin această tehnică nu se pot identifica izomerii de poziție ai acidului abietic;
  11. Elucidarea structurii unor noi compuși derivând de la acidul abietic a fost realizată cu succes prin folosirea *Rezonanței Magnetice Nucleare (RMN)* atât în varianta simplă dar mai ales în cea de dublă rezonanță, combinată cu *spectrometria de masă (MS)*;
  12. Sărurile acidului abietic cu metale alcaline în diferite combinații au fost obținute atât pe cale sintetică existând la ora actuală o multitudine de metode fiecare cu avantaje și dezavantaje, dar cercetările recente au arătat că se pot obține și pe cale naturală în funcție de condițiile de pH în apele uzate din industria de prelucrare a lemnului îndeplinind un rol benefic în tratamentul de detoxifiere biologică a acestor ape prin caracteristicile lor amfipatice. Deși metodele de sinteză au fost puse la punct încă din anii 60, elucidarea comportamentului diferit al acestora în soluțiile apoase la diferite concentrații și valori ale pH-ului, conexiunile dintre acest comportament și modificările de structură pe care se pare le suferă aceste săruri ca urmare a diluării mediului de reacție, constituie teme de cercetare de actualitate. Combinarea proprietăților tensioactive ale acestor săruri cu proprietățile biologice active descoperite recent permite lărgirea ariei de utilizare a acestora spre ramuri din industria produselor cosmetice și farmaceutice;
  13. Combinațiile cu caracter ionic dintre acidul abietic și amine (alchilolamine) au fost puțin abordate în literatura de specialitate din exterior și aproape deloc la noi în țară. Referințele bibliografice îi menționează ca fiind compuși care apar ca intermediari în reacțiile de amonoliză a acidului abietic când prin disociere la cald formează amidele mono sau disubstituie ale acidului. De asemenea săruri ale acidului abietic cu anumite amine (1-bornilamina, dipentillamina) au fost folosite ca intermediari în procesul de purificare a acidului abietic din amestecul de acizi rezinici sau pentru separarea enantiomerului levogir cunoscut ca fiind și cel care se biosintetizează în organismul vegetal și care prin urmare îndeplinește și un rol biologic activ. Cercetări recente efectuate în special sub patronajul unor companii farmaceutice sau de produse cosmetice au relevat că anumiți reprezentanți ai acestei clase posedă proprietăți tensioactive (spumare, emulsionare, udare) similare cu a compușilor anionici clasici dar și proprietăți microbiologice comparabile cu a tensidelor cationice ceea ce ar putea permite folosirea lor ca agenți de dezinfectare și de curățare, având și avantajul unui grad de biodegradare superior agenților similari din clasa cationicilor.

## 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Pentru atingerea obiectivelor propuse în capitolul 2, a fost necesară parcurgera mai multor etape experimentale fiecare dintre acestea reprezentând un ansamblu simbiotic de metode de sinteză și analiză cu caracter specific.

### 4.1. Izolarea și purificarea acidului abietic din colofoniu

Pe baza referințelor bibliografice citate în capitolul 3; paragraful 3.4, am ales ca punct de pornire pentru izolarea acidului abietic din colofoniul chinezesc, metoda lui Steele [150,152], pe care însă am adaptat-o la obiectivele propuse (obținerea unui acid abietic levogir cât mai pur și cu costuri cât mai mici). Ca materii prime necesare derulării procesului de izolare au fost utilizate următoarele cu specificarea că, substanțele notate cu asterix s-au folosit în procesul de purificare a acidului (-)-abietic:

- colofoniu de proveniență chinezescă oferit de Soc. Com. 'Azur' S. A. Timișoara (gradul comercial W), cu un procent de 95% acizi rezinici din care în medie 42 % acid abietic conform analizelor cromatografice.
- acid acetic glacial, CAS [64-19-7], purit. 99%, p.f. 118°C CH<sub>3</sub>COOH; acidul acetic a fost în prealabil purificat prin fierbere timp de 4 ore cu soluție de permanganat de potasiu 3% și ulterior distilat pentru îndepărtarea urmelor de aldehydă acetică;
- alcool etilic, absolut, CAS [64-17-5], p.f. 78,33°C, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, (Fluka Chemika); pentru îndepărtarea aldehidei acetice, alcoolul a fost fiert cu 10 g KOH și 10 g pulbere de Zn (cantități corespunzătoare unui volum de 1 l alcool), timp de 1 oră sub reflux și apoi distilat;
- alcool metilic, CAS [67-56-1], purit. 99%, p.f. 64,7°C, CH<sub>3</sub>OH, (Fluka Chemika);
- (+)-chinidină\*, CAS [56-54-2], purit. 90%, p.t. 201-204 °C, C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fluka Chemika);
- (-)-chinină anhidră\*, CAS [130-95-0], purit. 99% p.t. 175°C, C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; (Fluka Chemika);
- (+)-cinconină\*, CAS [118-10-5], purit. 99%, p.t. 255-259 °C, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O; (Fluka Chemika);
- (-)-cinconidină\*, CAS [485-71-2], purit. 98%, p.t. 201-204 °C, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O; (Fluka Chemika).

Procesul de obținere a acidului abietic din colofoniul chinezesc a parcurs două etape de lucru și anume, **izolarea și purificarea amestecului racemic de acid abietic** cu subetapele :

1. separarea acidului abietic prin fierberea la reflux a unui amestec format din colofoniu și acid acetic 98%;
2. filtrarea sub vid a amestecului de separare;
3. răcirea și cristalizarea acidului abietic;
4. purificarea acidului abietic brut prin recristalizări succesive din acid acetic glacial;
5. uscarea cristalelor de acid abietic respectiv **separarea enantiomerului levogir din racemicul obținut** în prima etapă, **prin scindarea sării acidului abietic obținută cu o bază organică optic activă**.

În vederea optimizării procesului de izolare și purificare, am studiat de asemenea influența variației unor parametri cum ar fi: raportul de extracție colofoniu: acid acetic, durata de fierbere la reflux și a temperaturii asupra randamentului de izolare și purificare a acidului din colofoniu, testarea comportării enantiomerilor bazelor optice active din categoria alcaloizilor în reacția lor cu acidul abietic, punând accentul pe gradul de puritate optică a acidului levogir obținut în urma procesului de scindare a sării și randamentului cu care s-a realizat purificarea. Rezultatele acestor tatonări experimentale au condus la formularea unui proces de izolare și ulterior de purificare a acidului abietic levogir de puritate 96,96% cu un randament de 85%, care a fost și brevetat [8].

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### 4.1.1. Izolarea acidului abietic din colofoniu

#### A. Instalația

Pentru realizarea procesului de izolare a acidului abietic s-a utilizat o instalație de laborator formată din următoarele:

- balon Pyrex cu trei gâturi de 1000cm<sup>3</sup>, din sticlă brună pentru a evita fotooxidarea acidului izolat;
- termometru cu șlif pentru domeniul 20-250°C;
- agitator cu palete acționat electric;
- refrigerent cu bule ascendent
- baie de ulei termostată pentru domeniul de temperatură 125-127°C;
- pâlnie Büchner prevăzută cu frită de sticlă tip G2;
- pahare Berzelius de 300, respectiv 600 cm<sup>3</sup> capacitate;
- cilindri de sticlă de diferite capacități.

#### B. Modul de lucru:

În balonul de reacție s-au introdus într-o primă fază de tatonare experimentală, 350 g colofoniu și 400 ml acid acetic (98%). Amestecul s-a încălzit sub reflux și sub agitare continuă, timp de 5 ore la 115-120°C. În continuare, amestecul de reacție fierbinte a fost filtrat la vid pe pâlnia Büchner iar filtratul obținut, 380 ml soluție limpede de culoare galben-brun, s-a lăsat la întuneric, la temperatura camerei, într-un pahar Berzelius, timp de 3 ore pentru cristalizare. După filtrare în vid, s-au obținut aproximativ 148,5g de produs brut, care a fost supus operației de recristalizare din acid acetic glacial. Soluția acetică obținută s-a încălzit la reflux 15 minute. După filtrare la cald și răcire dinamică la temperatura de 15-20°C, folosind un amestec de gheață-apă, soluția (150 ml) s-a lăsat să cristalizeze timp de 2-3 ore, la întuneric. Masa cristalină de culoare alb gălbui s-a filtrat pe o pâlnie cu frită G2, și s-a spălat cu o soluție de etanol (50%, v/v) adăugată în porțiuni de 100 ml de atâtea ori până când filtratul nu a mai prezentat culoarea galbenă. Atât soluția mămă cât și soluțiile alcoolice rezultate de la spălarea cristalelor s-au depozitat separat în pahare Berzelius, la întuneric, pentru o eventuală continuare a procesului de cristalizare a acidului abietic. Din soluția mămă s-a mai separat a doua zi prin același protocol încă aproximativ 5,9 g acid abietic iar din cele de spălare după o prealabilă concentrare la jumătate a volumului s-a mai reușit recuperarea a încă 1,6 g acid. Cristalele de acid obținute s-au uscat apoi în vid la 45-50°C, timp de 6 ore, și apoi la temperatura camerei într-un exicator timp de 24 ore, pe hidroxid de sodiu. În final s-au obținut 128,8 g acid abietic. De menționat că au fost necesare două operații de recristalizare din acid acetic glacial pentru ca produsul obținut să nu-și mai modifice punctul de topire. O schemă posibilă a procesului de izolare a acidului abietic de puritate 75-80% este prezentată în figura 4.1



CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

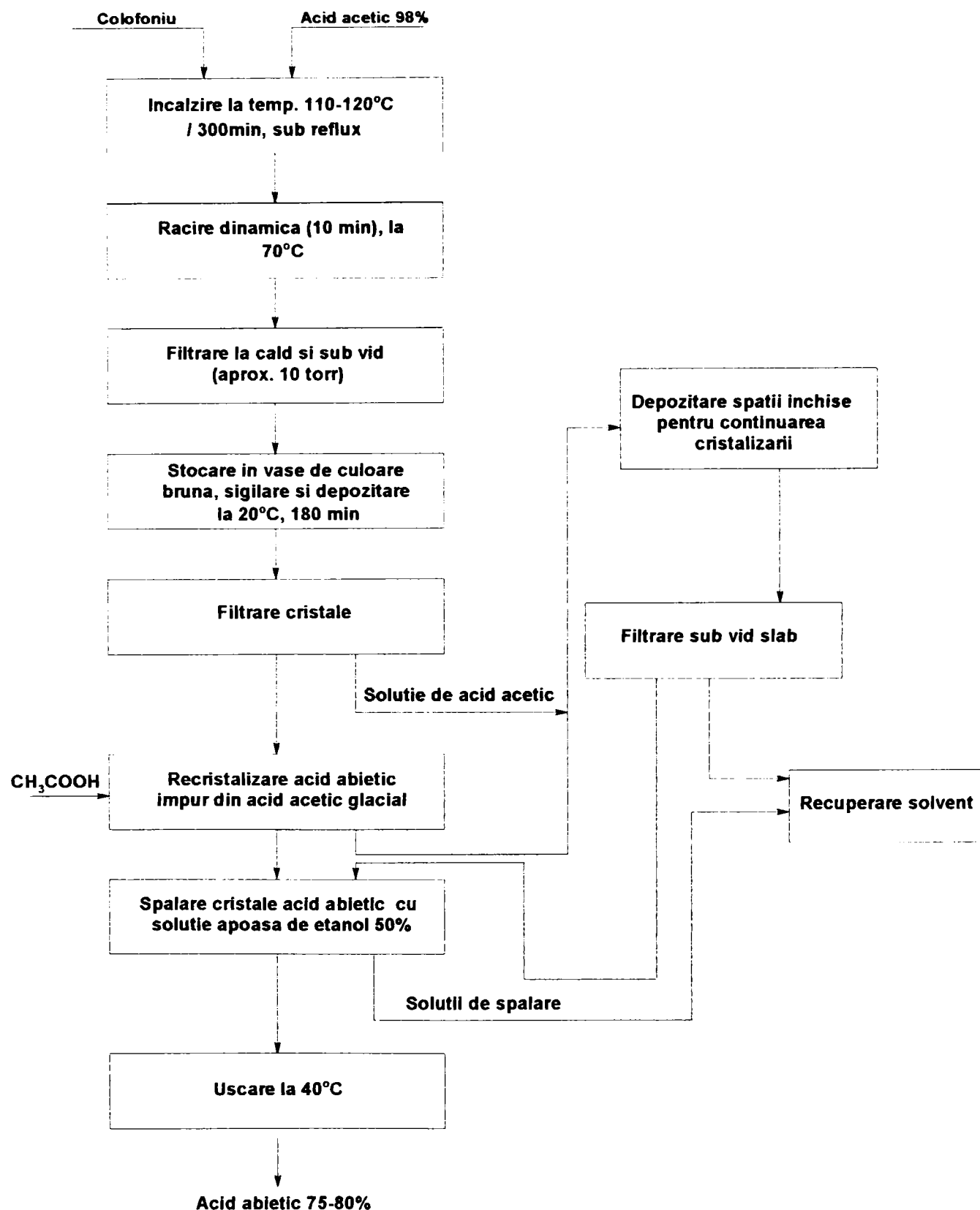


Fig. 4. 1: Schema bloc pentru obținerea acidului abietic din colofoniu

Rezultatele analizelor fizico- chimice (p.t. = 161-164° C;  $I_A = 185 \pm 4$  mg KOH/ g probă;  $I_I = 164 \pm 6$  mg  $I_2$  /100g;  $[\alpha]_D^{20} = - 65,34 \pm 8$ , c=1% în ctanol) comparate cu cele din literatură [19,191] precum și cele spectrale (IR) și cromatografice (HPLC) au confirmat că substanța obținută este acid abietic de puritate 75-80%.

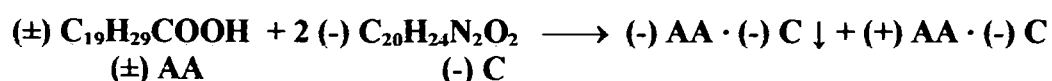
## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Trebuie făcută însă observația, constatată experimental că dacă, imediat după obținerea produsului finit, analiza polarimetrică a indicat că acidul abietic este levogir, fapt confirmat și de Steele (valoarea rotației specifice găsită de el fiind de  $-56,2^{\circ}$  la  $D=546\text{ nm}$ ), reluarea analizelor după 24 respectiv 72 ore a arătat că exceptând valoarea rotației specifice toate celelalte analize au prezentat rezultate foarte apropiate eroarea fiind în toate cazurile sub 1%, dovedind că produsul este stabil. În cazul rotației specifice, aceasta a prezentat valori absolute descrescătoare, pentru ca la reluarea determinărilor la un interval de o săptămână cu aceeași probă și păstrând condițiile de lucru identice, unghiul de rotație să fie zero și deci produsul să nu mai prezinte izomerie optică racemizându-se. O posibilă explicație a acestui proces lent ar fi acțiunea acidității reziduale (urme de acid acetic folosit atât pentru extracție cât și pentru recristalizare) dar și temperatura mai mare la care se fierbe soluția pentru recristalizare ( $110-115^{\circ}\text{C}$  față de  $78^{\circ}\text{C}$  în cazul metodei lui Steele), cu toate că în situația în care recristalizarea acidului brut s-a făcut conform metodei lui Steele din alcool etilic 95% fenomenul de racemizare a avut loc după trei zile.

Pomind de la datele din literatură [202-204], care demonstrează faptul că în oleorezina biosintetizată de conifere, acidul abietic se găsește în forma levogiră, acest enantiomer fiind considerat mai activ decât racemicul sau enantiomerul dextrogir, atât în ceea ce privește reactivitatea chimică cât și capacitatea sa biologic activă [205, 206], în continuare cercetările experimentale s-au axat pe posibilitatea separării și purificării formei levogire a acidului abietic obținut prin procedeul descris anterior. Cercetările de specialitate notează că de cele mai multe ori purificarea acidului abietic s-a făcut prin intermediul sărurilor sale.

### 4.1.2. Separarea și purificarea acidului abietic levogir

Plecând de la cercetările experimentale ale lui Kesler [152] am studiat posibilitatea de a folosi proprietatea unor săruri organice, optic active de a realiza separarea enantiomerilor acidului abietic obținut prin procedeul descris mai sus. Spre deosebire însă de Kesler care a folosit pentru separare, metoda sării acide de sodiu a acidului abietic, în prezentul studiu s-a apelat la procedeul de separare a acidului abietic levogir din racemic cu ajutorul sărurilor sale diastereoizomere, folosind baze optic active din categoria alcaloizilor: (-)-*chinina* și izomerul său steric (+)-*chinidina*, respectiv (+)-*cinconina* și izomerul său (-)-*cinconidina*. În exemplu de mai jos este prezentată reacția acidului abietic cu (-)-*chinina*:



#### A. Instalația:

Pentru separarea și purificare acidului (-) abietic s-a utilizat o instalație de laborator compusă din următoarele ustensile:

- patru baloane de  $250\text{ cm}^3$  capacitate, cu trei găuri, confecționate din sticlă termorezistentă de culoare brună și etichetate cu notațiile  $B_1... B_4$ ;
- refrigerente ascendente;
- agitatoare cu palete din sticlă și acționate electric;
- pâlnii picurătoare cu slif de  $50\text{ cm}^3$  capacitate;
- baie de apă termostată la  $40^{\circ}\text{C}$ ;
- evaporator rotativ Büchi;
- pahare Berzelius de  $100\text{ cm}^3$  capacitate, pâlnii de separare.

#### B. Modul de lucru:

În cele patru baloane de reacție notate cu  $B_1...B_4$  s-au introdus următoarele substanțe: câte 10 g de acid abietic obținut prin procedeul descris anterior, și câte 100 ml cloroform în baloanele notate  $B_1$  și  $B_3$  respectiv câte 150 ml etanol absolut în rest. În paralel s-au cântărit la balanța analitică cantitățile de baze organice corespunzătoare obținerii sărurilor diastereoizomere, la care s-a adăugat un exces de 15-20% pentru creșterea randamentului de formare a acestora. În continuare cantitățile de baze organice (câte 12,4 g de (-)-chinină ( $B_1$ )/ (+)-chinidină ( $B_2$ ) și câte 11,2 g de (+)-cinconină ( $B_3$ ) și (-)-cinconidină ( $B_4$ )) s-au dizolvat într-o cantitate minimă de cloroform respectiv de etanol absolut. Soluțiile organice de baze optice au fost transvazate în pâlniile de picurare atașate baloanelor de reacție. Când temperatura soluțiilor de acid abietic a atins valori de  $30-35^{\circ}\text{C}$ , s-au lăsat să se scurgă

#### CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

lent soluțiile cloroformice respectiv etanolice din pâlniile de picurare în baloanele de reacție, sub agitare continuă. După adăugarea soluțiilor de baze organice, amestecurile de reacție s-au încălzit sub agitare, la temperatura de 40°C încă 50 minute pentru desăvârșirea reacției. La expirarea timpului de reacție, conținutul baloanelor **B**<sub>1</sub> respectiv **B**<sub>3</sub> s-a transvazat în câte un pahar Berzelius și răcit la temperaturi de 12-15°C folosind ca agent de răcire amestecul apă-gheață. Probele s-au lăsat la această temperatură între 4-9 ore în vederea cristalizării sărurilor diastereoizomere ale acidului abietic. Masa de cristale din fiecare pahar conținând soluțiile cloroformice de sărurile formate din componenți omogeni din punct de vedere optic ((-)AA·(-)chinină respectiv (+)AA·(+)-cinconină), s-a separat prin centrifugare timp de 15 minute la 3000 rot/min și temperatură de 20°C. În continuare, în vederea scindării sărurilor diastereoizomere, fiecare centrifugat s-a trecut cantitativ într-o pâlnie de separare, unde s-a tratat cu 25 ml HCl 4N și 25 ml cloroform. Acidul abietic s-a separat în stratul cloroformic în timp ce, bazele organice, (-)chinină respectiv (+)-cinconină, au rămas sub formă de clorhidrați în stratul apos. Operația de extracție a acidului abietic s-a repetat de două ori adăugând de fiecare dată în pâlnia de separare câte 10 ml de cloroform. Extractele cloroformice reunite s-au concentrat apoi în vid la 30°C, într-un evaporator rotativ Büchi, până la eliminarea a 80% din cantitatea de cloroform (36 ml). Concentratele obținute, de culoare albă s-au uscat în vid la 40°C obținându-se în final 6,2 g ( $\eta = 62\%$ ) de acid abietic levogir ( $[\alpha]_D^{20} = -100^\circ \pm 6$ ,  $c = 1\%$  în etanol) și respectiv 3,5 g ( $\eta = 35\%$ ) acid abietic dextrogir ( $[\alpha]_D^{20} = +23^\circ \pm 2$ ,  $c = 1\%$  în etanol). Soluțiile apoase de clorhidrați s-au tratat cu soluții amoniacale 15%, până la pH=10, pentru refacerea bazelor organice. În continuare bazele organice optic active s-au extras cu cloroform, iar soluțiile cloroformice s-au concentrat în vid până aproape de sec. Randamentul de recuperare a fost de aproximativ 98%.

Soluțiile cloroformice obținute de la centrifugare și conținând sărurile diastereoizomere de forma (+)AA·(-)chinină respectiv (-)AA·(+)-cinconină, s-au tratat cu 25 ml HCl 4N, în vederea scindării sării, acidul abietic trecând în stratul cloroformic. După concentrarea și uscarea extractelor cloroformice, în condiții similare cu cele descrise anterior, s-au obținut aproximativ 1,9 g acid abietic dextrogir, ( $[\alpha]_D^{20} = +24^\circ \pm 7$ ,  $c = 1\%$  în etanol) respectiv 5,8 g acid abietic levogir, ( $[\alpha]_D^{20} = -99^\circ \pm 7$ ,  $c = 1\%$  în etanol).

Conținutul baloanelor **B**<sub>2</sub> respectiv **B**<sub>4</sub> s-a transvazat de asemenea, în câte un pahar Berzelius. Soluțiile etanolice s-au răcit la temperaturi de 2-4 °C, timp de 6-8 ore pentru cristalizarea sărurilor. Alcoolul fiind un solvent polar, în conformitate cu cele enunțate de Nenițescu [33], vor cristaliza sărurile diastereoizomere formate din componenții cu sensurile de rotație diferite din punct de vedere optic.

Masa de cristale obținută în cele două pahare, reprezentând sărurile diastereoizomere: (-)AA·(+)-chinidină respectiv (+)AA·(-)-cinconidină s-a separat prin centrifugare timp de 15-20 minute la 3000 rot/min și temperatură de 5-10°C. În continuare, în vederea scindării sărurilor diastereoizomere, fiecare centrifugat s-a trecut cantitativ într-o pâlnie de separare, unde s-a tratat cu 25 ml HCl 4N și 25 ml cloroform. Acidul abietic s-a separat în stratul cloroformic în timp ce, bazele organice, (+)-chinidină respectiv (-)-cinconidină, au rămas sub formă de clorhidrați în stratul apos. Acidul abietic extras a parcurs aceeași cale ca cea descrisă mai sus, iar clorhidrații s-au trimis la recuperarea bazelor optic-active. Soluțiile etanolice rămase de la centrifugare, și conținând sărurile diastereoizomere formate din componenții având același sens de rotație, și anume: (+)AA·(+)-chinidină respectiv (-)AA·(-)-cinconidină, au urmat un tratament identic cu cel enunțat mai sus. Randamentele de obținere a acidului abietic levogir au fost în aceste cazuri mai slabe și apropiate ca valoare, aproximativ 48% respectiv 46%). De asemenea, valorile experimentale corespunzătoare rotațiilor specifice au indicat o puritate mai scăzută a acidului abietic levogir  $[\alpha]_D^{20} = -88^\circ \pm 2$ , respectiv  $[\alpha]_D^{20} = -82^\circ \pm 5$ ,  $c = 1\%$  în etanol. O posibilă schemă de purificare a acidului abietic pe calea sărurilor organice optic active este exemplificată în figura 4.2.

**Puritatea acidului abietic levogir** s-a determinat ca *puritate optică* prin interpolarea valorilor experimentale ale *rotației specifice* ale acidului abietic levogir între cele două valori ale acestei mărimi fizice furnizate de literatura de specialitate,  $[\alpha]_D^{20} = -65^\circ \pm 10$ ,  $c = 1\%$  în etanol, corespunzătoare unei purități de 75-80% (Fluka Chemika) respectiv  $[\alpha]_D^{20} = -106 \pm 5$ ,  $c = 1\%$  în etanol corespunzătoare unei purități de 94-98% [19]. După cum reiese din calculele de interpolare, puritatea acidului abietic levogir

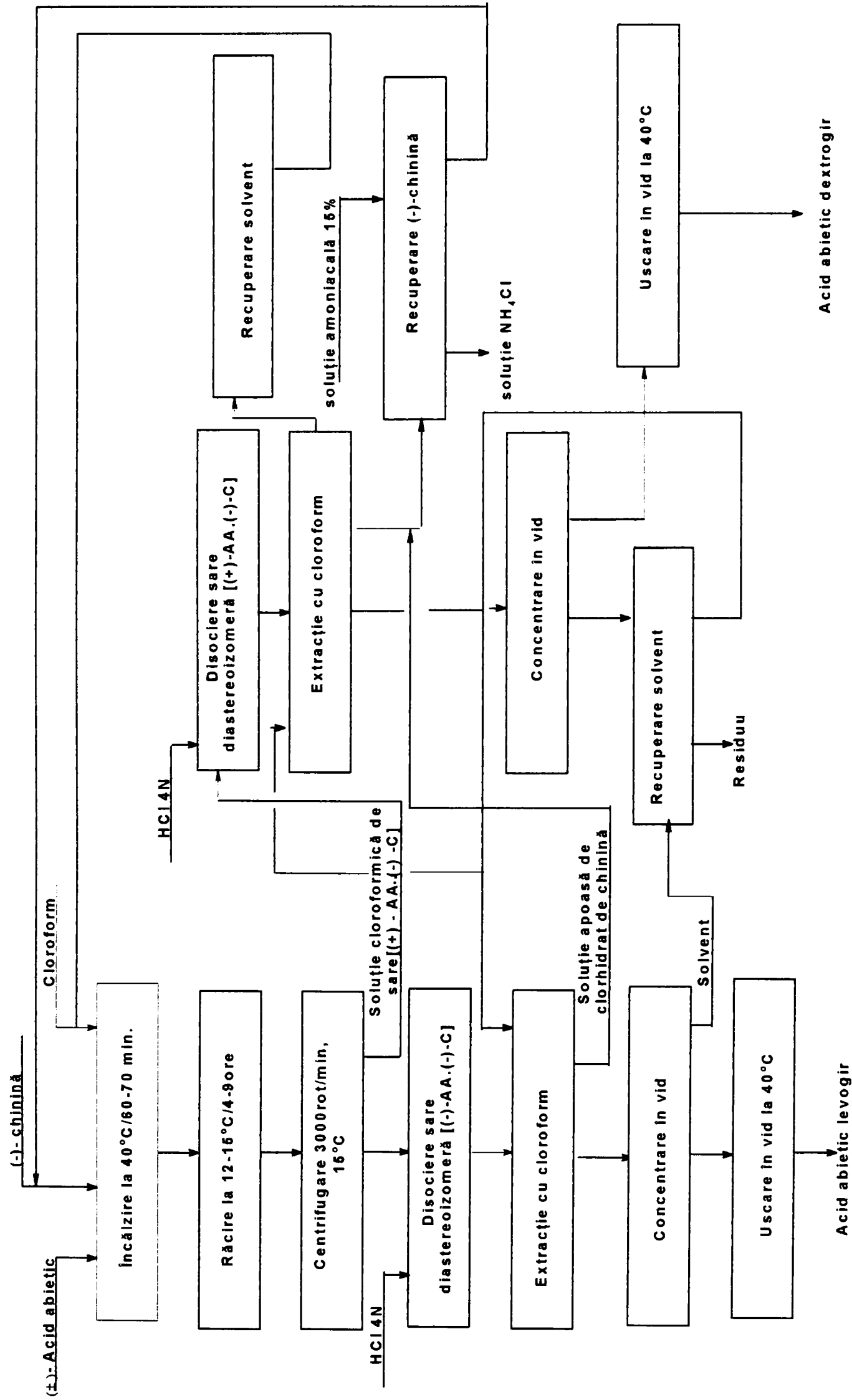


Fig. 4.2: Schema bloc de purificare a (-)- acidului abietic prin metoda sărurilor diastereoizomere cu baza organice optice active

CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

a variat, funcție de baza organică optic activă între 86 și 94% (tabelul 4.1a) iar pentru acidul abietic dextrogir puritatea optică a avut valori cuprinse între (tabelul 4.1.b).

**Tabelul 4.1.a. Valorile rotației specifice, respectiv ale purității acidului abietic levogir în funcție de baza organică optic activă utilizată**

Nr. crt.	Baza optic-activă	Rotația specifică, $[\alpha]_D^{20}$	Puritatea optică [%]
1.	(-)-chinină	-100° ±6	94.2
2.	(+)-chinidină	-88° ±2	87.8
3.	(+)-cinconină	- 99° ±7	92.8
4.	(-)-cinconidină	-82° ±5	86

**Tabelul 4.1.b. Valorile rotației specifice, respectiv ale purității acidului abietic dextrogir în funcție de baza organică optic activă utilizată**

Nr. crt.	Baza optic-activă	Rotația specifică, $[\alpha]_D^{20}$	Puritatea optică [%]
1.	(-)-chinină	+24° ±7	88
2.	(+)-chinidină	+25° ±2	89
3.	(+)-cinconină	+23° ±3	88
4.	(-)-cinconidină	+27° ±5	90

Datele experimentale obținute ne-au permis să prezentăm în continuare (tabelul 4.2) condițiile optime ce trebuie îndeplinite atunci când se dorește izolarea acidului abietic din colofoniu și separarea respectiv purificarea enantiomerului său levogir cu un grad de puritate de peste 90%.

**Tabelul 4.2. Condițiile tehnologice optime pentru obținerea și purificarea acidului (-)-abietic prin metoda scindării din sarea sa cu chinină**

Nr.crt	Parametrul tehnologic	Valori limite
1.	Solventul de extracție	Acid acetic 98%
2.	Bază organică	(-)-Chinină anhidră 99%
3.	Temperatura /durata încălzirii la izolarea din colofoniu; Temperatura /durata încălzirii la purificare;	115-120°C/ 300 min 40-41°C/ 60-70 min
4.	Solvenți de recristalizare/extracție	Acid acetic glacial, etanol absolut/cloroform
5.	Raport materie primă: solvent (m/m)	1: 1,2-1,25
6.	Număr rotații la centrifugare	2500-3000 [rot/min]

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### 4. 2. Obținerea sărurilor acidului abietic cu metale alcaline

Obținerea sărurilor de sodiu și potasiu a acidului abietic s-a bazat pe reacțiile de neutralizare ale acidului cu hidroxizii alcalini, pe studiile experimentale făcute de Dupont [151], precum și pe datele puse la dispoziție de companiile de profil [178]. Ca reactivi chimici necesari derulării sintezei s-au utilizat următoarele substanțe:

- alcoolul etilic, absolut, CAS [64-17-5], p.f. 78,33°C, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH; pentru îndepărtarea aldchidei acetice, alcoolul a fost fiert cu 10 g KOH și 10 g pulbere de Zn (cantități corespunzătoare unui volum de 1 l alcool), timp de 1 oră sub reflux și apoi distilat;
- hidroxid de sodiu, p.a. CAS [1310-73-2], purit > 87%, H<sub>2</sub>O < 0,02%, NaOH;
- hidroxid de potasiu, p.a., CAS [1310-58-3], purit > 87%, H<sub>2</sub>O < 13%, KOH;
- (-) - acid abietic obținut conform **paragraf 4.1.**

Sinteza abietatilor alcalini a presupus următoarele **etape de lucru** [9, 207, 208, 209]:

1. pregătirea soluției alcoolice de acid abietic respectiv de hidroxizi alcalini;
2. obținerea sărurilor de Na (K) impure prin fierbere la reflux;
3. cristalizarea abietatului de sodiu (potasiu);
4. purificarea produselor obținute prin recristalizări succesive;
5. uscarea, analiza și depozitarea produselor.

#### *A. Instalația folosită:*

Pentru derularea procesului de sinteză a abietatilor s-a utilizat o instalație de laborator compusă din următoarele ustensile:

- două baloane de reacție de 250 cm<sup>3</sup> cu fund rotund, confecționate din sticlă termorezistentă de culoare brună;
- refrigerent ascendent cu bule;
- agitator magnetic;
- cuib electric;
- pâlnie Büchner prevăzută cu frită de sticlă tip G3;
- pahare Berzelius de 100 cm<sup>3</sup>, sticle de ceas, cilindrii de sticlă.

#### *B. Modul de lucru:*

În fiecare din baloanele de reacție s-au introdus sub agitare magnetică câte 50 ml soluție etilică de acid abietic (30,8 g acid dizolvați în 100 ml alcool etilic absolut); și câte 50 ml de soluție alcoolică 1N de hidroxid de sodiu respectiv de potasiu. Conținutul fiecărui balon s-a încălzit sub reflux timp de 20 minute. În continuare, soluțiile de culoare galben s-au transvazat în câte un pahar Berzelius și s-au răcit rapid până la 15° C, sub agitare manuală. S-a observat că pe măsură ce temperatura amestecului a scăzut soluția a început să se tulbure, primii germeni de cristalizare fiind vizibili la 30 de minute de la începutul perioadei de răcire. În acest moment agitarea soluției a încetat și soluția a fost depozitată la întuneric pentru cristalizare. După circa 240 minute procesul de cristalizare a putut fi considerat încheiat, soluțiile alcoolice devenind suprasaturate cu cristale albe de abietati alcalini. Masa de cristale s-a filtrat pe o pâlnie Büchner prevăzută cu frită din sticlă G3, și apoi a fost spălată de 2 ori cu câte 25 ml alcool etilic absolut. Atât soluția mamă cât și soluțiile de spălare (110 ml) s-au colectat într-un pahar Berzelius și au fost lăsate timp de 240 minute la întuneric pentru o nouă cristalizare constatându-se în acest interval de timp apariția pe fundul paharului a unui strat subțire de noi cristale care au fost tratate după același protocol. În continuare cristalele de sare (28,6 g abietat de sodiu respectiv 30,4 g abietat de potasiu) s-au dizolvat în alcool etilic absolut, fierbinte adăugat în raport masic de 1:1. Soluțiile obținute s-au încălzit apoi până la fierbere timp de 3 minute, după care s-au filtrat la cald. Filtratele s-au răcit dinamic la 15° C, folosind ca agent de răcire amestecul apă - gheață, și apoi depozitate la întuneric timp de 20 minute pentru cristalizare. În continuare, cristale de sare obținute s-au filtrat și spălat de trei ori cu câte 30 ml de alcool absolut până ce picăturile de filtrat au fost incolore. Soluțiile obținute de la filtrare s-au depozitat și dacă după 24 ore nu și-au făcut apariția cristalele de abietati, au fost distilate pentru recuperarea alcoolului. Masa de cristale prismatice de culoare albă din fiecare tip de sare s-a uscat în vid la 40° C timp de 30 minute și ulterior într-un exicator vidat timp de încă alte 180 minute. Au fost necesare două recristalizări pentru ca valorile unor proprietăți fizice să rămână relativ constante.

Sărurile obținute (24,7 g abietat de sodiu și respectiv 25,9 g abietat de potasiu) s-au stocat, în vederea efectuării de analize, în vase de polietilenă ermetic închise.

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Valorile medii experimentale, ale punctului de topire cât și ale rotației specifice ( $p.t. = 181 \pm 3$  °C;  $n_D^{20} = 1,5433 \pm 0,047$ , în apă distilată,  $[\alpha]_D^{20} = -80^\circ \pm 4$ ,  $c = 1\%$  în apă distilată) sunt comparabile cu datele menționate de Dupont [151].

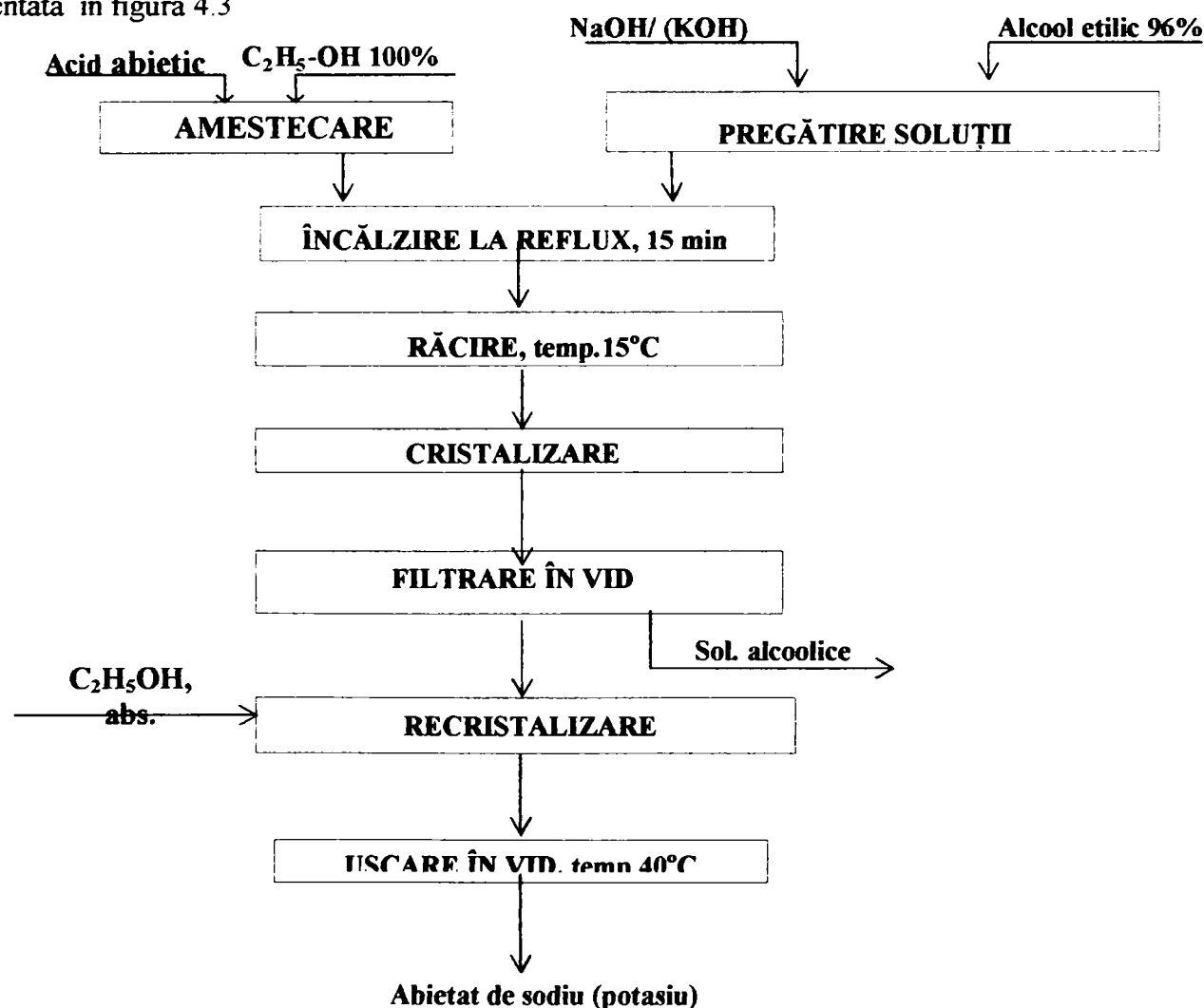
Conținutul de metal alcalin din fiecare sare (tabelul 4.3), s-a determinat prin spectroscopie de absorbție atomică folosind un aparat AAS tip Buck Scientific, Mode 210 VPG.

**Tabelul 4.3. Conținutul în metal al sărurilor acidului abietic cu metale alcaline**

Nr. crt.	Compusul analizat	% metal alcalin determinat practic		% de metal alcalin calculat	
		% Na	% K	% Na	% K
1.	Abietat de sodiu	6,71-6,74	-	7,09	-
2.	Abietat de potasiu	-	10,98-11,02	-	11,47

Sinteza sării complexe de sodiu a acidului abietic [210, 211] a comportat aceleași etape de lucru cu două deosebiri și anume: 1. în balonul de reacție s-a introdus circa o pătrime din cantitatea de hidroxid alcalin utilizată pentru abietatul de sodiu; 2. recristalizarea a avut loc din apă, spălarea cristalelor obținute având loc cu soluții apoase etanolice de 10 %.

Încercările de a obține o sare complexă pornind de la acid abietic dextrogir au eșuat, analiza spectrometrică de absorbție atomică a conținutului de sodiu (2,08% Na) și mai ales spectrul de masă al compusului obținut au arătat că este vorba despre un amestec format din doi moli de acid abietic și 1 mol de abietat neutru de sodiu. Schema bloc de obținere a abietatilor de sodiu respectiv potasiu e prezentată în figura 4.3



**Figura 4.3: Schema bloc de obținere a abietatului de sodiu (potasiu)**

S-a constatat că sărurile neutre ale acidului abietic sunt solubile în apă în schimb sarea complexă este greu solubilă. Un fapt interesant observat a fost acela că și sarea neutră de sodiu a prezentat izomerie optică ea rotind planul luminii polarizate spre stânga la fel ca și acidul de la care s-a

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

pornit ceea ce dovedește faptul că după purificare acidul abietic levogir a fost stabil din punct de vedere al proprietăților optice.

### 4. 3. Obținerea sărurilor de tip de „amoniu” a acidului abietic

Datele de literatură referitoare la obținerea cantitativă a sărurilor acidului abietic cu aminele și etanolaminele sunt sărace deși prezența acestor săruri este menționată de fiecare dată ca o etapă intermediară în reacțiile de acilare ale acidului cu amine cu scopul obținerii de amide [189-192]. Posibile explicații a acestei lipse de interes pentru acești compuși ar fi că ei nu și-au găsit aplicații practice sau provenind în general de la un acid slab și o bază slabă nu sunt stabile la încălzire sau la acțiunea unor agenți fizici sau chimici, sau obținerea lor cantitativă are loc cu randamente foarte mici făcând în felul acesta să crească exagerat costurile de fabricație ale produșilor. Plecând de la aceste considerente, studiul de cercetare a avut în vedere găsirea unor răspunsuri satisfăcătoare la următoarele întrebări:

1. Este posibilă obținerea sărurilor acidului abietic cu amine în condiții de reacție mai puțin drastice decât cele în care se desfășoară obținerea amidelor respective?;
2. Cât de stabile sunt ele în situația unui răspuns afirmativ la prima întrebare, și dacă posedă proprietăți tensioactive și/sau biologicactive (bacteriostatic, fungistatic, etc.) ca și în cazul multor amide provenite de la acestea;

Pentru ca scopul propus să poată fi atins s-au parcurs următoarele etape:

1. Tatonări experimentale pentru stabilirea tipului de amine respectiv etanolamine, și a limitelor de variație a principalelor parametri de reacție (temperatură, timp, raport stoechiometric acid: amină), până la care se pot obține săruri și nu amide;
2. Etapa de sinteză propriu-zisă a sărurilor de amoniu în condiții optime de randament al procesului și puritate a produșilor obținuți prin definitivarea condițiilor de reacție;
3. Caracterizarea sărurilor obținute și stabilirea posibilităților aplicații practice.

#### 4.3.1. Încercări experimentale preliminare

În acest stadiu de cercetare s-au folosit următorii *reactivi chimici*:

- acid abietic levogir preparat conform **paragraf 4.1**
- amine alifatic inferioare: izobutilamină, di-izo-butilamină, trietilamină;
- amine alifatic superioare: octilamină, tridodecilamină;
- etanolamine: 2-aminoctanolul, bis-(2-hidroxiethyl)-amina, tris-(2-hidroxiethyl)-amina;
- solvenți de antrenare: benzen, toluen ( $H_2O < 0,005\%$ ), p-xilen;
- solvenți de reacție: acetona, acetat de etil, alcool etilic absolut, alcool butilic, dioxan.

##### A. Instalația folosită:

Pentru a putea sesiza dacă variația parametrilor de reacție ce caracterizează sinteza sărurilor de amoniu a acidului abietic (temperatură, timp de reacție, raport stoechiometric acid: amină respectiv acid:etanolamină), favorizează și formarea amidelor alături de săruri, s-a folosit, în această etapă de cercetare, o instalație de distilare azeotropă pentru antrenarea apei eventual formate în urma reacției de amonoliză a acidului abietic.

##### B. Modul de lucru:

O metodă generală de sinteză a sărurilor acidului abietic cu amine alifatic respectiv etanolamine a presupus următoarele: în balonul de reacție s-au introdus într-un solvent adecvat de antrenare a apei, acidul abietic și amina într-un raport molar acid: amină respectiv etanolamină care a variat de la 1:1 la 1:3. Amestecul de reacție s-a încălzit la temperaturi variind între 20°C și 100°C. De asemenea, timpul de reacție a variat între 20 și 420 minute în funcție de temperatura de reacție și de tipul aminei respectiv etanolaminei. În continuare, conținutul balonului de reacție s-a transvazat într-un pahar Berzelius, s-a răcit dinamic la 15-20°C sub jet de apă rece și stocat la întuneric în vederea precipitării sării. Precipitatul de culoare diferită în funcție de amina respectiv etanolamina folosită, s-a separat apoi prin centrifugare la 4000 rot/min, timp de 20 minute și la temperatura de 15°C. Purificarea produsului brut obținut, acolo unde acesta s-a obținut în cantități corespunzătoare, s-a realizat prin recristalizări repetate din diferiți solvenți (acetat de etil în cazul sărurilor de amoniu ale acidului abietic cu amine inferioare, etanol/ butanol în cazul celor cu amine superioare). Spălarea precipitatelor purificate s-a făcut cu acetona anhidră. Uscarea compușilor sintetizați s-a realizat în vid la 40°C într-un interval de timp variind între 60-240 minute de la caz la caz.

În tabloul 4.4 sunt prezentate rezultatele și observațiile aferente acestei etape de cercetare.



Tabelul 4.4. Principalele observații rezultate în urma variației temperaturii reacțiilor acidului abietic cu diferite amine și etanolamine

Nr. crt.	Reactant	Temperatura [°C]	Observații
1.	Monoetanolamină	1. < 60 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat alb crem care după purificare și uscare se prezintă sub formă de pulbere, este solubil în apă, etanol, și mai puțin solubil în benzen, eter etilic;</li> <li>- conductivitatea specifică unei soluții apoase 0,02M a fost de 0,95mS/cm;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -18</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- analiza spectrală de IR în pastilă de KBr a indicat absența <math>\nu_{C=O} = 1640-1690 \text{ cm}^{-1}</math> caracteristică amidelor secundare în schimb apare <math>\nu_{C=O}^{as} = 1550 \text{ cm}^{-1}</math> intensă caracteristică ionului carboxilat însoțită de o bandă la <math>\nu_{C=O}^s = 1420 \text{ cm}^{-1}</math>;</li> <li>- analiza <math>^1\text{H}</math>RMN nu a indicat prezența deplasărilor <math>\delta_{\text{CONH}}</math> caracteristice protonului din grupa amidică.</li> </ul>
		2. 70 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat brun care după purificare și uscare este semifluid, cu aspect sticlos solubil în apă, etanol, dar și în benzen, eter etilic;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,02 M a fost 0,02mS/cm;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -1,58</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- au apărut picături de apă în benzen;</li> <li>- spectrul de IR efectuat în ulei de nujol a prezentat o bandă slabă la <math>\nu_{C=O} = 1657 \text{ cm}^{-1}</math> dar este dificil de spus dacă este o bandă amidică, existând benzi și la <math>1555 \text{ cm}^{-1}</math>, <math>1389 \text{ cm}^{-1}</math>;</li> </ul>
		3. 85 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat brun care după purificare și uscare este semifluid, cu aspect sticlos solubil în apă, etanol, dar și în benzen, eter etilic;</li> <li>- nu s-a putut măsura conductanța soluției indiferent de concentrație</li> <li>- nu a prezentat activitate optică;</li> <li>- s-au separat 0,5 ml apă.</li> </ul>
		4. 100 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat amorf, brun roșcat, greu solubil în apă, solubil în alcool, acetonă, benzen, toluen;</li> <li>- s-au separat după răcire în separatorul de apă 0,5 ml apă de reacție;</li> <li>- soluția alcoolică de produs nu a prezentat valori ale conductivității specifice</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -1,23 \pm 0,34</math> în soluție alcoolică 1M.</li> </ul>

**Tabelul 4.3. Principalele observații rezultate în urma variației temperaturii reacțiilor acidului abietic cu diferite a amine (continuare)**

2.	Dietanolamină	<p>1. &lt; 60 °C</p> <p>2. 70 °C</p> <p>3. 85 °C</p> <p>4. 100 °C</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat de culoare crem, care după recristalizare din acetat de etil s-a prezentat sub formă de solid amorf, solubil în apă cu formare de spumă;</li> <li>- nu s-a separat apă de reacție în separator ;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,02M a fost de 0,96 mS/cm;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -10,23 \pm 3,5</math> în soluție apoasă 1M.</li> <li>- Spectrul de IR efectuat în pastilă de KBr a prezentat o bandă slabă la <math>\nu_{co} = 1657 \text{ cm}^{-1}</math> dar este dificil de spus dacă este o bandă amidică, existând benzi și la <math>1555 \text{ cm}^{-1}</math>, <math>1389 \text{ cm}^{-1}</math></li> <li>- precipitat brun, greu solubil în apă, solubil în marea majoritate a solvenților organici uzuali;</li> <li>- Spectrul de IR efectuat în ulei de nyol a prezentat un pic intens la <math>\nu_{co} = 1589 \text{ cm}^{-1}</math> dar este dificil de spus dacă este o bandă amidică, existând benzi și la <math>1555 \text{ cm}^{-1}</math>, <math>1400 \text{ cm}^{-1}</math>;</li> <li>- Conductivitatea specifică soluției apoase 0,02M a fost de 80 <math>\mu\text{S/cm}</math></li> <li>- s-au separat aproximativ 0,75 ml apă;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,02M a fost de 7,5 <math>\mu\text{S/cm}</math> apropiată de apei distilate;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -1,074 \pm 0,5</math> în soluție apoasă 1M</li> <li>- spectrul de IR a prezentat o bandă caracteristică a vibrației de valență la <math>\nu_{co} = 1690-1723 \text{ cm}^{-1}</math> și una mai slabă ca intensitate la <math>1400 \text{ cm}^{-1}</math></li> <li>- s-au format 0,9 ml de apă colectată în separator;</li> <li>- nu a prezentat conductivitatea specifică soluția etanolică indiferent de concentrația ei</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -11,074 \pm 3,5</math> în soluție etanolică 1M;</li> <li>- spectrul de IR a prezentat o bandă caracteristică a vibrației de valență la <math>\nu_{co} = 1722 \text{ cm}^{-1}</math> și una mai slabă ca intensitate la <math>1414 \text{ cm}^{-1}</math></li> </ul>
----	---------------	---	--

**Tabelul 4.3. Principalele observații rezultate în urma variației temperaturii reacțiilor acidului abietic cu diferite amine/etanolamine (continuare)**

3.	Trietanolamină	<p>1. &lt; 60°C</p> <p>2. 70°C</p> <p>3. 85°C</p> <p>4. 100°C</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat brun roșcat, recristalizat din acetat de etil, consistență semifluidă la temperatura de 35°C se topește, solubil în apă cu formare de spumă stabilă;</li> <li>- nu s-a separat apă în separator;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -11,074 \pm 3,5^\circ</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,01M a fost de 0,55mS/cm;</li> <li>- spectrul de IR indică prezența grupei carboxilat la <math>\nu_{COO}^{as} = 1562 \text{ cm}^{-1}</math>, respectiv la <math>\nu_{COO}^{s} = 1420 \text{ cm}^{-1}</math>, dar avem și o bandă intensă și la <math>\nu = 1712</math>.</li> <li>- precipitat brun roșcat, care după purificare din acetat de etil devine solid amorf de culoare brună, puțin solubil în apă cu care formează o emulsie, spumează slab;</li> <li>- Au apărut picături de apă în separator;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -7,5 \pm 1,5^\circ</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase de sare are valoarea de 0,78 <math>\mu\text{S/cm}</math>, pentru 0,02M concentrație;</li> <li>- spectrul de IR indică prezența unei benzi <math>\nu_{CO} = 1722 \text{ cm}^{-1}</math> și una mai slabă ca intensitate la <math>1414 \text{ cm}^{-1}</math> dar există benzi intense caracteristice grupei carboxilat la <math>\nu_{COO}^{as} = 1564 \text{ cm}^{-1}</math> și la <math>\nu_{COO}^{s} = 1396 \text{ cm}^{-1}</math>.</li> <li>- precipitat brun roșcat, vâscos, greu de separat și de purificat din amestecul de reacție;</li> <li>- în separator de apă s-au separat 0,6 ml apă posibil ca urmare a reacțiilor de oxidare, sau condensare, prin răcire s-a solidificat dar a fost solubil în apă formând cantități apreciable de spumă;</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -5,5 \pm 0,5^\circ</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- valoarea conductivității specifice a soluției apoase de sare 0,02M concentrație ru a putut fi determinată concluzionând că nu este vorba de o substanță ionică;</li> <li>- spectrul de IR este asemănător cu cel descris pentru T= 70°C nu mai au apărut noi benzi.</li> <li>- Idem cu cele descrise la punctul 3</li> </ul>
----	----------------	---	---

**Tabelul 4.3. Principalele observații rezultate în urma variației temperaturii reacțiilor acidului abietic cu diferite amine /etanolamine (continuare)**

4.	Izobutilamină	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 60°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat alb strălucitor, separat din acetonă, greu solubil în apă dar se solubilizează ușor dacă mediul se alcalinizează cu câteva picături de NaOH 0,1n (pH=8,5);</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -80, 5 \pm 6</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,02M a fost de 0,89 mS/cm;</li> <li>- spectrul de IR prezintă următoarele benzi caracteristice de valență probabil caracteristice grupării carboxilat <math>\nu_{COO}^{as} = 1536-1594 \text{ cm}^{-1}</math>, <math>\nu_{COO}^{as} = 1380 \text{ cm}^{-1}</math>.</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 70°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat brun roșcat cu puternic miros de amină, insolubil în apă, solubil în benzen, toluen, s-au separat 1,2 ml apă în separator după răcire;</li> <li>- soluția benzenică nu a prezentat valori ale conductanței indiferent de concentrație;</li> <li>- în spectrul de IR a apărut o bandă la 1672 <math>\text{cm}^{-1}</math> (banda amidică I) și una la 1389 <math>\text{cm}^{-1}</math> (banda amidică II).</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. 85°C</li> <li>4. 100°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- observațiile sunt aceleași cu cele semnalate la T= 70°C</li> <li>- observațiile sunt aceleași cu cele semnalate la T= 70°C</li> </ul>
5.	Di-izobutilamină	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. &lt; 60°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat alb strălucitor, separat din acetonă, greu solubil în apă dar se solubilizează ușor dacă mediul se alcalinizează cu câteva picături de NaOH 0,1n (pH=8,5);</li> <li>- <math>[\alpha]_D^{20} = -60, 5 \pm 4</math> în soluție apoasă 1M;</li> <li>- conductivitatea specifică soluției apoase 0,02M a fost de 0,94 mS/cm;</li> <li>- spectrul de IR prezintă următoarele benzi caracteristice de valență probabil caracteristice grupării carboxilat <math>\nu_{COO}^{as} = 1550 \text{ cm}^{-1}</math>, <math>\nu_{COO}^{as} = 1384 \text{ cm}^{-1}</math>.</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 70°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- precipitat brun roșcat cu puternic miros de amină, insolubil în apă, solubil în benzen, toluen, s-au separat 1,0 ml apă în separator după răcire;</li> <li>- soluția benzenică nu a prezentat valori ale conductanței indiferent de concentrație;</li> <li>- în spectrul de IR a apărut o bandă la 1672 <math>\text{cm}^{-1}</math> (banda amidică I) și una la 1389 <math>\text{cm}^{-1}</math> (banda amidică II).</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. 85°C</li> <li>4. 100°C</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>- observațiile sunt aceleași cu cele semnalate la T= 70°C</li> <li>- observațiile sunt aceleași cu cele semnalate la T= 70°C</li> </ul>

**Tabelul 4.3. Principalele observații rezultate în urma variației temperaturii reacțiilor acidului abiectic cu diferite amine/etanolamine (continuare)**

6.	Trictilamină	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. &lt; 60°C</li> <li>2. 70°C</li> <li>3. 85°C</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- apariția unui precipitat alb în cantitate mică, ce a necesitat 4 recristalizări din acetonă pentru a ajunge la o valoare apropiată a punctului de topire a produsului dintre două cristalizări; solubilă în apă și alcool dar și în benzen, cloroform;</li> <li>- soluția apoasă de concentrație 0,02M a prezentat o valoare a conductivității specifice <math>\lambda = 0,34 \text{ mS/cm}</math>;</li> <li>- precipitat de culoare brună care după răcire și purificare din etanol absolut a avut un aspect sticios solubil greu în apă;</li> <li>- conductivitatea specifică a soluției metanolice 0,02M <math>\lambda = 0,04 \text{ mS/cm}</math>;</li> <li>- în separatorul de apă nu s-au sesizat picături de apă;</li> <li>- precipitat brun închis care s-a solidificat la răcire ca o rășină nefiind solubil nici în apă și nici în benzen, toluen;</li> </ul>
7.	Tridodecil amină	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. &lt; 60°C</li> <li>2. 70°C</li> <li>3. 85°C</li> <li>4. 100°C</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nu s-a separat precipitat;</li> <li>- nu s-au sesizat picături în separator;</li> <li>- idem ca și pentru <math>T = &lt; 60^\circ \text{C}</math>;</li> <li>- idem ca și pentru <math>T = &lt; 60^\circ \text{C}</math>;</li> <li>- apariția unui precipitat crem dar într-o cantitate atât de mică încât nu a putut fi purificat pentru determinări ulterioare.</li> </ul>
8.	Octilamină	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. &lt; 60°C</li> <li>2. 70°C</li> <li>3. 85°C</li> <li>4. 100°C</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nu s-a separat precipitat;</li> <li>- nu s-au sesizat picături de apă în separator;</li> <li>- apariția unui precipitat, în cantitate mică care după centrifugare, spălare cu acetonă și uscare s-a prezentat sub formă solidă de culoare alb-gălbui. solubil în apă și alcool etilic;</li> <li>- s-au colectat 0.7 ml apă în separator;</li> <li>- soluția apoasă nu a prezentat valori ale conductanței indiferent de concentrație;</li> <li>- în spectrul de IR a apărut o bandă la <math>1662 \text{ cm}^{-1}</math> (banda amidică I) și una la <math>1411 \text{ cm}^{-1}</math> (banda amidică II).</li> <li>- idem cu ceea ce s-a specificat pentru <math>T = 70^\circ \text{C}</math>, dar în separator s-au colectat 1,3 ml apă;</li> <li>- idem cu ceea ce s-a specificat pentru <math>T = 70^\circ \text{C}</math>, dar în separator s-au colectat 1,5 ml apă.</li> </ul>

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Față de observațiile expuse în tabelul 4.4, mai trebuie luate în considerare și următoarele constatări :

- la temperatura de 20°C dintre cele trei etanolamine luate în studiu doar monoetanolamina a reacționat cu acidul, după aproximativ 7 ore de menținere la această temperatură obținându-se aproximativ 1,23 g sare purificată;
- izobutilamina, respectiv di-izobutilamina au format săruri pe tot intervalul 20-60°C cu mențiunea că masa de sare rezultată a fost mai mare la 50°C în ambele cazuri.
- trietilamina a format un precipitat alb abia când temperatura de reacție a atins 100°C mediul de reacție folosit fiind o-xilenul dar procesul a decurs la această temperatură cu randament mic (10%) iar odată cu creșterea temperaturii peste valoarea de 100°C și a timpului de reacție, sarea obținută inițial începe să se descompună.
- în cazul aminelor superioare indiferent de condițiile de reacție s-au obținut săruri ale acidului abietic în cantități ne semnificative în schimb s-au obținut amide în cantități apreciabile când temperatura de reacție a depășit 70°C.

### 4.3.2. Sinteza propriu-zisă a sărurilor de amoniu ale acidului abietic

Pe baza rezultatelor preliminare s-au obținut cantitativ pentru determinarea în continuare a caracteristicilor tensioactive și biologice doar sărurile acidului abietic cu următorii *reactivi chimici*:

- 2-aminoetanol,  $C_2H_7NO$ , purum, CAS [141-43-5], purit > 98%,  $d_4^{20}=1,06$ , M= 61,08, p.f.=69-70°C, (Fluka Chemika);
- bis-(2-hidroxietyl)-amina,  $C_4H_{11}NO_2$ , purum, CAS [111-42-2], purit  $\geq 98\%$ ,  $d_4^{20}=1,096$ , M= 105,14, p.f.=115-120°C, (Fluka Chemika);
- tris-(2-hidroxietyl)-amina,  $C_6H_{15}NO_3$ , purum, CAS [102-71-6], purit  $\geq 97\%$ ,  $d_4^{20}=1,124$ , M= 149,19, p.f.=206-207°C, (Fluka Chemika);
- 1-amino-2-metilpropan,  $C_4H_{11}N$ , purum, CAS [78-81-9], purit  $\geq 98\%$ ,  $d_4^{20}=0,729$ , M= 73,14, p.f.=67-69°C, (Fluka Chemika);
- di-izo-butilamină,  $C_8H_{19}N$ , purum, CAS [33966-50-5], purit  $\geq 98\%$ ,  $d_4^{20}=1,06$ , M= 129.19, p.f.=69-70°C, (Merck);
- acetonă anhidră, acetat de etil.

#### A. Instalația folosită:

- baloane rotunde de 100 cm<sup>3</sup>, cu trei găuri, confecționate din sticlă termorezistentă de culoare brună;
- refrigerente ascendente cu bule;
- agitatoare cu palete din sticlă și acționate electric;
- pâlnii picurătoare cu slif de 50 cm<sup>3</sup> capacitate;
- cuib electric termostatat;
- termometre cu șlif cu interval de temperatură 20-100°C ;
- pâlnie de filtrare cu frită tip G2;
- pahare Berzelius de 100 cm<sup>3</sup> capacitate;
- centrifugă, balanță tehnică electronică tip Kcrr-200.

#### B. Modul de lucru:

Sinteza sărurilor acidului abietic cu amine alifactice inferioare respectiv etanolamine, va fi descrisă pe larg folosind ca reactanți acidul abietic și trietanolamina [212,213]. În balonul de reacție s-a introdus o cantitate de 12 g acid abietic dizolvată, sub agitare continuă, în 50 ml acetonă anhidră. De asemenea, în pâlnia de picurare atașată balonului de reacție s-au adăugat 4,4 ml trietanolamină dizolvați într-un volum egal de acetonă anhidră. Soluția acetonică de acid abietic s-a încălzit până la temperatura de 45°C, moment în care s-a început picurarea soluției acetone de trietanolamină. Operația de picurare s-a realizat sub agitare continuă într-un interval de 10 minute. În continuare pereții pâlniei de picurare s-au spălat cu aproximativ 10 ml acetonă anhidră care s-au adăugat amestecului din balon. Conținutul balonului de reacție s-a fiert apoi la reflux timp de 20-30 minute,

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

sub agitare până la apariția unui precipitat de culoare brună. În acel moment, amestecul de reacție s-a transvazat într-un pahar Berzelius, s-a răcit dinamic la temperaturi de 15-20°C și s-a depozitat la întuneric, timp de 15-20 minute, pentru definitivarea operației de precipitare. Amestecul semisolid s-a centrifugat la 4000 rot/min., timp de 20 minute și la temperatura de 15°C. După îndepărtarea supernatantului s-au obținut aproximativ 6,9 g sare brută. Purificarea sării s-a realizat prin dizolvarea într-o cantitate egală de acetat de etil fierbinte, filtrare la cald și răcire la 2-5°C folosind un amestec de apă-gheață, pentru precipitarea cantitativă a sării. Precipitatul de culoare alb-gălbui s-a filtrat, s-a spălat de două ori cu câte 10 ml acetonă anhidră și apoi s-a uscat în vid la 40°C timp de 3 ore. În final s-au obținut 5,9 g sare de amoniu. O posibilă schemă bloc al procedurii de sinteză a sărurilor de amoniu ale acidului abietic este prezentată în figura 4.4.

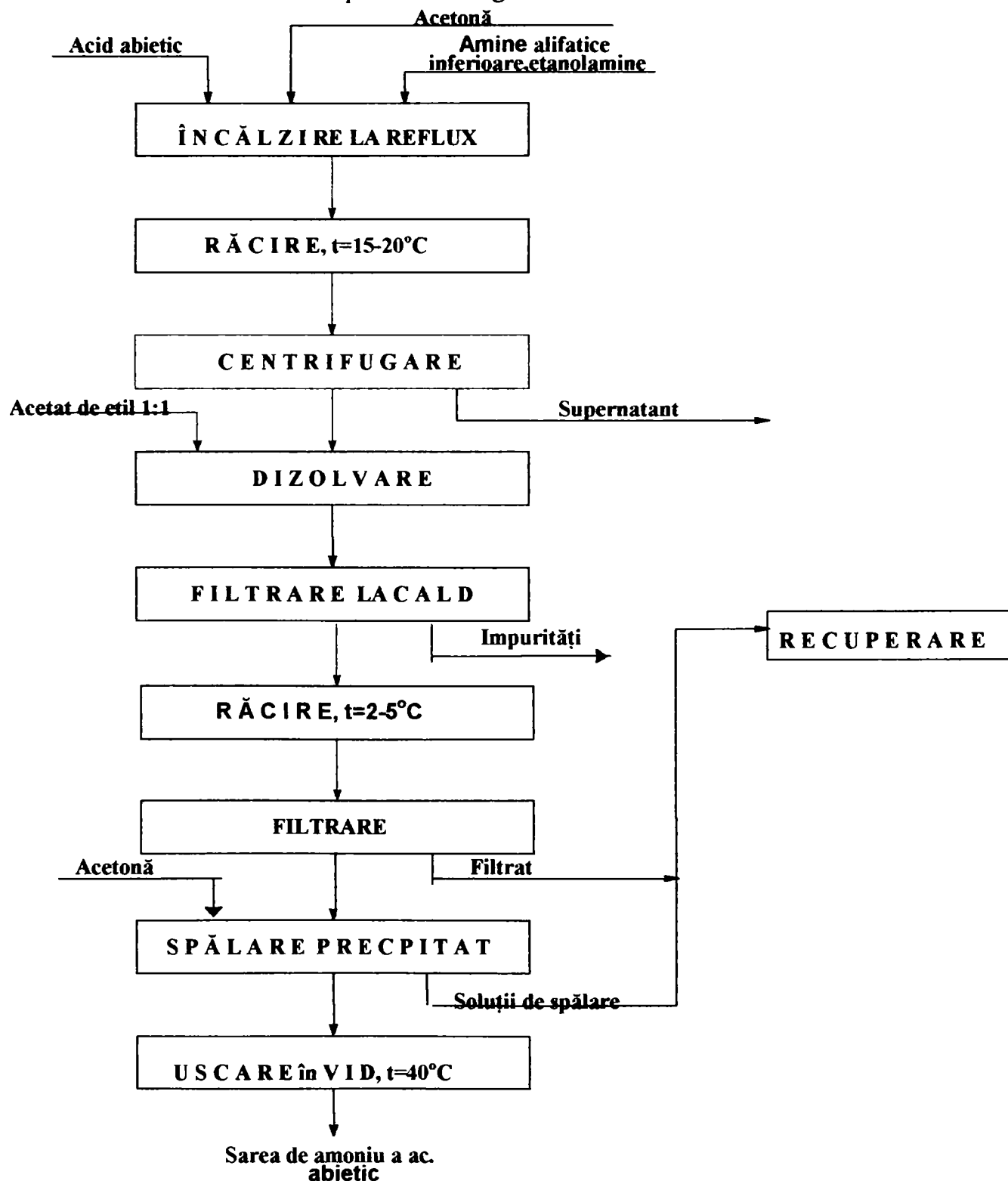


Figura 4.4: Schema bloc de obținere a sărurilor de amoniu ale acidului abietic

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Modul cum diferiți parametri influențează randamentul de obținere a sărurilor precum și stabilitatea acestora, valorile proprietăților coloidale sunt prezentate și discutate pe larg în capitolul următor.

### 4.4. Metode de analiză

Compușii chimici sintetizați în **paragrafele 4.1.- 4.3** au fost caracterizați în continuare prin determinarea valorilor unor mărimi fizice și chimice care pot furniza indicații privind identitatea și puritatea acestora. Mărimile fizice luate în studiu au fost de la caz la caz punctul de topire, indicele de refracție, rotația specifică, spectrele de IR și cromatogramele obținute prin HPLC. Completarea imaginii privind identitatea compușilor din probele obținute prin procedeele descrise în paragraful 4.1. s-a realizat prin determinarea indicilor de aciditate (IA), de saponificare (IS) și de iod ( $I_I$ ). Pentru sărurile acidului abietic analiza s-a efectuat și prin determinarea valorilor unor mărimi ce caracterizează starea coloidală dovedindu-se astfel că unii dintre ei sunt buni compuși superficial activi.

De asemenea pentru acii derivați ai acidului abietic care pot fi folosiți în industria detergenților și/sau produselor cosmetice s-au analizat și proprietățile microbiologice și de biodegradabilitate folosind atât metode standardizate dar și metode adaptate datorată lipsei aparaturii sau a unor reactivi chimici.

În ceea ce privește analiza compoziției colofoniului, ne-am bazat pe datele cromatografiei de gaz furnizate prin buletinul de analiză de către producători .

Având în vedere că intervalul de timp care a trecut de la analiza materiei prime și prelucrarea sa a depășit 6 luni de zile (timpul garantat de producător că nu apar modificări importante în compoziție) s-a procedat în prealabil la analiza prin spectrometrie de masă în scopul identificării apariției unor eventuale produși de oxidare ai acidului abietic.

#### 4.4.1. Analiza colofoniului

Analiza compoziției colofoniului a fost efectuată prin cromatografie de gaz de către producător acesta furnizând și datele respective prezentate în tabelul 4.5.

**Tabelul 4.5. Compoziția chimică a colofoniului, materie primă la izolarea acidului abietic**

Nr.crt	Compusul chimic	Valori limite [%]
1.	Acid abietic	40-44
2.	Acid neoabietic	16.5-13
3.	Acid isopimaric	4.0-2.6
4.	Acid sandaracapimaric	3.2-2.6
5.	Acid palustic	23-26
6.	Acid dehidroabielic	6.3-4.8
7.	Acid pimaric	7-10

Având în vedere că în buletinul de analiză furnizat, nu s-a specifică prezența compușilor oxigenați ai acizilor rezinici găsiți în colofoniu, aceștia constituind un factor care influențează negativ izolarea și mai ales purificarea acidului abietic, s-a efectuat și o analiză de tip fingerprint cu ajutorul metodei DTMS, (*DIRECT TEMPERATURE RESOLVED MASS SPECTROSCOPY*) [159], datele obținute fiind comparate și cu spectrul de masă al colofoniului obținut prin metoda ESI-MS (*ELECTROSPRAY IONIZATION MASS SPECTROSCOPY*), efectuată în varianta obținerii ionilor moleculari negativi [168].

Experimentele s-au realizat în colaborare cu specialiștii laboratorului de analize spectrale din cadrul Institutului pentru Fizica Atomică și Moleculară, FOM, Amsterdam, Olanda..

#### *A Aparatură. și materiale:*

- spectrometru de masă tip JEOL SX- 102A cu dublă focalizare (B/E) și filament din aliaj de Pt/Rh (9 /1), (diametrul 100 μm);
- spectrometru de masă tip Finnigan TSQ7000 echipat cu două interfețe de pulverizare pentru operare atât în sistemul de ioni pozitivi (+ESI) cât și în cel de ioni negativi (-ESI);
- seringă tip SGE de 5μl;
- metanol, HPLC puritate;



## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

- program de soft pentru prelucrarea datelor : JEOL MP-700, var.3.4.

Condițiile de operare a aparatelor au fost:

1. pentru tehnica DTMS: - ionizare prin impact electronic la 16 eV;
  - variația intensității curentului electric 0.5A/min. pentru a determina atingerea unei temperaturi a filamentului de 800°C în 2 minute;
  - accelerarea ionilor moleculari la 8 kV;
  - temperatura camerei de ionizare, 180°C;
  - intervalul de scanare al aparatului, 20-1000 m/z;
  - ciclul de timp, 1 secundă;
  - rezoluția aparatului, 1000.
2. pentru tehnica ESI-MS: - debitul de pulverizare al probei, 3 l/min;
  - accelerarea ionilor moleculari la 5 kV;
  - temperatura camerei de ionizare, 90°C;
  - intervalul de scanare al aparatului, 200-2000 m/z;
  - ciclul de timp, 13 secunde;
  - rezoluția aparatului, 3000.

### *B. Modul de lucru*

Pentru analiza DTMS a colofoniului s-a aplicat în mare protocolul de lucru descris de Boon și colaboratorii [172, 173]. Aproximativ 5 mg de colofoniu s-au dizolvat într-un volum de 10 ml alcool metilic de puritate HPLC. Din această soluție s-au aspirat cu siringa 2μl care s-au deșus pe filamentul sondei de inserție directă pentru uscarea acesteia în vid ( $10^{-4}$ Pa). După uscarea probei, sonda s-a introdus direct în camera de ionizare a spectrometrului de masă. Proba desorbită de pe suprafața filamentului la începutul intervalului de temperatură și apoi pirolizată spre sfârșitul intervalului de temperatură, s-a ionizat în continuare prin tehnica de impact electronic la 16 eV. Prin folosirea acestei energii joase de ionizare s-a dorit împiedicarea fragmentării excesive a moleculelor din probă.

Pentru analiza colofoniului prin metoda ESI-MS, proba de colofoniu (aproximativ 5 mg) s-a dizolvat în 10-20 ml de soluție metanolică (CH<sub>3</sub>OH/ H<sub>2</sub>O 1:1). Din această soluție un volum de 10 μl s-a pulverizat în camera de ionizare a spectrometrului de masă. Rezultatele analizelor sunt prezentate pe larg în capitolul 5, paragraful 5.5.4.

### 4.4.2. Determinarea parametrilor fizici ai compușilor sintetizați

Determinarea *punctului de topire* s-a realizat "prin metoda de trecere", cu ajutorul microscopului Bötius, [214].

*Aparatura folosită* a constat dintr-un microscop tip Franz Küstner, (model HMK 70/3193).

*Protocolul de lucru* a fost în conformitate cu procedura standard de determinare a punctului de topire (ASTM E 324) [119]. Pe măsura portobiect a aparatului, s-au deșus cu penseta câteva cristale de colofoniu. Acestea s-au încălzit electric neîntrerupt cu 2-4°C/min. până în apropierea punctului de topire. În continuare s-a notat valoarea temperaturii citită de pe scala termometrului atât la începutul intervalului de topire (începutul rotunjirii muchiilor cristalelor), cât și la sfârșitul intervalului când substanța s-a topit complet.

Determinarea *indicelui de refracție*, ( $n_D^{20}$ ) s-a efectuat prin metoda refractometrică [214]. cu ajutorul refractometrului Abbe, simplu, didactic folosind ca solvent alcoolul etilic absolut, concentrația probelor fiind de 1% în toate cazurile. Măsurătorile au fost efectuate în câte trei repetiții/ probă, luându-se în considerare valorile medii ale indicelui de refracție.

*Rotăția specifică*,  $[\alpha]_D^{20}$  s-a determinată prin metoda polarimetrică [214], folosind un polarimetru model Carl Zeiss Zena, (lungimea tubului polarimetric 10 dm), iar ca solvent a fost utilizat etanolul absolut, concentrația substanței de analizat fiind 0,13g/100ml. Pentru fiecare probă s-au efectuat câte 3 citiri pe scala analizorului aparatului, luându-se în considerare media citirilor.

*Conductivitatea specifică*, ( $\lambda^{20}$ ) s-a determinat prin metoda conductometrică descrisă în paragraful 4.4.5.

Valorile medii, ai principalilor parametri fizici ai compușilor sintetizați sunt prezentate în tabelul 4.6.

Tabelul 4.6. Valorile medii ai principalilor parametri fizici ai compușilor sintetizați

Nr. crt.	Subst. analizată	Stare de agregare	Pct. topire [°C]	Indice de refracție [ $n_D^{20}$ ]	rotația specifică [°]	Conductivitatea specifică [mS/cm]
1.	A.A	Solid crist.	170±4	1,5343±3	-100±2	-
2.	A-Na	Solid crist.	180±3	1,5443±3	- 74,9±4	4,31±0,1181
3.	A-K	Solid crist.	219±1	1,5448±6	-80,9±2	3,58±0,1909
4.	MEAA	Solid amorf	135±5	1,5436±4	-67,5±5	0,91±0,2752
5.	DEAA	Solid amorf	145±6	1,5431±4	-53±6	0,96±0,2392
6.	TEAA	Solid	141±4	1,5440±1	-60,3±1	0,58±0,3243
7.	IBAA	Solid crist.	140±3	1,538±62	-78,3±	0,89±0,3236
8.	DIBAA	Solid crist.	153±4	1,5445±3	-89,4±1	0,94±0,2671
9.	AA-Na	Solid cris	220±3	1,5449±1	- 101±2	0,02±0,0147

Notă: A.A-acid abietic; A-Na- abietat de sodiu; A-K-abietat de potasiu; MEAA- abietat de monoetanolamoniu; DEAA- abietat de dictanolamoniu; TEAA- abietat de trictanolamoniu; IBAA- abietat de izobutilamoniu; DIBAA- abietat de di-izobutilamoniu; AA-Na- sarea complexă a acidului abietic

\*- determinările s-au efectuat pentru soluții apoase 0.02M, respectiv 0.01M în cazul TEAA, la 20°C

#### 4.4.3. Determinarea indicilor caracteristici ai acidului abietic

Principalii parametri chimici determinați au fost indicele de aciditate, saponificare și de iod.

Determinarea indicelui de aciditate (IA) s-a efectuat printr-o metodă care combină modul de lucru descris în metoda standard, ASTM-D 465-92, [119] cu cel pus la punct de Sandermann [216].

A. Reactivii chimici:

- hidroxid de potasiu, 0,1N;
- soluție alcoolică de fenolftaleină, 1%;
- alcool etilic absolut.

B. Modul de lucru:

Într-un flacon Erlenmayer, uscat și perfect curat, s-au cântărit cu precizie de patru zecimale trei-patru grame de probă ce au fost apoi dizolvate în 50 ml alcool etilic absolut. După adăugarea a câtorva picături de fenolftaleină, proba s-a titrat cu o soluție alcoolică 0.1N de KOH, agitând mereu până la apariția unei colorații roz-pal care persistă 30 sec. Determinările experimentale s-au efectuat în trei repetiții pentru fiecare probă analizată, iar valorile indicelui de aciditate s-au calculat conform relației (1):

$$IA = \frac{V_{KOH} \cdot F_{KOH} \cdot 5,61}{G}, \text{ [mg KOH / g probă]} \quad (1)$$

unde:  $V_{KOH}$  - volumul de KOH soluție 0,1N folosit la titrare, ml;

$F_{KOH}$  - factorul soluției de KOH 0,1N;

$G$  - cantitatea de probă luată la analiză, g.

Determinarea indicelui de saponificare (IS) s-a efectuat pe baza procedurii de lucru descrisă în metoda standard, ASTM-D 464-92, [119] combinată cu metoda pusă la punct de Sandermann [216].

A. Reactivii chimici:

- hidroxid de potasiu, 0,5N;
- acid clorhidric, 0,5N;
- soluție alcoolică de fenolftaleină, 1%;
- alcool etilic absolut.

B. Modul de lucru:

2- 3 g de probă cântărite cu precizie de 4 zecimale s-au încălzit sub reflux, timp de 15 minute, cu 25 ml hidroxid de potasiu 0,5N. După expirarea timpului de fierbere, s-au adăugat soluției calde 2-3 picături de fenolftaleină. Proba de analizat s-a titrat rapid la cald, cu acid clorhidric 0,5N până la dispariția culorii roșii. În paralel s-a executat și o probă oarbă. Determinările experimentale s-au

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

efectuat în trei repetiții pentru fiecare probă analizată, iar valorile indicelui de saponificare s-au calculat conform relației (2):

$$IS = \frac{(V_1 - V_2) \cdot F_{HCl} \cdot 28}{G} \cdot [\text{mg KOH} / \text{g probă}] \quad (2)$$

unde:  $V_1$  - volumul de HCl soluție 0,5N folosit la titrare pentru proba oarbă, ml;

$V_2$  - volumul de HCl soluție 0,5N folosit la titrarea excesului de hidroxid, ml;

$F_{HCl}$  - factorul soluției de HCl 0,5N;

$G$  - cantitatea de probă luată la analiză, g.

Determinarea indicelui de iod ( $I_I$ ) s-a efectuat pe baza procedurii de lucru descrisă în metoda standard, ASTM-D 463-92 [119], metodă care se bazează pe tratarea acidului cu un exces cunoscut de iod o perioadă de 60 min, după care se determină prin titrare cantitatea de iod rămasă necombinată.

A. Reactivii chimici:

- reactiv Hannus;
- tiosulfat de sodiu, 0,1N
- soluție apoasă de iodură de potasiu, 10%;
- soluție apoasă de amidon, 1%;
- cloroform.

B. Modul de lucru:

Într-un flacon uscat și perfect curat prevăzut cu dop rotat, s-au cântărit cu precizie de patru zecimale în jur de 0,6 g acid abietic. Acidul s-a dizolvat în 10 ml cloroform iar apoi, soluției obținute i s-au adăugat 25 ml reactiv Hannus. Amestecul rezultat s-a lăsat să reacționeze la întuneric 50-60 min., agitând din când în când. În continuare s-au adăugat 15 ml soluție apoasă de iodură de potasiu, 50 ml apă distilată și s-a titrat cu tiosulfat de sodiu 0,1N în prezență de amidon. Determinările experimentale s-au efectuat în trei repetiții pentru fiecare probă analizată, iar valorile indicelui de iod s-au calculat conform relației (3):

$$I_I = \frac{(V_1 - V_2) \cdot F_{Na_2S_2O_3} \cdot 0,01296}{G} \cdot 100, [\text{g iod} / 100\text{g probă}] \quad (3)$$

unde:  $V_1$  - volumul de  $Na_2S_2O_3$  soluție 0,1N folosit la titrare pentru proba oarbă, ml;

$V_2$  - volumul de  $Na_2S_2O_3$  soluție 0,1N folosit la titrarea excesului de iod din proba analizată, ml;

$F_{Na_2S_2O_3}$  - factorul soluției de  $Na_2S_2O_3$  0,1N;

$G$  - cantitatea de probă luată la analiză, g.

Valorile medii ai parametrilor chimici ai acidului abietic sunt prezentate în tabelul 4.7.

**Tabelul 4.7. Valorile medii ai principalilor parametrii chimici ai acidului abietic izolat din**

Nr. crt.	Subst. Testată	IA [mg KOH/g acid]		IS [mg KOH/g acid]		I <sub>I</sub> [g iod/100 mg acid]	
		Experimental	citat în literatură*	Experimental	citat în literatură*	experimental	citat în literatură*
1.	AA	179± 3,4	176,6	184± 4,7	182,7	162± 3,6	167,9

Notă: \*- valorile parametrilor chimici după Bodea, [19]

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### 4.4.4. Determinarea caracteristicilor superficiale ale sărurilor acidului abietic

Determinarea conținutului de substanță activă din ficcare derivat al acidului abietic s-a efectuat prin metoda STAS 99-51 [217], bazată pe titrarea unei soluții de sare a acidului abietic cu soluție 2N de clorură de benzildimetiltetradecilamoniu,  $C_{23}H_{42}NCl$ , (CBDMTDA) în prezență de timolftalcină (soluție 0,1 % în alcool etilic 60%), ca și indicator.

A. Reactivii chimici:

- clorură de benzildimetiltetradecilamoniu, 2N;
- soluție alcoolică timolftalcină. 0,1 g timolftalcină s-au dizolvat în 100 ml alcool etilic 60%;
- soluție apoasă de lauril sulfat de sodiu, 1%;
- amestec de indicatori albastru de metilen-eozină în raport de 1:2;
- soluție tampon acetat pentru pH=4;
- soluție de hidroxid de sodiu, 5%;
- cloroform.

B. Modul de lucru:

Protocolul de lucru a presupus într-o primă etapă determinarea titrului soluției de clorură de benzildimetiltetradecilamoniu ( $C_{23}H_{42}NCl$ ) față de o soluție de lauril sulfat de sodiu 1% în prezență de amestec de indicatori albastru de metilen-eozină. Aproximativ 1 g lauril sulfat de sodiu cântărit cu precizie de patru zecimale s-a trecut cantitativ într-un balon cotat de 100 cm<sup>3</sup> care a fost adus la semn cu apă distilată. Din soluția preparată s-au pipetat 10 ml într-o fiolă de titrare peste care s-au adăugat 15 ml cloroform, 0,5 ml amestec de indicatori și 74,5 ml apă distilată. pH-ul amestecului a fost adus la 4 prin adăugarea a 10 ml soluție tampon acetat. În continuare s-a titrat cu soluția de CBDMTDA 2N până la schimbarea culorii stratului cloroformic din verde în roz-gri. Titrul soluției de CBDMTDA s-a calculat cu ajutorul relației (4):

$$T = \frac{E_2 \cdot a \cdot 10}{E_1 \cdot V} \quad (4)$$

unde: T – titrul soluției de CABDMA;  
 $E_2$  – echivalentul-gram al CABDMA, 365,5 g/echiv;  
 V – volumul de soluție de CABDMA folosit la titrare, ml;  
 a – masa de lauril sulfat de sodiu luată pentru analiză, g;  
 $E_1$  – echivalentul-gram al lauril sulfatului de sodiu, 288 g/echiv.

Aproximativ 3-4 g de sare a acidului abietic s-au cântărit cu o precizie de patru zecimale, s-au dizolvat în puțină apă distilată după care s-au trecut cantitativ într-un balon cotat de 250 ml, balonul fiind completat cu apă distilată până la semn. Din soluția omogenizată s-au pipetat 5 ml și s-au introdus într-o fiolă de titrare prevăzută cu dop rodat după care s-au mai adăugat 3 ml cloroform, 2 ml soluție timolftalcină, 10 ml apă distilată și 1-2 ml soluție de hidroxid de sodiu 5% până la colorarea în albastru a stratului apos. Proba s-a titrat cu soluția de CBDMTDA până la egalizarea colorației albastre în cele două straturi apos și cloroformic. Determinările experimentale s-au efectuat în două repetiții pentru fiecare probă analizată, iar valorile procentuale ale conținutului în substanță activă s-au obținut conform relației (5):

$$\% \text{ substanță activă} = \frac{E_3 \cdot V_1 \cdot T \cdot 50}{E_2 \cdot g} \quad (5)$$

unde:  $V_1$  – volumul soluției de soluție de CBDMTDA folosit folosit la titrare, ml;  
 $E_2$  – echivalentul-gram al soluției de soluție de CBDMTDA, 365.5 g/ echiv;  
 $E_3$  – echivalentul-gram al sării acidului abietic luată pentru analiză;  
 g – masa de sare luată în lucru, g;

Valorii medii ale conținutului de substanță activă pentru fiecare derivat al acidului abietic sunt date în tabelul 4.8.

CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE**Tabelul 4.8. Conținutul procentual în substanță activă a sărurile acidului abietic**

Nr. crt.	Compusul testat	Cantitatea luată pentru analiză [g]	Volumul de sol. de CBDMTDA folosit la titrare [ml]	% subst. activă (valori medii)
1.	A-Na	3,0018	1. 7,10 2. 7,00 media 7,05	98,28
2.	A-K	3,0020	1. 6,60 2. 6,50 media 6,55	95,80
3.	MEAA	1,2018	1. 5,60 2. 5,50 media 5,50	84,83
4.	DEAA	1,2025	1. 4,70 2. 4,60 media 4,65	80,37
5.	TEAA	1,2015	1. 4,20 2. 4,20 media 4,20	80,47
6.	IBAA	1,2010	1. 5,60 2. 5,50 media 5,55	88,50
7.	DIBAA	1,2020	1. 4,80 2. 4,80 media 4,80	88,01

Determinarea *punctului Krafft* s-a efectuat pe baza procedurii descrise de Mândru și Ceacăreanu [218], metodă care se bazează pe proprietatea substanțelor tensioactive ionice de a-și mări brusc solubilitatea la o anumită temperatură, numită *punctul Krafft*.

*A. Materiale și aparatură:*

- flacoane de sticlă perfect uscate și curate, baghete din sticlă;
- cilindru gradat din sticlă cu diametrul de 2- 4 cm;
- pahar Berzelius, 1000ml;
- termometru cu interval de temperatură -15 - +60°C;
- balanță analitică tip Mettler-Tolcdo, AG410;
- dispozitiv electric de încălzire prevăzut cu transformator variabil pentru reglarea vitezei de încălzire.

*B. Modul de lucru:*

S-au cântărit între 0,1și 2 g de sare a acidului abietic cu precizie de 0,01, și s-au introdus într-un flacon de sticlă. S-a adăugat cantitatea necesară de apă bidistilată obținerii unei soluții saturată (conținutul flaconului trebuie să fie tulbur). Amestecul de cercetat s-a introdus în cilindru gradat iar acesta în paharul Berzelius umplut cu apă rece de 4-6°C. De asemenea, în cilindru s-a atașat termometrul în așa fel încât rezervorul de mercur să fie total scufundat în soluție. Soluția saturată de sare s-a încălzit uniform prin agitare manuală, până când s-a limpezit. În acel moment, s-a citit pe scala termometrului valoarea temperaturii. Cilindru gradat s-a scos din paharul Berzelius, iar soluția s-a lăsat să se răcească până când s-a retulburat. Determinarea s-a reluat de încă trei ori pentru fiecare probă.

Valorii medii ale *punctului Krafft*, pentru fiecare compus sintetizat, sunt date în tabelul 4.9.

CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

**Tabelul 4.9. Valorile medii ale punctului Krafft pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase ale sărurilor acidului abietic**

Nr. crt.	Substanța testată	Concentrațiile soluției analizate [%]		Temperatura corespunzătoare punctului Krafft [°C]	
				1.	2.
1.	A-Na	1.00	1.5	1. 9.0 2. 7.0 3. 8.0 media 8,0	1. 8.0 2. 7.0 3. 9.0 media 8,0
2.	A-K	1.00	1.4	1. 8.0 2. 9.0 3. 9.0 media 8,66	1. 8.0 2. 8.0 3. 9.0 media 8,33
3.	MEAA	1.00	0.9	1. 9 2. 10 3. 10 media 9,66	1. 10.0 2. 11.0 3. 11.0 media 10,66
4.	DEAA	1.00	1.2	1. 9.0 2. 8.0 3. 9.0 media 8,66	1. 9.0 2. 8.0 3. 10.0 media 9,0
5.	TEAA	1.00	1.5	1. 9 2. 9 3. 10 media 9,33	1. 10 2. 10 3. 9 media 9,66
6.	IBAA	1.00	0.2	1. 14.0 2. 15.0 3. 15.0 media 14,66	1. 12.0 2. 11.0 3. 11.0 media 11,33
7.	DIBAA	1.00	0,2	1. 15.0 2. 16.0 3. 17.0 media 16,0	1. 14.0 2. 14.0 3. 15.0 media 14,66

Pentru *determinarea concentrației critice micelare (CMC)* s-au aplicat două metode de analiză (metoda tensiunii superficiale, și metoda conductometrică) din două motive și anume:

1. compararea rezultatelor experimentale obținute între ele în special în cazul sărurilor de amoniu a acidului abietic pentru care nu am găsit referințe în literatura de specialitate;
2. *determinarea CMC-ului conductometric poate fi considerată și o dovadă a faptului că prin procedul de sinteză propus în paragraful 4.3. s-au obținut substanțe ionice (săruri) și nu neutre (amide).*

Concentrația critică micelară, caracteristică de bază în domeniul chimiei substanțelor tensioactive, s-a determinat pentru toate sărurile luate în studiu la temperatura de 20°C, atât în cazul soluțiilor proaspăt preparate cât și după staționarea acestora timp de 6 ore. În plus, metoda conductometrică a permis determinarea CMC-ului și la temperaturi diferite de cea a mediului (30, 40°C).

*Determinarea tensiunii superficiale s-a efectuat prin "metoda picăturilor", STAS 6118-59 [217], metodă bazată pe compararea valorii tensiunii superficiale a substanței de analizat cu cea a unei substanțe cunoscute, în cazul nostru apa distilată.*

*A. Aparatură și materiale:*

- stalagmetru Traube;
- balanță tehnică electronică tip Kerr-200;
- baloane cotate, 1000 ml perfect uscate;
- pH-metru .

*A. Modul de lucru:*

*a) Prepararea soluțiilor de analizat*

Pentru fiecare probă analizată s-au preparat soluții cu concentrații variind între 1-10 g/l substanță activă. Astfel pentru prepararea soluțiilor de 10 g/l substanță activă s-au cântărit cu precizie

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

de 0,01 g. în jur de 10,2 g abictat de sodiu, 10,4 g abictat de potasiu, 11,8 g abictat de monoetanolamoniu, 12,4 g abietat de dietanolamoniu, 12,4 g abietat de trietanolamoniu, 11,29 g abietat de izobutillamoniu și 11,36 g abietat de di-izobutillamoniu și apoi s-au dizolvat în circa 75 ml apă bidistilată. Soluțiile obținute s-au trecut cantitativ în baloane cotate de 1000 ml și s-a adus la semn cu apă bidistilată. Din soluțiile inițiale s-au pipetat 10 ml în baloane cotate de 50 ml, obținându-se prin diluție soluțiile de analizat. pH-ul soluțiilor a avut valori cuprinse între 7,5-9,5

### b) Calibrarea stalagnometrului

Calibrarea stalagnometrului Traube s-a făcut atât la începutul măsurătorilor cât și de fiecare dată când a fost schimbată substanța analizată, prin umplerea cu apă bidistilată a capilarci aparatului până la reperul superior urmată de deschiderea robinetului aparatului și numărarea picăturilor desprinse din vârful capilarei, până când nivelul lichidului atinge reperul inferior al capilarei. Viteza de desprindere a picăturilor a fost reglată la valoarea de 3 picături/min., iar numărul mediu de picături pentru apă bidistilată a fost de 26.

### c) Determinarea tensiunii superficiale

După calibrarea aparatului, s-a trecut la efectuarea măsurătorilor pentru fiecare soluție de analizat aplicând aceleași operații descrise mai sus. Măsurătorile s-au efectuat în dublă repetiție pentru fiecare soluție de analizat, luându-se în calcul media acestora. Întregul protocol s-a reluat după trecerea celor 6 ore de repaus acordat soluțiilor de săruri.

Valoarea tensiunii superficiale corespunzătoare fiecărei substanțe analizate a fost calculată cu relația (6)

$$\gamma = 72 \cdot \frac{b}{a}, \text{ [dyn/cm]} \quad (6)$$

unde: a – numărul de picături de soluție de analizat;  
b – numărul de picături de apă distilată;  
72 – tensiunea superficială a apei distilate [dyn/cm].

Prin reprezentarea grafică a valorilor tensiunii superficiale pentru diferite concentrații ale probei analizate, cu logaritmul concentrației, s-a determinat valoarea CMC-ului ca fiind valoarea de pe abscisa sistemului de coordonate, corespunzătoare punctului de inflexiune a curbei.

*Determinarea concentrației critice micelare* a sărurilor acidului abietic, prin măsurători conductometrice, a avut la bază lucrările lui Huang, Nakamura, și Hong Kang [219, 220] și proprii [221].

#### A. Aparatură și materiale:

- conductometru tip TOA Electronics CM-40 prevăzut cu o celulă de conductanță CDC64 1T cu electrozi de platină;
- balanță tehnică electronică tip Kerr-200;
- baloane cotate, 100 ml perfect uscate și curate, pipete de 5 ml;
- pahar Erlenmayer de 200 ml;
- baie de apă termostată;
- soluții standard de clorură de potasiu, 0,1N, 0,01N.

#### B. Modul de lucru:

##### a) Prepararea soluțiilor de analizat

Soluțiile inițiale de analizat s-au obținut astfel încât concentrația acestora să fie de 30 mM în cazul abictaților alcalini și respectiv 20 mM în cazul abictaților de amoniu. Ținând cont de "fenomenul de îmbătrânire" caracteristic compușilor superficial activi, măsurătorile conductometrice s-au efectuat numai după scurgerea intervalului de repaus de 6 ore de la prepararea soluțiilor, necesar stabilirii echilibrului interfacial. De asemenea, aceleași soluții s-au folosit și pentru măsurătorile conductometrice la temperaturi de 30 respectiv 40°C.

##### b) Efectuarea măsurătorilor conductometrice

50 ml soluție de analizat s-au pipetat în celula de conductanță fixată în baia termostată. Constanta celulei a fost determinată folosind soluții standard de KCl 0,01N și 0,1N, găsindu-se o valoare de 0,7443 cm<sup>-1</sup>. În paralel, în baia de apă, s-a mai fost introdus un pahar Erlenmayer de 200 ml conținând apă bidistilată. Atât proba, cât și conținutul paharului Erlenmayer s-au încălzit sub agitare manuală, la 20°C. După stabilirea echilibrului termic atât în celulă cât și în flaconul cu apă bidistilată s-a citit pe scala aparatului valoarea *conductanței*. În soluția de analizat s-au pipetat apoi, 5 ml apă

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

bidistilată din vasul Erlenmayer. După amestecarea soluției pentru omogenizare, s-a citit pe scala conductometrului noua valoare a conductanței. Procedura de pipetare s-a repetat până când în celulă s-au adăugat 50 ml apă bidistilată. În acel moment conținutul celulei s-a înlocuit cu un volum de 50 ml din soluția aceluiași compus analizat dar preparată prin diluție de 1:2 a soluției inițiale. După ce echilibrul termic a fost atins în celulă s-a citit valoarea conductanței care trebuie să fie egală cu ultima valoare citită având în vedere că noua soluție are aceeași concentrație ca a precedentei. În continuare s-au pipetat din nou 5ml apă bidistilată în celulă. Procedura s-a repetat până când în celulă au fost pipetați alți 50 ml apă distilată. De asemenea, modul de lucru a fost reluat și la alte temperaturi de încălzire (30 respectiv 40°C). Pentru fiecare valoare a concentrației soluției de analizat, conductanța s-a citit de trei ori, luându-se mai departe la calculul conductivității specifice doar media citirilor. Reprezentând grafic valorile conductivității specifice funcție de concentrație și citind valoarea concentrației la punctul de intersecție al celor două curbe se determină valoarea CMC -ului pentru compusul analizat.

### *Determinarea capacității de umectare*

Puterea de umectare sau de udare reprezintă o proprietate foarte importantă cu aplicații practice a compușilor superficial activi în general, dar mai ales a celor din clasa detergenților. Se consideră că un detergent sau agent de spălare este cu atât mai eficient cu cât în prima fază a procesului de spălare are o putere de umectare mai mare sau cu alte cuvinte o valoare a timpului necesar udării unui material textil mai mică. Puterea de umectare a unui compus superficial activ este o mărime care depinde atât de structura fibrelor din care e confecționat materialul textil cât și de valorile concentrației critice micelare (CMC) a compusului tensioactiv utilizat. Astfel s-a constatat că în general, pe măsură ce concentrația soluției de compus tensioactiv tinde spre valoarea CMC-ului, timpul de umectare a materialului crește. De asemenea natura materialului textil influențează această valoare a timpului de umectare în sensul că unele materiale textile (stofa) se umectează mai greu dacă soluția de tensidă are un pH alcalin în timp ce alte materiale (mătasea, materialele sintetice) din contră preferă soluțiile alcaline valoarea CMC-ului influențând în acest caz mai puțin durata de umectare. Capacitatea de umectare a sărurilor acidului abietic s-a efectuat conform metodei standard STAS 6097-59 [217], prin cronometrarea timpului necesar scufundării unei rondele de material textil în soluția de analizat de o anumită concentrație, material care plutește inițial la suprafața soluției.

### *A. Aparatură și materiale:*

- rondele din diferite materiale textile (stofă din lână 80%, bumbac, mătase). Rondelele s-au călcat în prealabil și s-au ținut apoi, 24 de ore într-un exicator cu clorură de calciu;
- pahar Berzelius de 600 ml, gradat la 300 ml;
- pensetă din inox;
- cronometru.

### *B. Modul de lucru:*

#### *a) Prepararea soluțiilor de analizat*

Soluțiile inițiale de analizat s-au obținut astfel încât concentrația acestora să varieze între 0,5-20 mM în cazul abictaților de amoniu, și respectiv între 5- 30 mM în cazul abictaților alcalini.

#### *b) Efectuarea determinării*

În paharul Berzelius, s-au introdus 300 ml soluție de analizat, având grijă ca aceasta să nu producă spumă (umplerea paharului s-a făcut prin prelingerea pe pereții acestuia a soluției de analizat). Cu ajutorul pensetei s-au depus ușor deasupra stratului de lichid trei rondele confecționate din același material textil (exemplu stofă din lână 80%), după care s-a pornit cronometrul. În momentul în care fiecare rondelă a atins fundul paharului s-a notat timpul scurs. Protocolul de lucru s-a repetat de 10 ori pentru același tip de material precum și pentru aceeași concentrație a soluției compusului de analizat. La calculul timpilor de udare nu s-au luat în considerare timpii cu valori mai mici de 25 sec respectiv mai mari de 300 sec.

*Determinarea capacității de spumare* a sărurilor acidului abietic s-a efectuat conform metodei STAS 5774-58, [217] ea presupunând determinarea următoarelor mărimi:

- puterea de spumare;
- stabilitatea spumei.

Puterea de spumare s-a exprimat prin înălțimea spumei (mm) formată într-un cilindru gradat prin agitarea energică și scuturarea de câteva ori a acestuia.



## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Stabilitatea spumei s-a exprimat ca raportul dintre volumul spumei după un anumit timp determinat și volumul inițial al spumei formată în urma căderii libere de la o anumită înălțime, a unei soluții de sare de o anumită concentrație într-un cilindru.

*Modul de lucru:*

### *a) Prepararea soluțiilor de analizat*

Soluțiile inițiale de analizat s-au obținut astfel încât concentrația acestora să varieze între 0,5-20 mM în cazul abicitaților de amoniu, și respectiv între 5-30 mM în cazul abicitaților alcalini. Fiecare soluție de sare s-a încălzit la 25°C timp de 10 minute înainte de a se efectua determinările.

### *b) Determinarea puterii de spumare*

200 ml de soluție de sare s-au pipetat într-un cilindru de sticlă, cu dop rodat, de 1000 ml, perfect uscat și curat prevăzut cu trei repere și anume unul la 50 cm<sup>3</sup>, altul la 250 cm<sup>3</sup> și un al treilea la 900 cm<sup>3</sup>. Pipetarea soluției de examinat s-a efectuat astfel încât să nu se producă spumă. Cilindrul s-a închis apoi cu dopul rodat iar conținutul acestuia s-a agitat energic de 5-6 ori. După ce întreaga spumă formată s-a prelins de pe pereții cilindrului și a format un strat compact s-a citit înălțimea spumei.

### *c) Determinarea stabilității spumei*

50 ml soluție de analizat de aceeași concentrație ca cea folosită pentru determinarea puterii de spumare, s-au pipetat, într-un cilindru de 1000 ml prevăzut cu trei repere și anume unul la 50 cm<sup>3</sup>, altul la 250 cm<sup>3</sup> și un al treilea la 900 cm<sup>3</sup>. Pipetarea soluției de examinat s-a efectuat astfel încât să nu se producă spumă. De asemenea, 200 ml din aceeași soluție de analizat s-au trecut cantitativ într-o pâlnie de separare fixată deasupra cilindrului gradat. Fixarea pâlniei de separare s-a făcut în așa fel încât la deschiderea completă a robinetului acestuia, soluția să cadă vertical de-a lungul axei cilindrului, iar vârful pâlniei să pătrundă până la reperul de sus. Odată montajul realizat, s-a dat drumul soluției să curgă în cilindru iar după ce pâlnia a fost golită și cilindrul a fost agitat de 2-3 ori s-a citit volumul spumei formate după 5, 10, 15 minute. Experimentele au fost repetate trei ori pentru fiecare concentrație a soluției de analizat.

*Determinarea puterii de emulsionare* a sărurilor acidului abietic s-a efectuat conform metodei STAS 6262-60, [217]. Pentru a caracteriza puterea de emulsionare s-a determinat în principal efectul de stabilizare (ES), prin măsurarea timpului scurs din momentul formării emulsiei și până la separarea unui volum dat de fază apoasă din emulsia formată anterior la o anumită temperatură și la o anumită concentrație a soluțiilor apoase ale sărurilor de analizat.

*Modul de lucru:*

### *a) Prepararea soluțiilor de analizat*

Soluțiile inițiale de analizat s-au obținut astfel încât concentrația acestora să varieze între 1 și 25 mM. Fiecare soluție de sare s-a încălzit la 25°C timp de 10 minute alături de faza nepolară (benzenul), înainte de a se efectua determinările.

### *b) Efectuarea determinărilor*

10 ml soluție apoasă de sare analizată și 5 ml benzen s-au pipetat într-un cilindru gradat de 20 ml prevăzut cu dop rodat. Conținutul cilindrului s-a agitat apoi energic de câteva ori pentru formarea emulsiei de tip U/A. În continuare, s-a cronometrat timpul scurs de la agitarea cilindrului și până când s-au separat 9 ml de fază apoasă de soluție de analizat din emulsie.

## **4.5. Determinarea activității microbiologice a sărurilor acidului abietic**

### **4.5.1. Considerații teoretice**

Determinarea activității microbiologice a sărurilor acidului abietic s-a realizat prin metoda difuzimetrică iar pentru determinarea concentrației minime inhibitoare (CMI) s-a apelat la metoda diluțiilor ambele metode fiind recomandate de OMS. [222] Metoda difuzimetrică cunoscută în literatura de specialitate sub denumirea de Testul Kirby-Bauer constă în principiu în plasarea pe suprafața unui mediu potrivit (geloză-agar pentru bacterii respectiv, Sabouraud-glucoză agar pentru fungi) a unor rondele impregnate cu substanța de testat, mediul fiind în prealabil inoculat cu o suspensie bacteriană/fungică pură. După incubare, zonele de inhibiție sunt măsurate iar valorile diametrelor sunt traduse în următoarele categorii stabilite în standard: susceptibil când  $d > 17$  mm; intermediar pentru valori ale diametrelor cuprinse între 12 și 17 mm; rezistent când  $d < 12$  mm. [223, 224]. Procedura de lucru a presupus parcurgerea câtorva etape premergătoare, și anume:

1. Prepararea mediilor de cultură (mediul de geloză-agar Mueller-Hinton, respectiv Sabouraud-glucoză agar );

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

2. Prepararea culturilor proaspete de 24h în mediu lichid a speciilor patogene;
3. Prepararea soluțiilor stoc și a rondelilor din hârtie de filtru impregnate cu soluții ale substanțelor supuse analizei;
4. Aplicarea suspensiei de microorganisme și apoi a rondelilor pe suprafața mediului de cultură;
5. Incubarea plăcilor cu mediul de cultură inoculat timp de 18-24 ore la 28/37°C;
6. Măsurarea diametrelor zonelor de inhibiție a creșterii microorganismelor și interpretarea rezultatelor.

### 4.5.2. Materiale și aparatură

- cutii Petri: anse bacteriologice;
- pipete Pasteur, pipete, seringi și microsiringi;
- eprubete cu dop de vată;
- baloane cotate de 100 respectiv 1000 ml;
- flacoane de sticlă prevăzute cu dopuri metalice;
- cilindrii gradați de 1000 ml;
- autoclavă pentru sterilizare, termostat;
- balanță analitică electronică tip Mettler-Toledo, AG 410;
- balanță tehnică electronică tip Kerr-200.

Prepararea mediilor de cultură a necesitat următoarele materiale:

- extract de carne;
- peptonă;
- agar;
- glucoză / fructoză,
- clorură de sodiu, apă bidistilată sterilă, alcool etilic soluție 96%.

Testarea activității microbiologice a derivaților acidului abietic s-a efectuat atât pe bacterii cât și pe ciuperci în scopul determinării atât a activității bacteriostatice cât și fungistatice. Agenții patogeni aleși pentru testare sunt prezentați în tabelul 4.10. Flacoanele cu speciile respective s-au achiziționat în stare pură de la Institutul de Igienă Publică Timișoara.

**Tabelul 4.10. Specii de microorganisme testate pentru determinarea activității antimicrobiene**

Nr.crt.	Familia	Genul	Specia (tipul)
1.	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i> (G <sup>-</sup> )
2.	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S.choleraesuis</i> (G <sup>-</sup> )
3.	<i>Micrococaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S.aureus</i> (G <sup>+</sup> )
4.	Ciuperci de înmugurire	<i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>

### 4.5.3. Protocolul de lucru

#### 4.5.3.1. Prepararea mediilor de cultură

##### A. Prepararea bulionului nutritiv [225,226].

Reactivii chimici:

- extract de carne (Merck);
- peptonă;
- clorură de sodiu;
- apă distilată sterilă.

Modul de lucru:

S-au cântărit 10 g de extract de carne cu precizie de 0,01 g, și s-a adus cantitativ cu apă distilată sterilă într-un balon cotate de 1000 ml care s-au dizolvat în 1000 ml. La soluția obținută s-au adăugat apoi 10 g peptonă și 5 g clorură de sodiu amestecul fiind încălzit pe baie de apă până la dizolvarea substanțelor solide (aprox.75-85°C). pH-ul soluției a fost ajustat la valori de 7.6-7.8 cu soluție de hidroxid de sodiu 10%. Amestecul lichid s-a fiert apoi la 100°C timp de 1-2 min, s-a filtrat pe hârtie de

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

filtru și s-a introdus într-un flacon de sticlă steril prevăzut cu dop etanș. Din bulionul nutritiv astfel preparat s-au repartizat volume aproximativ egale (5ml) în 6 eprubete, care apoi s-au închis cu dopuri de vată. Eprubetele s-au sterilizat în autoclavă timp de 40 min la 115°C.

Bulionul nutritiv repartizat în eprubete, va constitui mediul de cultură pentru culturile proaspete de bacterii de 24h. Restul cantității de bulion nutritiv s-a folosit pentru prepararea mediului de geloză (agar nutritiv).

### *B. Prepararea mediului geloză (agar nutritiv)*

Geloză este un mediu solid preparat prin adăugarea la bulionul nutritiv a unei cantități determinate de agar (obținut dintr-o algă marină) [225]. Agarul are proprietatea de a se dizolva în apă la 80-90°C și de a se solidifica la temperaturi sub 45°C, cu mențiunea că acesta este lipsit de substanțe nutritive pentru microorganisme [223]. Tehnica de preparare a constă în adăugarea la 1000 ml bulion nutritiv, a 20g agar fin mărunțit. Amestecul s-a adus într-un vas termorezistent (sticlă Pyrex) și încălzit la 90°C direct pe becul de gaz. Soluția fierbinte obținută s-a filtrat prin vată și s-a repartizat în flacoane de sticlă prevăzute cu dopuri metalice etanșe. Flacoanele cu mediul nutritiv s-au sterilizat timp de 30 min la 120°C în autoclavă.

### *C. Prepararea mediului Sabouraud-glucoză agar*

Mediul Sabouraud este un mediu clasic pentru culturile de ciuperci și fungi.

*Reactivii chimici:*

- glucoză/fructoză;
- peptonă;
- agar oxid nr.3;
- apă distilată sterilă.

*Modul de lucru*

S-au cântărit cu precizie de 0,01 g, 20 g agar (oxid nr.3) care s-au introdus apoi într-un flacon de sticlă termorezistentă și s-au dizolvat în 1000 ml apă distilată prin încălzire la 90°C, amestecând ușor cu o baghetă de sticlă. La soluția obținută s-a adăugat o cantitate de 40 g glucoză sub continuă agitare până la dizolvare. După solubilizarea glucozei, s-au mai adăugat 10 g peptonă, amestecând ușor până la dizolvare. pH-ul soluției a fost ajustat la valoarea de 5.6 cu soluție acid clorhidric 5%. Mediul de cultură astfel obținut, s-a repartizat în flacoane de sticlă prevăzute cu dopuri metalice ce se închid etanș și s-a sterilizat în autoclavă la 115°C timp de 20 minute. Este recomandabil să nu se depășească temperatura de 120°C la sterilizare deoarece există riscul caramelizării peptonci.

#### **4.5.3.2. Prepararea soluțiilor stoc și a rondelilor de filtru impregnate cu substanța de testat**

Având în vedere datele din literatură [228], concentrațiile în substanță activă a soluțiilor stoc pentru derivații acidului abietic luați în studiu, au fost de 1024 mg/l. După etichetare, baloanele cu soluțiile stoc, s-au depozitat la temperatura camerei, la întuneric în acest caz nefiind necesară sterilizarea lor ca urmare a concentrației ridicate în substanță activă.

Din soluțiile stoc s-au preparat prin diluție succesivă soluțiile de testat. Astfel, în 5 eprubete sterile de 10 ml capacitate (etichetate cu cifre de la 1 la 5 în ordine crescătoare) s-au introdus cu ajutorul unei seringi sterile câte un ml apă bidistilată sterilă. În prima eprubetă s-a pipetat 1ml din soluția stoc, amestecul s-a agitat de câteva ori obținându-se o diluție de 1/2. Din această soluție s-a pipetat din nou 1ml și descărcat în eprubeta numărul 2, iar după câteva agitări s-a obținut soluția diluată la 1/4. Procedura s-a repetat în același mod până la eprubeta numărul 5, în această ultimă eprubetă obținându-se o diluție de 1/32, soluția având o concentrație în substanța de testat de 32 mg/l.

Cu ajutorul unei pensete sterile s-au umezit prin introducere în această ultimă soluție rondelile de hârtie de filtru. Rondelile au fost uscate prin agitate în aer și apoi depozitate într-un flacon de sticlă prevăzut cu dop perfect curat și sterilizat în prealabil. Fiecare flacon a fost etichetat cu numele substanței de cercetat și concentrația acesteia.

#### **4.5.3.3. Prepararea culturilor tinere de 24h**

Pentru obținerea de rezultate bune, tulpina bacteriană trebuie să fie izolată sub formă de cultură pură. În acest scop, din fiecare flacon care conține cultura 'preinocul' de specie bacteriană/fungi s-a prelevat cu ansa bacteriologică sterilizată în flacăra 1 minut, materialul patologic de însămânțat.

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

După prelevare, deschiderea flaconului s-a flambat în flacără pentru sterilizare, și s-a închis cu dopul metalic. În continuare, s-a luat în mâna stângă una din eprubetele umplute cu mediu de bulion nutritiv pregătite la punctul 1. s-a scos dopul de vată cu degetele inelar și mic de la mâna dreaptă, s-a flambat de câteva ori deschiderea eprubetei, s-a introdus ansa bacteriologică cu materialul patologic și s-a spălat în mediu. Deschiderea eprubetei s-a flambat din nou în flacără pentru sterilizare, s-a închis cu dopul de vată, iar ansa bacteriologică s-a sterilizat prin înșoșire în flacără.

Operațiile descrise mai sus se repetă pentru fiecare tip de bacterie/fung luat în studiu. Eprubetele cu mediile astfel însămnțate și etichetate, pentru identificarea ulterioară s-au introdus în termostat pentru incubare la temperatura de 37°C (cele care conțin suspensiile de bacterii) și respectiv 28-30°C (cele care conțin speciile de fungi), timp de 24h. După expirarea timpului de incubare, s-a verificat dacă s-au dezvoltat germeni patogeni prin observarea apariției unei turburci în eprubetele respective. Dacă rezultatul observației este pozitiv se poate trece la însămnțarea inoculului pe medii de cultură specifică.

### **4.5.3.4. Înșământarea inoculului și aplicarea rondellele pe mediul de cultură specific**

Din flacoanele ce conțin mediile de cultură B și C preparate conform **paragrafului 4.5.3.1.** lichefiate prin sterilizare și răcite la 55-60°C s-au luat circa 10 ml cu ajutorul unei pipete și depuși în cutii Petri de diametru 100 mm sterilizate în prealabil prin autoclavare. Cutiile au fost înclinate de câteva ori în stânga și în dreapta pentru dispersarea omogenă a mediului pe toată suprafața cutiei, avându-se grijă de asemenea ca mediul să nu prezinte bule de aer. Din suspensiile reprezentând cultura de microorganisme s-a prelevat cu ajutorul seringii 1 ml de cultură care a fost prelevată pe suprafața mediului de cultură specific fiecărei specii, înclinându-se cutia Petri de câteva ori (operația de inoculare s-a repetat de trei ori pentru fiecare specie de microb). După inoculare, cutiile au fost lăsate deschise la aer timp de 10 minute în vederea facilitării absorbției culturii microbice în întreg mediul. Procedura s-a repetat pentru fiecare specie bacteriană. Cu ajutorul unei pensete au fost aplicate pe suprafața mediului la o distanță de 10 mm de peretele cutiei câte 4 -5 rondelle la distanță aproximativ egală una față de alta.

### **4.5.3.5. Incubarea cutiilor și citirea rezultatelor obținute**

Plăcile Petri s-au introdus în termostat la temperatura de 37°C (28-30°C în cazul culturilor de fungi) pentru incubare timp de 18-24 ore, după care au fost scoase pentru examinare. În situațiile în care pe suprafața mediului de cultură, în jurul rondelilor de filtru, au apărut zone de inhibiție a dezvoltării bacteriilor, s-au citit diametrele acestor zone cu ajutorul unei rigle gradate în două direcții perpendiculare făcându-se o medie aritmetică a valorii diametrelor. În situația în care după 24 de ore nu s-au scizat zone de inhibiție ca urmare a dezvoltării microorganismelor patogene, plăcile au fost lăsate alte 24 ore la termostatare după care s-au examinat din nou.

Valorile obținute au fost înregistrate și supuse comparării cu standardele. Substanțele testate care au intrat în categoriile *susceptibil* respectiv *intermediar* au fost supuse în continuare testării pentru determinarea CMI-ului prin metoda diluțiilor în agar [229] respectiv a concentrației minime bactericide (CMB) [228].

### **4.5.4. Protocolul de lucru prin metoda diluțiilor în agar**

Metoda diluțiilor în agar reprezintă la ora actuală metoda de referință pentru determinarea concentrației minime inhibitoare a unor noi agenți cu proprietăți bacteriostatice dar și pentru a confirma echivocitatea rezultatelor obținute prin metoda difuzimetrică. Prin aplicarea acestei metode, microorganismele sunt testate asupra abilității lor de a se reproduce vizibil, cu ochiul liber, pe o serie de plăci cu medii de cultură specifice care conțin și o cantitate determinată de soluție de substanță antimicrobiană diluată într-un anumit raport [230, 231].

Procedura de lucru presupune parcurgerea câtorva etape premergătoare, și anume:

1. Prepararea soluțiilor de lucru ale substanțelor de testat prin diluții succesive pornind de la soluția stoc ;

#### CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

2. Prepararea plăcilor cu mediilor de cultură (mediul de gleză-agar Mueller-Hinton, respectiv Sabouraud-glucoză agar);
3. Prepararea inoculului de agent microbian;
4. Inocularea plăcilor;
5. Incubarea plăcilor cu mediul de cultură inoculat timp de 18-24 ore la 28/37°C;
6. Citirea și interpretarea rezultatelor.

Prepararea soluțiilor de lucru a presupus obținerea unor serii de diluții în mediile de cultură pornind de la soluțiile stoc preparate conform **paragrafului 4.5.3.2**. Pentru fiecare substanță testată s-au folosit aproximativ 10 eprubete. Concentrația soluțiilor de lucru a variat de la valoarea inițială (1024 mg/l) până la 4mg/l (tabelul 4.11).

**Tabelul 4.11. Prepararea diluțiilor substanțelor de testat prin metoda diluțiilor în agar**

Nr. crt.	Concentrația substanței de testat în soluția stoc [mg/l]	Volumul de soluție stoc [ml]	Volumul de apă bidistilată [ml]	Concentrația substanței obținută [mg/l]	Concentrația finală obținută după adaos de 19 ml mediu
1.	1024	1	0	1024	5,12
2.	1024	1	1	512	25,6
3.	1024	1	3	256	12,8
4.	256	1	1	128	6,4
5.	256	1	3	64	3,2
6.	256	1	7	32	1,6
7.	32	1	1	16	0,8
8.	32	1	3	8	0,4
9.	32	1	7	4	0,2
10.	4	1	1	2	0,1

Mediile de cultură preparate conform **paragrafului 4.5.3.1.**, sterilizate și răcite la 55-60°C, s-au repartizat în cantitățile necesare (19 ml) în eprubetele ce conțin seriile de diluții ale soluțiilor de lucru conform **tabelului 4.11**, la care s-au mai adăugat încă câte trei eprubete de control în care s-au repartizat doar volumele corespunzătoare de apă bidistilată și mediu de cultură. Conținutul eprubetelor a fost agitat pentru omogenizare și apoi repartizat în strat cât mai uniform pe suprafața plăcilor Petri sterile. Plăcile s-au lăsat la temperatura camerei pentru uscare. Inoculul a provenit prin diluarea la 1:1000 cu soluție salină 0,85% concentrație a suspensiei reprezentând cultura de 24 ore a germenului de testat. Este recomandabil ca inocularea plăcilor să fie făcută într-un interval de 30 de minute pentru a evita modificările care pot apărea în densitatea suspensiei de inocul. Inocularea s-a făcut cu ajutorul unei micropipete calibrate ce eliberează 0,001-0,002 ml suspensie bacteriană, sub forma unor spoturi de 5-8 mm, la început inoculându-se plăcile ce conțin soluțiile cele mai diluate de substanțe de analizat și apoi în continuare în ordinea crescândă a concentrației pe cele mai concentrate. De asemenea s-a făcut și inocularea plăcilor de control care nu conțin substanță de cercetat.

Incubarea plăcilor Petri s-a făcut la 37°C pentru germenii bacterieni respectiv 28-30°C pentru fungi, timp de 16-20 ore. După inoculare plăcile s-au analizat notându-se intensitatea culturilor, numărul de colonii sau absența culturilor, CMI- ul reprezentând diluția (concentrația) cea mai joasă a unei substanțe analizate care inhibă creșterea percepută cu ochiul liber a unui microorganism. Din plăcile care au prezentat inhibarea creșterii microorganismelor au fost prelevate cu ansa de pe suprafața lor, culturi care au fost apoi inoculate în flacoane sterile, etichetate, parțial umplute doar cu gleză (Sabouraud) fără substanță de analizat, și care apoi au fost incubate la aceleași temperaturi menționate mai sus. După incubare s-au notat acele flacoane în care nu a fost sesizată o tulburare sau acelea în care tulburarea a fost nesemnificativă considerându-se că la aceste diluții substanța de analizat prezintă și un caracter bactericid.

Toate analizele au fost făcute în trei repetiții pentru fiecare substanță și respectiv pentru fiecare microorganism.

**4.6. Analiza biodegradabilității primare a sărurilor acidului abietic****4.6.1. Scurte considerații**

Folosirea substanțelor tensioactive în rețetele de fabricație a detergenților în țările UE, este legiferată de un număr de directive (73/404/EEC(EEC1973a); 73/405/EEC (EC 1973b); 82/242/EEC (EEC1982a)) care împreună formează normele standardizate referitoare la testele pentru biodegradarea primară. Pe baza acestor norme se impune condiția că numai acele substanțe tensioactive care pot fi degradate pe cale biologică în proporție de peste 60% în timp de 19 zile și respectiv 80% în maxim 28 zile pot fi folosite ca ingrediente la fabricarea detergenților și a produselor de curățire a suprafețelor casnice în Comunitatea Economică Europeană. Ca metodă standard pentru determinarea biodegradării compușilor tensioactivi normele europene dar și cele americane recomandă "*metoda OECD 301 D*" [232], având ca principiu măsurarea cantității de CO<sub>2</sub> produsă de către activitatea microorganismelor aerobice dintr-un mediu nutritiv anorganic în care a fost introdusă și substanța de analizat. Această metodă este recomandată în special acelor substanțe care sunt puțin solubile în apă precum și celor care posedă capacități de adsorbție, cum sunt compușii superficial activi ionici [233]. În plus, dacă se folosesc anumite culturi de bacterii în special din genul *Pseudomonas*, metoda poate fi aplicată și în cazul analizei biodegradabilității acizilor rezinici [234, 235].

Deși metoda este uzitată pe scară largă în laboratoarele de specialitate din toată lumea trebuie menționate câteva din dezavantajele ei care pot afecta acuratețea rezultatelor în cazul unor compuși și anume:

- eliberarea CO<sub>2</sub> organic poate fi afectată de o serie de procese fizico-chimice (adsorbție, volatilizare, precipitare, hidroliză), de activitatea florei microbiene anaerobe precum și de o serie de alte reacții non-biologice care consumă oxigen [236, 237];
- existența unor situații în care carbonul anorganic a fost acumulat și el în mediul de analiză pe parcursul derulării analizelor în cantități destul de mari care pot duce astfel la rezultate eronate [238];
- modul de captare și de măsurare a cantității de CO<sub>2</sub> ceea ce a determinat existența la ora actuală a mai multor variante (captarea în soluții alcaline, trecerea pe adsorbanți cu ajutorul unui curent de aer liber de CO<sub>2</sub> introdus prin vasul de reacție, etc.) ale metodei [239];

Metoda este greoaie, consumatoare de timp și predispusă la erori experimentale.

Toate aceste dezavantaje precum și lipsa unui analizor de carbon organic ne-au îndreptățit să propunem o metodă spectrofotometrică pentru analiza biodegradării derivaților acidului abietic sintetizați cu specificarea că unele etape de lucru sunt similare metodei OECD aplicată pentru determinarea biodegradării compușilor din colofoniu [240, 241]. La baza acestei metode propuse stă metoda standardizată de determinare a concentrației detergenților anionici din apele naturale așa numita "*metodă cu albastru de metilen*" [242, 243]. Această metodă se bazează pe proprietatea substanțelor tensioactive anionice de a forma în apă cu o soluție de albastru de metilen, în anumite condiții de pH un complex colorat care poate fi extras în cloroform. Faza cloroformică este apoi analizată prin măsurarea absorbției la 650 nm.

Unul din dezavantajele acestei metode îl constituie faptul că albastru de metilen (Basic Blue 9, CI 52015) nefiind stabil în soluție foarte mult timp, soluțiile de colorant trebuie să fie proaspăt preparate și de asemenea curbele de etalonare trebuie refăcute. De asemenea s-a constatat experimental că sărurile acidului abietic fie că sunt ale metalelor alcaline fie cele de amoniu, deși se comportă asemănător substanțelor tensioactive anionice nu leagă suficient albastru de metilen astfel că o parte din acestea rămân în stratul apos și nu trec în stratul cloroformic ceea ce va induce apariția de rezultate eronate.

Încercările preliminare de a găsi un colorant care să fie stabil mult timp în soluție și totodată capabil de a forma un complex colorat suficient de puternic cu abietati pentru a trece complet într-o fază organică ne-au condus la alegerea cristal violetului (Methyl Violet 10B, CI 42555), care a format cu abietati respectivi un complex de culoare albastru-violet ( $\lambda = 605$  nm) în mediu de tampon sulfat (pH = 2,3- 3,5).

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### 4.6.2. Analiza biodegradabilității sărurilor acidului abietic

Analiza biodegradării abietaților a implicat următoarele etape:

- pregătirea soluțiilor de analizat prin dizolvarea substanțelor de testat într-un mediu nutritiv anorganic astfel încât concentrația tensidelor să nu depășească  $5 \pm 0,5$  mg/l;
- inocularea soluțiilor de analizat cu o populație de microorganisme aerobe provenită din efluentul final (neclorinat) de la stațiile de tratare a apelor orașenești (inocul);
- determinarea variației concentrației de tensidă în timp prin prelevarea unor volume determinate de soluție din mediu și analiza lor prin metoda cu cristal violet.

Metoda spectrofotometrică a fost verificată pentru acuratețe prin testarea simultan cu abietații, a două substanțe tensioactive anionice standard (benzen dodecil sulfonatul de sodiu, respectiv dodecilsulfatul de sodiu).

#### 4.6.2.1. Reactivii folosiți

1. Pentru analiza biodegradării:

- apă bidistilată sterilă, lipsită de ioni de cupru;
- inoculul obținut din efluentul secundar neclorinat provenit de la stația de epurare a apelor Timișoara (2000 ml) care în prealabil a fost filtrat pe o hârtie de filtru Wattman, primii 200 ml aruncându-se la canal. Filtratul a fost supus agitării magnetice până la folosirea lui pentru aerare, fiind preferabilă utilizarea lui chiar în ziua în care a fost colectat. Cantitatea de inocul adăugată în soluțiile de testare a variat între 1-1,5 ml/l soluție;
- soluții stoc de abietați preparate prin dizolvarea într-un balon cotat de 1000 ml a cantității corespunzătoare de sare pentru 1 g substanță activă, și aducerea la semn cu apă bidistilată;
- mediu nutritiv anorganic preparat prin adăugarea într-un balon cotat de 1000ml curat și perfect uscat, umplut cu aproximativ 900 ml apă bidistilată sterilă a câte 1 ml din fiecare din soluțiile de mai jos (a-d):

a) - fosfat monopotasic	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	8,5 g
- fosfat dipotasic	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	21,75 g
- fosfat disodic dihidratat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	33,4 g
- clorură de amoniu	$\text{NH}_4\text{Cl}$	1,7 g
- apă bidistilată	$\text{H}_2\text{O}$	Până la 1000 ml
b) - sulfat de magneziu	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22,5 g
- apă bidistilată	$\text{H}_2\text{O}$	Până la 1000 ml
c) - clorură de calciu anh.	$\text{CaCl}_2$	27,5 g
- apă bidistilată	$\text{H}_2\text{O}$	Până la 1000 ml
d) - clorură ferică	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25 g
- apă bidistilată	$\text{H}_2\text{O}$	Până la 1000 ml

2. Pentru analiza spectrofotometrică:

- benzen (p.a. > 99%);
- soluție tampon sulfat preparată prin diluarea într-un balon cotat de 1000 ml a 6,8 ml acid sulfuric de 97% în aproximativ 800 ml apă bidistilată, apoi adăugarea a 50 g fosfat disodic monohidrat și aducerea la semn, după dizolvarea sării, cu apă bidistilată;
- soluție stoc de cristal violet preparată prin dizolvarea într-un balon cotat de 100 ml a 100 mg cristal violet în 50 ml acid acetic glacial, urmată de aducerea la semn cu apă bidistilată. Soluția astfel preparată s-a dovedit a fi stabilă circa o lună;
- soluții standard de benzen dodecilsulfonat de sodiu (DBSS),  $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NaSO}_3$  CAS [25155-30-0], 85% s.a., respectiv de dodecilsulfat de sodium (DSS),  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaSO}_4$ , CAS [151-21-3], 99% s.a., de concentrații 1 g/l din care vor fi obținute prin diluții corespunzătoare soluțiile de testare de concentrații 5 mg/l.

## CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### 4.6.2.2. Materiale și aparatură

- flacoane Erlenmayer de 2500 ml sterilizate la 140°C timp de 20 min;
- pipete sterile de 1; 5; 10 ml;
- cilindrii gradați de 500 1000 ml;
- baloane cotate sterile de 50; 100; 1000 ml;
- pânii de separare de diferite capacități;
- shaker bath termostatat pentru 25 ±1°C;
- balanță analitică electronică;
- spectrofotometru de UV-VIS tip JASCO 530

### 4.6.3. Protocolul de lucru

#### 4. 6. 3. 1. Pregătirea probelor în vederea analizei

##### *Prepararea soluțiilor de testare*

Din soluțiile stoc de abietăți preparate conform pct. 4.6.2.1 s-au măsurat cu pipeta câte 10 ml care au fost apoi introduși în vase tip Erlenmayer speciale unde s-au mai adăugat câte 2 ml inocul și 1988 ml de mediu nutritiv anorganic preparat conform pct. 4.6.2.1. Cantitățile de soluții au fost astfel calculate încât să se obțină în final concentrații de 5±0,5 mg/l substanță activă de abietat în soluțiile de testare. Folosind aceeași procedură s-au preparat și soluțiile de dodecilsulfonat respectiv de dodecilsulfat de sodiu, precum și soluțiile martor pentru ficcare soluție de testare (soluții obținute fără adaos de inocul). Deoarece toate soluțiile au capacitate de spumare s-a avut grijă ca eventuala spumă formată să se disperseze înainte de a obține volumul de 2000 ml.

##### *Termostatarea soluțiilor de testare*

Din soluțiile preparate anterior (standard și de abietăți) au fost luate cu cilindrul gradat volume de câte 300 ml și turnate cu atenție prin prelingerea soluției pe peretele vasului pentru evitarea apariției de spumă, în vasc conic curate după care acestea s-au închis cu dopuri din vată în așa fel încât să nu fie împiedicat schimbul de gaze cu mediul înconjurător. Probele s-au introdus apoi în shaker unde s-au menținut la temperatura constantă de 25 ±1°C pe toată perioada testului (28 zile).

##### *Prelevarea probelor*

La intervale fixate de timp (0; 4; 8; 12; 16; 19; 24 de zile) s-au luat cu ajutorul unor pipete sterile și în condiții aseptice câte 10 ml de soluție pentru primele două determinări, apoi câte 20 ml pentru ca în ultimele zile să se ia câte 100 ml soluție. Pentru a preveni orice infecție a probelor s-a avut grijă ca analiza lor să fie efectuată în cel mult 3 ore, în caz contrar probele au fost conservate prin introducerea de soluție de clorură mercurică 50 mg/l și menținere la 4°C în frigider.

Pentru ficcare tip de sarcă a acidului abietic testată experimentele s-au făcut în trei replicări atât pentru soluțiile inoculate cât și pentru cele martor.

#### 4.6.3.2. Determinarea spectrofotometrică a gradului de biodegradabilitate a sărurilor acidului abietic

Pentru început s-au reprezentat grafic curbele de etalonare atât pentru substanțele standard cât și pentru substanțele de testat. Din soluțiile stoc standard preparate conform pct. 4.6.2.1 s-au obținut soluții apoase diluate la balon cotate de 50 ml având următoarele concentrații 0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 4,5; 5,0 mg/l. Din soluțiile diluate s-au luat câte 40 ml probă și s-au introdus în pânii de separare de 100 ml. În continuare s-au pipetat câte 1 ml tampon sulfat, 2 ml soluție de colorant cristal violet și 10 ml benzen. Conținutul pâlnici de separare s-a agitat ușor, timp de 1 minut după care s-a lăsat în repaus 20 de minute pentru separarea straturilor. La expirarea timpului s-a scos dopul pâlniei și stratul apos inferior s-a aruncat la canal, iar stratul superior benzenic s-a transvazat într-un flacon de sticlă steril prevăzut cu dop. Citirea absorbanței s-a făcut la  $\lambda=605$  nm, față de o probă oarbă de benzen. După ficcare determinare cuva aparatului s-a clătit cu acetonă iar pentru aceeași concentrație a soluției, s-au făcut trei determinări.

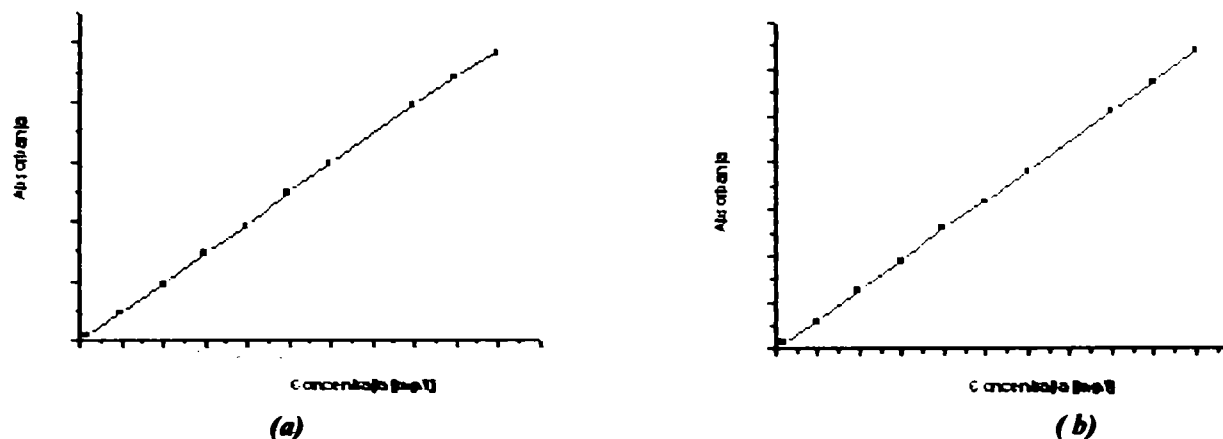
Valorile medii ale absorbanței (tabloul 4.12) s-au reprezentat grafic în funcție de concentrația soluțiilor stoc pentru obținerea curbelor de etalonare (figurile 4.5-4.8).



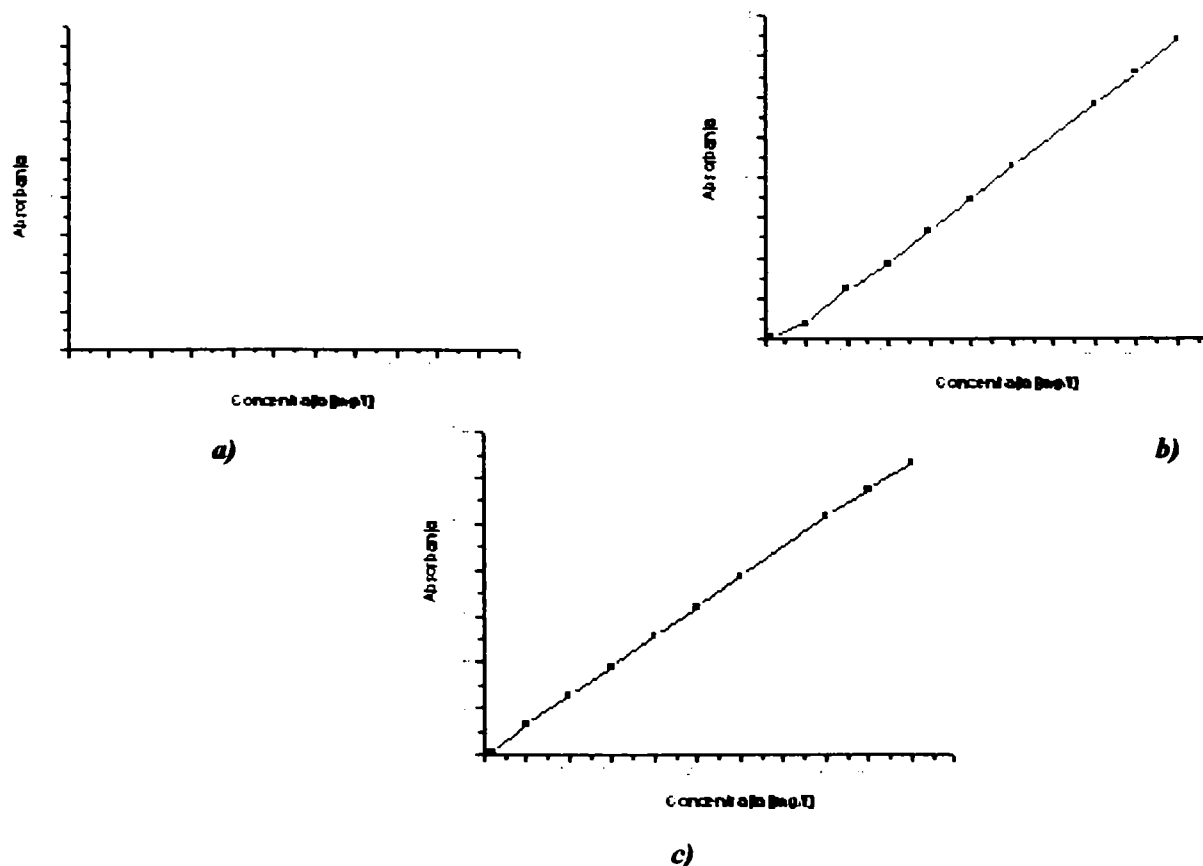
CAPITOLUL 4. CONTRIBUȚII ORIGINALE

**Tabelul 4.12. Valorile absorbanțelor soluțiilor de săruri corespunzătoare construirii curbelor etalon**

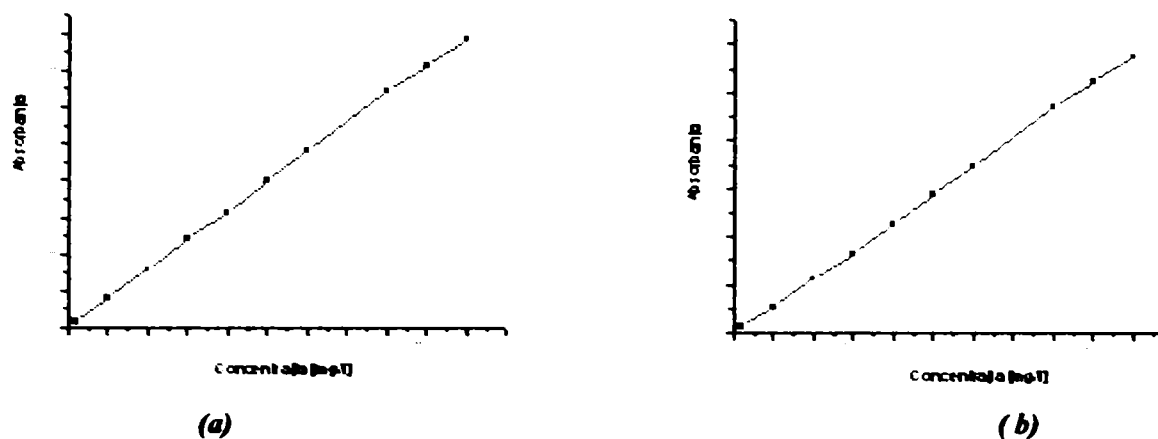
Conc. soluțiilor [mg/l]	A-Na Absorb [ $\lambda=605$ nm]	A-K Absorb [ $\lambda=605$ nm]	MEAA Absorb [ $\lambda=605$ nm]	DEAA Absorb [ $\lambda=605$ nm]	TEAA Absorb [ $\lambda=605$ nm]	IBAA Absorb [ $\lambda=605$ nm]	DIBAA Absorb [ $\lambda=605$ nm]	DSS Absorb [ $\lambda=605$ nm]	DBSS Absorb [ $\lambda=605$ nm]
0,1	0,004	0,013	0,017	0,003	0,005	0,033	0,026	0,027	0,054
0,5	0,023	0,058	0,060	0,031	0,131	0,160	0,100	0,089	0,160
1,0	0,046	0,125	0,155	0,122	0,253	0,315	0,223	0,162	0,315
1,5	0,073	0,187	0,23	0,185	0,382	0,480	0,328	0,240	0,465
2,0	0,095	0,259	0,304	0,265	0,516	0,626	0,448	0,313	0,627
2,5	0,123	0,315	0,379	0,345	0,638	0,800	0,575	0,395	0,765
3,0	0,148	0,382	0,46	0,425	0,774	0,965	0,690	0,472	0,910
4,0	0,197	0,511	0,608	0,579	1,031	1,285	0,942	0,628	1,210
4,5	0,221	0,573	0,688	0,658	1,148	1,430	1,049	0,701	1,372
5,0	0,241	0,639	0,763	0,738	1,265	1,564	1,149	0,768	1,532



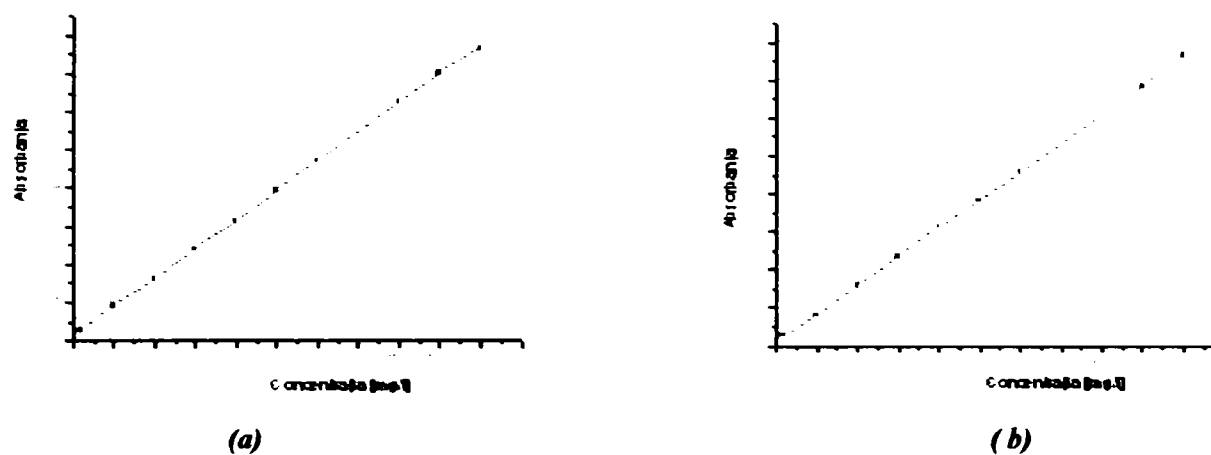
**Fig.4.5: Curbele de etalonare corespunzătoare soluțiilor de abietăți de sodiu (a) respectiv potasiu (b)**



**Fig.4.6: Curbele de etalonare corespunzătoare soluțiilor de abietăți de mono- (a), di- (b), respectiv trietanolamoniu (c)**



**Fig.4.7: Curbele de etalonare corespunzătoare soluțiilor de abietate de izo- (a), respectiv diisobutilamoniu (b)**



**Fig.4.8: Curbele de etalonare corespunzătoare soluțiilor de DSS (a), respectiv DBSS (b)**

Procedura de lucru a fost aceeași și pentru soluțiile inoculate (standarde și de abietate) cât și pentru soluțiile martor. Din curbele de etalonare corespunzătoare fiecărei substanțe, funcție de valoarea absorbantei citită pe curbă, se determină concentrațiile probelor pentru fiecare perioadă de timp iar din relația (6) se determină procentul de biodegradare pentru fiecare interval de timp.

$$B_t = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \cdot 100 \quad [\%] \quad (6)$$

unde :  $C_0$  - concentrația inițială a soluției inoculate a substanței de testat, mg/l;

$C_t$  - concentrația soluției inoculate a substanței de testat la momentul de timp  $t$ , mg/l;

$B_t$  - procentul de biodegradare al substanței de testat în intervalul de timp  $t$ .

Pentru ca rezultatele obținute prin această metodă să fie validate trebuie ca procentul de biodegradare pentru standarde să aibă valori mai mari de 80% în primele 14 zile de testare, în caz contrar măsurătorile trebuie reluate cu o altă cantitate de inocul adăugată.

## 5. REZULTATE. DISCUȚII

În acest capitol se prezintă discuțiile și unele concluzii preliminare asupra rezultatelor și datelor obținute în urma cercetărilor practice pe care le-am prezentat pe larg în capitolul precedent. Capitolul este structurat în următoarele 7 paragrafe care prezintă: influența diversilor factori asupra randamentelor de obținere a acidului abietic și a derivaților săi și corelațiile ce trebuie să se stabilească între aceștia pentru a obține produsele respective cât mai pure și cu randamente optime (primele trei paragrafe); următorul paragraf este alocat elucidării structurii chimice a compușilor sintetizați prin tehnici cromatografice (HPLC) și de spectroscopie IR, DTMS, <sup>1</sup>H RMN; iar ultimele trei tratează caracterizarea sărurilor acidului abietic cu metale alcaline și de amoniu pe baza proprietăților tensioactive, evidențierea unor proprietăți microbiologice la unii din derivații acidului abietic, precum și studiul biodegradabilității primare a sărurilor printr-o metodă spectrofotometrică

### 5.1 Influența unor parametri ai procesului de izolare a acidului abietic din colofoniu asupra randamentului de separare și purității sale

Din datele de literatură și studiile experimentale preliminare s-a ajuns la concluzia că izolarea acidului abietic din colofoniu este dependentă de mai mulți factori care influențează randamentul de obținere cât și puritatea produsului. Cei mai importanți parametri ai procesului sunt:

#### 5.1.1. Durata de refluxare a amestecului colofoniu:solvent de extracție

Pentru a pune în evidență influența duratei de refluxare asupra procesului de izolare a acidului s-a lucrat în paralel cu șapte probe menținând constante temperatura de reflux (115°C), solventul de extracție (acid acetic 98%) și cantitățile de materie primă și solvent luate în lucru (35 g colofoniu și 40 ml acid acetic 98%). Calculul randamentului s-a făcut raportând cantitatea de cristale brute obținute în urma răcirii și depozitării amestecului de extracție până la atingerea echilibrului de cristalizare, la cantitatea de acid abietic existentă în colofoniu (14,96 g acid abietic, corespunzător procentului mediu de 42%, vezi tabelul 4.5). Timpul de refluxare a variat între 60 și 420 minute.

Pentru a putea cuantifica influența duratei de refluxare asupra purității produsului, în toate cazurile s-au efectuat două recristalizări din acid acetic glacial iar spălarea cristalelor s-a făcut cu soluție apoasă de etanol de concentrație 50%(v/v).

Puritatea probelor s-a determinat ca *puritate optică* prin interpolarea valorilor experimentale ale *rotăției specifice* ale acidului abietic levogir între cele două valori ale acestei mărimi fizice furnizate de literatura de specialitate,  $[\alpha]_D^{20} = -65 \pm 10$ , c= 1% în etanol, corespunzătoare unei purități de 75-80% (Fluka Chemika) respectiv  $[\alpha]_D^{20} = -106 \pm 5$ , c= 1% în etanol corespunzătoare unei purități de 94-98% [19].

Rezultatele studiului sunt prezentate în tabele 5.1, 5.2. și grafic în figura 5.1.

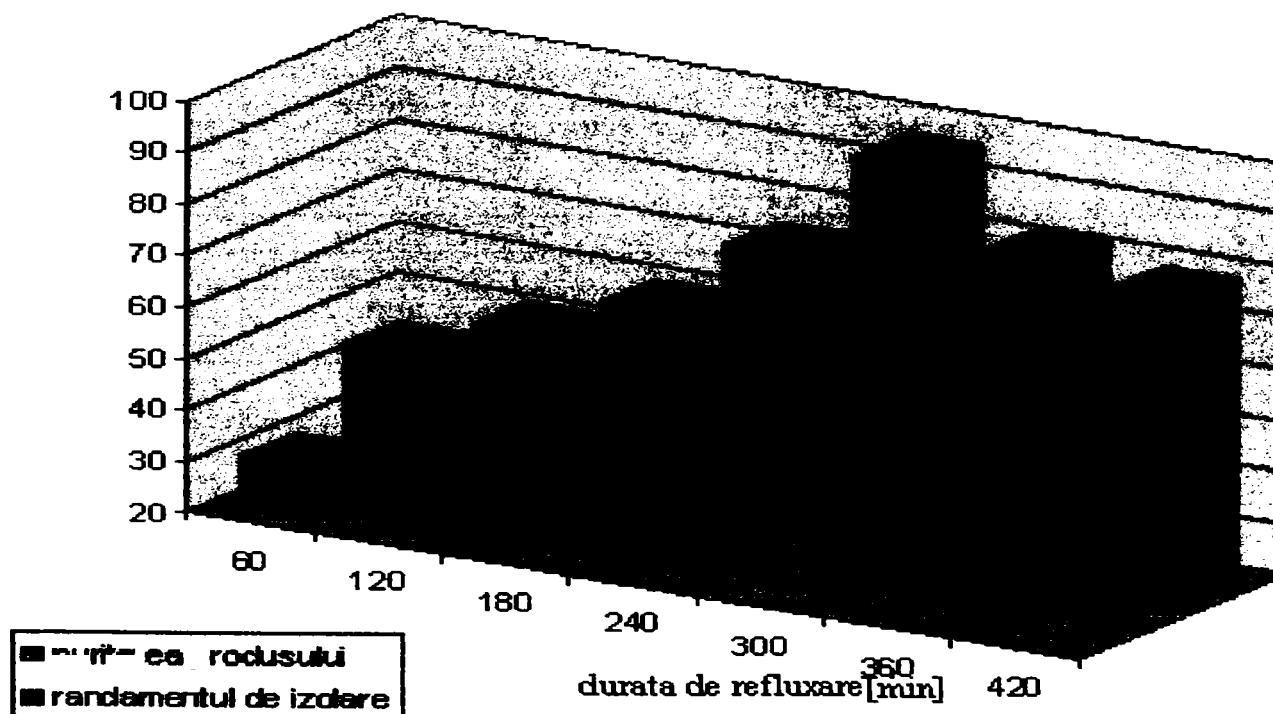
**Tabelul 5.1. Influența duratei de refluxare asupra randamentului de separare a acidului abietic din colofoniu**

Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reflux [min]	Masa de cristale brute obținute, [g]	Randament. de extracție acid abietic, [%]
1.	P <sub>1</sub>	60	6,5	43
2.	P <sub>2</sub>	120	7,7	51
3.	P <sub>3</sub>	180	8,9	60
4.	P <sub>4</sub>	240	11,2	75
5.	P <sub>5</sub>	300	14,4	96
6.	P <sub>6</sub>	360	12,3	82
7.	P <sub>7</sub>	420	11,7	78

**Tabelul 5.2. Influența duratei de refluxare asupra purității acidului abietic separat din colofoniu**

Nr. crt	Nr. probă	Durata de reflux, [min]	Indicele de aciditate [mg KOH/1 g acid]	Pct. de topire [°C]	Rotăția specifică [ $\alpha_D^{20}$ ]	Puritatea [%]
1.	P <sub>1</sub>	60	188±3,5	147-148	- 32,0 ±0,61	56
2.	P <sub>2</sub>	120	185,4 ±2,5	167-168	- 49,2±0,35	66
3.	P <sub>3</sub>	180	183±2,4	167-169	- 58,4±1,53	71
4.	P <sub>4</sub>	240	181±1,7	168-169	- 64,2±0,93	74
5.	P <sub>5</sub>	300	179±3,2	168-171	-83,7±1,25	85
6.	P <sub>6</sub>	360	184,3±2,5	157-161	- 57,1±0,91	70
7.	P <sub>7</sub>	420	184 ± 3,3	158-163	- 56,3±1,02	69

Notă: \* - unghiul de rotație a fost determinat din soluție etanolică 1% de acid abietic



**Fig.5. 1. Influența duratei de refluxare asupra randamentului de izolare și purității acidului abietic izolat din colofoniu**

Durata de refluxare are o influență semnificativă asupra separării acidului abietic din colofoniu în sens pozitiv până la o anumită valoare, (o încălzire la reflux a amestecului colofoniu: solvent de reacție până la 300 de minute a determinat o creștere aproape proporțională atât a randamentului cât și a purității produsului), după care ambii parametri au atins un maxim (randamentul 96%, respectiv puritatea 85%), pentru ca în final, chiar dacă durata de refluxare a continuat să crească atât randamentul cât mai ales puritatea au înregistrat o scădere. Această variație a randamentului cu creșterea duratei de refluxare ar putea fi explicată luând în considerare compoziția colofoniului și comportamentul acizilor rezinici la temperaturi ridicate în sensul că aceștia, exceptând acidul dehidroabietic sunt izomeri, ei având aceeași masă moleculară dar poziția dublelor legături este diferită [148]. Încălzind colofoniul o perioadă mai mare de timp o parte din acizii rezinici mai puțin stabili încep să se transforme în formele lor mai stabile ajungând în final la acid abietic ceea ce se observă prin creșterea randamentului. O durată prea mare de refluxare conduce însă la transformarea acidului abietic pe de o parte în acid dehidroabietic iar pe de altă parte în produși de oxidare macromoleculari greu solubili în solvenți organici [150] ceea ce va conduce în final la scăderea randamentului dar și a purității. De aici se poate deduce că un rol important în procesul de separare a acidului abietic îl are și temperatura de fierbere a amestecului motiv pentru care în continuare am analizat și influența acestui parametru.

### 5. 1. 2. Temperatura de refluxare a amestecului colofoniu:solvent de extracție

Acest parametru influențează în mod indirect procesul de izolare prin intermediul solventului folosit pentru operația de separare. În literatura de specialitate se cunosc nenumărate metode de izolare a acidului abietic în care sunt menționați diferiți solvenți utilizați [149, 151, 152, ]. Având în vedere că acidul abietic se solubilizează în foarte mulți solvenți organici atât polari cât și nepolari, am ales pentru studiul influenței temperaturii de refluxare următorii solvenți: (1) alcool etilic 96% (v/v) (p.f. 78°C); (2) benzen (p.f. 80-81°C); (3) alcool metilic (p.f. 65°C); (4) acid acetic 98% (v/v) (p.f. 116-118°C). S-a lucrat în paralel cu patru probe câte una pentru fiecare tip de solvent. S-au menținut constante pe durata experimentului atât timpul de refluxare (300 min.) cât și raportul de extracție colofoniu: solvent de 1:1 cu un mic exces de 15-20% solvent. Pentru a putea cuantifica influența temperaturii de refluxare asupra purității produsului, recristalizarea acidului abietic a avut loc din aceeași solvenți din care s-a făcut și separarea lui realizându-se două recristalizări. Spălarea cristalelor s-a făcut cu soluție apoasă de etanol de concentrație 50% (v/v). Rezultatele studiului sunt prezentate în tabele 5.3, 5.4. și grafic în figura 5.2.

**Tabelul 5.3. Influența temperaturii de refluxare asupra randamentului de separare a acidului abietic din colofoniu**

Nr. crt.	Nr. Probă	Solvent	Temp.de refluxare [°C]	Masa de cristale brute obținute, [g]	Randament. de extracție acid abietic, [%]
1.	P <sub>1</sub>	metanol	65	8,5	57
2.	P <sub>2</sub>	Etanol (96%)	78	11,4	76
3.	P <sub>3</sub>	Benzen	81	7,8	52
4.	P <sub>4</sub>	Ac. Acetic (98%)	116	14,4	90

**Tabelul 5.4. Influența temperaturii de refluxare asupra purității acidului abietic separat din colofoniu**

Nr. crt	Nr.probă	Temp. de reflux, [°C]	Indicele de aciditate [mg KOH/ g acid]	Pct. de topire [°C]	Rotația specifică $[\alpha]_D^{20}$	Puritate [%]
1.	P <sub>1</sub>	65	181± 2,8	165-168	- 54,3±1,9	69
2.	P <sub>2</sub>	78	180,4 ± 2,3	167-168	- 65,5±1,2	75
3.	P <sub>3</sub>	81	184± 2,1	165-168	- 36,9±1,4	59
4.	P <sub>4</sub>	116	177± 1,8	171-176	- 75,8±0,6	80

Din valorile obținute experimental și prezentate în tabelele 5.3.; 5.4. respectiv figura 5.2 se desprind următoarele:

În primul rând se confirmă cercetările anterioare ale lui Steele [150] conform căruia procesul de izolare a acidului abietic din colofoniu are loc cu randamente mai mari cu cât temperatura de refluxare este mai mare. Cu toate acestea acest parametru nu poate depăși o anumită limită deoarece intervin procesele de descompunere termică a acizilor rezinici, cu formarea hidrocarburilor diterpenice, sau de oxidare cu formarea unor derivați oxigenați macromoleculari [116]. Natura solventului influențează de asemenea randamentul de izolare al acidului abietic din colofoniu. Astfel conform datelor experimentale din tabelul 5.3. se poate observa, că deși au puncte de fierbere apropiate, randamentul de extracție al acidului abietic cu etanol a fost cu 26% mai mare decât în situația în care s-a utilizat ca solvent de extracție benzenul. Acest aspect poate fi explicat dacă luăm în considerare ipoteza formulată de Rusicka [78], conform căreia acidul abietic se găsește în colofoniu sub formă de anhidridă  $C_{40}H_{58}O_3$  și pentru ca acesta să fie eliberat este necesar să fie adăugată la solvent și o anumită cantitate de apă. În cazul folosirii alcoolului de 96% acesta conține o cantitate suficientă de apă pentru eliberarea acidului abietic chiar de la începutul încălzirii, în schimb în cazul benzenului solvent nepolar, procesul de hidratare a anhidridei începe abia după ce a fost eliberată apa din rețeaua amorf cristalină a colofoniului (60-75°C).

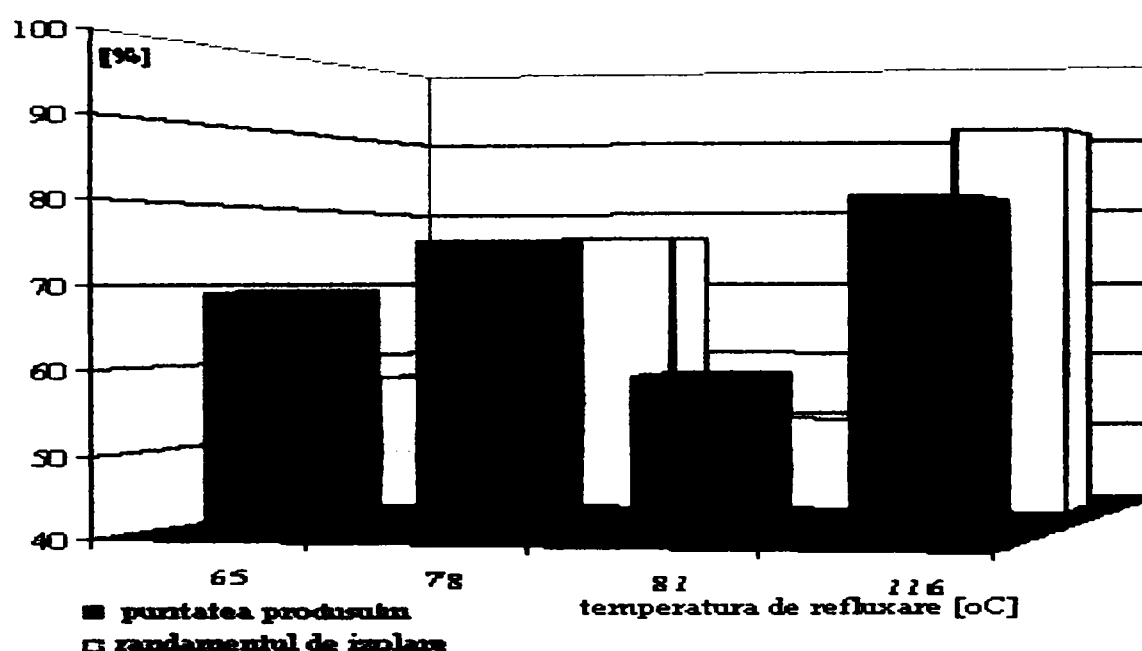


Fig.5. 2. Influența temperaturii de refluxare asupra randamentului de izolare și asupra purității acidului abietic izolat din colofoniu

### 5. 1. 3. Numărul de recristalizări

Deși creșterea numărului de recristalizări influențează pozitiv puritatea unui produs, de la un anumit număr operația nu-și mai are justificare economică atât ca urmare a consumului mare de solvent cât și al costului de producție al produsului în cauză. Recristalizarea acidului abietic brut s-a făcut din acid acetic glacial. Spălarea cristalelor, după filtrarea lor s-a realizat cu soluție alcoolică de concentrație 50% (v/v). Cristalele obținute, s-au uscate în vid la 40-45°C timp de 6 ore să apoi într-un exicator cu hidroxid de sodiu timp de 24 ore. După fiecare operație de recristalizare, s-a determinat rotația specifică a soluției alcoolice 1% de acid abietic prin metoda polarimetrică. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 5.5.

Tabelul 5.5. Influența numărului de recristalizări asupra purității acidului abietic izolat din colofoniu

Nr. crt	Compusul	Nr. recristalizări	Rotația specifică, $[\alpha]_D^{20}$	Puritate [%]
1.	Acid abietic	1	- 54.3	69
		2	- 75.6	80
		3	- 80.5	83
		4	- 84.2	85

Se poate observa din datele experimentale că au fost suficiente 2 recristalizări din acid acetic glacial pentru a obține o puritate de aproximativ 80%.

#### 5.1.4. Concluzii parțiale

Procedeele de izolare a acidului abietic din colofoniu, prezintă o serie de avantaje:

1. Cel mai potrivit solvent de extracție a acidului abietic din colofoniu este acidul acetic de 98%, deoarece prin punctul de fierbere ridicat, favorizează izomerizarea celorlalți acizi din tipul abietic prezenți în colofoniu (palustic, neoabietic, levopimaric) în forma mai stabilă (acidul abietic) conducând astfel la creșterea randamentului de izolare;
2. Timpul alocat extracției este mai scurt, 5 ore față de 12 ore în procedeul lui Maly;
3. Perioada de cristalizare a acidului abietic prin aplicarea acestui procedeu, scade de asemenea, foarte mult și anume 3-4 ore față de cel puțin 24 în metodele clasice;
4. Utilizarea acidului acetic glacial pentru purificarea acidului abietic și a soluțiilor diluate de alcool (50%) la spălarea cristalelor constituie de asemenea avantaje atât din punct de vedere tehnologic (numărul de recristalizări scade la 2 față de 4 în vechiul procedeu, iar puritatea acidului crește de la 75% la 80-82%), cât și din punct de vedere economic (consum de solvenți scumpi mai scăzut);
5. Instalația folosită pentru obținerea acidului abietic este simplă, ușor de manipulat putându-se obține și în condiții de laborator cantități apreciabile de acid abietic;
6. Acidul abietic obținut prin acest procedeu este stabil din punct de vedere a compoziției în sensul că dacă este bine stocat și ferit de lumină își păstrează culoarea albă a cristalelor mult timp, analizele cromatografice făcute cu o probă la șase luni după obținere dovedind absența produșilor de oxidare.

În tabelele 5.6-5.7 sunt rezumate valorile optime ale parametrilor tehnologici în vederea obținerii unui acid abietic de 75-80% puritate cu un randament de extracție de 90-92%.

**Tabelul 5.6. Condițiile tehnologice optime pentru obținerea acidului abietic de puritate 75-80% cu un randament de extracție de 90-92%**

Nr.crt	Parametrul tehnologic	Valori limite
1.	Solventul de extracție	Acid acetic 98%
2.	Temperatura /durata încălzirii la separarea din colofoniu;	115-120°C
3.	Solvenți de recristalizare	Acid acetic glacial, etanol absolut
4.	Număr de recristalizari	2-3
5.	Raport materie primă: solvent (m/m)	1: 1,2-1,25
6.	Uscare în vid	40-45 °C/6 ore

**Tabelul 5.7. Consumurile specifice pentru obținerea acidului abietic de puritate 75-80% cu un randament de separare 90-92%**

Nr.crt	Materia primă	Consum specific [kg/kg]
1.	Colofoniu (90-95% acizi rezinici, 40-44 % acid abietic)	2,68- 2, 45
2.	Acid acetic 98%	5,0*- 3,5
3.	Alcool etilic 96%	6,5*- 4,0
4.	Apă	1,5

Notă: \* - fără recuperarea solventului;

### 5.2. Considerații privind obținerea acidului abietic levogir de înaltă puritate

Acidul abietic de puritate 75-80% poate fi folosit ca atare sau sub forma derivaților săi în industria electronicii, a vopselelor, a agenților de aditivare, etc dar în cazul în care unii dintre derivați săi și anume sărurile sale cu amine sau cu metale alcaline constituie ingrediente în industria cosmetică sau farmaceutică, el trebuie să fie purificat până la 95-99% și în plus adus în forma levogiră.

Rezultatele obținute în urma tratării acidului abietic de 75-80% puritate cu baze optice cum sunt (-)-chinină anhidră, (+)-cinconină, (-)-cinconidină, (+)- chinidină sunt prezentate în tabelele 5.8-5.9, precum și în graficul din figura 5.3.

**Tabelul 5.8. Randamentele de purificare obținute prin metoda scindării sării acidului abietic cu diferite baze organice optic active**

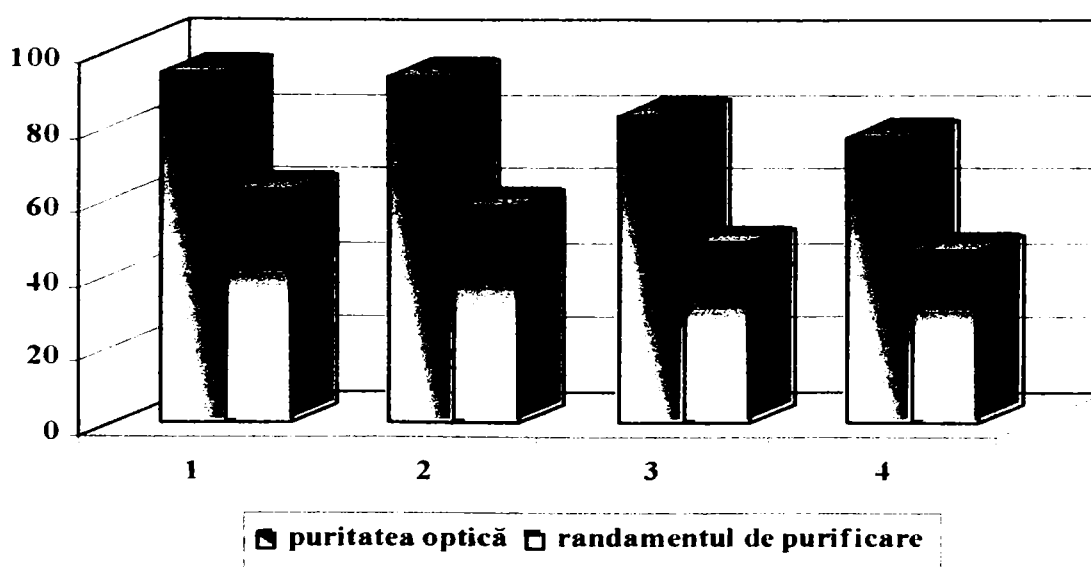
Nr. crt.	Baza organică	Cantitate (-)-acid abietic, [g]	Randamentul de purificare [%]
1.	(-)-chinină anhidră	6.2	62
2.	(+)-cinconină	5.8	58
3.	(-)-cinconidină	4.8	48
4.	(+)- chinidină	4.6	46

**Tabelul 5.9. Constantele fizico-chimice ale (-)- acidului abietic obținut prin metoda scindării sării acidului abietic cu diferite baze organice optic active**

Nr. crt.	Nr. probă	Indicele de aciditate* [mg KOH/1 g acid]	Pct. de topire* [°C]	Rotăția specifică* $[\alpha]_D^{20}$	Indice de refracție*	Indice de iod* [g I <sub>2</sub> /100 mg acid]	Puritate optică [%]
1.	B1	178.2-179.3	173-177	- 100±6	1.5343±3	162-165	94
2.	B2	179.7-180.0	172-175	- 99±7	1.5343±3	161-163	93
3.	B3	180.4-180.8	172-174	- 88±2	1.5339±3	160.2-161	83
4.	B4	180.1-182.3	171-176	- 82±5	1.5344±3	159-161	77

Notă: \* - Valorile constantelor fizico-chimice ale acidului abietic 98% puritate sunt: IA =176.6 mg KOH/1 g

I.I<sub>2</sub> =167.9 [g I<sub>2</sub>/100 mg acid]; p.t.=173- 175[°C];  $[\alpha]_D^{20} = -106^\circ$ ;  $n_D^{20} = 1.5347$



**Fig.5. 3. Variația randamentului de obținere a (-)- acidului abietic și purității sale cu tipul de bază organică optic activă folosită; 1.- (-)-chinină anhidră; 2.- (+)-cinconină; 3.- (-)-cinconidină; 4.- (+)- chinidină.**



Datele prezentate în tabelele 5.8; 5.9 precum și graficul din figura 5.3 confirmă cercetările lui Lawer și Ballow privind posibilitatea purificării acidului abietic levogir prin scindarea sării formate anterior dintre acid și o bază organică. Comparativ cu valorile randamentului obținute de aceștia prin tratarea acidului cu (-)-bornilamină (19%) în cazul folosirii unor alcaloizi din clasa chininci, valorilor obținute sunt superioare în toate cazurile deși per ansamblu nu foarte spectaculoase. În schimb se constată un salt în ceea ce privește puritatea produsului obținut constatând că în cazul chininei ea ajunge la 94% dacă o calculăm ca puritate optică, pentru ca analiza cromatografică (HPLC) să confirme o puritate de 96%, această valoare fiind obținută în condițiile efectuării a două recristalizări.

Metoda de purificare a *acidului (-)-abietic* prin intermediul sării acestuia cu (-)-*chinină anhidră* poate fi aplicată în special în cazurile când acidul abietic este un precursor pentru o serie de derivați care se folosesc în recepturi cosmetice și farmaceutice precum și în cazurile când se folosește ca substanță de testare în determinarea agenților care induc alergii la persoanele sensibile la colofoni, sau în analizele cromatografice a apelor reziduale din industria prelucrării lemnului sau a hârtiei pentru determinarea concentrației reziduale de acizi rezinici.

### 5.3. Stabilirea condițiilor optime pentru sinteza sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic

#### 5.3.1. Influența temperaturii de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic

În continuare s-a studiat temperatura de reacție pe domeniul de variație 20-60°C. În toate cazurile durata de încălzire a fost de 20 de minute, solventul folosit acetona, iar raportul molar amină:acid= 1:1,5. Purificarea sărurilor s-a făcut prin recristalizare din etanol absolut (sărurile cu izoși di-izobutilamină), respectiv din acetat de etil (sărurile cu etanolamine). Pentru reproductibilitatea rezultatelor au fost necesare 2 recristalizări pentru fiecare sare obținută.

Rezultatele sunt prezentate în tabelele 5.10- 5.14 respectiv în figura 5.4.

**Tabelul 5.10. Influența temperaturii de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de monotanolamoniu monoetanamina [MEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Temperatura de reacție [°C]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	20	Urme	-
2.	P <sub>2</sub>	30	Urme	-
3.	P <sub>3</sub>	40	2.9	24
4.	P <sub>4</sub>	45	3.9	33
5.	P <sub>5</sub>	50	6.7	56
6.	P <sub>6</sub>	55	8.5	71
7.	P <sub>7</sub>	60	8.4	70
8.	P <sub>8</sub>	65	8.1	69

**Tabelul 5.11. Influența temperaturii de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de dietanolamoniu [DEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Temperatura de reacție [°C]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	20	Urme	-
2.	P <sub>2</sub>	30	Urme	-
3.	P <sub>3</sub>	40	3.8	28
4.	P <sub>4</sub>	45	5.1	38
5.	P <sub>5</sub>	50	7.7	57
6.	P <sub>6</sub>	55	11.0	82
7.	P <sub>7</sub>	60	11.4	85
8.	P <sub>8</sub>	65	11.5	86

**Tabelul 5.12. Influența temperaturii de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de trietanolamoniu [TEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Temperatura de reacție [°C]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	20	Urme	-
2.	P <sub>2</sub>	30	Urme	-
3.	P <sub>3</sub>	40	1.6	14
4.	P <sub>4</sub>	45	3.1	27
5.	P <sub>5</sub>	50	6.2	54
6.	P <sub>6</sub>	55	8.4	63
7.	P <sub>7</sub>	60	9.6	70
8.	P <sub>8</sub>	65	10.3	75

**Tabelul 5.13. Influența temperaturii de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de izobutillamoniu [IBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Temperatura de reacție [°C]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	20	Urme	-
2.	P <sub>2</sub>	30	Urme	-
3.	P <sub>3</sub>	40	3.5	29
4.	P <sub>4</sub>	45	4.3	35
5.	P <sub>5</sub>	50	9.3	75
6.	P <sub>6</sub>	55	10.3	84
7.	P <sub>7</sub>	60	9.3	75
8.	P <sub>8</sub>	65	8.4	69

**Tabelul 5.14. Influența temperaturii de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de di-izobutillamoniu [DIBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Temperatura de reacție [°C]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	20	Urme	-
2.	P <sub>2</sub>	30	Urme	-
3.	P <sub>3</sub>	40	4.3	31
4.	P <sub>4</sub>	45	5.3	38
5.	P <sub>5</sub>	50	8.6	60
6.	P <sub>6</sub>	55	12.9	91
7.	P <sub>7</sub>	60	12.1	85
8.	P <sub>8</sub>	65	12.0	85

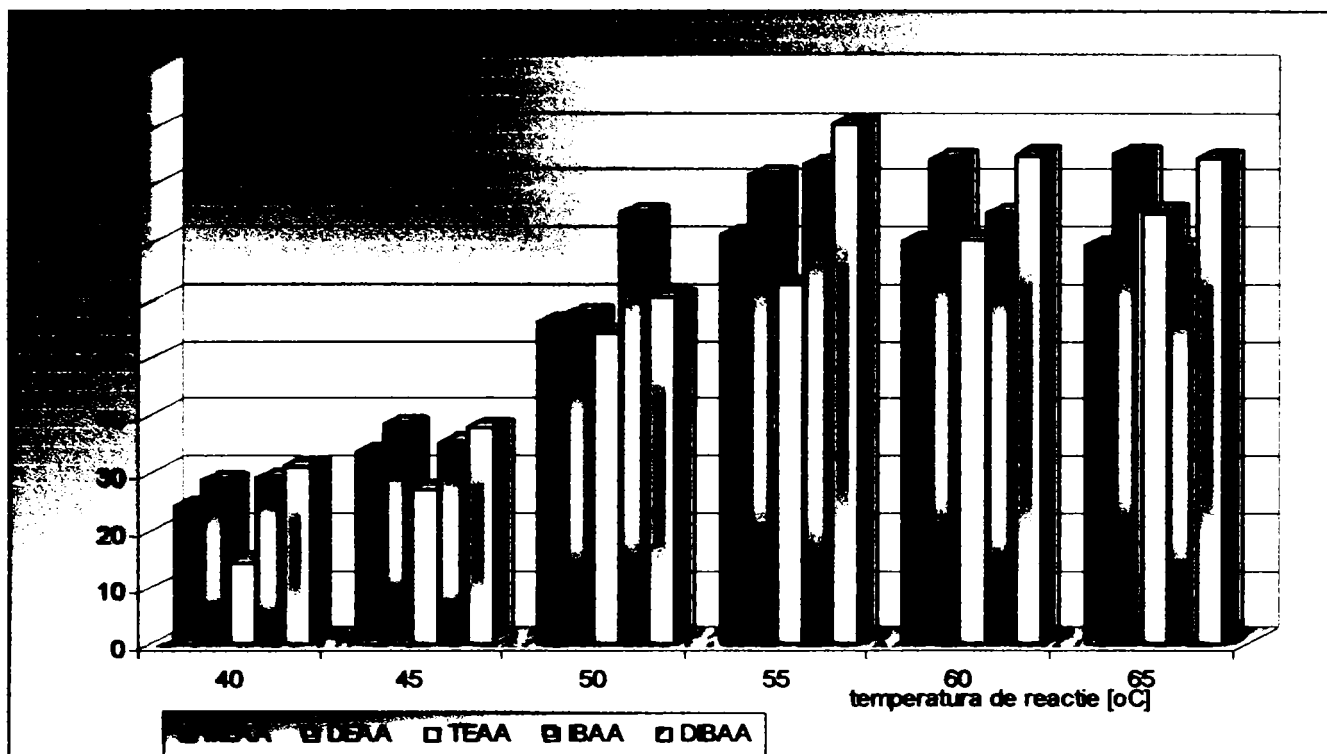


Fig. 5. 4. Influența temperaturii de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor acidului abietic cu diferite amine și etanolamine

În ceea ce privește puritatea substanțelor, referințe bibliografice am avut numai pentru sarea cu trietanolamină (rotație specifică, punct de topire, indice de refracție) în rest sursele bibliografice accesibile fac referire doar la sărurile acidului abietic cu baze optic active folosite în scopul purificării sale. Din acest motiv am apelat la analizele spectrale de IR, și MS care se vor discuta în paragraful următor.

După cum se observă din datele prezentate în tabelele 5.11- 5.16 dar mai ales din graficul din figura 5.4, randamentul de reacție crește cu creșterea temperaturii în toate cazurile până la o anumită valoare a temperaturii (55°C) după care fie rămâne aproape constant fie începe să scadă în cazul obținerii sărurilor cu izo-butilamina, respectiv cu monoetanolamina. Această scădere este numai aparentă deoarece în aceste cazuri temperatura de reacție se apropie de temperaturile de fierbere a unor amine cauzând pierderi inevitabile de reactant. Dacă însă în amestecul de reacție s-au adăugat câteva picături din aminele pure pentru completare, s-a observat că randamentul a crescut ca și în celelalte cazuri dar nu foarte mult. Nu este recomandabil însă să se depășească limita de 65°C din două motive și anume :

1. Solventul de reacție folosit (acetona) se poate îndepărta ușor din amestec, este inert din punct de vedere chimic față de ambii reactanți și totodată și recuperarea lui se face ușor;
2. La temperaturi de peste 70°C în unele cazuri începe reacția de disociere a sării cu formare de amide.

În general și datele de literatură [189] recomandă ca procesul să se desfășoare la temperaturi cât mai joase. În cazul sării acidului abietic cu trietanolamina (TEAA) s-a constatat o creștere a randamentului cu creșterea temperaturii fără însă a se înregistra o limitare în intervalul de temperatură studiat. Acest fapt poate fi explicat pe baza structurii trietanolaminei care nu poate forma amidă dar și a comportamentului acidului abietic care la valori ale pH-ului mai mari decât  $pK_A$  (5,7) dublate de o creștere a temperaturii mediului se ionizează și tinde să se asocieze sub formă de structuri micelare (săpunuri) cu ionul amoniu al trietanolaminei rezultat în urma migrării protonului la electronii neparticipanți al azotului [198].

Trebuie făcută mențiunea că s-au obținut săruri ale acidului abietic cu monoetanolamina și cu izobutilamina chiar la 20°C dar cantitățile obținute au fost ne semnificative iar intervalul de timp de la care s-a observat apariția de precipitat a fost de 24 ore în cazul sării cu izobutilaminei și respectiv 12 ore pentru cea cu monoetanolamina. În cazul celorlalte amine formarea sării s-a sesizat după 3-4 zile necesitând și o întreținere a cristalizării prin agitare mecanică.

### 5.3.2. Influența duratei de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic

În continuarea studiului experimental s-a menținut pentru toate probele temperatura de reacție constantă și egală cu 55°C în schimb, am variat durata încălzirii amestecului. Raportul molar amină (alchilolamină) : acid abietic s-a menținut de asemenea constant în toate cazurile și egal cu 1:1,5

Durata încălzirii a variat de la 10 la 60 minute. Datele obținute sunt prezentate în tabelele 5.15-5.19, respectiv în figura 5.5.

**Tabelul 5.15. Influența duratei de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de monoetanolamoniu [MEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reacție [min]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	10	3.5	20
2.	P <sub>2</sub>	15	6.7	42
3.	P <sub>3</sub>	20	10.0	73
4.	P <sub>4</sub>	25	9.0	69
5.	P <sub>5</sub>	35	8.3	68
6.	P <sub>6</sub>	45	8.0	67
7.	P <sub>7</sub>	55	7.8	65
8.	P <sub>8</sub>	60	7.8	65

**Tabelul 5.16. Influența duratei de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de dietanolamoniu [DEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reacție [min]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	10	4.8	36
2.	P <sub>2</sub>	15	7.3	66
3.	P <sub>3</sub>	20	11.7	81
4.	P <sub>4</sub>	25	11.3	75
5.	P <sub>5</sub>	35	9.9	74
6.	P <sub>6</sub>	45	9.7	72
7.	P <sub>7</sub>	55	7,3	66
8.	P <sub>8</sub>	60	6,5	56

**Tabelul 5.17. Influența duratei de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de trietanolamoniu [TEAA]**

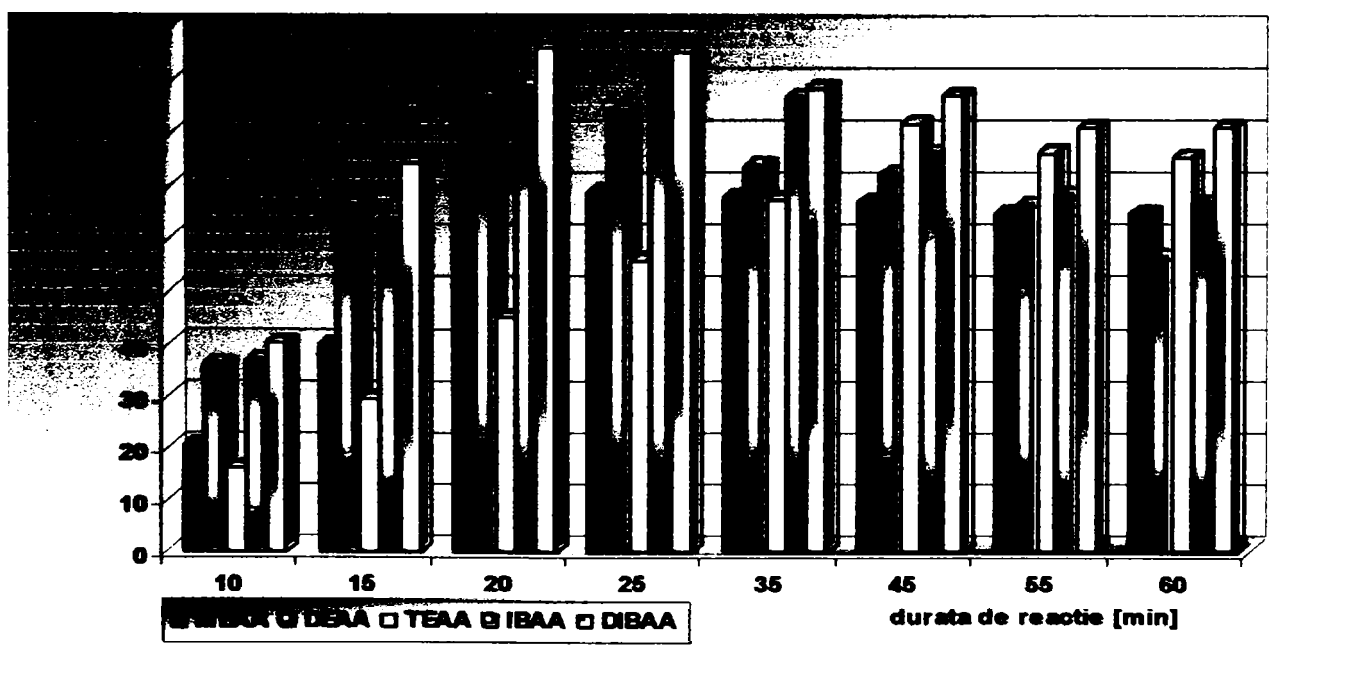
Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reacție [min]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. De obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	10	3.4	16
2.	P <sub>2</sub>	15	5.2	29
3.	P <sub>3</sub>	20	8,5	67
4.	P <sub>4</sub>	25	8,9	71
5.	P <sub>5</sub>	35	9,8	77
6.	P <sub>6</sub>	45	10,8	86
7.	P <sub>7</sub>	55	10,9	87
8.	P <sub>8</sub>	60	9,5	81

**Tabelul 5.18. Influența duratei de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de izobutilamoniu [IBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reacție [min]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	10	4.5	36
2.	P <sub>2</sub>	15	7.9	64
3.	P <sub>3</sub>	20	11.0	82
4.	P <sub>4</sub>	25	11.2	84
5.	P <sub>5</sub>	35	10.8	80
6.	P <sub>6</sub>	45	9.4	76
7.	P <sub>7</sub>	55	8.4	68
8.	P <sub>8</sub>	60	8.3	67

**Tabelul 5.19. Influența duratei de încălzire asupra randamentului de obținere a abietatului de di-izobutilamoniu [DIBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Durata de reacție [min]	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	10	4.9	40
2.	P <sub>2</sub>	15	9.0	75
3.	P <sub>3</sub>	20	12.6	94
4.	P <sub>4</sub>	25	13.6	92
5.	P <sub>5</sub>	35	12.6	89
6.	P <sub>6</sub>	45	12.4	87
7.	P <sub>7</sub>	55	11.6	81
8.	P <sub>8</sub>	60	11.6	81



**Fig.5.5. Influența duratei de reacție asupra randamentului de obținere a sărurilor acidului abietic cu diferite amine și etanolamine**

Analiza datelor experimentale demonstrează importanța pe care o are durata de reacție asupra randamentului procesului în sensul că, exceptând sarea acidului abietic cu trietanolamina, în toate celelalte cazuri randamentul scade după o perioadă de încălzire de 20 minute. Menținerea amestecului de reacție o perioadă mai lungă de timp poate duce la pierderi inerente datorită evaporării aminelor cu puncte de fierbere joase ceea ce se va remarca prin scăderea cantității de sare obținută. De asemenea, în situația în care acidul abietic nu este suficient de pur, o încălzire îndelungată poate să determine

reacții de oxidare sau polimerizare din partea acestuia. În cazul special al trietanolaminei, este posibil să se lucreze atât la temperaturi mai mari de 55°C și intervale de timp mai mari (45-50 minute) obținându-se randamente de peste 70%, cât și la temperaturi de 55-60°C dar durate de reacție mai mici (20 minute) când cantitățile de sare obținute au corespuns unor randamente de 65-70%, varianta alcasă depinzând de sursele de căldură de care dispune producătorul și costul utilităților. În situația în care se alege prima variantă, trebuie să se ia în considerare și condițiile mai dificile de purificare a sării deoarece o staționare mai lungă a sării în mediul de reacție la temperaturi medii conduce la formarea unui precipitat brun vâscos.

### 5.3.3. Influența raportului molar dintre reactanți asupra randamentului de obținere a sărurilor de tip amoniu a acidului abietic

Menținând constante temperatura de reacție ( $t = 55^{\circ}\text{C}$ ) și durata de încălzire ( $d_r = 20$  minute) s-au efectuat studii experimentale privind influența raportului reactanților acid abietic amină :, asupra randamentului de reacție. cercetările au vizat un interval de variație a raportului molar amină : acid între 1:1 și 1:3.

Influența raportului molar al reactanților asupra randamentului de reacție este prezentată în tabelele 5.20- 5.24 și în figura 5.6.

**Tabelul 5.20. Influența raportului dintre reactanți asupra randamentului de obținere a abietatului de monoetanolamoniu [MEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Raportul molar amină:acid abietic	Raport masic amină:acid abietic	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	1:1	1:4,4359	9,3	65
2.	P <sub>2</sub>	1:1,5	1:6,6539	10,4	72
3.	P <sub>3</sub>	1:2	1:8,8719	10,7	74
4.	P <sub>4</sub>	1:2,5	1:11,0898	10,8	76
5.	P <sub>5</sub>	1:3	1:13,3078	11,0	76

**Tabelul 5.21. Influența raportului dintre reactanți asupra randamentului de obținere a abietatului de dietanolamoniu [DEAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Raportul molar amină:acid abietic	Raport masic amină:acid abietic	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	1:1	1:2,8723	11,6	71
2.	P <sub>2</sub>	1:1,5	1:4,3085	12,8	80
3.	P <sub>3</sub>	1:2	1:5,7447	13,0	81
4.	P <sub>4</sub>	1:2,5	1:7,1890	13,1	81
5.	P <sub>5</sub>	1:3	1:8,6170	13,2	82

**Tabelul 5.22. Influența raportului dintre reactanți asupra randamentului de obținere a abietatului de trietanolamoniu [TEAA]**

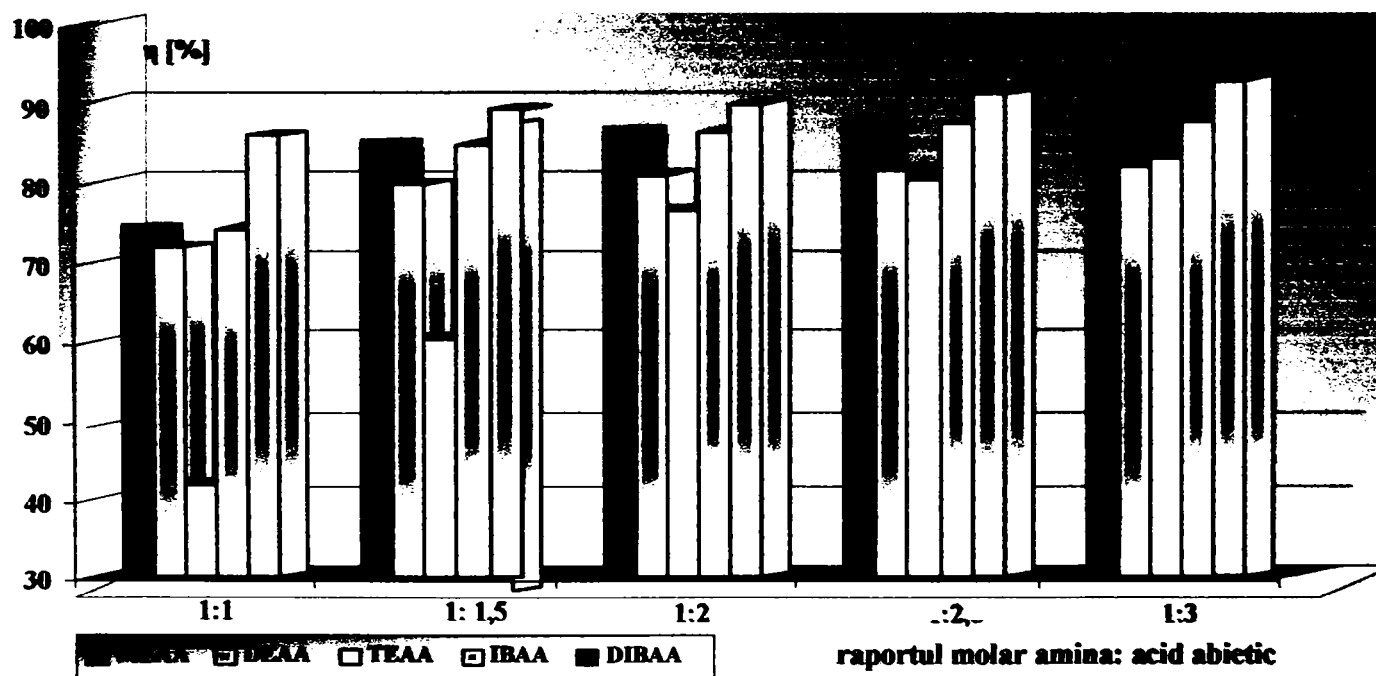
Nr. crt.	Nr. probă	Raportul molar amină:acid abietic	Raport masic amină:acid abietic	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1	P <sub>1</sub>	1:1	1:2,0242	6,2	42
2.	P <sub>2</sub>	1:1,5	1:3,0363	8,9	60
3.	P <sub>3</sub>	1:2	1:4,0485	11,4	76
4.	P <sub>4</sub>	1:2,5	1:5,0606	11,9	80
5.	P <sub>5</sub>	1:3	1:6,0727	12,4	83

**Tabelul 5.23. Influența raportului dintre reactanți asupra randamentului de obținere a abietatului izobutilamoniu [IBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Raportul molar amină:acid abietic	Raport masic amină:acid abietic	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	1:1	1:4,1290	9,2	74
2.	P <sub>2</sub>	1:1,5	1:6,1936	10,5	85
3.	P <sub>3</sub>	1:2	1:8,2581	10,7	86
4.	P <sub>4</sub>	1:2,5	1:10,3226	10,8	87
5.	P <sub>5</sub>	1:3	1:12,3872	10,9	88

**Tabelul 5.24. Influența raportului dintre reactanți asupra randamentului de obținere a abietatului di-izobutilamoniu [DIBAA]**

Nr. crt.	Nr. probă	Raportul molar amină:acid abietic	Raport masic Amină:acid abietic	Masa de sare purificată, [g]	Randament. de obținere a sării, [%]
1.	P <sub>1</sub>	1:1	1:2,3365	12,2	86
2.	P <sub>2</sub>	1:1,5	1:3,5048	12,7	89
3.	P <sub>3</sub>	1:2	1:4,6731	12,8	90
4.	P <sub>4</sub>	1:2,5	1:5,84139	12,9	91
5.	P <sub>5</sub>	1:3	1:7,0096	13,2	93



**Fig. 5. 6: Influența raportului molar dintre reactanți asupra randamentului de obținere a sărurilor acidului abietic cu diferite amine**

Din datele prezentate se poate constata că raportul molar dintre reactanți influențează într-o mică măsură randamentul de obținere a sărurilor, un salt mai mare înregistrând randamentul în cazul obținerii TEAA (creștere aproape dublă). În toate cazurile s-a observat că raportul optim este de 1:2. Coroborând datele experimentale referitoare la influența unor parametri asupra procesului de sinteză a sărurilor de amoniu a acidului abietic se pot propune condițiile optime de reacție care trebuie îndeplinite pentru a obține produsele dorite cu randamente de 68-70% date care sunt prezentate în tabelul 5.25. și care sunt comparabile ca valoare cu datele citate în literatură [189 ]

**Tabelul 5.25. Condițiile tehnologice optime pentru obținerea sărurilor acidului abietic cu amine și etanolamine puritate cu un randamente de obținere de 68-70%**

<b>Nr.crt</b>	<b>Parametrul tehnologic</b>	<b>Valori limite</b>
1.	Temperatura de reacție	50-55 °C
2.	Durata reacției de amonoliză	15-20 min
3.	Raport molar amină: acid (acidul în exces)	1:1.5-1:2.5
4.	Solvenți de reacție /recristalizare	Acetonă, mai rar alcool etilic absolut, acetat de etil
5.	Număr de recristalizări	2-3
6.	Uscare în vid	40-45 °C/6 ore



## 5.4. Analiza structurală a compușilor sintetizați

## 5.4.1. Analiza spectrală de IR

## Aparatură:

- spectrofotometru model UR20 (Carl Zeiss Yena, RDG), cu fereastră de KBr;
- spectrofotometru model BRUKER FT-IR IFS85 cu transformată Fourier.

## Interpretarea spectrelor:

Spectrele de IR ale compușilor sintetizați sunt prezentate în figurile 5.7- 5.10 iar atribuirea benzilor în tabelele 5.26-5.32.

Astfel în spectrul de IR al acidului abietic (figura 5.7) s-au putut distinge o serie de benzi spectrale caracteristice acizilor carboxilici. În regiunea 2600-3000  $\text{cm}^{-1}$  atribuite vibrației de valență a legăturilor O-H din gruparea carboxil, respectiv C-H apar următoarele benzi care pot fi atribuite grupării OH la 2933  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{OH}}$ ) și radicalilor -CH<sub>3</sub>, la 2833 ( $\nu_{\text{CH}_3}^{\text{asim}}$ ) respectiv la 2841  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{CH}_3}^{\text{sim}}$ ). Vibrația de valență a legăturii C=O din gruparea carboxil apare la 1691  $\text{cm}^{-1}$ .

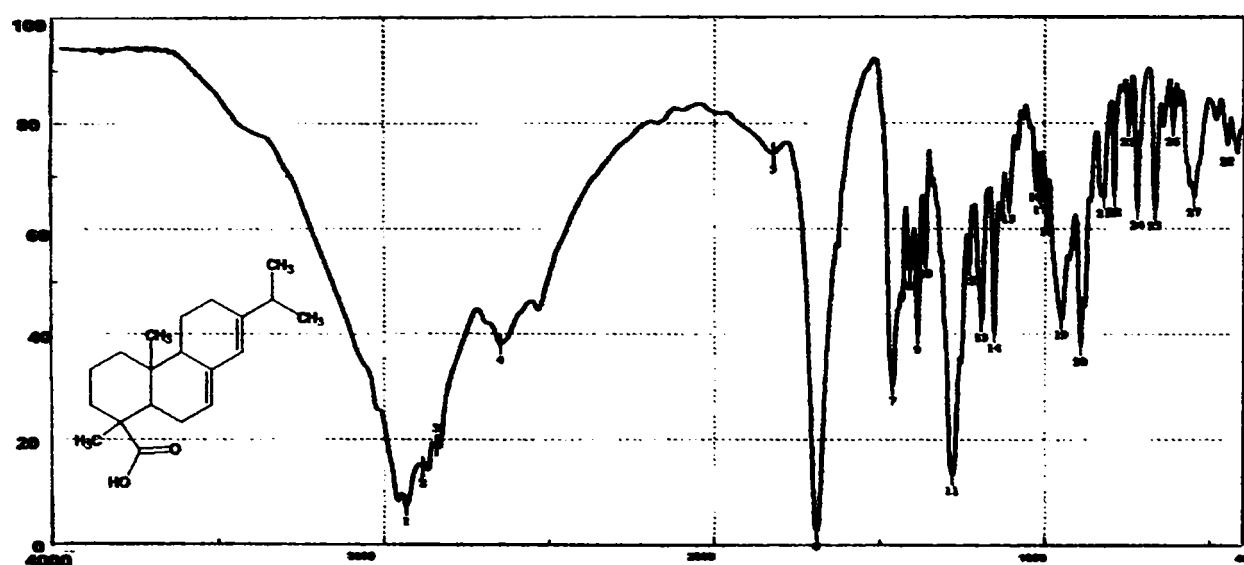


Fig.5.7: Spectrul de IR al acidului abietic efectuat în pastilă de KBr

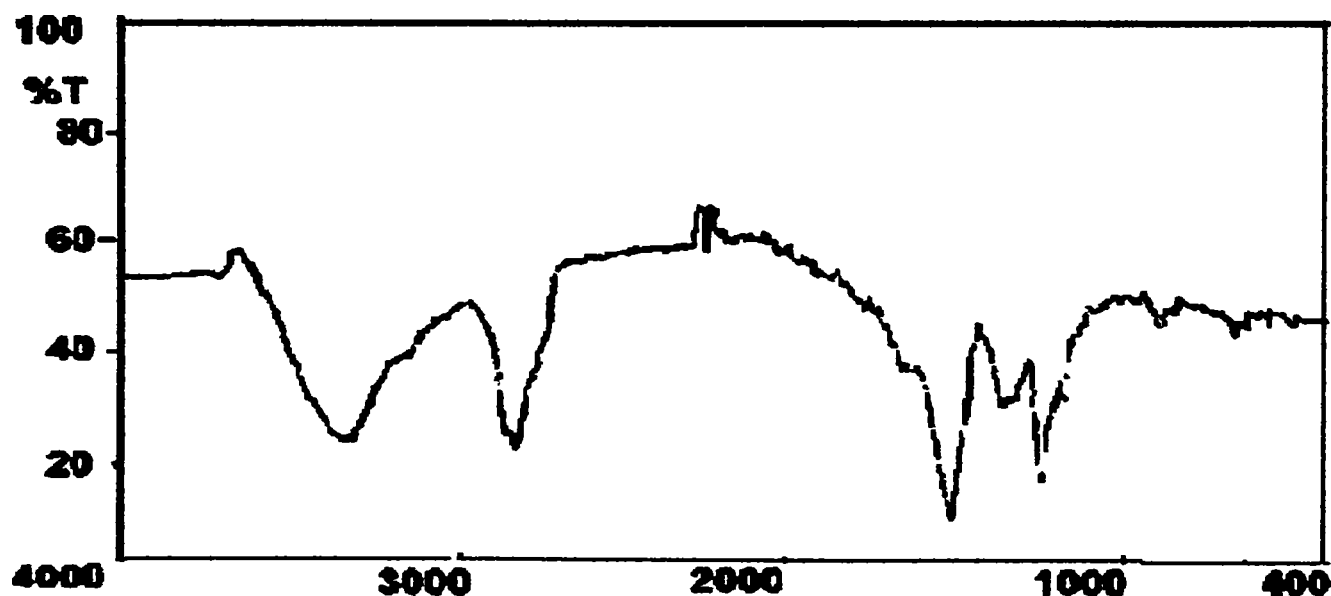
Câteva benzi spectrale mai slabe ca intensitate apar în regiunea 1400, 1300 respectiv 900-950  $\text{cm}^{-1}$ , care pot fi atribuite unui cuplaj al vibrației de deformare OH cu vibrația de valență C-O care au loc în planul inelului format de grupele carboxil dimerizate (1361  $\text{cm}^{-1}$ , 1281  $\text{cm}^{-1}$ ), iar ultima de bandă de frecvență la 941  $\text{cm}^{-1}$  poate fi atribuită unei vibrații de deformare a OH în afara acestui plan. Tot în această regiune la 1408  $\text{cm}^{-1}$  apar vibrațiile de deformare a legăturii CH din vecinătatea legăturilor duble C=C din cele două cicluri ale acidului. Comparând spectrele obținute cu cele din colecția FDM. Spectra pentru spectrele de IR [155] s-a evidențiat suprapunerea în totalitate.

În tabelul 5. 26 se dau frecvențele principalelor benzi spectrale și intensitățile lor.

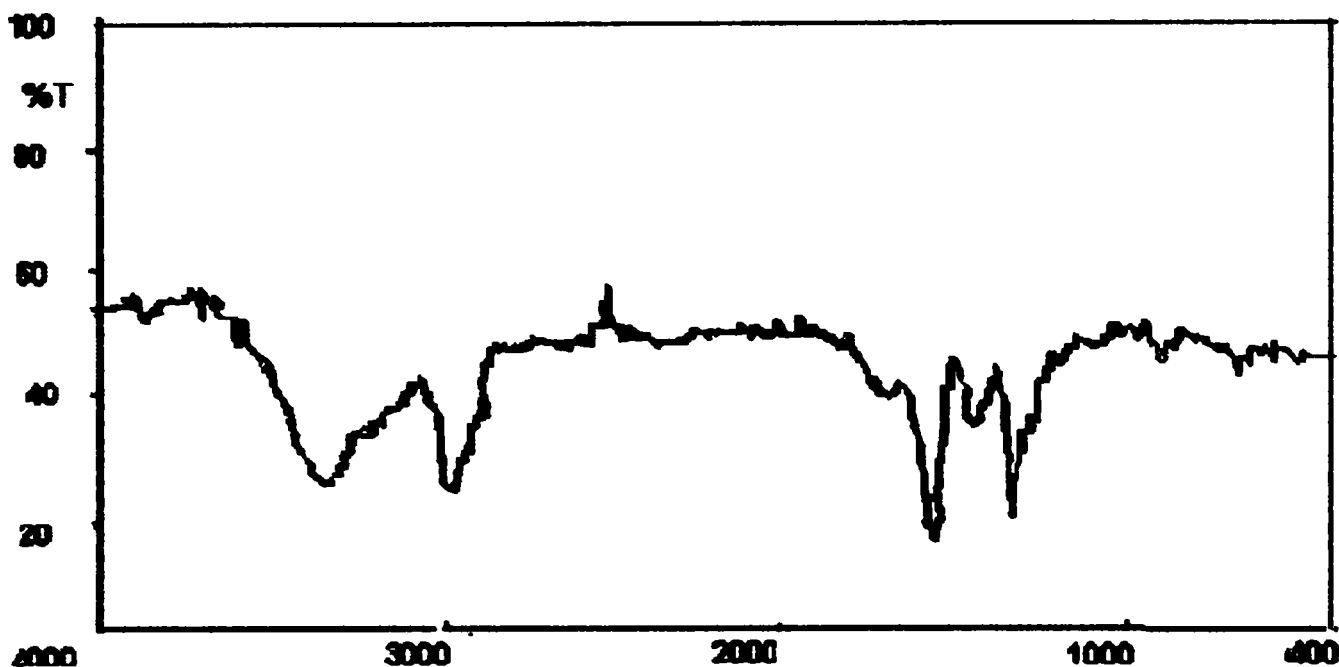
Tabelul 5.26. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție-vibrație observate în spectrul de IR al acidului abietic

Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații
1.	2933.20	$\nu_{OH_{asoc}}$	8.	1361.50	$\delta_{OH}$
2.	2883.36	$\nu_{CH_3}^{as}$	9.	1281.47	$\nu_{C-O}$
3.	2841.60	$\nu_{CH_3}^s$	10.	1191.79	Vibrație de schelet a radicalului izopropil,
4.	1691.27	$\nu_{C=O}^{as}$	11.	1154,34	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
5.	1468.75	$\delta_{CH}$	12.	950.12	$\gamma_{OH}$
6.	1385.60	$\delta_{CH_3}^s$ , dublet de la gruparea izopropil	13.	898	$\gamma_{CH}$

Spectrele de IR ale *abietatului de sodiu (A-Na)* și *de potasiu (A-K)* foarte asemănătoare având în vedere că ambele substanțe aparțin aceleiași clase, prezentate în figurile 5.8a -5.8b. arată dispariția celor patru benzi caracteristice grupării carboxil și înlocuirea lor cu două benzi caracteristice pentru gruparea  $-COO^-$  și anume o vibrație de valență asimetrică ( $\nu_{COO^-}$  asim) la  $1554\text{cm}^{-1}$  (A-Na) și respectiv la  $1546\text{cm}^{-1}$  (A-K), și o vibrație de valență simetrică ( $\nu_{COO^-}$  sim) la  $1420\text{cm}^{-1}$  în ambele situații. De asemenea s-au putut identifica în cazul sărurilor, vibrațiile de valență caracteristice legăturilor  $=C-H-$  alchenice care produc absorbții la  $3052\text{cm}^{-1}$  (A-Na), și  $3068\text{cm}^{-1}$  (A-K), acestea neputând fi sesizate în spectrul de absorbție al acidului abietic. În tabelele 5.30-5.31 se dau frecvențele principalelor benzi spectrale și intensitățile lor (în conformitate cu datele atașate spectrului original și aflate în Anexă).



a)



b)

Fig.5.8: Spectrele de IR ale abietatului de sodiu (a) respectiv de de potasiu (b) efectuat în pastilă de KBr

Tabelul 5.27. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție-vibrație observate în spectrul de IR al abietatului de sodiu

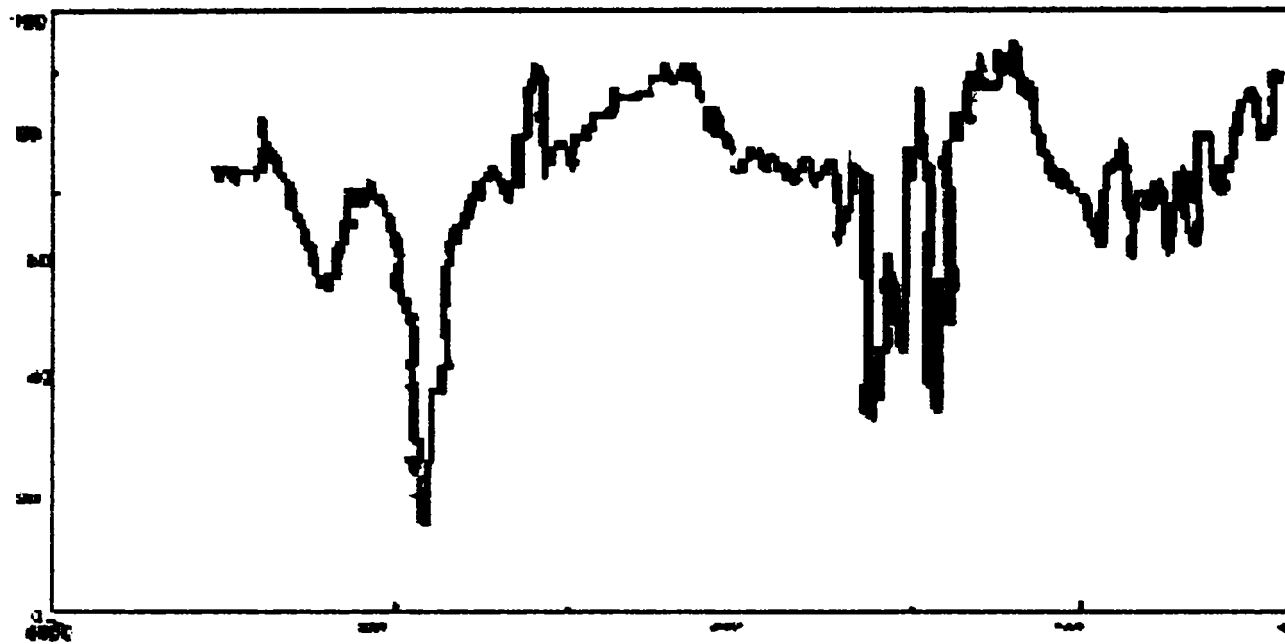
Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații
1.	3052	$\nu_{CH}^{as}$	8.	1176	Vibrație de schelet a radicalului izopropil.
2.	2932	$\nu_{CH_3}^{as}$	9.	1156	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
3.	1554	$\nu_{C=O}^{as}$	10.	934	Trans- $\gamma_{CH}$
4.	1466	$\delta_{CH}^{as}$	11.	898	Trans- $\gamma_{CH}$
5.	1420	$\nu_{C=O}^s$	12.	804	trans- $\gamma_{CH}$

Tabelul 5.28. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție-vibrație observate în spectrul de IR al abietatului de potasiu

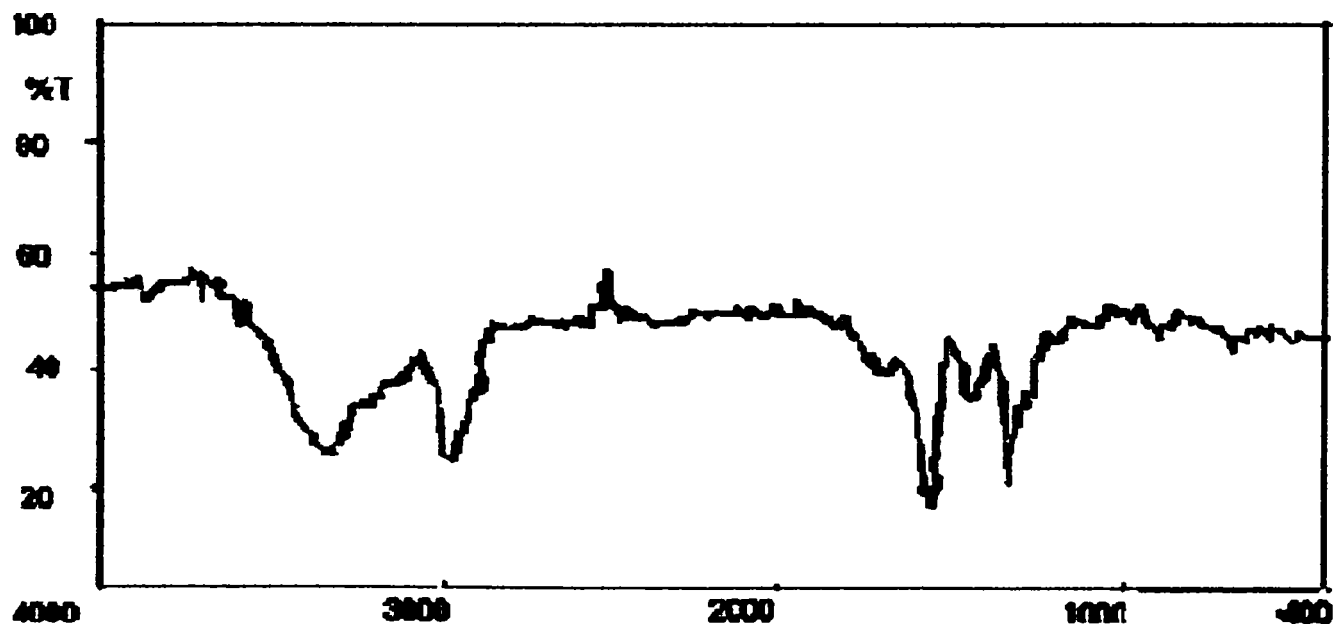
Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații
1.	3068	$\nu_{CH}^{as}$	7.	1176	Vibrație de schelet a radicalului izopropil.
2.	2932	$\nu_{CH_3}^{as}$	8.	1156	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
3.	1546	$\nu_{C=O}^{as}$	9.	994.12	Trans- $\gamma_{CH}$
4.	1468	$\delta_{CH}^{as}$	10.	934	Trans- $\gamma_{CH}$
5.	1420	$\nu_{C=O}^s$	11.	898	Trans- $\gamma_{CH}$
6.	1392	$\delta_{CH_2}$			

Spectrele de vibrație ale sărurilor acidului abietic cu izobutilamină (IBAA), respectiv diizobutilamină (DIBAA) (figurile 5.9a-5.9b) prezintă asemănări ceea ce era de așteptat având în vedere că ambele substanțe aparțin aceleiași clase de compuși. Se poate observa apariția benzilor de

valență caracteristică grupărilor  $\text{NH}_3^+$  ( $3200\text{cm}^{-1}$ ) respectiv  $\text{NH}_2^+$  ( $2960\text{cm}^{-1}$ ), a vibrațiilor de deformare în plan a aceluiași grupări care au loc în regiunea  $1575\text{-}1600\text{cm}^{-1}$ , precum și o vibrație de valență a legăturii C-N în regiunea  $1060\text{-}1191\text{cm}^{-1}$ . În tabelele 5.29-5.30 sunt prezentate posibilele interpretări ale principalelor picuri prezente în spectrele sărurilor respective.



a)



b)

Fig.5.9: Spectrele de IR ale IBAA (a) respectiv DIBAA (b) efectuat în pastilă de KBr

**Tabelul 5.29. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție-vibrație observate în spectrul de IR al abietatului de izobutilamoniu (IBAA)**

Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații
1.	3200	$\nu_{\text{NH}_3^+}$	8.	1420	$\nu_{\text{C=O}}^s$
2.	2928	$\nu_{\text{CH}_3}^{\text{as}}$	9.	1380	$\delta_{\text{CH}_2}$
3.	2340	$\delta_{\text{NH}_3^+}$	10.	1172	Vibrație de schelet a radicalului izopropil
4.	1618	$\nu_{\text{C=O}}^{\text{as}}$	11.	1154	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
5.	1596	$\delta_{\text{NH}_3^+}^{\text{AS}}$	12.	1064	$\nu_{\text{C-N}}$
6.	1536	$\delta_{\text{NH}_3^+}^s$	13.	896	Trans- $\gamma_{\text{CH}}$
7.	1468	$\delta_{\text{CH}}^{\text{as}}$			

**Tabelul 5.30. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție- vibrație observate în spectrul de IR al abietatului de diizobutilamoniu (DIBAA)**

Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [ $\text{cm}^{-1}$ ]	Observații
1.	2960	$\nu_{\text{NH}_2^+}$	8.	1420	$\nu_{\text{C=O}}^s$
2.	2928	$\nu_{\text{CH}_3}^{\text{as}}$	9.	1384	$\delta_{\text{CH}_2}$
3.	2340	$\delta_{\text{NH}_3^+}$	10.	1174	Vibrație de schelet a radicalului izopropil
4.	1628	$\nu_{\text{C=O}}^{\text{as}}$	11.	1156	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
5.	1594	$\delta_{\text{NH}_2^+}^s$	12.	1171	$\nu_{\text{C-N}}$
6.	1550	$\delta_{\text{NH}_2^+}^s$	13.	896	Trans- $\gamma_{\text{CH}}$
7.	1468	$\delta_{\text{CH}}^{\text{as}}$			

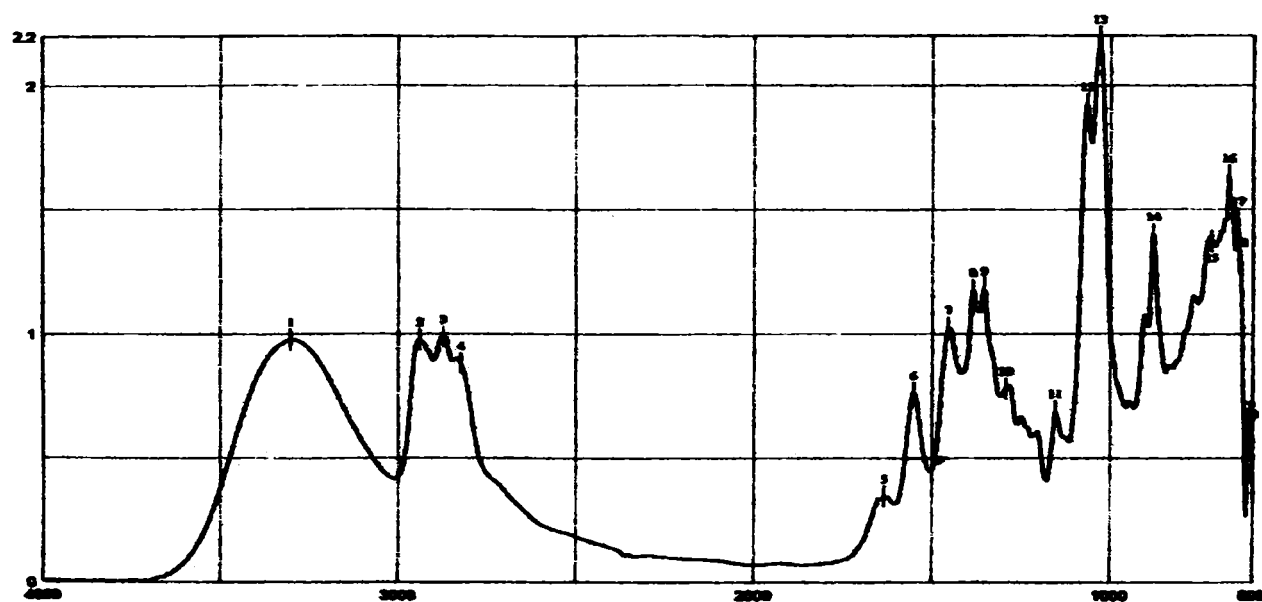
Spectrele de vibrație ale sărurilor acidului abietic cu mono, di- respectiv, trietanolamină, (figurile 5.10a-5.10c), păstrează în mare structura spectrelor precedente dar în plus apar o serie de benzi provenite de la resturile de alchilolamine. În cazul sării acidului abietic cu trietanolamină spectrul a fost realizat în film de nyol sarea prezentându-se sub forma unui compus semifluid.



a)



b)



c)

Fig.5.10: Spectrele de IR ale MEAA (a) și DEAA (b) efectuate în pastilă de KBr, respectiv TEAA (c) efectuat în film de nujol

Tabelul 5.31. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție observate în spectrul de IR al abietatului de trietanolamoniu (TEAA)

Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații
1.	3388	$\nu_{OH}$ din trietanolamină	8.	1420	$\nu_{C=O}^s$
2	3032	$\nu_{CH}$ din dubla legătură ciclică	9.	1385	$\delta_{CH_2}$
3	2940	$\nu_{CH_3}^{as}$	10.	1174	Vibrație de schelet a radicalului izopropil
4.	2368-2322	$\nu_{NH^+}$	11.	1156	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
5.	1633	$\nu_{C=C}$	12.	1066	$\nu_{C-N}$ dublet în t-alchilolamină
6.	1551	$\nu_{C=O}^{as}$	13.	1030	$\nu_{C-N}$ dublet în t-alchilolamină
7.	1454	$\delta_{CH}^{as}$	14.	880	Trans- $\gamma_{CH}$

Tabelul 5.32. Interpretări posibile ale principalelor benzi de absorbție observate în spectrele de IR ale abietatilor de monoetanolamoniu (MEAA) și dietanolamoniu (DEAA)

Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații	Nr. crt.	Poziția [cm <sup>-1</sup> ]	Observații
1.	2960	$\nu_{NH_2^+}$	8.	1420	$\nu_{C=O}^s$
2	2928	$\nu_{CH_3}^{as}$	9.	1384	$\delta_{CH_2}$
3	2340	$\delta_{NH_3^+}$	10.	1174	Vibrație de schelet a radicalului izopropil
4.	1628	$\nu_{C=O}^{as}$	11.	1156	Vibrație de schelet a radicalului izopropil cu umăr pe 1191,79
5.	1594	$\delta_{NH_2^+}^s$	12.	1171	$\nu_{C-N}$
6.	1550	$\delta_{NH_2^+}^s$	13.	896	Trans- $\gamma_{CH}$
7.	1468	$\delta_{CH}^{as}$	14.	3000-3200	$\nu_{OH}$

#### 5.4.2. Analiza cromatografică de HPLC a acidului abietic

Analiza cromatografică a probelor s-a realizat folosind cromatografia de lichid de înaltă performanță, de repartiție cu fază inversă având la bază procedura descrisă de metoda IPC-TM-650, [215] cu unele modificări specifice în scopul simplificării protocolului de lucru luând în considerare informațiile preliminare ale analizei spectrale.

##### Aparatură și materiale:

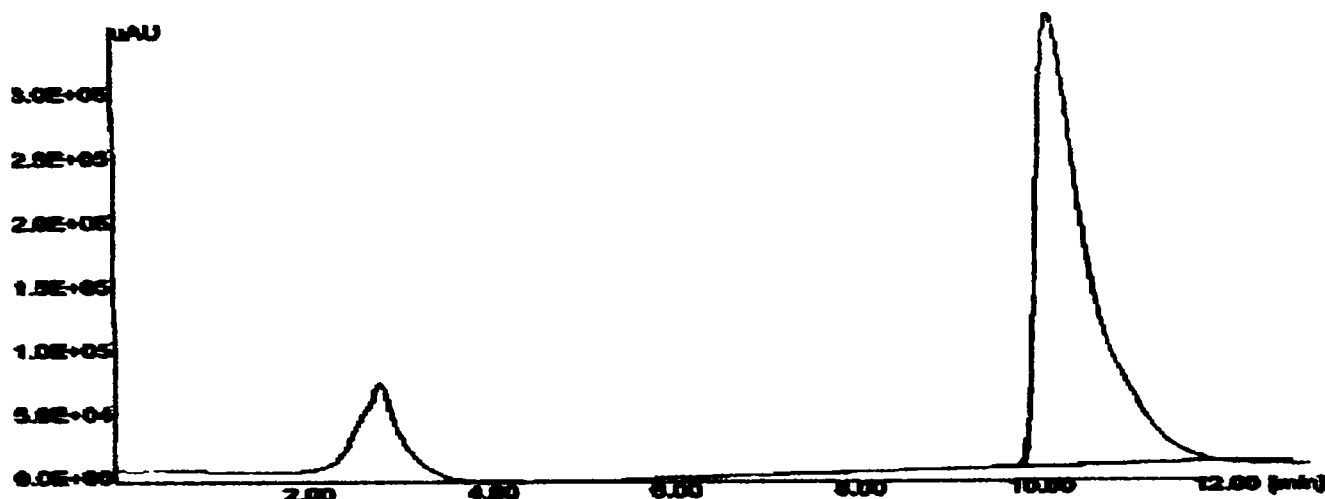
- cromatograf tip JASCO prevăzut cu pompă de injecție tip PU 1580 și degazor DG-1580-54, cu detector de UV-VIS (MD 1510), fixat la 240 nm respectiv 274 nm;
- coloană confecționată din oțel inox cu diametrul 250\*4,0 mm de tip NUCLEOSIL100 având ca umplutură particule sferice de silicagel 0,5 μm pe care sunt grefate resturi de octadecil;
- filtru Millex-GS (dimensiunea porilor 0,22 μm);
- substanță etalon: acid abietic 98-99% (Fluka Chemika);
- probe de analizat (câte 10 mg dizolvate în 50 ml acetonitril).

*Condițiile de lucru:*

- faza mobilă:- CH<sub>3</sub>CN (HPLC puritate);
- debitul folosit:- 1ml/min;
- temperatura coloanei:- 20°C;
- volumul de probă:- 10μL.

Prelucrarea datelor cromatogramei s-a făcut folosind un soft BORWIN PDA, versiunea 1.50.

Cromatogramele acidului abietic izolat din colofoniu și ale acidului abietic levogir purificat sunt prezentate în figura 5.11, a) și b).



a)



b)

**Fig.5.11: Cromatogramele acidului abietic obținute prin tehnica de HPLC cu fază inversă; a) acid abietic izolat din colofoniu și purificat prin recristalizări repetate din acid acetic; b) acid abietic separat din sarea sa cu (-)-chinină**

După cum se observă din figura de mai sus în ambele cazuri acidul abietic a fost bine resorbit de umplutura coloanei C18, cu fază inversă picul obținut fiind bine conturat, iar timpul de retenție corespunzător acidului abietic a fost de 10,213 min (Anexă). În cazul acidului abietic izolat din colofoniu și purificat prin 3 recristalizări din acid acetic glacial se poate observa existența unui al doilea pic care nu aparține clasei acizilor rezinici, aceștia în general având timpi de retenție apropiați cu ai acidului abietic în aceste condiții de lucru [170,215]. Având în vedere timpul relativ scurt la care compusul respectiv apare în cromatogramă considerăm că acesta este mai polar decât acidul abietic și că probabil este un derivat oxigenat al acidului dehidroabietic 15-OH -DHA sau 7-OH-DHA existent în colofoniu și care a fost extras împreună cu acidul în solventul de extracție. În conformitate cu datele furnizate de aceeași cromatogramă (fig.5.11 a)) acidul abietic obținut din colofoniu și purificat prin recristalizări repetate din acid acetic glacial a avut o puritate de 80,8696% față standardul folosit. Cromatograma din figura 5.11. b). corespunde acidului abietic levogir extras din sarea sa cu (-) chinină



prin procedeul descris în capitolul 4 paragraful 4.1. Se poate constata că prin această metodă de purificare a fost îndepărtat într-o proporție mare compusul oxigenat care apărea în prima variantă, puritatea calculată din raportul ariilor în acest caz crescând la 96,09%.

Pentru derivații acidului abietic analiza de HPLC nu se poate aplica din două motive: 1. Sărurile acidului abietic cu metalele alcaline sunt greu solubile în metanol sau alți solvenți organici;

2. Atât sărurile cu metale alcaline cât și cele cu amine (alchilolamine) au un pH alcalin mult mai mare decât 7. Aceste considerații ne-au determinat să apelăm la RMN și la MS pentru analiza acestor derivați.

#### 5.4.3. Analiza de rezonanță magnetică nucleară ( $^1\text{HRMN}$ ) a sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic

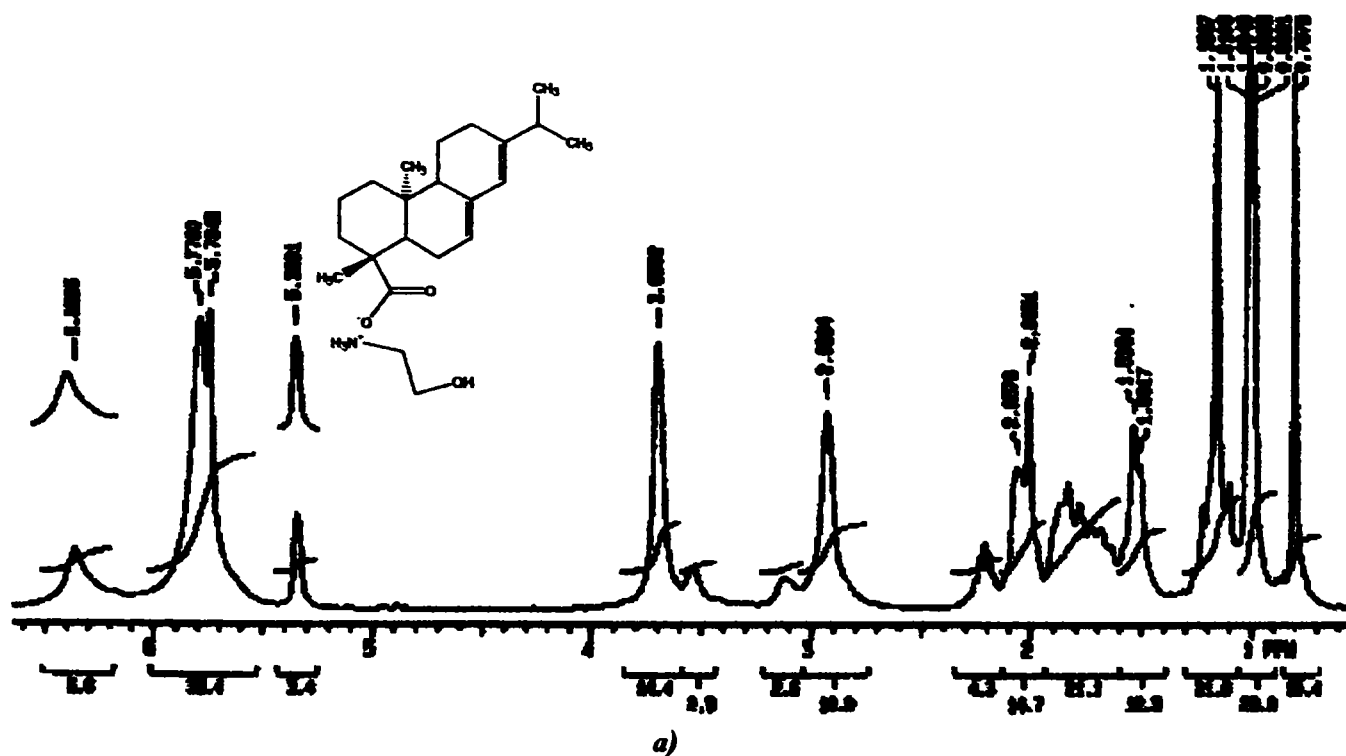
##### *Aparatură și materiale:*

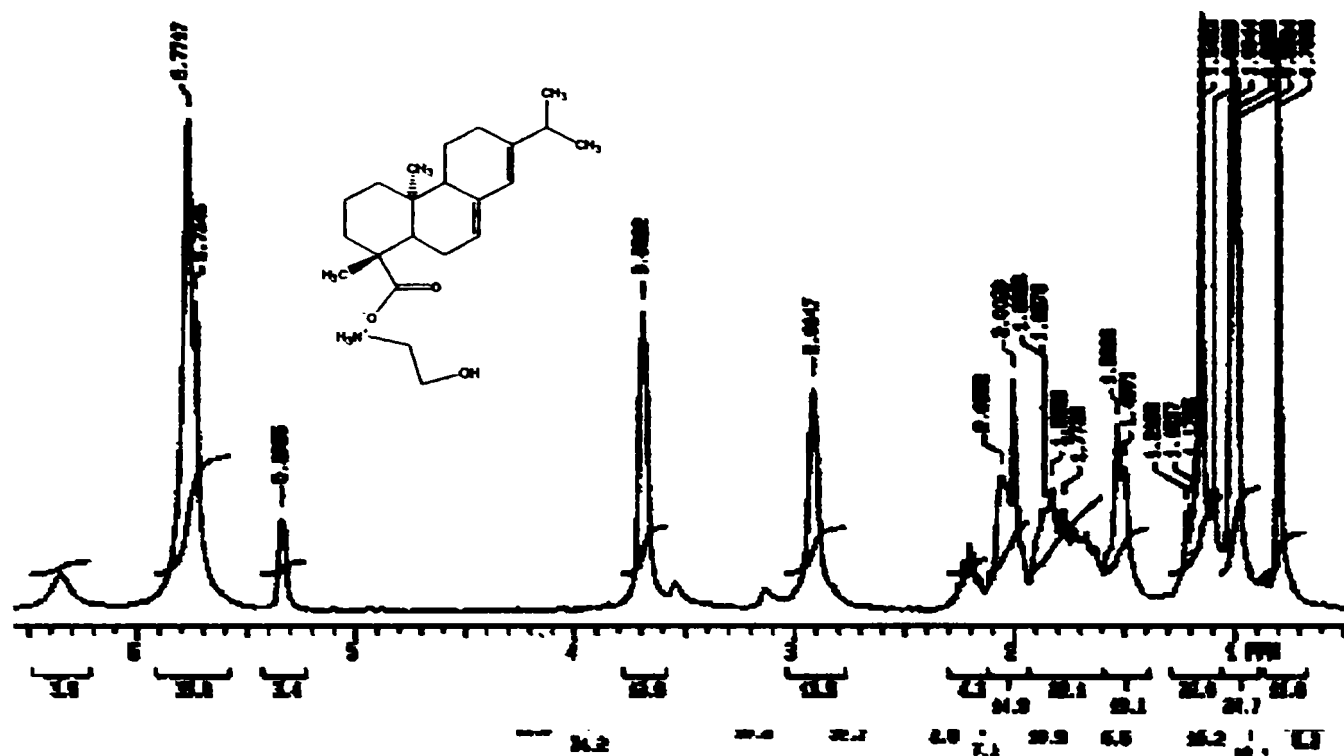
- aparat spectrofotometric tip Varian Gemini-600 cu frecvența câmpului magnetic de 600Hz;
- standard intern: tetrametilsilan (TMS);
- cloroform deuterat ( $\text{CDCl}_3$ ).

##### *Interpretarea rezultatelor*

Analizele spectrale de  $^1\text{HRMN}$  s-au efectuat doar produșilor obținuți din amine (etanolamine) și acid abietic precum și la o probă presupusă a fi amida acidului abietic cu monoetanolamina (MEAA), obținută prin menținerea la  $80^\circ\text{C}$  a unui amestec etanolic de monoetanolamină și acid, timp de 40 min. Analizele efectuate au încercat să identifice principalele grupe funcționale din moleculele de compușilor respectivi. Procedura de lucru este amintită în paragraful 4.2.2 iar spectrele de  $^1\text{HRMN}$  sunt prezentate în figurile 5.12-16. Din analiza spectrelor de  $^1\text{HRMN}$  se poate constata că acestea prezintă în toate cazurile anumite valori ale deplasărilor chimice care sunt comune tuturor ceea ce este normal având în vedere că toate au în structura lor anionul abietat. De asemenea nu s-au constatat modificări ale valorilor deplasărilor chimice la reluarea analizelor la un interval de o oră, ci doar mici modificări ale intensității picurilor. De menționat că deplasările chimice corespunzătoare grupării funcționale  $\text{R-NH}_3^+$  apar sub forma unor picuri de intensitate foarte slabă la 6,3566 ppm în cazul sării cu monoetanolamină, respectiv la 6,2293 ppm în cazul celei cu izobutilamină iar cele corespunzătoare  $\text{R-NH}_2^+$  respectiv  $\text{R-NH}^+$  apar la 5,78 ppm, respectiv la 5,75 ppm în spectru. În cazul presupusei amide protonul de la azotul amidei apare sub forma unui singlet la 4,88 ppm

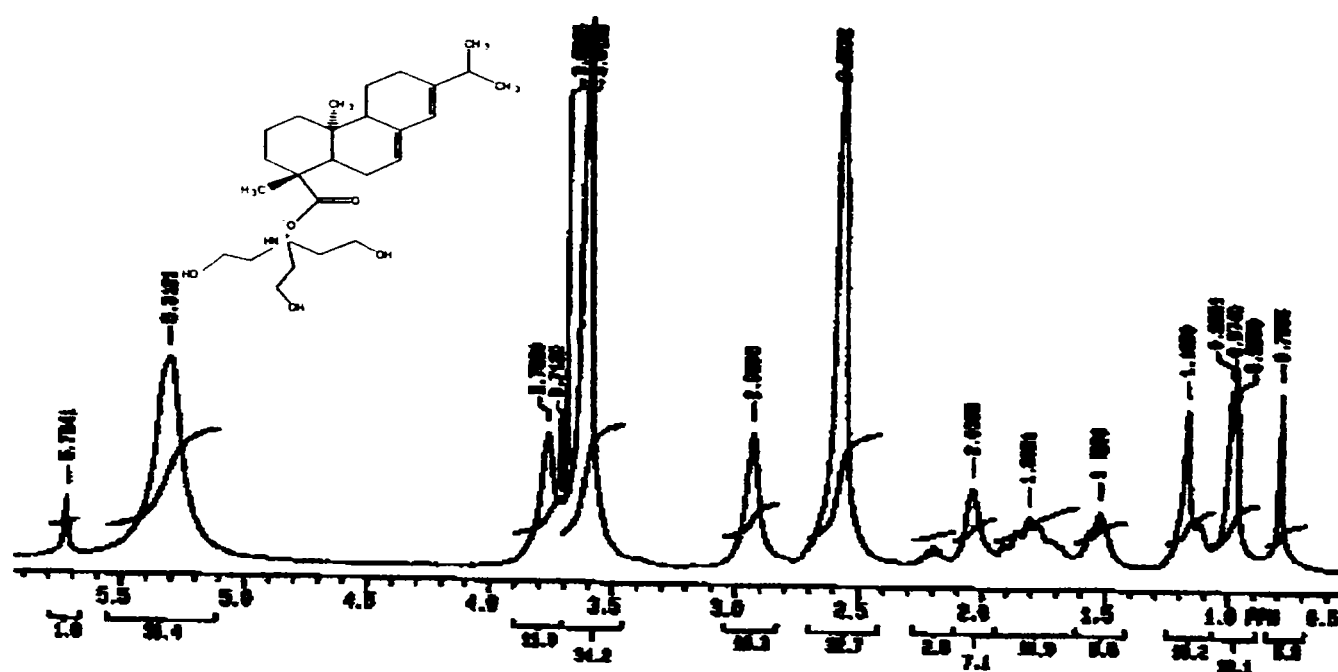
Principalele valori ale deplasărilor chimice și semnificația lor pentru sărurile acidului abietic cu mono, și trietanolamină precum și cele pentru proba MEAA sunt date în tabelul 5.33 iar cele referitoare la sărurile cu amine în tabelul 5.34.





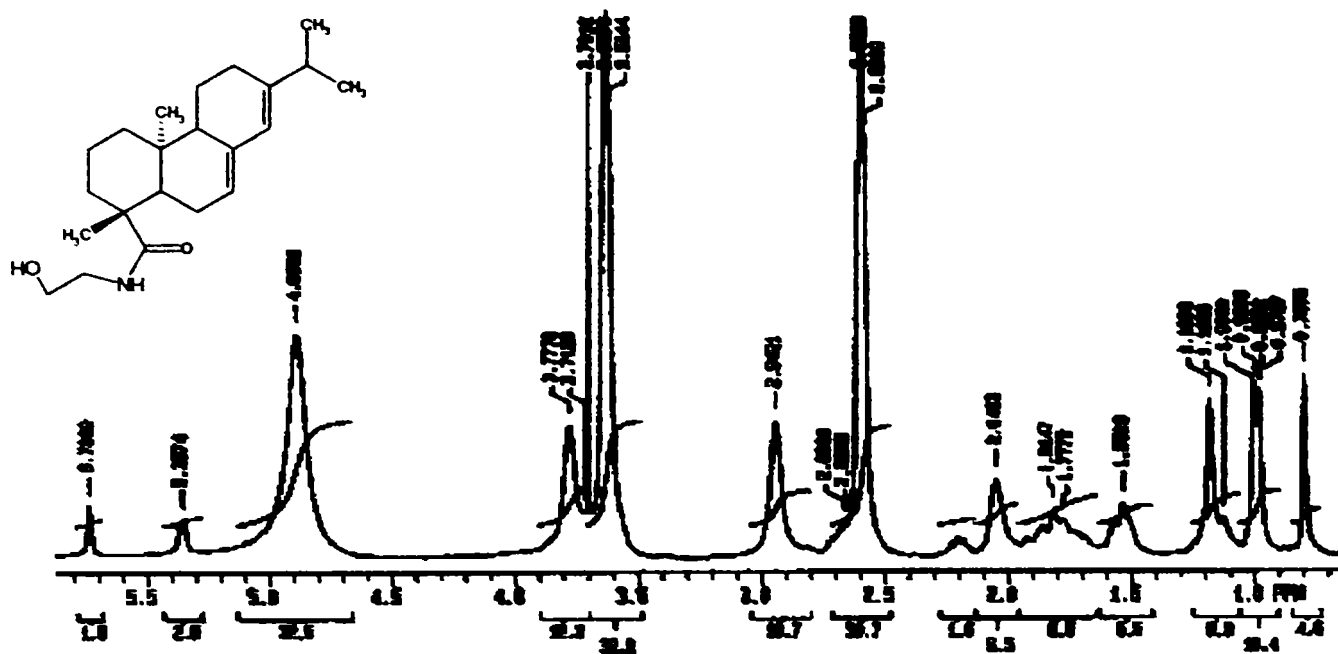
b)

Fig.5.12: Spectrul de  $^1\text{HRMN}$  al abietatului de monoetanolanoniu abietat, a) imediat după plasarea în câmp magnetic a probei; b) după o oră de staționare în câmp electromagnetic

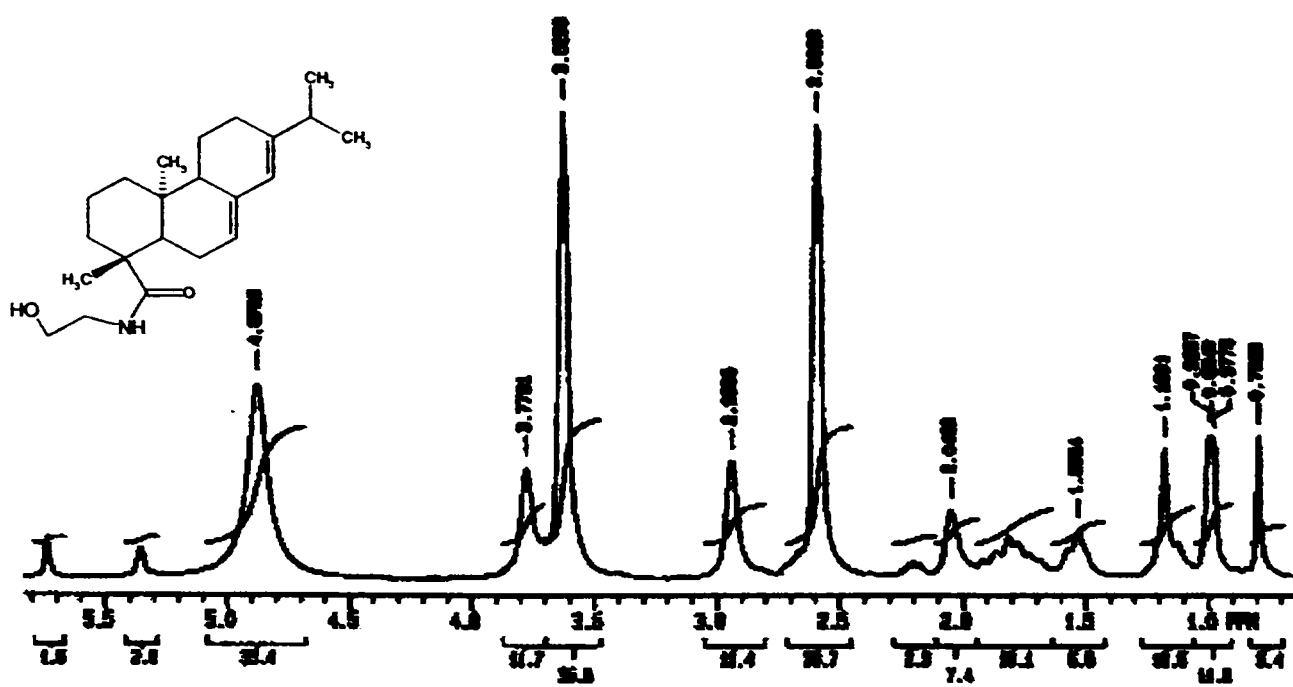


a)

Fig.5.13: Spectrul de  $^1\text{HRMN}$  al abietatului de trietanolanoniu imediat după plasarea în câmp electromagnetic a probei



a)

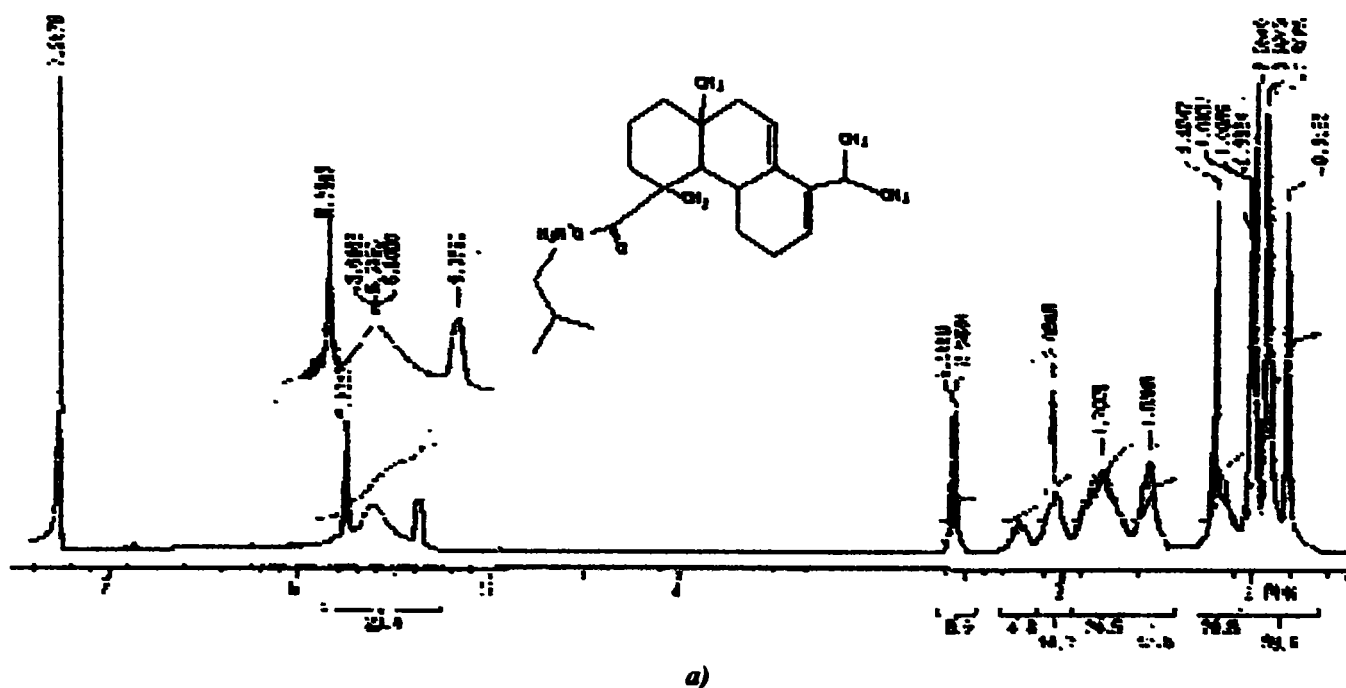


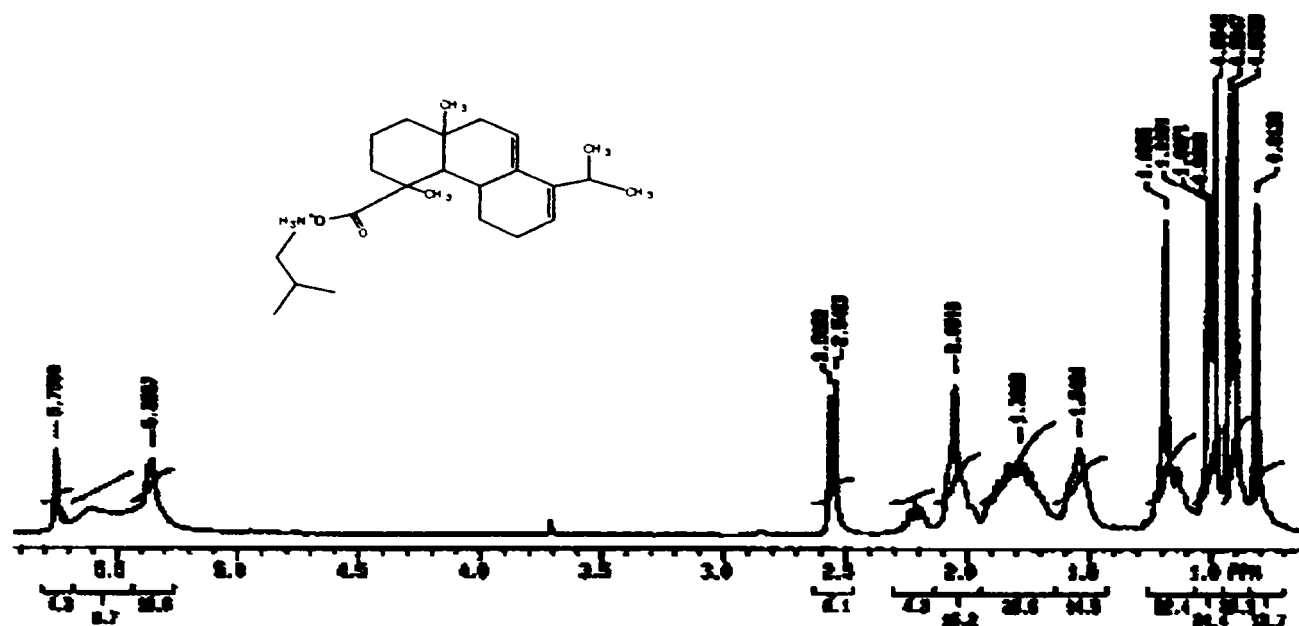
b)

Fig.5.14: Spectrul de  $^1\text{H}$ RMN al abietatului de monoetanolină imediat după plasarea în câmp electromagnetic a probei (a); după o oră de staționare în câmp electromagnetic (b)

Tabelul 5.33. Interpretări posibile ale principalelor deplasări chimice ale protonilor din spectrele de  $^1\text{HRMN}$  (600Hz) ale MEAA, DEAA respectiv TEAA

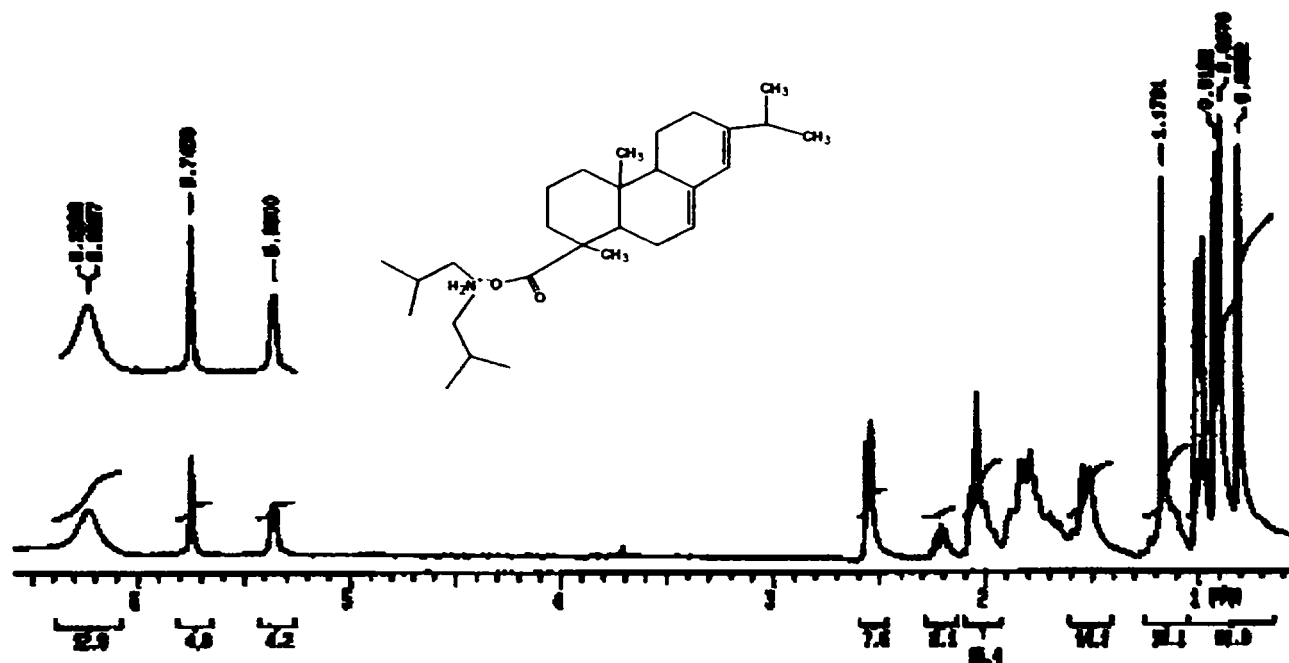
Nr. crt.	Compusul analizat	Deplasarea chimică ( $\delta$ ) [ppm]
1.	MEAA	0,78 (s, 3H, $\text{CH}_3$ angular); 0,98-1,01 (d, 6H, izopropil); 1,15 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{18}$ )); 1,22 (2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_{11}$ )); 1,51-1,54 (d, 4H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_6$ , $\text{C}_{12}$ )); 1,63-1,86 (m, 6H $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_2$ , $\text{C}_3$ , $\text{C}_1$ )); 2,040-2,042 (t, 2H $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_5$ , $\text{C}_9$ )); 2,21-2,23 (m, H, $\text{CH}$ , izopropil ( $\text{C}_{15}$ )); 2,9 (2H, $\text{CH}_2$ ( $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N H}^+_3$ )); 3,69 (t, 2H, $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N H}^+_3$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,73 (s, H, OH din monoetanolamina); 5,77; (d, 2H, $\text{NH}^+_3$ ); 5,73 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{17}$ )); 6,3566 (s, H, $\text{NH}^+_3$ ).
2.	TEAA	0,78 (s, 3H, $\text{CH}_3$ angular); 0,96-0,98 (d, 6H, izopropil); 1,16 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{18}$ )); 1,22 (2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_{11}$ )); 1,51-1,54 (t, 2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_1$ )); 1,6-1,80 (m, 6H $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_2$ , $\text{C}_3$ , $\text{C}_1$ )); 2,03 (t, H $\text{CH}$ , ( $\text{C}_5$ , $\text{C}_9$ )); 2,21-2,23 (m, H, $\text{CH}$ , izopropil ( $\text{C}_{15}$ )); 2,9 (6H, $\text{CH}_2$ ( $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ) $_3$ - $\text{N H}^+$ ); 3,61 (t, 6H, ( $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ ) $_3$ - $\text{N H}^+$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,31 (s, 3H, OH din trietanolamina); 5,72 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{17}$ )); 5,72 (s, H, $\text{NH}^+$ ).
3.	MEA (amida acidului abietic cu monoetanolamina)	1,51-1,54 (t, 4H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_1$ , $\text{C}_3$ )); (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{18}$ )); 1,22, (2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_{11}$ )); 2,21-2,23 (m, H, $\text{CH}$ , izopropil ( $\text{C}_{15}$ )); 2,9 (4H, $\text{CH}_2$ ( $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N H}^+$ )); 3,69 (t, 4H, $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N H}^+$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,73 (s, H, OH din monoetanolamina); 5,77; (d, 2H, $\text{NH}^+_3$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,73 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{17}$ )).



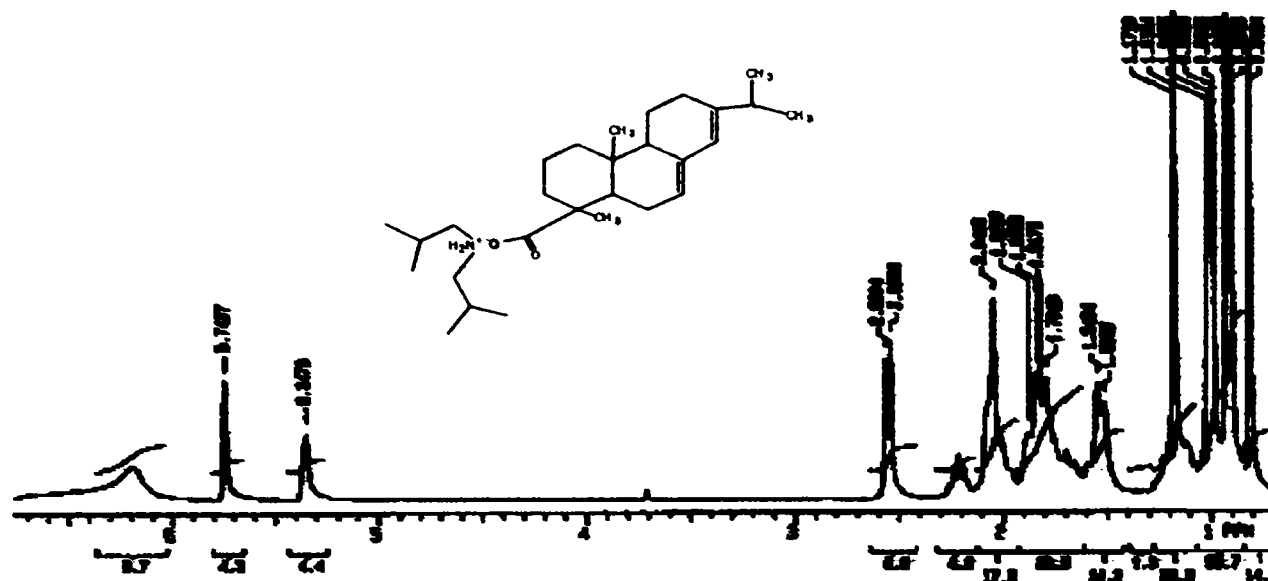


b)

Fig.5.15: Spectrul de  $^1\text{HRMN}$  al abietatului de izobutilamoniu imediat după plasarea în câmp electromagnetic a probei (a); după o oră de staționare în câmp electromagnetic (b)



a)



b)

Fig.5.16: Spectrul de  $^1\text{HRMN}$  al abietatului de diizobutillamoniu imediat după plasarea în câmp electromagnetic a probei (a); după o oră de staționare în câmp electromagnetic (b)

Tabelul 5.34. Interpretări posibile ale principalelor deplasări chimice ale protonilor din spectrele de  $^1\text{HRMN}$  (600Hz) ale IBAA respectiv DIBAA

Nr. crt.	Compusul analizat	Deplasarea chimică ( $\delta$ ) [ppm]
1.	IBAA	0,81 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{19}$ )); 0,90-0,92 (d, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ , $\text{C}_{16}$ și $\text{C}_{17}$ ); 0,98-1,00 (cvadruțlet scindat în două dublete, 6H, 2 metili necchivalenți din gruparea izobutil de la restul aminic); 1,18 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{18}$ )); 1,22, (2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_{11}$ )) 1,51-1,54 (d, 4H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_6$ , $\text{C}_{12}$ )); 1,69-1,87 (m, 6H $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_2$ , $\text{C}_3$ , $\text{C}_1$ )); 2,040-2,042, (t, H $\text{CH}$ , ( $\text{C}_5$ , $\text{C}_9$ )); 2,21-2,23 (m, H, $\text{CH}$ , izopropil ( $\text{C}_{15}$ )); 2,54-2,56, (d, 2H, $\text{CH}_2$ , $\text{CH}_2\text{-NH}_3^+$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,60 (s, 3H $\text{NH}_3^+$ ); 5,74 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_7$ ));
2.	DIBAA	0,81 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{19}$ )); 0,90-0,92 (d, 6H, izopropil, $\text{C}_{16}$ și $\text{C}_{17}$ ); 0,98-1,00 (cvadruțlet scindat în două dublete, 12H, câte 2 grupări metili necchivalente pentru fiecare din grupările izobutil de la restul aminic); 1,18 (s, 3H, $\text{CH}_3$ ( $\text{C}_{18}$ )); 1,22, ( $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_{11}$ )) 1,53 (t, 4H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_1$ , $\text{C}_3$ )); 1,74-1,83 (m, 2H, $\text{CH}_2$ , ( $\text{C}_2$ )); 2,05, (t, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_5$ , $\text{C}_9$ )); 2,21-2,23 (m, H, $\text{CH}$ , izopropil ( $\text{C}_{15}$ )); 2,53-2,56, (d, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{-NH}_2^+$ ); 5,35 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_{14}$ )); 5,74 (s, H, $\text{CH}$ , ( $\text{C}_7$ )); 6,22 (s 2H, $\text{NH}_2^+$ )

#### 5.4.4. Analiza prin spectrometrie de masă

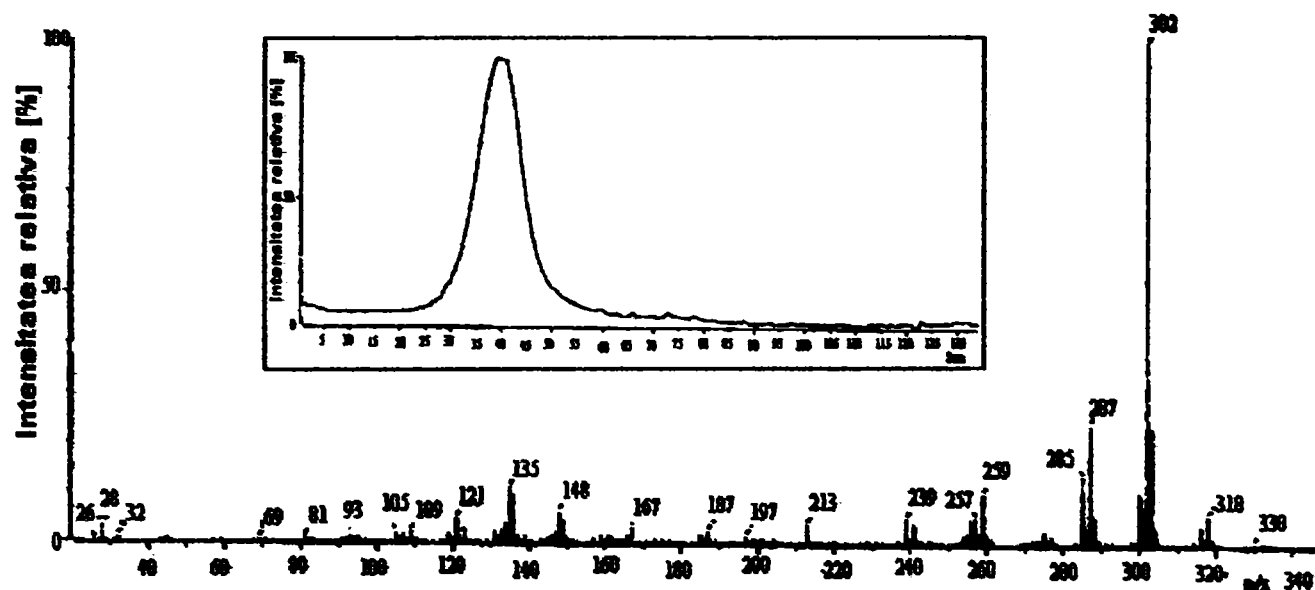
##### 5.4.4.1. Analiza colofoniului și a sărurilor acidului abietic cu metale prin DTMS

După cum s-a mai menționat în capitolul de studii de literatură (capitolul 3, paragraful 3.4.2.), DTMS este considerată o metodă de analiză foarte potrivită pentru analiza amestecurilor complexe de compuși diterpenoidici. Ea reprezintă la ora actuală o metodă directă de analiză prin spectrometrie de masă, care combină evaporarea și degradarea termică a amestecurilor de compuși organici care se diferențiază între ei atât printr-o polaritate diferită cât și prin mase moleculare diferite. Principalele sale avantaje constau în rapiditatea analizei această tehnică neavând nevoie de o pregătire prealabilă specială a probelor de analiză, cât mai ales proprietatea sa de tehnică de *fingerprint* în caracterizarea amestecurilor de diterpenoide. În plus datorită existenței unei corelații foarte strânse între volumul fluxului de electroni ionizanți, spațiul de producere a moleculelor neutre și axa de extracție din spectrometrul de masă, interacțiunile componentelor extrase din proba supusă analizei cu pereții camerei de ionizare sunt minime, ceea ce este total diferit cu tehnica de separare prin gaz-cromatografie. Din acest motiv prin DTMS pot fi analizate substanțe atât cu polaritate mai mare cât și

cu mase moleculare mai mari decât permit tehnicile de gaz cromatografie. De asemenea nu numai compușii diterpenoidici pot fi analizați prin această tehnică dar și sărurile acizilor abietici cu metale, metoda permițând detectarea atât a ionilor de metale alcaline (sodiu, potasiu), cât și a metalelor grele (mercur, cupru, cadmiu, plumb, etc.) un studiu amănunțit fiind efectuat în acest sens de Boon și colaboratorii [171,172,173].

Protocolul de lucru pentru analiza colofoniului și a sărurilor cu metale alcaline ale acidului abietic prin DTMS a fost descris în **paragraful 4.4.1**. Într-o primă etapă probele au fost analizate în scopul determinării domeniilor de temperatură în care apar diferitele clase de compuși din probe (acizii liberi, produșii de oxidare, compușii macromoleculari, impuritățile, etc.), a efectelor chimice pe care procesul de încălzire le poate induce asupra structurii lor și nu în ultimul rând ce fragmente de ioni specifice pot fi detectate după o ionizare electronică la 16eV a compușilor volatili. În a doua etapă pentru compararea datelor experimentale obținute, probele au fost supuse și analizei ESI atât în modul pozitiv cât și în cel negativ.

Rezultatele obținute sunt prezentate în figurile 5.17-5.19.



**Fig.5.17: Spectrul de masă DTMS însumat al colofoniului (în interior este reprezentat ionul total curent TIC)**

După cum se observă din figura de mai sus analiza DTMS în cazul colofoniului arată că majoritatea ionilor desorbiți au fost detectați în intervalul de scanare 35-46 în ionul total curent (figura din interior), ceea ce indică o volatilitate relativ redusă a colofoniului. Spectrul de masă însumat pentru intervalul de scanare 35-46 a identificat prezența acidului abietic, ionul său molecular fiind considerat și ion de bază ( $m/z$  302), precum și fragmentele de ion specifice formate în urma ruperii ciclurilor hidrocarbonate ( $m/z$  259;  $m/z$  121;  $m/z$  105, etc.) după cum se poate observa și prin compararea spectrului obținut experimental cu cel din colecția de spectre de masă [155] prezentat și în **figura 3.34**. Alături de ionul molecular al acidului abietic s-au mai identificat ionii moleculari ai unor produși de oxidare ai acidului abietic ( $m/z$  318,  $m/z$  330) precum și ionii moleculari corespunzători unor acizi grași saturați C16 (palmitic,  $m/z$  257  $[M+1]^+$ ) precum și fragmentele lor ionice obținute atât în urma pierderii de molecule de apă ( $m/z$  239) sau ca urmare a ruperii lantului de atomi de carbon ( $m/z$  213)  $[M-43]^+$ . La valori joase ale masei se pot observa ioni de alchil la  $m/z$  69, 81, 93, corespunzătoare seriilor  $C_nH_{2n-1}$  (alchene, cicloalcani) și respectiv  $C_nH_{2n-3}$  (cicloalchene) care însă nu sunt foarte intense furnizând astfel informații structurale minore [159].

Spectrul de masă al colofoniului în varianta ESI negativ tot la 16 eV, prezintă o situație mai complexă după cum se observă și din figura 5.18 a și b. Spre deosebire de varianta precedentă spectrele de masă în această variantă relevă prezența unui număr mare de fragmente de ioni negativi fiecare deosebindu-se de altul prin 16 unități masice greu de identificat. Complexitatea spectrelor poate fi explicată prin faptul că de această dată acidul abietic din colofoniu se prezintă sub formă polimerizată fapt ce este dovedit și prin prezența în spectrul de masă al colofoniului în variantă (+ESI) a formelor polimere: 2M, 3M, 4M, și 5M, ale acidului abietic după cum se poate observa și din figura 5.19. De asemenea datorită complexității spectrului de ESI nu se mai poate sesiza prezența produșilor de oxidare ai acidului precum nici fragmentele de ioni corespunzătoare prezenței unor acizi grași. În schimb ca și în cazul analizei DTMS și aici se constată abundența majoritară a acidului

abietic la formarea curentului ionic, în varianta (-ESI) ionul de bază apărând în forma  $[2M+H]^+$  unde  $M$  = ionul abietat cu  $m/z$  301,2. În varianta +ESI ca ion de bază apare fragmentul cu  $m/z$  673 dar se regăsește și acidul abietic sub forma  $[2M+2H+Na]^+$  ( $m/z$  627). Apariția ionului de sodiu poate fi explicată dacă luăm în considerare că în prealabil colofoniul a fost dizolvat într-o soluție alcalină de metanol în scopul eficientizării procesului de ionizare al acestuia. Se poate de asemenea constata că și în această variantă în intervalul de scanare 600-800  $m/z$  fragmentele de ioni care apar diferă unul față de altul prin 16 unități ( $m/z$  657, 673, 691, etc.) ceea ce conduce la concluzia că fragmentele respective de ioni s-au format printr-un mecanism mult mai complex decât cel al simplelor scindări homolitice [117].

Din prezentarea comparativă a celor două de tehnici de analiză ale spectrometriei de masă se poate concluziona că în cazul colofoniului metoda DTMS oferă informații mult mai exacte și într-un timp mai rapid asupra compoziției structurale ale amestecului analizat.

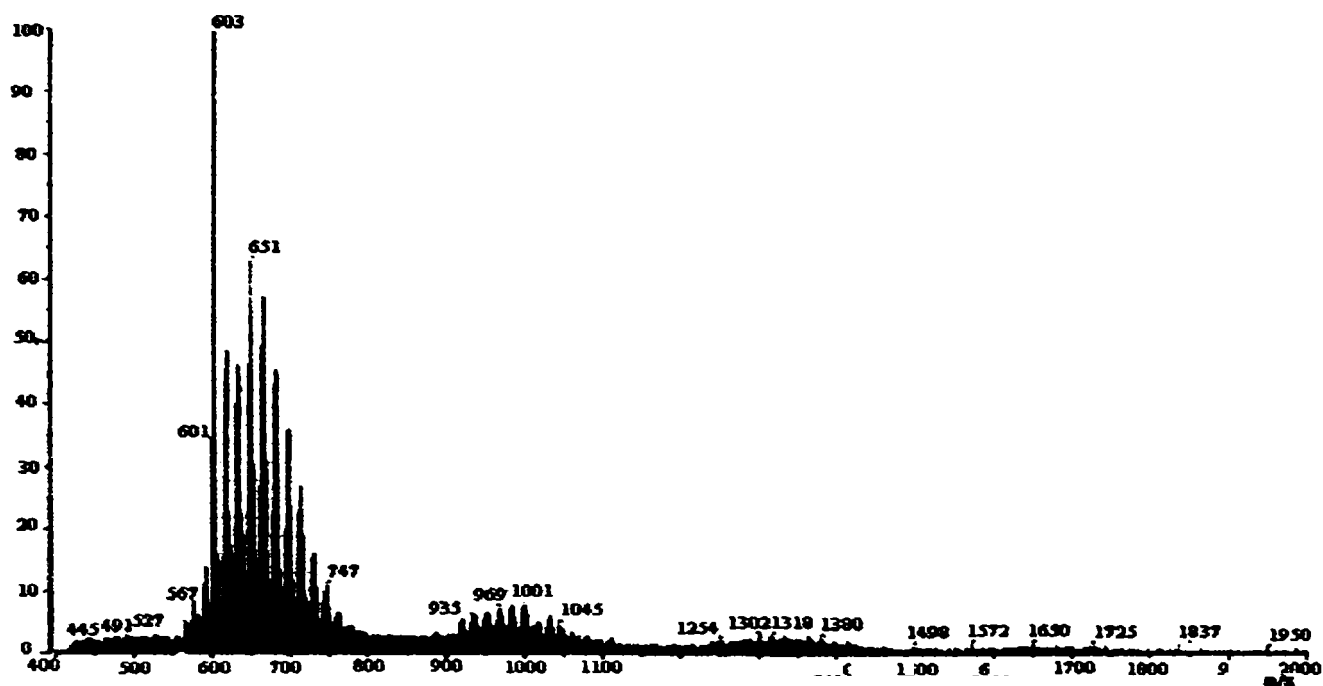


Fig.5.18.a: Spectrul de masă al colofoniului în variantă (-ESI) la 16 eV pe un interval cuprins între 400-2000  $m/z$

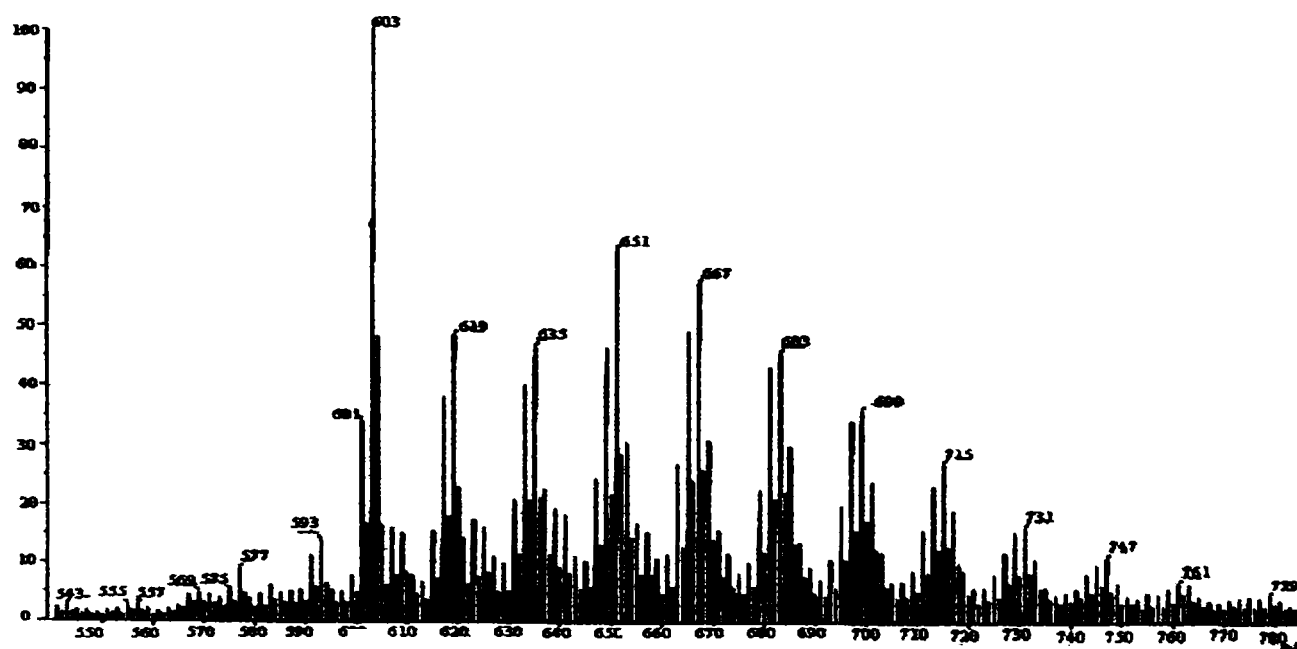


Fig.5.18.b: Spectrul de masă al colofoniului în variantă (-ESI) la 16 eV scanat pe un interval cuprins între 500-800  $m/z$  (b)



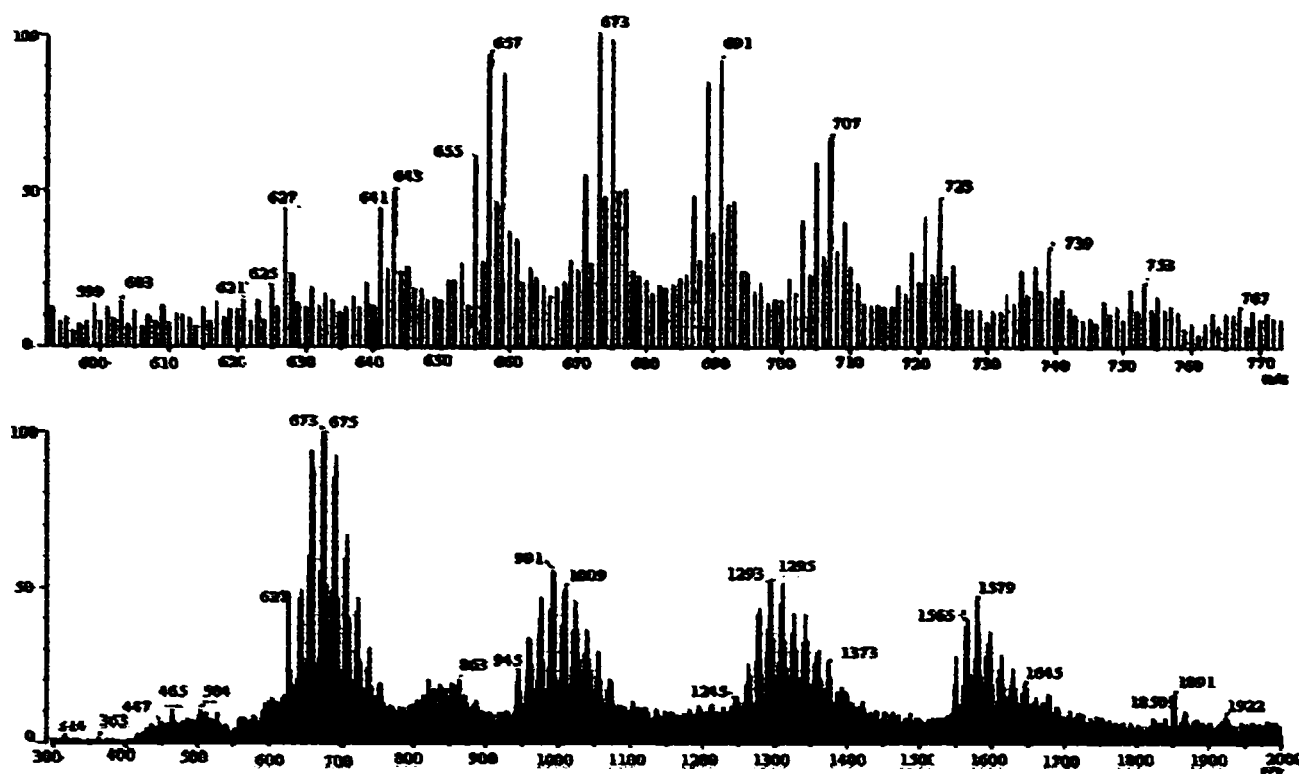


Fig.5.19: Spectrul de masă al colofoniului în variantă (+ESI) la 16 eV scanat pe un interval cuprins între 600-800 m/z (sus) respectiv 300-2000 m/z (jos)

Analiza DTMS a abietaiților de sodiu ( $C_{19}H_{29}(CO)ONa$ ) și potasiu ( $C_{19}H_{29}(CO)OK$ ) a fost efectuată în aceleași condiții de lucru ca și în cazul colofoniului, iar rezultatele analizelor au prezentat 2 picuri în TIC la 44-54 și 69-73 în cazul abietatului de sodiu (figura 5.20 a ; b), respectiv la 38-57 și 65-71 pentru abietatul de potasiu (figura 5.21 a; b). Spectrul de masă însumat corespunzător primului pic din figura 5.20 a evidențiază prezența ionului molecular corespunzător acidului abietic liber ca și ion de bază  $m/z$  302 precum și seria de fragmente de ioni tipică pentru acest compus  $m/z$  259  $[M-43]^+$ ;  $m/z$  241  $[M-43-18]^+$  etc. după cum se poate observa și din figura 3.34. Ionii observabili în spectrul de masă însumat corespunzător picului 2 din TIC figura 5.20 b pot fi atribuiți abietatului de sodiu sodiatat  $m/z$  347 și respectiv unor clusterse formate din sodiatat asociat cu o parte de abietat de sodiu  $m/z$  671. Apariția acestor clusterse, observabile și în cazul analizei colofoniului prin ESI a fost evidențiată de către Boon și colaboratorii în cazul probelor supuse analizei DTMS și care conțineau NaCl [173]. Valorile mari ale temperaturii la care are loc desorbția compusului de pe filamentul de piroliză confirmă volatilitatea mult mai redusă a abietatului de sodiu comparativ cu a acidului liber. În afară de ionii de sodiatat au mai fost detectați și ionii corespunzători acidului abietic liber (ionul molecular și fragmentele de ioni care iau naștere din acesta în urma ionizării probei), precum și cel corespunzător ionului de sodiu  $m/z$  23 (primul pic din zona corespunzătoare maselor joase).

O analiză similară se poate face și în cazul spectrului DTMS pentru abietatul de potasiu. În conformitate cu figura 5.21 a, primul pic din TIC de la 38-57 relevă prezența acidului abietic în stare liberă, alături de fragmentele de ioni asociate. În intervalul de scanare 65-71 (figura 5.21 b) spectrul de masă însumat evidențiază prezența abietatului de potasiu,  $m/z$  340 dar nu și a omologului corespunzător sodiatatului de sodiu. În schimb apare ionul cu masa  $m/z$  379  $[M+2K]^+$ .

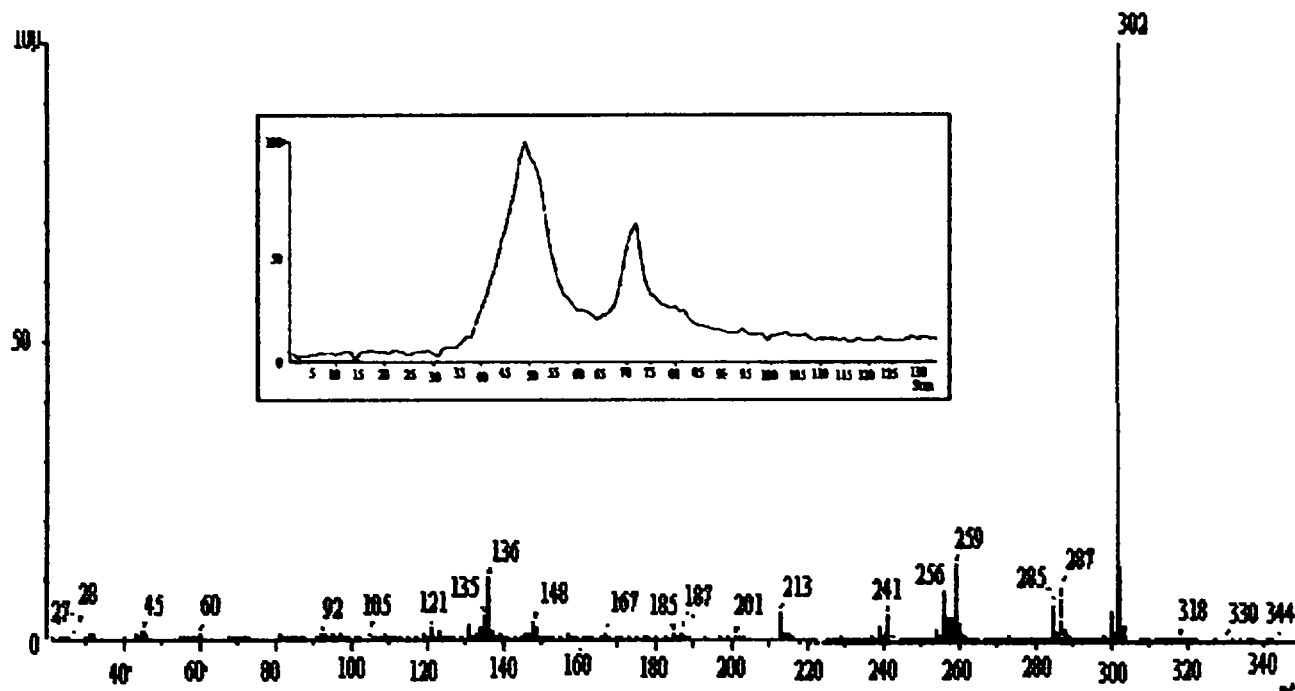


Fig.5.20.a: Spectrul de masă DTMS însumat al abietatului de sodiu (în interior este reprezentat ionul total curent TIC pe intervalul de scanare 44-54)

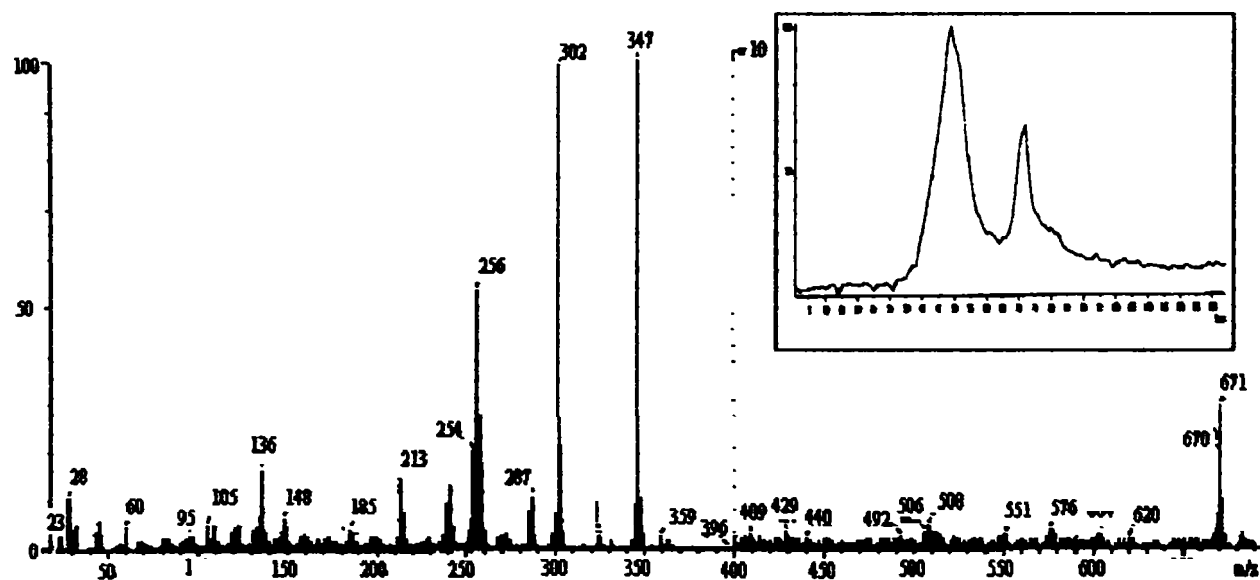


Fig.5.20.b: Spectrul de masă DTMS însumat al abietatului de sodiu (în interior este reprezentat ionul total curent TIC pe intervalul de scanare 69-73)

Pe lângă acești ioni, similar spectrului DTMS corespunzător abietatului de sodiu, apare și în acest caz, ionul molecular al acidului abietic cu fragmentele de ioni asociate îndeplinind și rolul de ion de bază. De asemenea spre deosebire de spectrul abietatului de sodiu în spectrul DTMS al abietatului de potasiu apar o serie de ioni corespunzători unor produși de oxidare ai acidului abietic ( $m/z$  363, 508, 703, 719). În zona corespunzătoare valorilor mici ale masei se poate constata și apariția ionului metalic de potasiu  $m/z$  39.

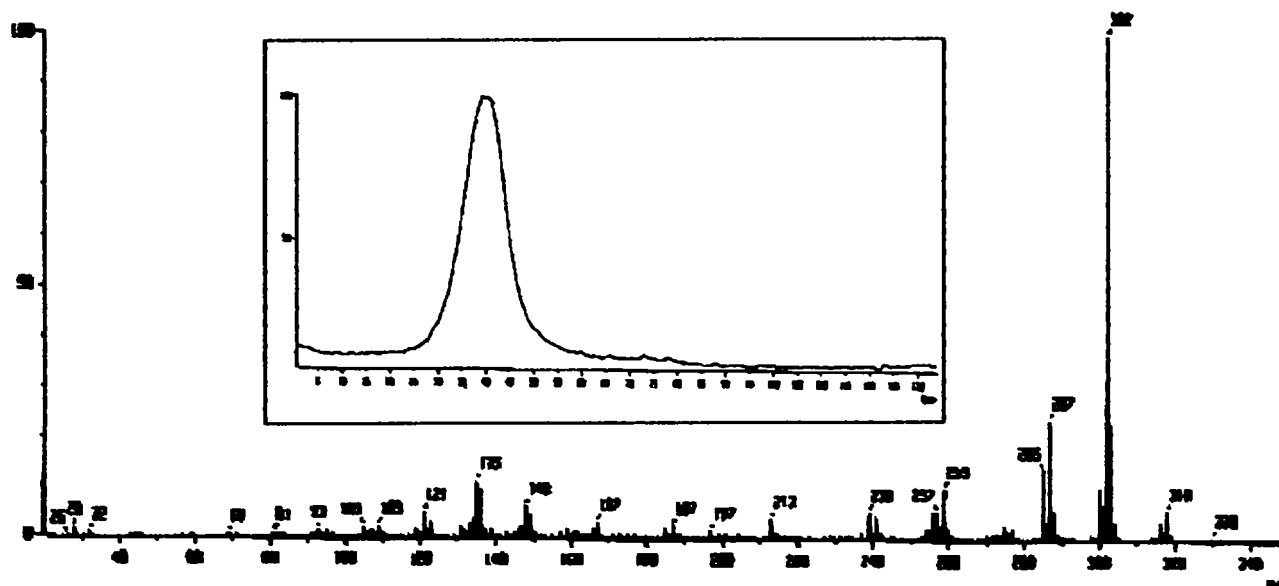


Fig.5.21a: Spectrul de masă DTMS însumat al abietatului de potasiu (în interior este reprezentat ionul total curent TIC pe intervalul de scanare 38-57)

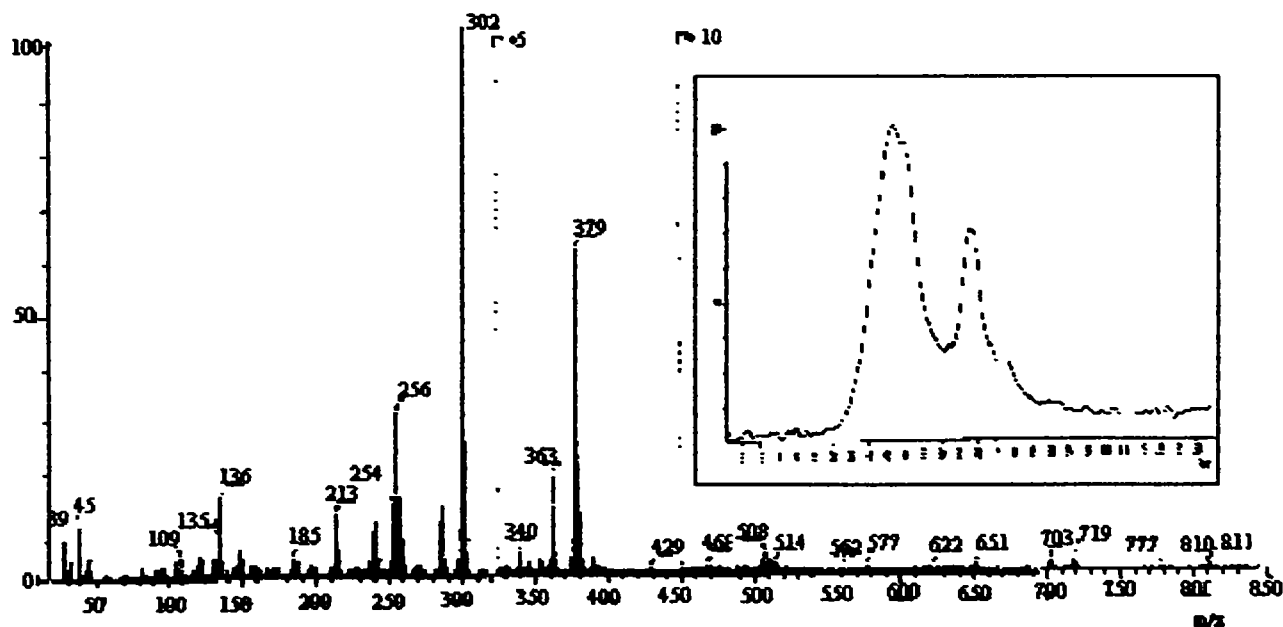


Fig.5.21.b: Spectrul de masă DTMS însumat al abietatului de potasiu (în interior este reprezentat ionul total curent TIC pe intervalul de scanare 65-71)

După cum se observă din spectrele analizate (bazate pe timpul de apariție a picurilor în TIC) în compoziția sărurilor de sodiu respectiv potasiu pot fi identificate două forme de acid abietic și anume forma liberă și forma de abietat de sodiu (potasiu) neutră. Analiza comparativă a aceluși compus ai acidului abietic prin (-ESI) confirmă în mare măsură analizele de DTMS. Astfel în spectrul de masă al abietatului de sodiu, figura 5.22, ionul molecular  $m/z$  625  $[2M+Na]^-$  este și ion de bază urmat de o serie de picuri corespunzând unor fragmente de ioni de forma  $[3M+2Na]^-$   $m/z$  949;  $[4M+3Na]^-$   $m/z$  1272;  $[5M+4Na]^-$   $m/z$  1596. În schimb prezența impurităților datorate produșilor de oxidare nu s-a constatat în această variantă, acest fapt putând fi pus fie pe condițiile de ionizare aplicate care nu permit vizualizarea lor, fie contribuția lor la intensitatea curentului ionic este atât de mică încât practic sunt considerate a fi neglijabile. De altfel luând în considerare și rezultatele analizei de AAS privind procentele de Na existente în proba de analiză, precum și analizele chimice (punct de topire, indice de refracție etc.) ca și analizele spectrale de IR putem să concluzionăm că puritatea sării

acidului abietic cu sodiu este foarte mare. În ceea ce privește abietatul de potaiu, spectrul său de (-ESI) (figura 5.23) prezintă aceleași caracteristici ca și cel de sodiu, ionul de bază fiind în acest caz ionul cu formula  $[2M + K]$ .

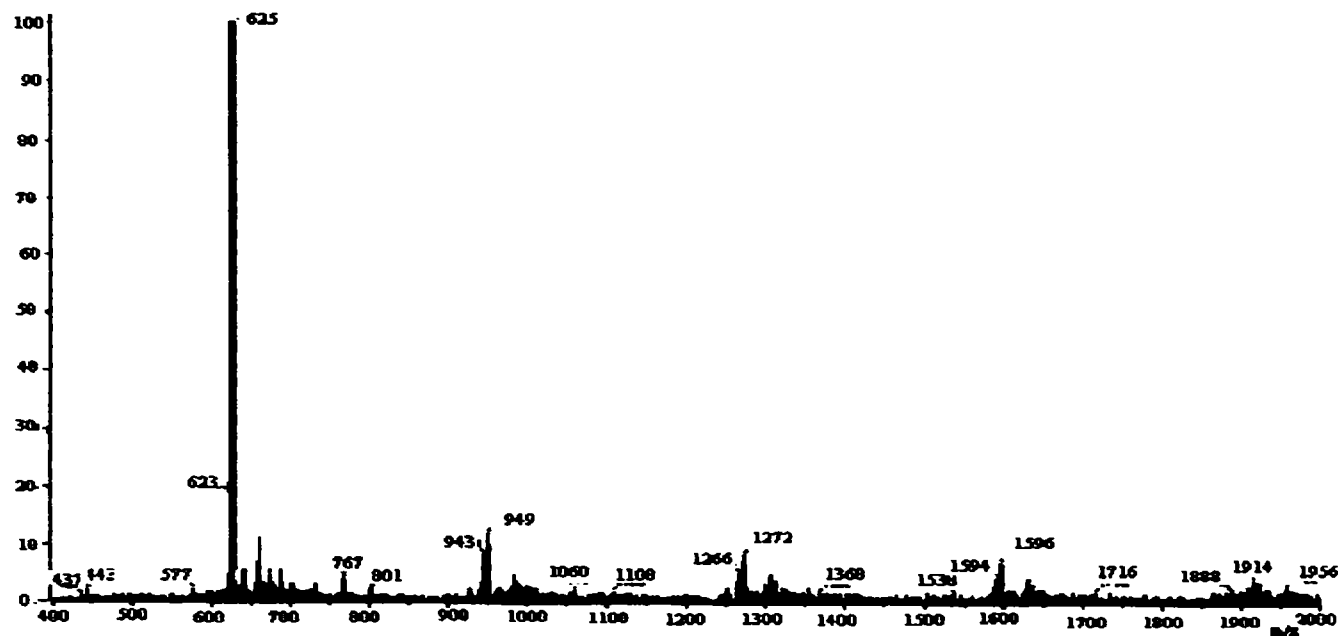


Fig.5.22: Spectrul de masă al abietatului de sodiu în variantă (-ESI) la 16 eV scanat pe un interval cuprins între 500-2000 m/z

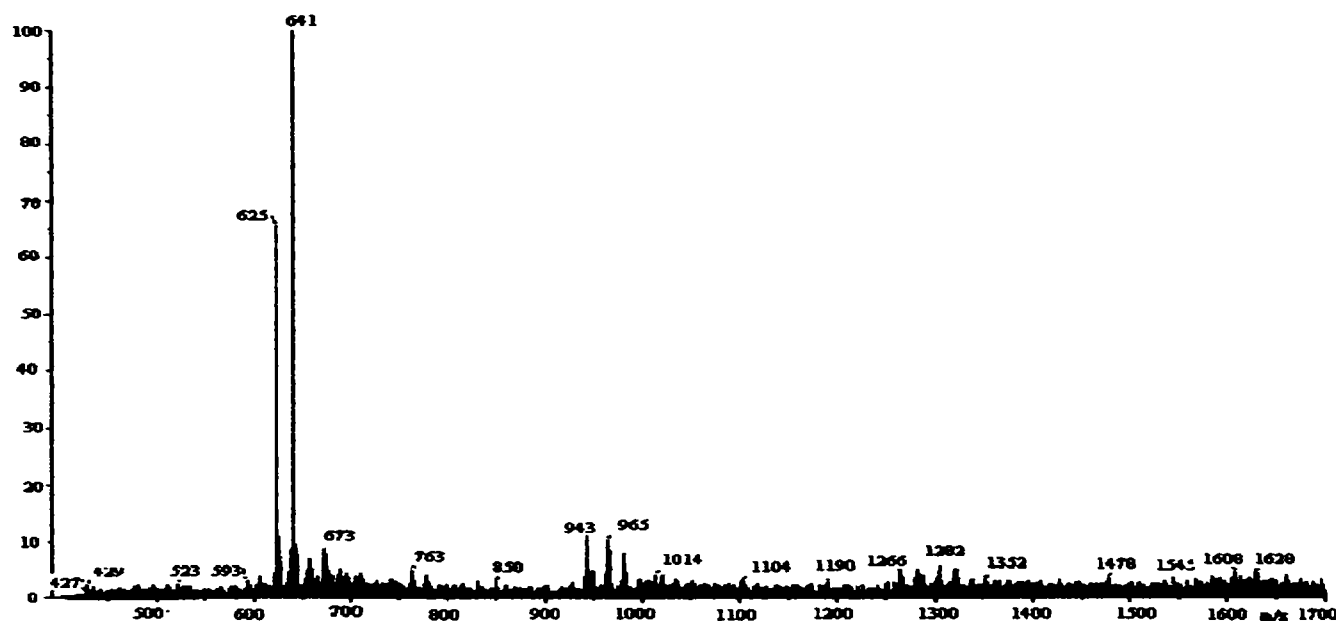


Fig.5.23: Spectrul de masă al abietatului de potasiu în variantă (-ESI) la 16 eV scanat pe un interval cuprins între 500-2000 m/z

#### 5.4.4.2 Analiza prin spectrometrie de masă a sărurilor de tip amoniu ale acidului abietic

Informațiile furnizate de analiza spectrelor de rezonanță magnetică au fost completate pentru certitudine cu *spectrometria de masă în varianta ESI-MS*, atât în varianta ionilor pozitivi (+ESI) cât și în cea a ionilor negativi (-ESI). Pregătirea probelor a fost similară procedurii aplicate pentru analiza colofoniului descrisă în paragraful 4.4.1. cu unele modificări ale *condițiilor de operare a aparatului*:

- setarea aparatului între 0-1000 m/z
- ciclul de timp: 3 sec;
- tensiunea de intrare: 36 V, energia de coliziune: 16 eV, iar cea de ieșire 66 V;
- rezoluția de masă minimă: 14,1 și maximă: 14,3;
- rezoluția masică: aproximativ 1Da.

Rezultatele analizei sunt prezentate în figurile 5.24- 5.27. Se poate observa că în varianta (+ESI), ionii având masa moleculară 62,3; 130,4; 74,3; și 150,3; corespunzând ionilor de *monoetanolamoniu*, *trietanolamoniu*, *izobutilamoniu* și *diizobutilamoniu* sunt ioni de bază. În varianta (-ESI) s-a constatat că pentru toate probele *ionul abietat* (301,2) a ieșit ca ion de bază totodată în această ultimă variantă înregistrându-se fragmentări de ioni puține și de slabă intensitate corespunzătoare unor impurități.

În toate spectrele de (+ESI) din figurile menționate se poate constata prezența picului corespunzător lui  $m/z$  453) de intensitate relativ mică în spectrul de masă al MEAA respectiv TEAA care nu a putut fi identificat și este posibil să provină de la impuritățile existente în probele de analizat (produși de oxidare ai acidului abietic).

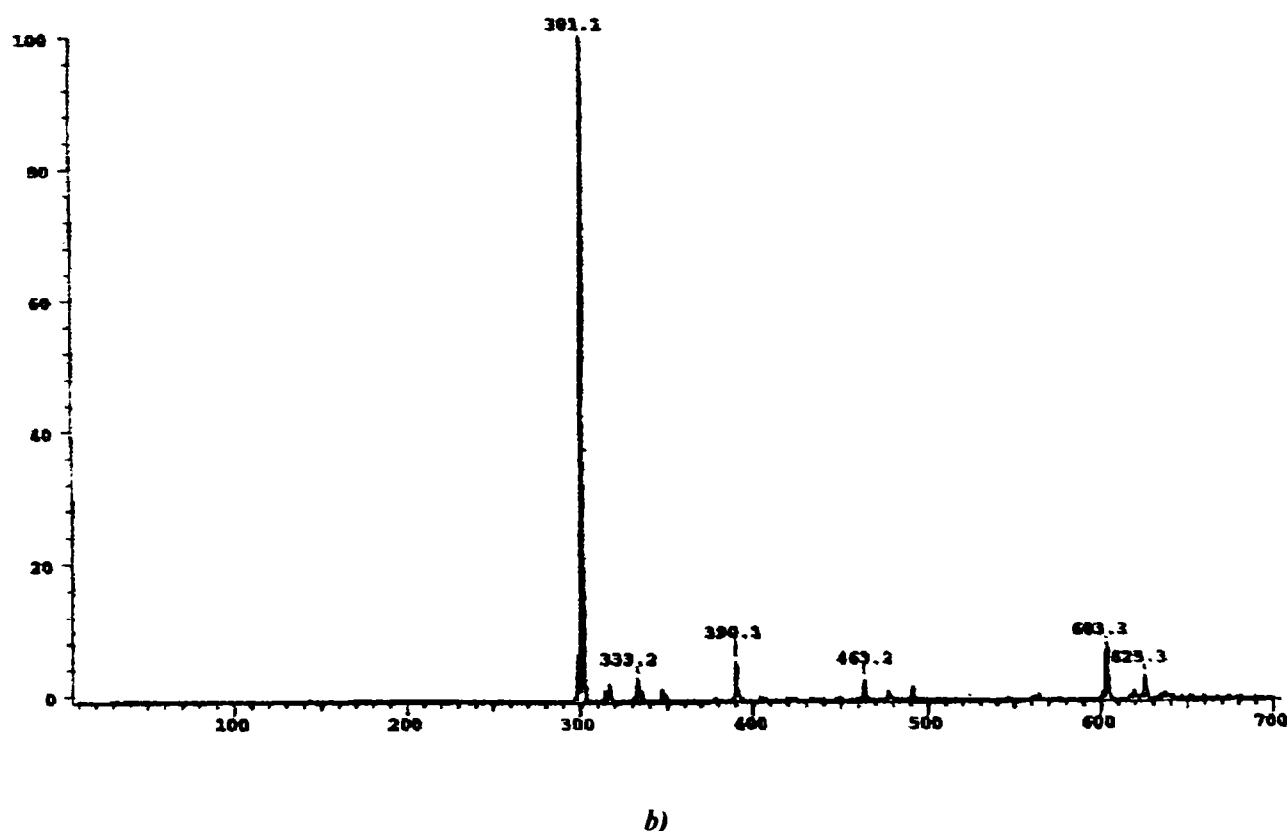
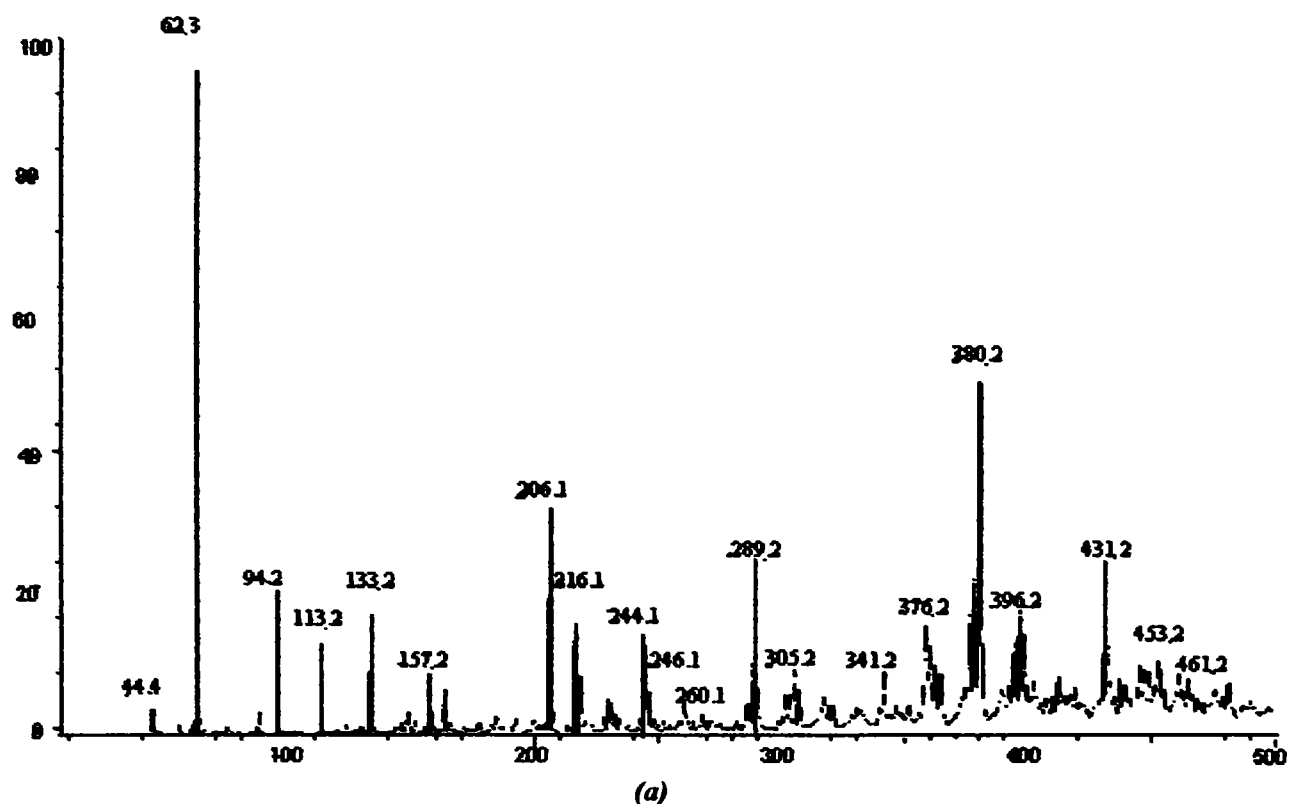
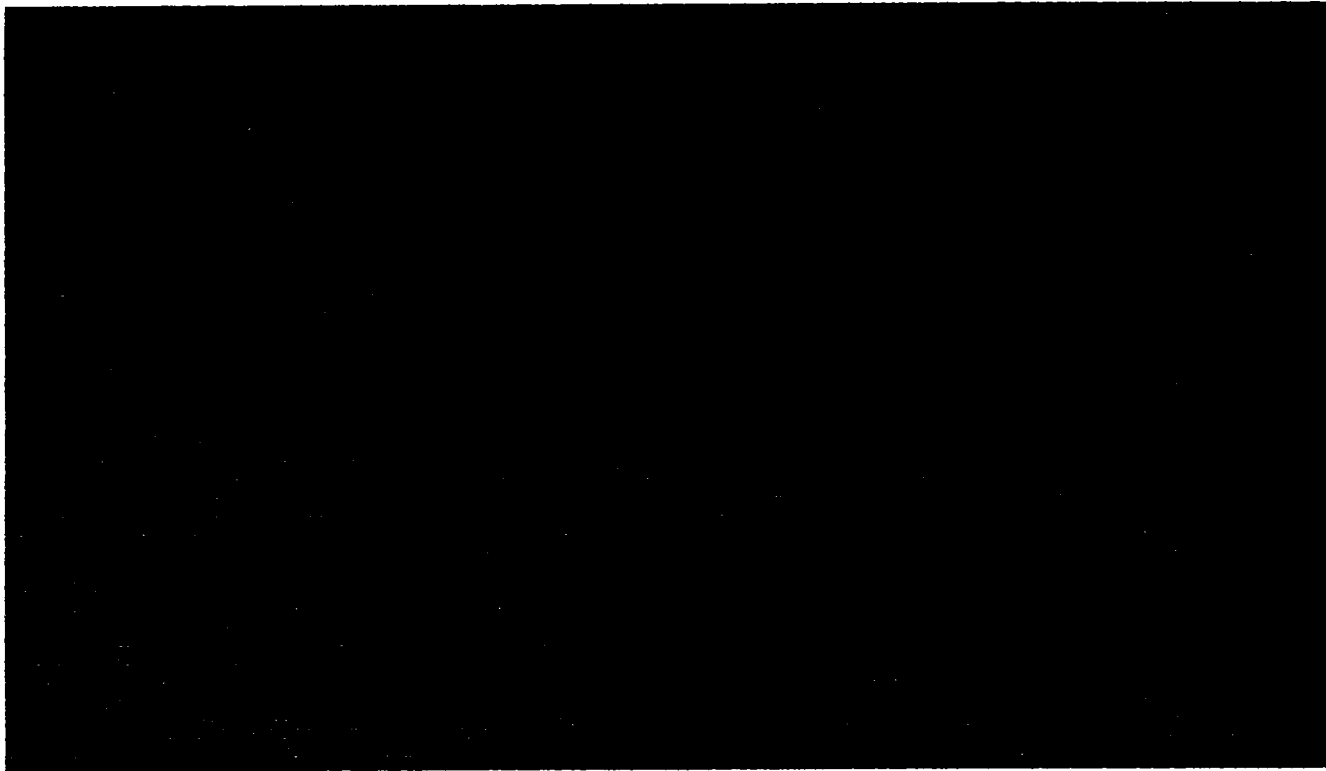
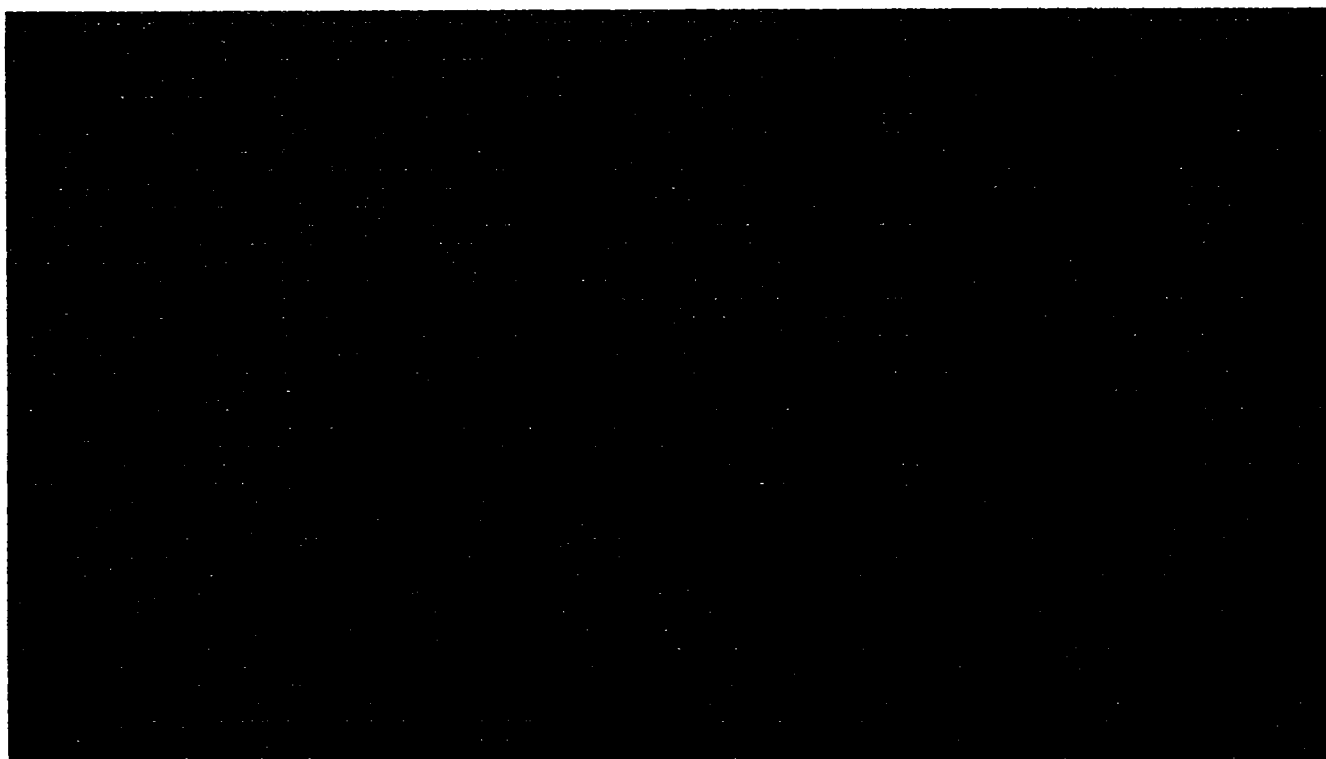


Fig.5.24: Spectrul de masă în variantă ESI al abietatului de monoetanolamoniu: (+ESI) (a); (-ESI) (b)

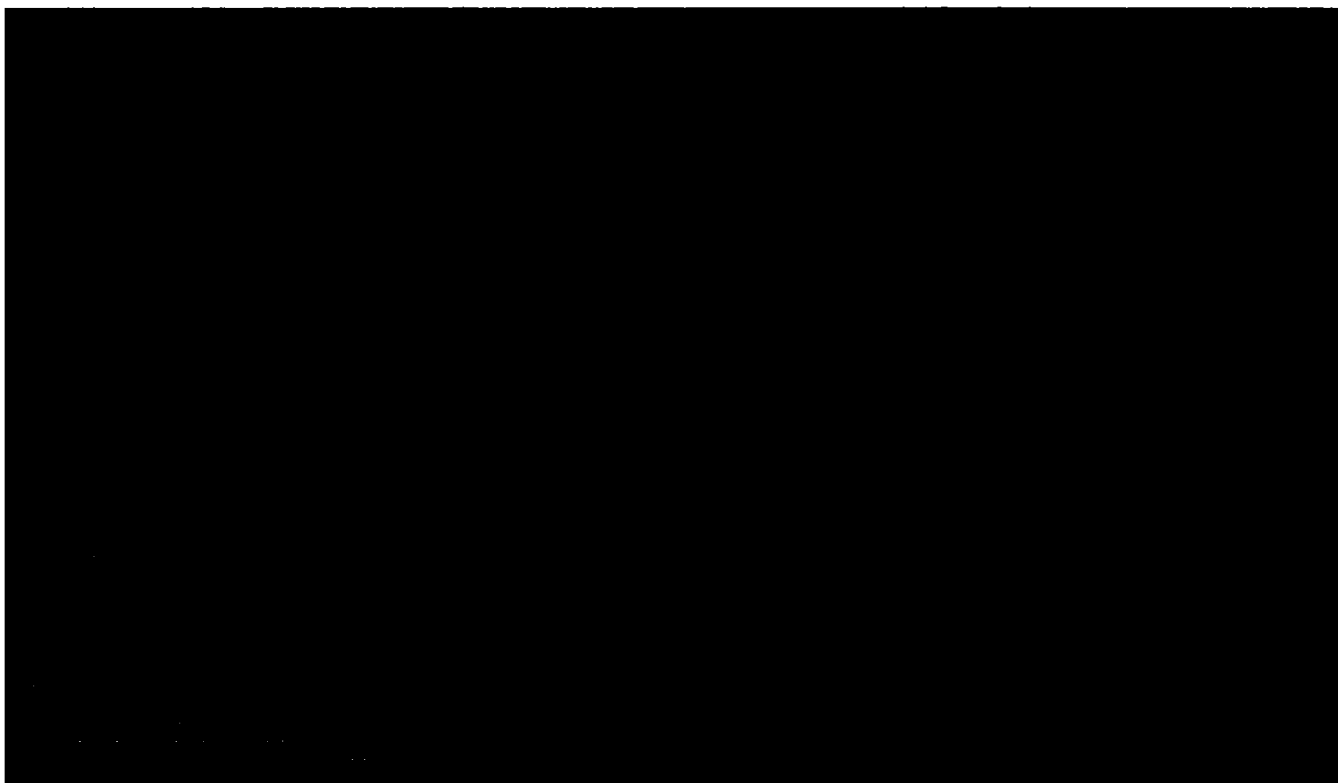


(a)

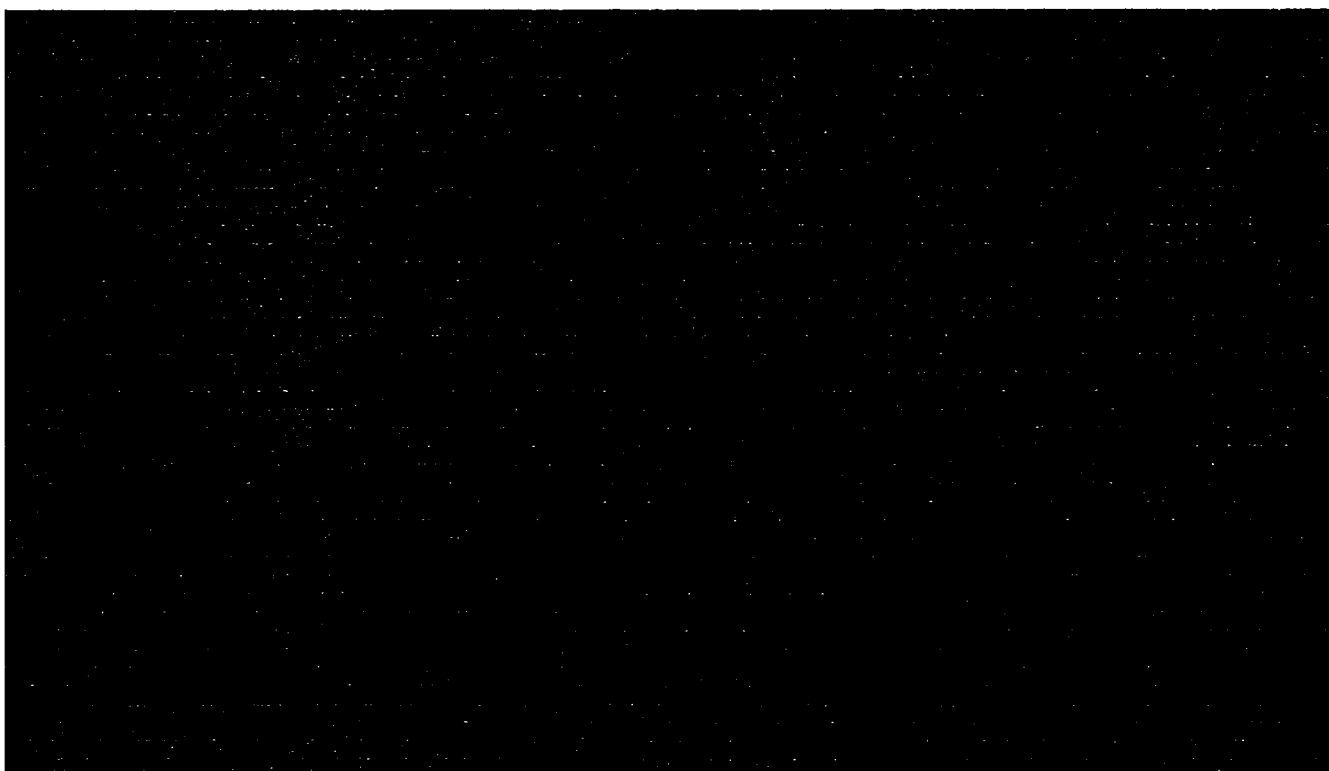


b)

*Fig.5.25: Spectrul de masă în variantă ESI al abietatului de trietanolanoniu: (+ESI) (a); (-ESI) (b)*



(a)



(b)

**Fig.5.26: Spectrul de masă în variantă ESI al abietatului de izobutilamonin: (+ESI) (a); (-ESI) (b)**

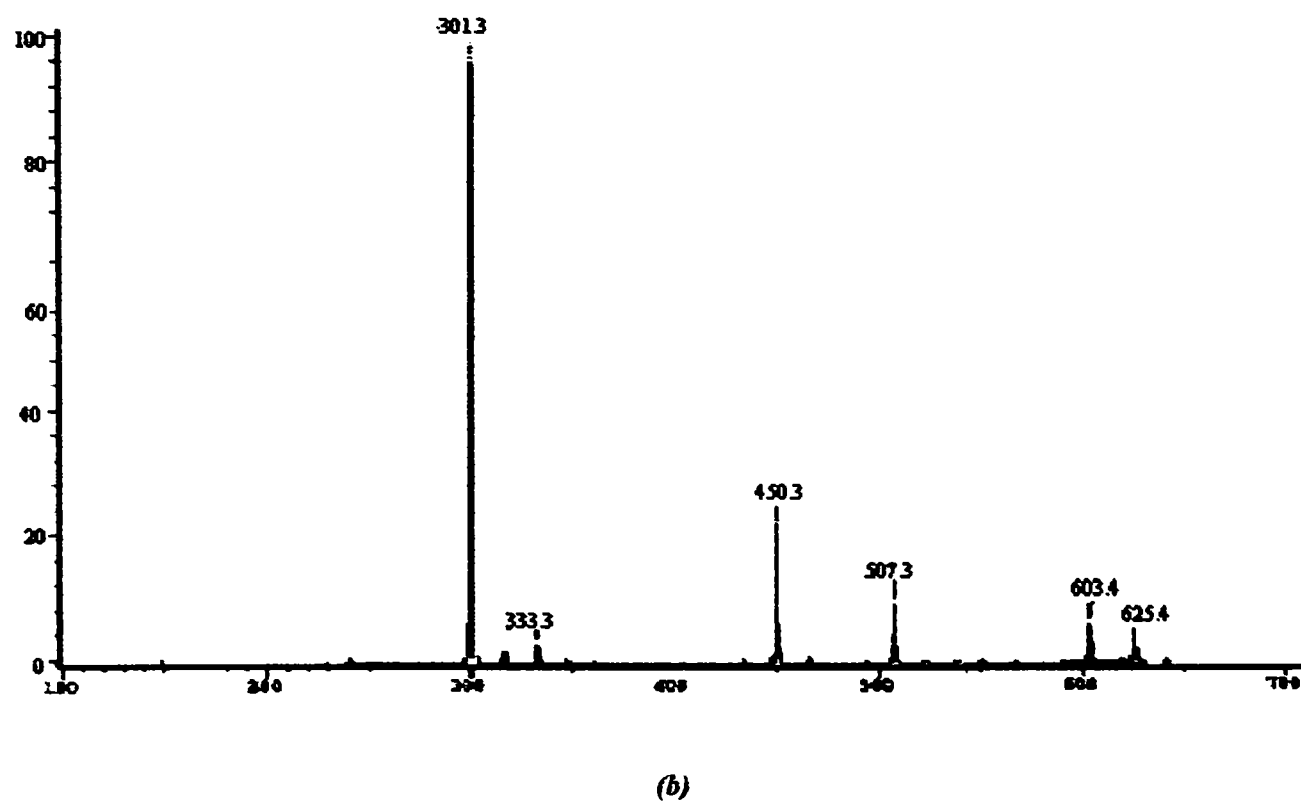
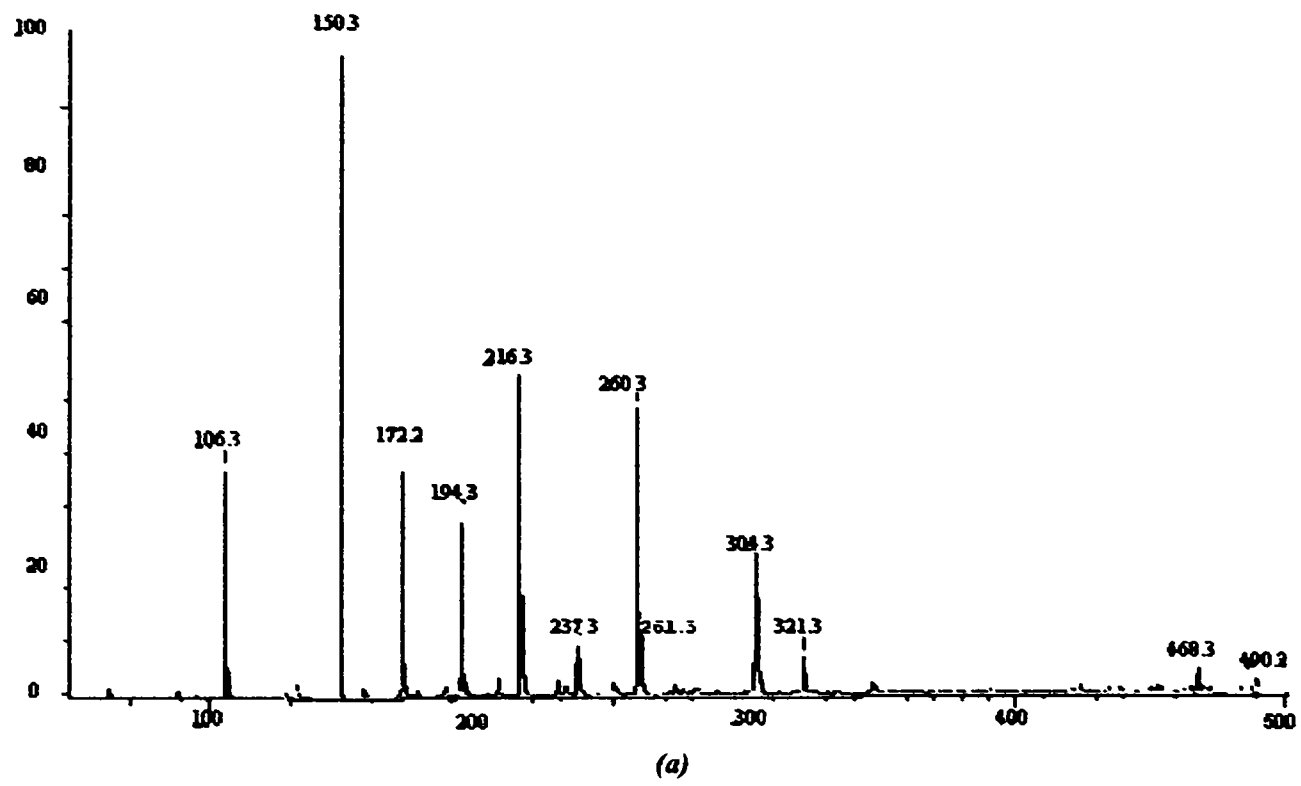


Fig.5.27: Spectrul de masă în variantă ESI al abietatului de di-izobutilamoniu: (+ESI) (a); (-ESI) (b)



## 5.5. Analiza proprietăților capilar active ale compușilor sintetizați

### 5.5.1. Conținutul de substanță activă din compușii sintetizați

Valorile conținutului de substanță activă obținute experimental au demonstrat că în general compușii sintetizați sunt indicați pentru a putea fi utilizați ca ingrediente în compoziția agenților activ de suprafață. Toți compușii testați au avut un conținut superior limitei minime de 80% substanță activă cerută de normele românești în vigoare, existând situații în care acesta a depășit 95% (abietatii alcalini). De asemenea datele experimentale obținute sunt în concordanță și cu analizele spectrale în special cu cele de spectrometrie de masă care au dovedit puritatea ridicată a tuturor substanțelor analizate.

### 5.5.2. Punctul Krafft

Valorile punctului Krafft corespunzătoare sărurilor testate au variat nesemnificativ cu concentrația soluțiilor respective (diferențele sunt în majoritatea cazurilor mai mici de 1°C) ceea ce este în conformitate și cu datele de literatură [249] și în general se încadrează în limitele acceptate de standardul românesc pentru substanțele ionice capilar active ( $T_{kp} < 15^{\circ}\text{C}$ ) [217]. Această variație a solubilității sărurilor acidului abietic cu temperatura poate fi explicată dacă luăm în considerare micelizarea moleculelor de sare la o anumită concentrație a lor. Se cunoaște faptul că la temperaturi joase tensidele au în general solubilități scăzute, solubilitatea lor fiind datorată în mare parte solubilității moleculelor de tensidă (monomeri). Pe măsură ce temperatura crește, energia monomerilor crește acestea încep să se aglomereze mult mai rapid formând dimeri, trimeri polimeri denumite micle. La o anumită valoare a temperaturii concentrația monomerilor atinge valoarea concentrației critice micelare și în acest moment solubilitatea substanței tensioactive crește dramatic, ca urmare a solubilizării micelilor. Fenomenul poate fi sesizat și cu ochiul liber prin limpezirea soluției care până în acest moment a fost tulbură. Valorile mai mari ale punctului Krafft în cazul abietatilor de izobutilamoniu, respectiv de di-izobutilamoniu pot fi explicate prin valorile mari ale concentrației critice micelare corespunzătoare acestora. Solubilitatea crescută a abietatului de trietanolamoniu la temperaturi sub 9°C, poate fi explicată prin prezența celor trei grupări hidroxil din ionul de trietanolamoniu ceea ce face să crească în ansamblu solubilitatea sării în apă.

### 5.5.3. Determinarea concentrației critice micelare (CMC) a sărurilor acidului abietic

#### 5.5.3.1. Determinarea concentrației critice micelare prin măsurarea tensiunii superficiale a soluțiilor apoase de săruri

Concentrațiile critice micelare ale sărurilor acidului abietic în soluții apoase, exprimate în mg sare/l, s-au determinat prin reprezentarea grafică a tensiunii superficiale versus logaritmul zecimal al concentrației soluțiilor testate. Din punct de vedere matematic, concentrația critică micelară (CMC) a fost dată de valoarea concentrației corespunzătoare punctului de intersecție al celor două porțiuni liniare ale curbei care exprimă dependența tensiunii superficiale de concentrația soluțiilor de sare.

Determinarea concentrației critice micelare prin măsurarea tensiunii superficiale cu stalagmometrul Traube, a dat următoarele rezultate:

**Tabelul 5.35. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de sodiu (A-Na)**

Nr. crt.	Conc. soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	1.5	0.176091	27.5	67.32	31.0	60.12
2.	2.0	0.30103	33.5	55.25	36.0	51.32
3.	2.5	0.39794	38.0	49.00	42.0	44.32
4.	3.0	0.477121	42.0	44.32	45.0	41.65
5.	3.5	0.544068	44.0	42.35	46.5	40.00
6.	4.0	0.60206	47.5	39.25	49.0	37.00
7.	4.5	0.653213	49.0	38.00	51.0	35.54
8.	5.0	0.69897	49.0	37.50	52.5	34.65
9.	5.5	0.740363	49.0	37.00	55.0	34.00
10.	6.0	0.778151	48.0	36.50	56.5	33.10
11.	6.5	0.812913	47.0	37.54	54.0	34.56
12.	7.0	0.845098	46.5	38.00	53.0	35.00
13.	7.5	0.875061	46.5	38.50	52.0	35.89
14.	8.0	0.90309	46.0	38.50	49.0	37.00
15.	8.5	0.929419	45.5	38.50	48.5	37.75
16.	9.0	0.954243	46.0	39.00	49.0	38.00
17.	10	1	46.0	39.00	49.0	38.10

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.36. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de potasiu (A-K)**

Nr. crt.	Conc. soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	1.5	0.176091	26,5	70,32	27,0	68,10
2.	2.0	0.30103	28,0	65,32	29,0	61,75
3.	2.5	0.39794	34,0	57,00	35,0	53,25
4.	3.0	0.477121	37,0	52,47	38,5	48,68
5.	3.5	0.544068	44,0	47,31	41,0	45,36
6.	4.0	0.60206	47,5	41,25	45,0	41,65
7.	4.5	0.653213	48,5	38,75	46,0	39,50
8.	5.0	0.69897	48,3	38,69	50,0	37,25
9.	5.5	0.740363	48,0	39,00	49,5	37,85
10.	6.0	0.778151	47,5	39,25	49,0	38,00
11.	6.5	0.812913	47,5	39,50	48,5	38,75
12.	7.0	0.845098	47,5	41,00	48	39,00
13.	7.5	0.875061	47,5	41,50	47,5	39,25
14.	8.0	0.90309	47,5	42,00	47,5	39,20
15.	8.5	0.929419	47,5	42,25	47,5	39,25
16.	9	0.954243	47,5	42,25	47,5	39,25
17.	10	1	47,5	42,25	47,5	39,25

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.37. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de monoetanolamoniu (MEAA)**

Nr. crt.	Conc. Soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	1.5	0.176091	28.0	66.32	28.5	65.79
2.	2.0	0.30103	32.0	58.85	33.0	56.49
3.	2.5	0.39794	38.5	48.65	38.0	49.16
4.	3.0	0.477121	42.0	44.23	42.0	44.42
5.	3.5	0.544068	46.0	40.68	48.0	39.0
6.	4.0	0.60206	47.0	39.86	49.0	38.0
7.	4.5	0.653213	46.0	40.65	48.0	39.0
8.	5.0	0.69897	45.5	40.98	47.5	39.25
9.	5.5	0.740363	45.0	41.25	47.0	39.54
10.	6.0	0.778151	44.0	42.23	46.0	40.65
11.	6.5	0.812913	44.0	42.23	46.0	40.65

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.38. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de dietanolamoniu (DEAA)**

Nr. crt.	Conc. Soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	1.5	0.176091	29.0	64.02	29.5	62.87
2.	1.8	0.255273	32.5	57.65	34.0	54.65
3.	2.0	0.30103	37.0	50.21	40.0	46.46
4.	2.2	0.342423	41.0	45.69	44.5	42.12
5.	2.5	0.39794	45.0	41.54	48.0	38.87
6.	2.8	0.447158	47.0	39.54	49.0	38.21
7.	3.0	0.477121	48.5	38.61	49.0	38.21
8.	3.2	0.50515	49.0	38.21	49.0	38.23
9.	3.5	0.544068	49.0	38.21	48.0	38.56
10.	3.7	0.568202	48.0	38.87	48.0	38.78
11.	3.9	0.591065	48.0	38.87	48.0	38.78
12.	4.1	0.612784	48.0	38.87	48.0	38.78
13.	4.3	0.633468	48.0	38.87	48.0	38.78
14.	4.5	0.653213	48.0	38.87	48.00	38.78
15.	4.8	0.681241	48.0	38.87	48.00	38.78
16.	5.0	0.69897	48.0	38.87	48.00	38.78

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.39. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de trietanolamoniu (TEAA)**

Nr. crt.	Conc. soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	1.5	0.176091	30.0	61.65	32.0	58.36
2.	1.8	0.255273	37.0	50.63	41.0	45.23
3.	2.0	0.30103	44.0	42.31	48.5	38.54
4.	2.2	0.342423	47.5	39.22	53.0	35.21
5.	2.5	0.39794	51.0	36.56	53.0	35.21
6.	2.8	0.447158	52.0	36.0	52.5	35.65
7.	3.0	0.477121	52.0	36.0	52.0	35.87
8.	3.2	0.50515	51.5	36.41	52.0	36
9.	3.5	0.544068	51.0	36.5	52.0	36
10.	3.7	0.568202	51.0	36.5	52.0	36
11.	3.9	0.591065	51.0	36.5	52.0	36

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.40. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de abietat de izobutilamoniu (IBAA)**

Nr. crt.	Conc. soluțiilor [g/l]	IgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	3	0,477121	28,5	65,32	29,0	63,89
2.	3,2	0,50515	33,5	55,69	36,0	52,00
3.	3,4	0,531479	37,0	50,21	41,0	45,65
4.	3,6	0,556303	42,0	44,32	44,5	42,10
5.	3,8	0,579784	43,5	42,75	46,5	40,23
6.	4,0	0,60206	44,5	41,69	47,0	39,54
7.	4,2	0,623249	45,5	41,0	48,5	38,54
8.	4,4	0,643453	46,0	41,11	49,0	38,00
9.	4,8	0,681241	47,0	42,0	48,5	38,65
10.	5,2	0,716003	45,0	42,65	48,0	40,32
11.	5,4	0,732394	44,5	42,65	47,0	40,98
12.	5,6	0,748188	44,0	42,65	45,5	40,98
13.	5,8	0,763428	44,0	42,65	45,5	40,98
14.	6,0	0,778151	44,0	42,65	45,5	40,98
15.	6,2	0,792392	44,0	42,65	45,5	40,98

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

**Tabelul 5.41. Valorile medii ale tensiunii superficiale determinate prin metoda picăturii pentru diferite concentrații ale soluțiilor apoase de di-izobutilamoniu (DIBAA)**

Nr. crt.	Conc. soluțiilor [g/l]	LgC	Nr.picături numărate (media)	Tensiunea superficială [dyn/cm]	*Nr.picături numărate (media)	*Tensiunea superficială [dyn/cm]
1.	3	0,477121	30,0	62,65	31,5	59,5175
2.	3,2	0,50515	34,0	55,12	35,5	52,364
3.	3,4	0,531479	37,5	50,02	39,0	47,519
4.	3,6	0,556303	40,0	46,98	42,0	44,631
5.	3,8	0,579784	42,0	44,65	44,0	41,23
6.	4	0,60206	44,0	42,52	49,0	38,36
7.	4,2	0,623249	46,5	40,32	49,0	38,39
8.	4,4	0,643453	48,5	38,58	48,0	38,98
9.	4,8	0,681241	51,5	36,21	47,5	39,54
10.	5,2	0,716003	51,5	36,21	47,0	39,54
11.	5,4	0,732394	51,0	37,0	47,0	39,54
12.	5,6	0,748188	50,5	37,0		
13.	5,8	0,763428	50,5	37,45		
14.	6	0,778151	50,0	37,45		
15.	6,2	0,792392	50,0	37,45		
16.	6,4	0,80618	50,0	37,45		

Notă: \* - măsurătorile au fost efectuate după 6 ore de staționare când s-a atins echilibrul superficial

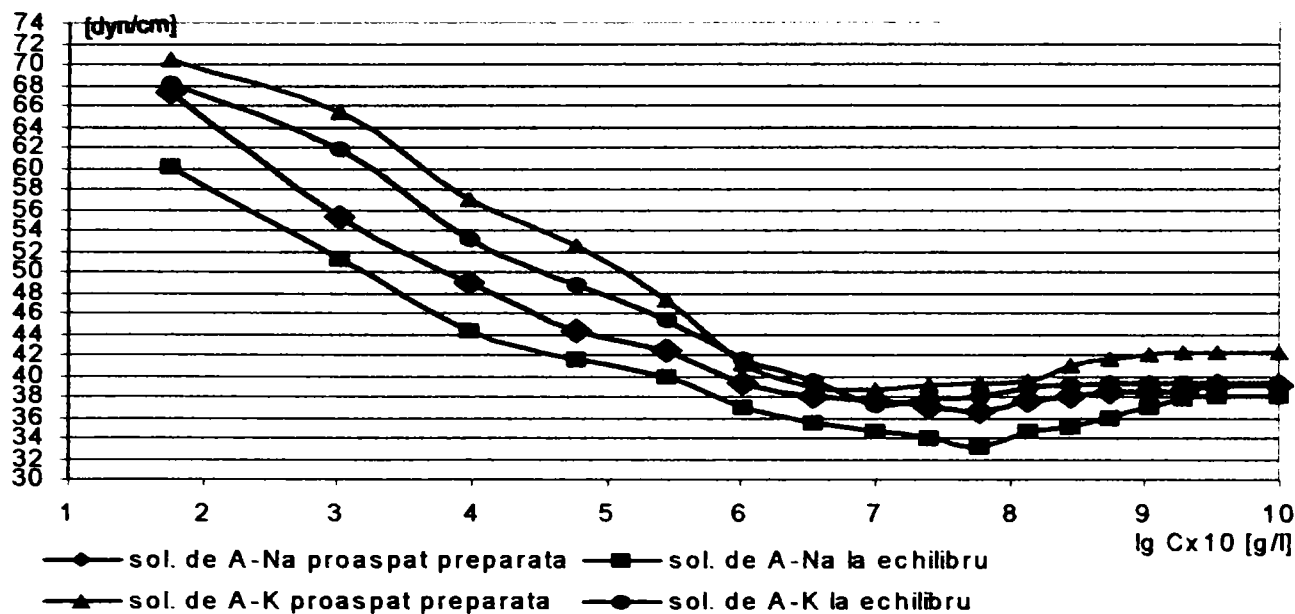


Fig. 5.27: Variația tensiunii superficiale a abietatilor de sodiu și potasiu, cu concentrația

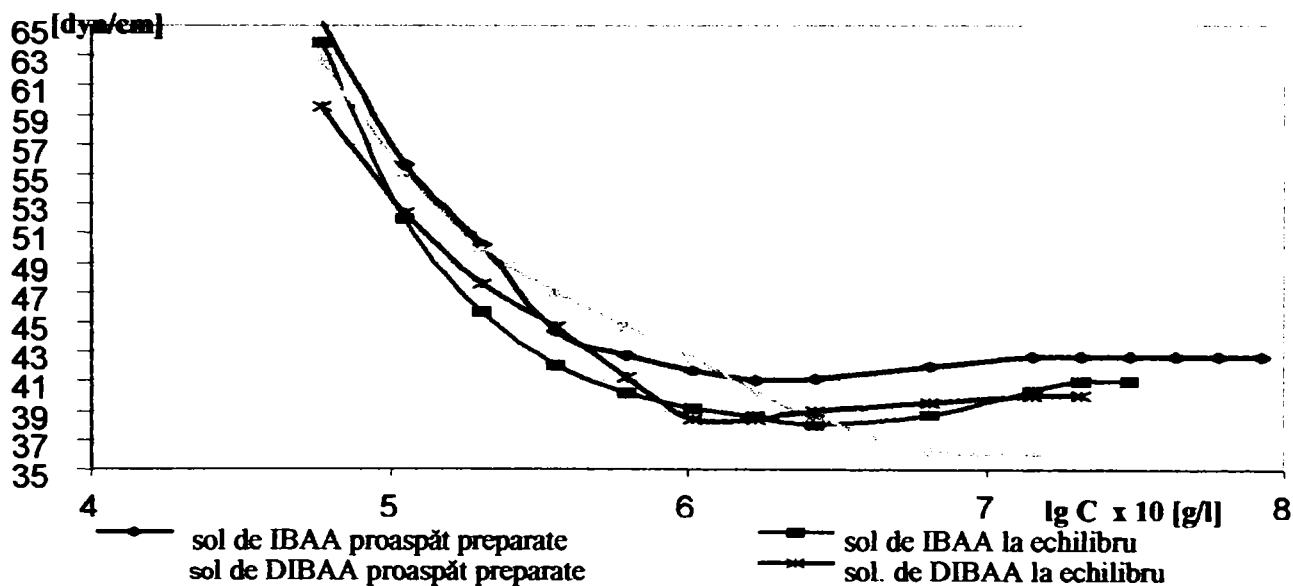


Fig. 5.28: Variația tensiunii superficiale a sărurilor acidului abietic cu izobutilamină și di-izo-butilamină, cu concentrația

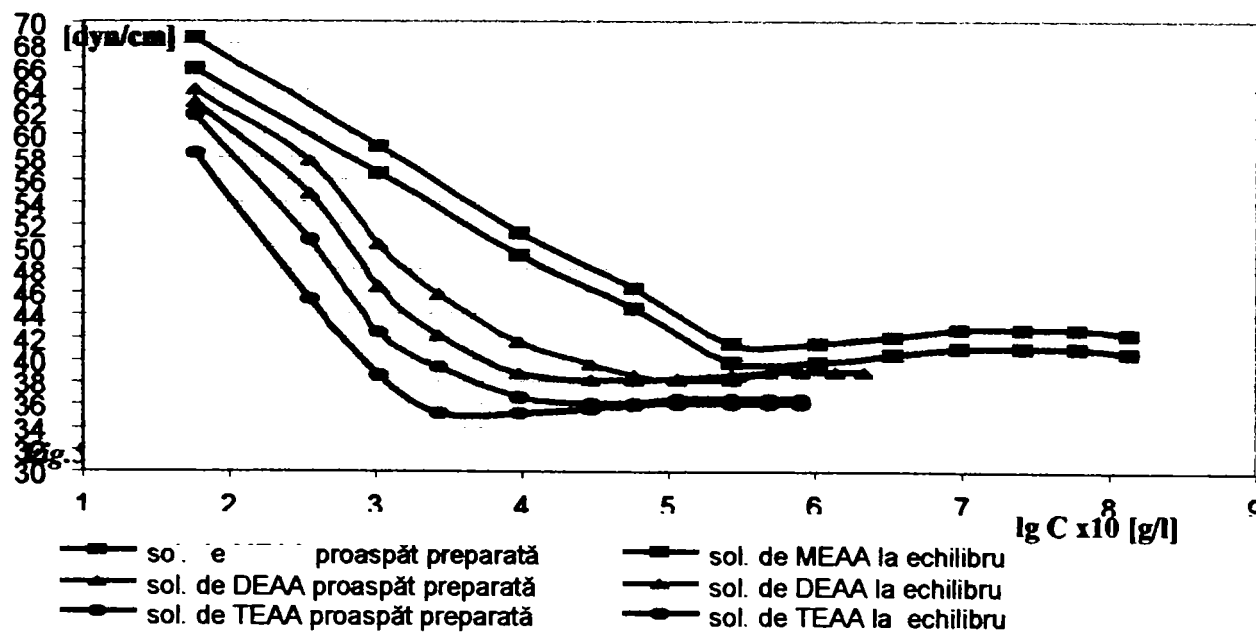


Fig. 5.29: Variația tensiunii superficiale a sărurilor acidului abietic cu etanolamine, cu concentrația

Analiza reprezentărilor grafice a arătat că soluțiile de săruri ale acidului abietic respectă regula generală a compușilor tensioactivi referitoare la fenomenul de îmbătrânire adică de variație a tensiunii superficiale a unei soluții de tensidă cu timpul până la stabilirea echilibrului superficial [218]. S-a constatat că în toate cazurile, curbele corespunzătoare tensiunii superficiale s-au deplasat spre stânga în sensul scăderii valorilor și s-au stabilizat după circa 6 ore când la o nouă măsurătoare nu s-au mai sesizat variații majore ale acesteia. De asemenea s-a observat că la echilibru, soluțiile de abietati de sodiu și potasiu au înregistrat creșteri ale valorilor CMC-ului lor și anume de la 5,5 g/l la 6,10 g/l în cazul abietatului de sodiu (A-Na), respectiv de la 5,5 g/l la 7,0 g/l în cazul celui de potasiu, în timp ce valoarea corespunzătoare tensiunii superficiale minime a scăzut de la 39 dyn/cm la 32,0 dyn/cm în cazul A-Na, respectiv de la 40 dyn/cm la 38 dyn/cm în cazul celui de potasiu (A-K). Abietati de trietanolamoniu (TEAA) respectiv de di-izobutilamoniu (DIBAA) s-au caracterizat prin scăderea semnificativă a CMC-ului de la 4,0 g/l la 2,0 g/l în cazul abietatului de trietanolamoniu (TEAA), respectiv de la 5,2 g/l la 3,92 g/l în cazul (DIBAA). În schimb, valorile CMC-ului corespunzătoare celorlalte săruri analizate nu au suferit modificări majore la variațiile tensiunii superficiale cu timpul.

**Tabelul 5.42. Valorile medii ale CMC-ului și tensiunii superficiale minime ale sărurilor acidului abietic la echilibru**

Nr. crt.	Sarea acidului abietic	Concentrația critică micelară [g/l] și [mM]		Tensiunea superficială minimă [dyn/cm]	pH-ul soluției
1.	A-Na	6,1	18	36,5	7,85
2.	A-K	4,8	14	38,9	8,12
3.	MEAA	3,4	9	39,0	9,35
4.	DEAA	2,1	10	38,0	10,13
5.	TEAA	2,3	5	35,80	10,10
6.	IBAA	4,2	11	36,57	7,35
7.	DIBAA	3,9	9	37,23	7,40

Raportarea valorile concentrației critice micelare (tabelul 5.42), la cele similare corespunzătoare altor substanțe tensioactive anionice cum ar fi palmitatul de sodiu (CMC=16,5mM); dodecilbenzen sulfonatul de sodiu (CMC=32,4mM); dodecil sulfatul de sodiu (CMC=8mM) sau oleatul de amoniu (CMC= 2,1mM), [249-251], a evidențiat faptul că în general, concentrația critică micelară a substanțelor testate se încadrează în limitele de variație ale acestei clase de agenți superficiali activi. De asemenea, s-a putut confirma ipoteza potrivit căreia, structura compușilor influențează mult valoarea concentrației critice micelare.

În cazul abietatilor de sodiu și potasiu valorile experimentale ale CMC-ului determinate prin această metodă, sunt apropiate de cele determinate de Nogueira [252] prin difuzie statică, eroarea fiind sub 2%. Valorile mai mari ale CMC-ului abietatilor alcalini comparativ cu cele ale sărurilor acidului abietic cu amine și etanolamine sunt justificate dacă se are în vedere faptul că în general concentrația critică micelară scade cu creșterea numărului de atomi de carbon din moleculă, regulă care se respectă și în cadrul seriilor omologe, TEAA având cea mai mică valoare a CMC-ului (2,3 g/l) dintre toate substanțele analizate dar și din cadrul sărurilor cu etanolamine.

În ceea ce privește diferența existentă dintre valorile CMC-urilor abietatului de sodiu și respectiv potasiu aceasta poate fi explicată prin intermediul diferenței existente între razele celor doi ioni metalici știind că odată cu scăderea razei ionului metalic pentru același rest hidrocarbonat are loc și scăderea valorilor CMC-ului compușilor respectivi.

Valorile tensiunii superficiale minime ale substanțelor testate s-au dovedit a fi superioare celor corespunzătoare altor clase de compuși tensioactivi anionici. Spre exemplu, tensiunea superficială minimă corespunzătoare sărurilor cu metale alcaline și amine ale acizilor grași nu depășește valoarea de 30 dyn/cm. Pe lângă structura triciclică a restului hidrocarbonat, o posibilă cauză a unor tensiunii superficiale minime, mai mari decât cele întâlnite în mod obișnuit la această de clasă de compuși ar putea fi dată de variația aproape exponențială a tensiunii superficiale a soluțiilor apoase de abietati cu pH-ul acestor săruri.

Din analizele efectuate cu sărurile acidului abietic s-a putut constata (tabelul 5.43) că indiferent de valoarea concentrației de sare, un rol semnificativ la scăderea tensiunii superficiale la interfața lichid-lichid, respectiv aer-lichid îl are și pH- ul soluțiilor apoase ale acestor săruri.

Tabelul 5.4.3. Variația tensiunii superficiale a soluțiilor de săruri cu pH-ul acestora

pH-ul / Tensiunea superficială [dyn/cm]	Soluții de săruri ale acidului abietic 1% concentrație						
	A-Na	A-K	MEAA	DEAA	TEAA	IBAA	DIBAA
5	42,65	40,25	41	41,62	40,23	41,98	40,23
6	40,35	39,11	40,65	39,31	37,38	41,25	39,85
7	33,54	32,21	29,23	28,65	27	36,1	34,32
8	36,21	35	36,25	33,56	30,65	38,26	37,24
9	39,25	38,25	40,56	35,21	33,65	39,85	38,78
10	45,23	42,56	41,32	38,96	36,25	40,39	39,58
11	48,23	48,58	46,4	45,47	40,39	43,65	42,36
12	49,87	49	48,05	46,25	45,75	44,98	44,6
13	50,65	49,23	48,65	47,58	46,45	45,69	45,32

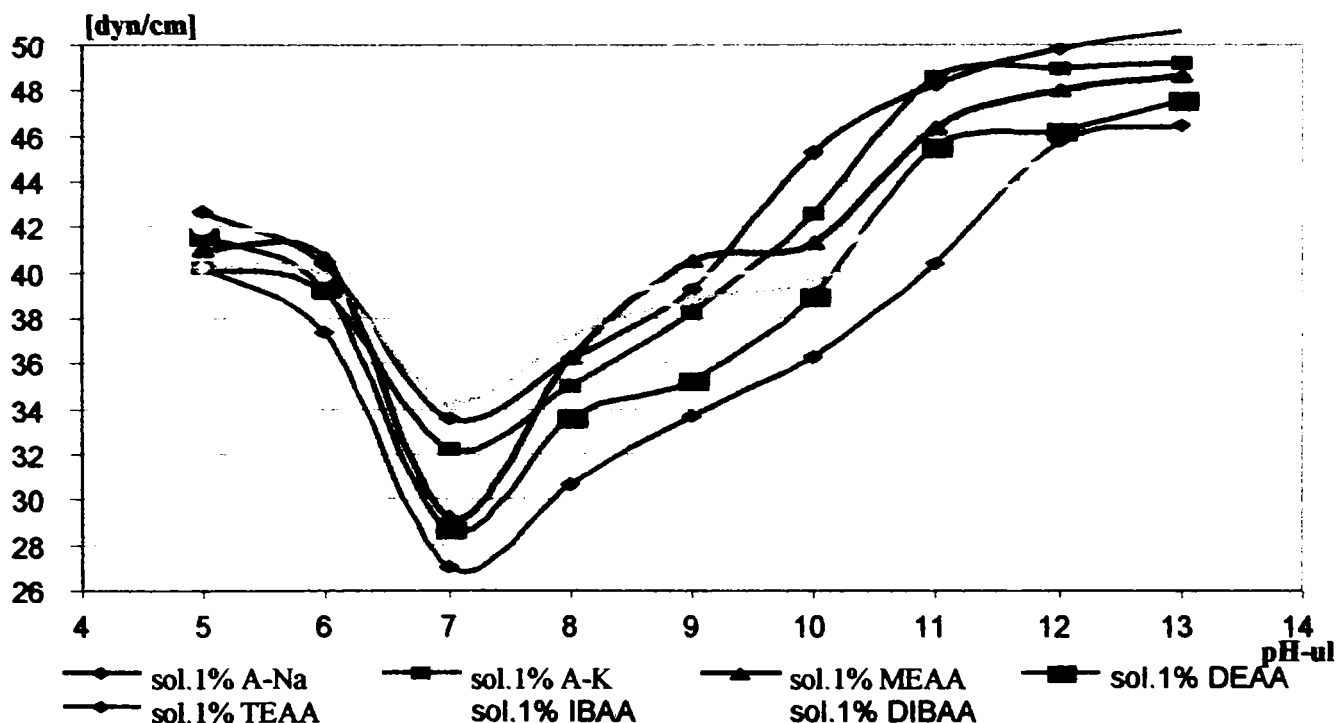


Fig.5.30: Variația tensiunii superficiale a soluțiilor de săruri ale acidului abietic de concentrație 1% substanță activă cu pH-ul acestora

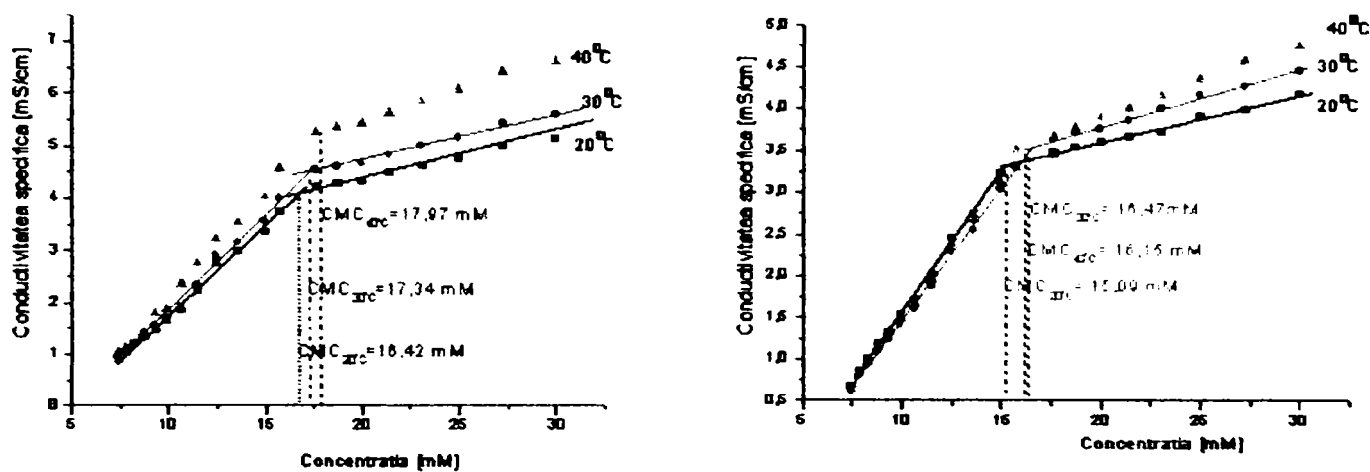
De asemenea, se poate observa, (figura 5.30.) că o valoare minimă a tensiunii superficiale a rezultat în toate cazurile pentru valori ale pH-ului cuprinse între 7-7,5. De altfel dacă coroborăm aceste rezultate cu cele din tabelul 5.43, s-a constatat că sărurilor care au avut valoarea pH-ului cuprinsă în intervalul mai sus menționat (IBAA și DIBAA), au prezentat și o valoare minimă a tensiunii superficiale inferioară celorlalte săruri analizate. O valoare a pH-ului sub 6,5 nu este recomandabilă deoarece în acest caz alături de săruri începe să se formeze acidul abietic fapt sesizabil prin apariția de precipitat pe fundul baloanelor.

Pentru ca un compus să fie recunoscut ca și o substanță superficial activă, în primul rând trebuie să asigure scăderea tensiunii superficiale la suprafața de separare lichid-lichid dintre două lichide de obicei nemiscibile, sau la interfața gaz-lichid. O concentrație critică micelară cât mai mică favorizează utilizarea acelu compus într-o serie de aplicații industriale și cosmetice, sau poate să fie folosit împreună cu alți compuși care au concentrații critice micelare mult mai mari pentru a obține același efect. Totodată, o combinație potrivită între concentrația soluțiilor de săruri în substanță activă și valoarea pH-ului acestora permit o folosire a acestora fie ca agenți de spumare fie ca agenți de spălare respectiv de emulsionare în condiții optime. Măsurătorile experimentale privind determinarea concentrației critice micelare prin intermediul tensiunii superficiale a soluțiilor de abietati, pot furniza informații utile cu privire la determinarea

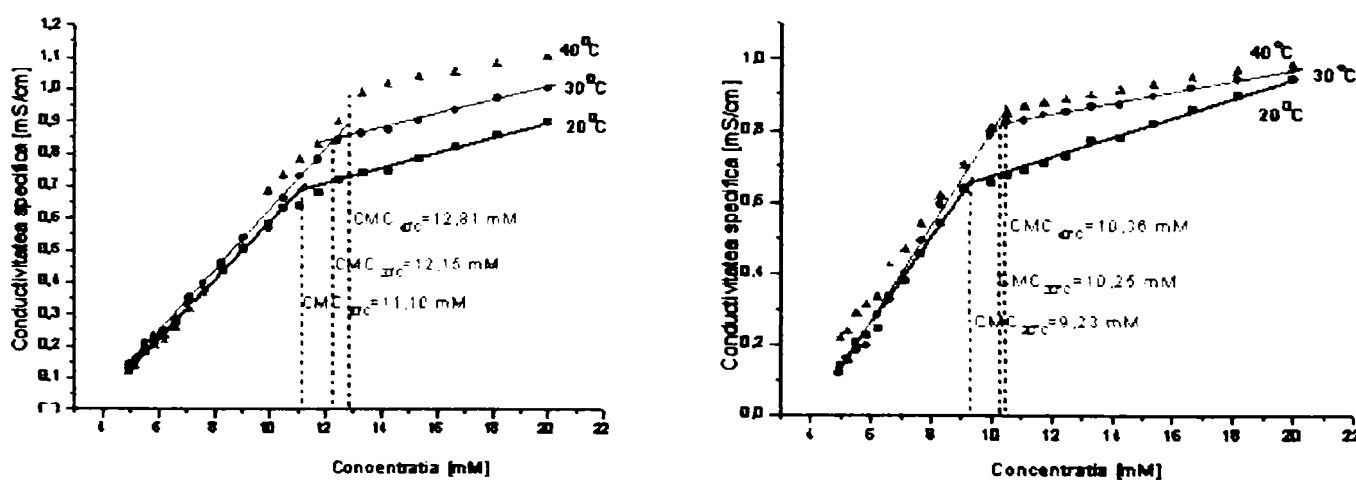
condițiilor optime (concentrații, pH, temperatură) de valorificare practică a capacităților superficiale active ale sărurilor acidului abietic analizate.

### 5.5.3.2. Determinarea concentrației critice micelare prin metoda conductometrică

Având în vedere faptul, că metoda stalagnometrică este greoaie și susceptibilă de erori, iar pe de altă parte, lipsa datelor bibliografice aferente valorilor concentrației critice micelare corespunzătoare ale abietatilor de izobutilamoniu respectiv di-izobutilamoniu, a fost necesară verificarea acurateții datelor experimentale obținute anterior, prin folosirea unei alte metode instrumentale. O serie de avantaje dintre care amintim rapiditate, simplitatea protocolului, posibilitățile de prelucrare computerizată a datelor brute, au determinat alegerea metodei conductometrice pentru determinarea valorilor concentrației critice micelare a sărurilor acidului abietic. De asemenea prin intermediul acestei metode s-a putut evidenția influența unui alt parametru (temperatura soluțiilor analizate) asupra concentrației critice micelare. Datele experimentale obținute prin măsurători conductometrice sunt prezentate în tabelele 5.44- 5.50. Reprezentarea grafică a valorilor conductivității specifice funcție de concentrația soluțiilor analizate a permis stabilirea valorii concentrației critice micelare aferente compușilor sintetizați (figurile 5.31-5.33).



a) b)  
Fig.5.31: Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietati de sodiu (a), potasiu (b) cu concentrația și temperatura



a) b)  
Fig.5.32: Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietati de izobutilamoniu (a), și respectiv di-izobutilamoniu (b), cu concentrația și temperature



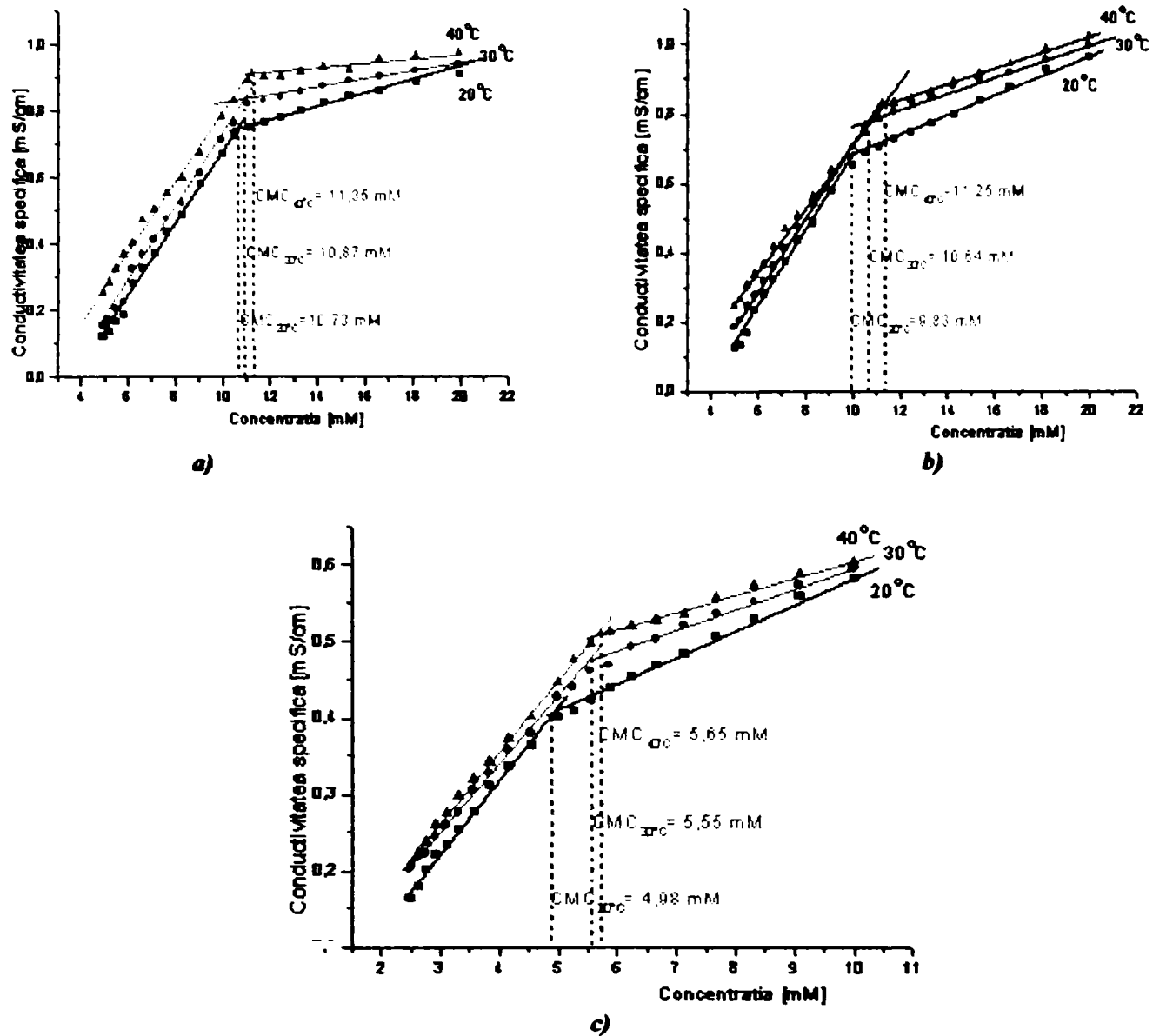


Fig.5.33: Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de săruri de amoniu ale acidului abietic cu monoetanolamina (a), dietanolamina (b) și respectiv trietanolamina (c), cu concentrația și temperatura

**Tablă 3.4. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de sodiu (A-Na) cu concentrația acestora la diferite temperaturi**

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]		
			20°C		40°C	20°C		40°C
			20°C	30°C	40°C	20°C	30°C	40°C
1.	50	30	6,90 ± 0,9112	7,48 ± 0,8955	8,89 ± 0,8877	5,1356 ± 0,6782	5,5734 ± 0,6665	6,6182 ± 0,6607
2.	55	27,27	6,70 ± 0,5121	7,26 ± 0,5366	8,59 ± 0,5325	4,9868 ± 0,3811	5,4039 ± 0,3993	6,3971 ± 0,3963
3.	60	25,00	6,40 ± 0,1254	6,91 ± 0,1366	8,15 ± 0,1422	4,7635 ± 0,0933	5,1502 ± 0,1016	6,0674 ± 0,1058
4.	65	23,07	6,20 ± 0,0569	6,69 ± 0,0925	7,85 ± 0,0556	4,6146 ± 0,0423	4,9813 ± 0,0688	5,8490 ± 0,0413
5.	70	21,42	6,00 ± 0,0987	6,46 ± 0,1020	7,56 ± 0,1311	4,4658 ± 0,0734	4,8127 ± 0,0759	5,6316 ± 0,0975
6.	75	20,00	5,80 ± 0,1587	6,24 ± 0,1628	7,27 ± 0,1488	4,3169 ± 0,1181	4,6444 ± 0,1211	5,4153 ± 0,1107
7.	80	18,75	5,75 ± 0,1010	6,18 ± 0,1226	7,20 ± 0,1302	4,2797 ± 0,0751	4,6024 ± 0,0912	5,3614 ± 0,0969
8.	85	17,64	5,64 ± 0,2911	6,07 ± 0,2855	7,05 ± 0,2745	4,2052 ± 0,2166	4,5184 ± 0,2124	5,2539 ± 0,2043
9.	90	16,66	5,35 ± 0,4331	5,66 ± 0,4269	6,98 ± 0,4311	3,985 ± 0,3223	4,2135 ± 0,3177	5,2014 ± 0,3208
10.	95	15,78	5,00 ± 0,2632	5,33 ± 0,2712	6,12 ± 0,2699	3,7215 ± 0,1959	3,9742 ± 0,2018	4,5622 ± 0,2008
11.	100	15,00	4,50 ± 0,3255	4,78 ± 0,3322	5,42 ± 0,3349	3,3493 ± 0,2422	3,5580 ± 0,2472	4,0395 ± 0,2492
12.	50	15,00	4,50 ± 0,6325	4,78 ± 0,6144	5,42 ± 0,6278	3,3493 ± 0,4707	3,5580 ± 0,4572	4,0395 ± 0,4672
13.	55	13,63	4,00 ± 0,1478	4,22 ± 0,1399	4,73 ± 0,1456	2,9772 ± 0,1100	3,1441 ± 0,1041	3,5257 ± 0,1083
14.	60	12,50	3,70 ± 0,2588	3,89 ± 0,2601	4,32 ± 0,2833	2,7539 ± 0,1926	2,8969 ± 0,1935	3,2221 ± 0,2108
15.	65	11,53	3,00 ± 0,4588	3,12 ± 0,4612	3,68 ± 0,4699	2,2329 ± 0,3414	2,3244 ± 0,3432	2,7412 ± 0,3497
16.	70	10,71	2,50 ± 0,3558	2,57 ± 0,3589	3,16 ± 0,3429	1,8607 ± 0,2648	1,9194 ± 0,2671	2,3564 ± 0,2552
17.	75	10,00	2,20 ± 0,1445	2,25 ± 0,1333	2,49 ± 0,1421	1,6374 ± 0,1075	1,6783 ± 0,0992	1,8564 ± 0,1057
18.	80	9,37	2,00 ± 0,3665	2,06 ± 0,3489	2,40 ± 0,3612	1,4886 ± 0,2727	1,5346 ± 0,2596	1,7891 ± 0,2688
19.	85	8,82	1,80 ± 0,2633	1,85 ± 0,2871	1,88 ± 0,2725	1,3397 ± 0,1959	1,3832 ± 0,2136	1,4018 ± 0,2028
20.	90	8,33	1,60 ± 0,1455	1,61 ± 0,1522	1,64 ± 0,1623	1,1908 ± 0,1082	1,2013 ± 0,1132	1,2235 ± 0,1208
21.	95	7,89	1,40 ± 0,2114	1,41 ± 0,2699	1,51 ± 0,2855	1,0420 ± 0,1573	1,0542 ± 0,2008	1,1248 ± 0,2124
22.	100	7,50	1,20 ± 0,4571	1,23 ± 0,4638	1,42 ± 0,4345	0,8931 ± 0,3402	0,9214 ± 0,3452	1,0612 ± 0,3233

**Tabelul 5.45. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de potasiu (A-K) cu concentrația, la diferite temperaturi**

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]				
			20°C		30°C		20°C		30°C	
			20°C	30°C	20°C	30°C	20°C	30°C	20°C	30°C
1.	50	30	5,6 ± 0,3699	5,97 ± 0,3422	7,19 ± 0,3921	4,1680 ± 0,2753	4,4468 ± 0,2546	5,3585 ± 0,2918	4,2621 ± 0,1844	
2.	55	27,27	5,33 ± 0,2596	5,71 ± 0,2841	5,72 ± 0,2478	3,9745 ± 0,1932	4,2542 ± 0,2114	4,1635 ± 0,0944	3,9966 ± 0,2572	
3.	60	25,00	5,23 ± 0,1256	5,58 ± 0,1322	5,59 ± 0,1269	3,8926 ± 0,0934	4,1564 ± 0,0983	3,8882 ± 0,0964	3,7515 ± 0,1833	
4.	65	23,07	5,00 ± 0,3652	5,36 ± 0,3456	5,33 ± 0,3258	3,7215 ± 0,2718	3,9966 ± 0,2572	3,8216 ± 0,1763	3,6951 ± 0,4316	
5.	70	21,42	4,90 ± 0,1458	5,17 ± 0,1399	5,22 ± 0,1296	3,6470 ± 0,1085	3,8523 ± 0,1041	3,7634 ± 0,3987	3,6147 ± 0,4829	
6.	75	20,00	4,82 ± 0,2566	5,04 ± 0,2463	5,13 ± 0,2369	3,5875 ± 0,1909	3,7515 ± 0,1833	3,6803 ± 0,4672	3,5894 ± 0,3581	
7.	80	18,75	4,75 ± 0,5899	4,96 ± 0,5799	5,05 ± 0,5358	3,5354 ± 0,4390	3,6951 ± 0,4316	3,4978 ± 0,3313	3,0212 ± 0,2546	
8.	85	17,64	4,65 ± 0,6387	4,85 ± 0,6488	4,94 ± 0,6278	3,4611 ± 0,4753	3,6147 ± 0,4829	3,1189 ± 0,6111	2,5472 ± 0,5482	
9.	90	16,66	4,59 ± 0,4588	4,82 ± 0,4812	4,90 ± 0,4631	3,4213 ± 0,3414	3,5894 ± 0,3581	2,6568 ± 0,5333	2,2842 ± 0,4145	
10.	95	15,78	4,43 ± 0,4233	4,43 ± 0,4133	4,69 ± 0,4452	3,2972 ± 0,3150	3,3021 ± 0,3076	1,9493 ± 0,3580	1,8689 ± 0,3434	
11.	100	15,00	4,32 ± 0,3299	4,05 ± 0,3422	4,19 ± 0,3712	3,2153 ± 0,2455	3,0212 ± 0,2546	1,6605 ± 0,6055	1,5920 ± 0,6199	
12.	50	15,00	4,32 ± 0,8625	4,05 ± 0,8511	4,19 ± 0,8211	3,2153 ± 0,6419	3,0212 ± 0,6334	1,4800 ± 0,2538	1,4190 ± 0,2448	
13.	55	13,63	3,67 ± 0,7822	3,42 ± 0,7366	3,56 ± 0,7166	2,7390 ± 0,5821	2,5472 ± 0,5482	1,2851 ± 0,5332	1,2321 ± 0,5402	
14.	60	12,50	3,3 ± 0,5633	3,06 ± 0,5569	3,20 ± 0,5332	2,4561 ± 0,4192	2,2842 ± 0,4145	1,1407 ± 0,3208	1,0936 ± 0,3365	
15.	65	11,53	2,70 ± 0,4566	2,51 ± 0,4615	2,61 ± 0,4811	2,0096 ± 0,3398	1,8689 ± 0,3434	0,9746 ± 0,1041	0,9344 ± 0,1008	
16.	70	10,71	2,30 ± 0,8777	2,13 ± 0,8329	2,23 ± 0,8136	1,7118 ± 0,6532	1,5920 ± 0,6199	0,8302 ± 0,1083	0,7960 ± 0,1108	
17.	75	10,00	2,05 ± 0,3544	1,90 ± 0,3289	1,98 ± 0,3411	1,5258 ± 0,2637	1,4190 ± 0,2448	0,6425 ± 0,3055	0,6160 ± 0,3126	
18.	80	9,37	1,28 ± 0,7114	1,77 ± 0,7258	1,65 ± 0,7164	1,7266 ± 0,5294	1,2321 ± 0,5402			
19.	85	8,82	1,14 ± 0,4669	1,57 ± 0,4522	1,46 ± 0,4311	1,5325 ± 0,3475	1,0936 ± 0,3365			
20.	90	8,33	0,97 ± 0,1233	1,34 ± 0,1355	1,25 ± 0,1399	1,3094 ± 0,0917	0,9344 ± 0,1008			
21.	95	7,89	0,83 ± 0,1532	1,14 ± 0,1489	1,06 ± 0,1456	1,1155 ± 0,1140	0,7960 ± 0,1108			
22.	100	7,50	0,64 ± 0,4112	0,89 ± 0,4201	0,82 ± 0,4105	0,8632 ± 0,3060	0,6160 ± 0,3126			

**Tabelul 5.46. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de monoetanolamoniu (MEAA), cu concentrația, la diferite temperaturi**

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Medie ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]			
			20°C		30°C	20°C		30°C	40°C
			20°C	30°C	40°C	20°C	30°C	40°C	
1.	50	20,00	1,22 ± 0,3698	1,26 ± 0,3489	1,30 ± 0,3612	0,9132 ± 0,2752	0,9392 ± 0,2596	0,9734 ± 0,2688	
2.	55	18,18	1,19 ± 0,1259	1,23 ± 0,1289	1,29 ± 0,1369	0,8875 ± 0,0937	0,9209 ± 0,0959	0,9652 ± 0,1018	
3.	60	16,66	1,15 ± 0,2544	1,21 ± 0,2471	1,28 ± 0,2549	0,8625 ± 0,1893	0,9029 ± 0,1839	0,9534 ± 0,1897	
4.	65	15,38	1,13 ± 0,6541	1,19 ± 0,6289	1,24 ± 0,6028	0,8469 ± 0,4868	0,8916 ± 0,4680	0,9256 ± 0,1897	
5.	70	14,28	1,11 ± 0,2358	1,17 ± 0,2678	1,25 ± 0,2589	0,8265 ± 0,1755	0,8767 ± 0,1993	0,9345 ± 0,1926	
6.	75	13,33	1,07 ± 0,6101	1,15 ± 0,6013	1,23 ± 0,6201	0,8014 ± 0,4540	0,8583 ± 0,4475	0,9213 ± 0,4615	
7.	80	12,50	1,05 ± 0,4599	1,13 ± 0,4821	1,21 ± 0,4689	0,7823 ± 0,3423	0,8441 ± 0,3588	0,9048 ± 0,3490	
8.	85	11,76	1,02 ± 0,5488	1,11 ± 0,5317	1,21 ± 0,5147	0,7658 ± 0,4087	0,8318 ± 0,3957	0,9036 ± 0,3830	
9.	90	11,11	1,01 ± 0,2563	1,10 ± 0,2497	1,20 ± 0,2369	0,7523 ± 0,1907	0,8216 ± 0,1858	0,8934 ± 0,1763	
10.	95	10,52	0,97 ± 0,1254	1,02 ± 0,1364	1,11 ± 0,1854	0,7269 ± 0,0933	0,7632 ± 0,1015	0,8325 ± 0,1379	
11.	100	10,00	0,90 ± 0,3211	0,95 ± 0,3458	1,05 ± 0,3612	0,6732 ± 0,2389	0,7135 ± 0,2573	0,7863 ± 0,2688	
12.	50	10,00	0,90 ± 0,2588	0,95 ± 0,2641	1,05 ± 0,2436	0,6732 ± 0,1926	0,7135 ± 0,1965	0,7863 ± 0,1813	
13.	55	9,09	0,77 ± 0,2954	0,82 ± 0,2169	0,90 ± 0,2069	0,5798 ± 0,2198	0,6156 ± 0,1614	0,6736 ± 0,1539	
14.	60	8,33	0,65 ± 0,4587	0,70 ± 0,4123	0,80 ± 0,4025	0,4858 ± 0,3414	0,5259 ± 0,3068	0,6008 ± 0,2995	
15.	65	7,69	0,58 ± 0,1477	0,64 ± 0,1981	0,74 ± 0,1798	0,4356 ± 0,1099	0,4773 ± 0,1474	0,5523 ± 0,1338	
16.	70	7,14	0,50 ± 0,5699	0,55 ± 0,5132	0,68 ± 0,5214	0,3725 ± 0,4241	0,4152 ± 0,3819	0,5065 ± 0,3880	
17.	75	6,66	0,43 ± 0,1499	0,49 ± 0,1269	0,63 ± 0,1322	0,3256 ± 0,1115	0,3683 ± 0,0944	0,4736 ± 0,0983	
18.	80	6,25	0,37 ± 0,5488	0,43 ± 0,5782	0,54 ± 0,5399	0,2812 ± 0,4084	0,3233 ± 0,4303	0,4036 ± 0,4018	
19.	85	5,88	0,24 ± 0,3622	0,30 ± 0,3145	0,49 ± 0,3412	0,1856 ± 0,2695	0,2233 ± 0,2340	0,3685 ± 0,2539	
20.	90	5,55	0,22 ± 0,3488	0,27 ± 0,3522	0,43 ± 0,3147	0,1679 ± 0,2596	0,2043 ± 0,2621	0,3241 ± 0,2342	
21.	95	5,26	0,18 ± 0,2811	0,22 ± 0,2465	0,38 ± 0,2612	0,1356 ± 0,2092	0,1689 ± 0,1834	0,2841 ± 0,1944	
22.	100	5,00	0,16 ± 0,3488	0,20 ± 0,3144	0,34 ± 0,3059	0,1236 ± 0,2596	0,1555 ± 0,2340	0,2564 ± 0,2276	

Tabelul 5.47. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de dietanolamoniu (DEAA) cu concentrația, la diferite temperaturi

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]			
			20°C		30°C	20°C		30°C	40°C
			20°C	30°C	40°C	20°C	30°C	40°C	
1.	50	20,00	1,29 ± 0,3214	1,33 ± 0,3427	1,34 ± 0,3512	0,9632 ± 0,2392	0,9954 ± 0,2550	0,999 ± 0,2613	
2.	55	18,18	1,24 ± 0,2589	1,28 ± 0,2347	1,32 ± 0,2514	0,9254 ± 0,1926	0,9536 ± 0,1746	0,9856 ± 0,1871	
3.	60	16,66	1,17 ± 0,3258	1,23 ± 0,3478	1,26 ± 0,3331	0,8773 ± 0,2424	0,9173 ± 0,2588	0,9435 ± 0,2479	
4.	65	15,38	1,12 ± 0,4598	1,20 ± 0,4615	1,23 ± 0,4423	0,8369 ± 0,3422	0,8969 ± 0,3434	0,9156 ± 0,3292	
5.	70	14,28	1,07 ± 0,1243	1,17 ± 0,1358	1,19 ± 0,1211	0,7965 ± 0,0925	0,8765 ± 0,1010	0,8912 ± 0,0901	
6.	75	13,33	1,03 ± 0,7832	1,13 ± 0,7423	1,15 ± 0,7469	0,7714 ± 0,5829	0,8454 ± 0,5524	0,8623 ± 0,5559	
7.	80	12,50	1,00 ± 0,6531	1,11 ± 0,6472	1,13 ± 0,6517	0,7453 ± 0,4861	0,8323 ± 0,4817	0,8439 ± 0,4850	
8.	85	11,76	0,97 ± 0,7821	1,08 ± 0,7645	1,11 ± 0,7808	0,7258 ± 0,5821	0,8058 ± 0,5690	0,8325 ± 0,5811	
9.	90	11,11	0,94 ± 0,1436	1,06 ± 0,1523	1,05 ± 0,1625	0,7023 ± 0,1068	0,7923 ± 0,1133	0,7864 ± 0,1209	
10.	95	10,52	0,92 ± 0,3812	1,01 ± 0,3589	1,00 ± 0,3489	0,6869 ± 0,2837	0,7536 ± 0,2671	0,7469 ± 0,2596	
11.	100	10,00	0,87 ± 0,4891	0,94 ± 0,4612	0,94 ± 0,4723	0,6532 ± 0,3640	0,7023 ± 0,3432	0,7036 ± 0,3515	
12.	50	10,00	0,87 ± 0,4512	0,94 ± 0,4425	0,94 ± 0,4536	0,6532 ± 0,3358	0,7023 ± 0,3293	0,7036 ± 0,3376	
13.	55	9,09	0,77 ± 0,1136	0,82 ± 0,1098	0,85 ± 0,1152	0,5798 ± 0,0845	0,6135 ± 0,0817	0,6357 ± 0,0857	
14.	60	8,33	0,65 ± 0,4136	0,72 ± 0,4210	0,75 ± 0,4023	0,4858 ± 0,3078	0,5432 ± 0,3133	0,5612 ± 0,2994	
15.	65	7,69	0,58 ± 0,1069	0,63 ± 0,1335	0,67 ± 0,1592	0,4356 ± 0,0795	0,4732 ± 0,0993	0,5047 ± 0,1184	
16.	70	7,14	0,50 ± 0,2269	0,55 ± 0,2178	0,63 ± 0,2135	0,3725 ± 0,1688	0,4123 ± 0,1621	0,4698 ± 0,1589	
17.	75	6,66	0,43 ± 0,4931	0,48 ± 0,4835	0,56 ± 0,4725	0,3256 ± 0,3670	0,3598 ± 0,3598	0,4169 ± 0,3516	
18.	80	6,25	0,37 ± 0,3158	0,42 ± 0,3025	0,49 ± 0,3158	0,2812 ± 0,2350	0,3164 ± 0,2251	0,3669 ± 0,2350	
19.	85	5,88	0,31 ± 0,1345	0,37 ± 0,1298	0,45 ± 0,1398	0,2356 ± 0,1001	0,2758 ± 0,0966	0,3374 ± 0,1040	
20.	90	5,55	0,22 ± 0,1378	0,32 ± 0,1255	0,41 ± 0,1224	0,1679 ± 0,1025	0,2456 ± 0,0934	0,3054 ± 0,0911	
21.	95	5,26	0,18 ± 0,3891	0,27 ± 0,3721	0,35 ± 0,3682	0,1356 ± 0,2896	0,2036 ± 0,2769	0,2654 ± 0,2740	
22.	100	5,00	0,16 ± 0,1446	0,24 ± 0,1632	0,37 ± 0,1684	0,1236 ± 0,1076	0,1836 ± 0,1214	0,2468 ± 0,1253	

Tabelul 5.48. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de trietanolamoniu (TEAA) cu concentrația, la diferite temperaturi

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]			
			20°C		30°C	20°C		30°C	40°C
			20°C	30°C	40°C	20°C	30°C	40°C	
1.	50	10,00	0,78 ± 0,4358	0,8 ± 0,4169	0,81 ± 0,4369	0,5805 ± 0,3243	0,5954 ± 0,3251	0,6028 ± 0,2413	
2.	55	9,09	0,75 ± 0,4569	0,77 ± 0,4269	0,79 ± 0,4167	0,5582 ± 0,3400	0,5731 ± 0,3101	0,5879 ± 0,2530	
3.	60	8,33	0,71 ± 0,3255	0,74 ± 0,3214	0,77 ± 0,3458	0,5284 ± 0,2422	0,5507 ± 0,2573	0,5731 ± 0,1802	
4.	65	7,69	0,68 ± 0,1288	0,72 ± 0,1136	0,75 ± 0,1223	0,5061 ± 0,0958	0,5356 ± 0,0910	0,5582 ± 0,0713	
5.	70	7,14	0,65 ± 0,4833	0,70 ± 0,4731	0,72 ± 0,4625	0,4837 ± 0,3597	0,5210 ± 0,3442	0,5358 ± 0,2677	
6.	75	6,66	0,63 ± 0,1533	0,68 ± 0,1369	0,71 ± 0,1456	0,4689 ± 0,1141	0,5061 ± 0,1083	0,5284 ± 0,0849	
7.	80	6,25	0,61 ± 0,2362	0,65 ± 0,2198	0,70 ± 0,2589	0,4540 ± 0,1758	0,4837 ± 0,1926	0,5210 ± 0,1308	
8.	85	5,88	0,59 ± 0,2514	0,63 ± 0,2412	0,69 ± 0,2698	0,4391 ± 0,1871	0,4689 ± 0,2008	0,5135 ± 0,1392	
9.	90	5,55	0,57 ± 0,2144	0,62 ± 0,2227	0,67 ± 0,2489	0,4242 ± 0,1595	0,4614 ± 0,1852	0,4986 ± 0,1187	
10.	95	5,26	0,55 ± 0,1433	0,59 ± 0,1736	0,64 ± 0,1575	0,4093 ± 0,1066	0,4391 ± 0,1172	0,4763 ± 0,0793	
11.	100	5,00	0,54 ± 0,7598	0,575 ± 0,7736	0,60 ± 0,7658	0,4019 ± 0,5655	0,4279 ± 0,5699	0,4465 ± 0,4209	
12.	50	5,00	0,54 ± 0,7598	0,575 ± 0,7736	0,60 ± 0,7658	0,4019 ± 0,5655	0,4279 ± 0,5699	0,4465 ± 0,4209	
13.	55	4,54	0,49 ± 0,9025	0,51 ± 0,9258	0,54 ± 0,8932	0,3639 ± 0,6717	0,3795 ± 0,6648	0,4019 ± 0,4999	
14.	60	4,16	0,45 ± 0,2835	0,48 ± 0,2745	0,50 ± 0,2678	0,3367 ± 0,2110	0,3572 ± 0,1993	0,3720 ± 0,1570	
15.	65	3,84	0,41 ± 0,1698	0,44 ± 0,1748	0,46 ± 0,1628	0,3102 ± 0,1263	0,3274 ± 0,1211	0,3423 ± 0,0940	
16.	70	3,57	0,37 ± 0,1359	0,41 ± 0,1259	0,43 ± 0,1349	0,2772 ± 0,1011	0,3051 ± 0,1004	0,3200 ± 0,0752	
17.	75	3,33	0,34 ± 0,2568	0,37 ± 0,2136	0,40 ± 0,3025	0,2539 ± 0,1911	0,2753 ± 0,2251	0,2977 ± 0,1422	
18.	80	3,12	0,31 ± 0,1113	0,35 ± 0,1026	0,37 ± 0,1190	0,2349 ± 0,0828	0,2605 ± 0,0885	0,2753 ± 0,0616	
19.	85	2,94	0,29 ± 0,4689	0,33 ± 0,4369	0,35 ± 0,4425	0,2206 ± 0,3490	0,2456 ± 0,3293	0,2605 ± 0,2597	
20.	90	2,77	0,26 ± 0,7836	0,30 ± 0,7523	0,32 ± 0,7469	0,2001 ± 0,5832	0,2232 ± 0,5559	0,2381 ± 0,4340	
21.	95	2,63	0,24 ± 0,8123	0,29 ± 0,8215	0,30 ± 0,8023	0,1786 ± 0,6045	0,2158 ± 0,5971	0,2232 ± 0,4499	
22.	100	2,50	0,22 ± 0,9111	0,27 ± 0,9025	0,28 ± 0,8934	0,1637 ± 0,6781	0,2009 ± 0,6649	0,2084 ± 0,5047	

**Tabelul 5.49. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de izobutilamoniu (IBAA) cu concentrația, la diferite temperaturi**

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]				
			20°C		30°C		20°C		30°C	
			20°C	30°C	20°C	30°C	20°C	30°C	20°C	30°C
1.	50	20	1,20 ± 0,4348	1,34 ± 0,1928	1,47 ± 0,3614	0,8931 ± 0,3236	1,0215 ± 0,1435	1,1105 ± 0,2689	1,0812 ± 0,1892	
2.	55	18,18	1,14 ± 0,2569	1,30 ± 0,2467	1,45 ± 0,2542	0,8559 ± 0,1912	0,9708 ± 0,1836	1,0522 ± 0,4834	1,0342 ± 0,3906	
3.	60	16,66	1,12 ± 0,2561	1,24 ± 0,6124	1,41 ± 0,6495	0,8187 ± 0,1906	0,9318 ± 0,4558	1,0125 ± 0,1001	0,9870 ± 0,6791	
4.	65	15,38	1,04 ± 0,1682	1,20 ± 0,5124	1,38 ± 0,5249	0,7815 ± 0,1251	0,9150 ± 0,3813	0,8961 ± 0,6146	0,8254 ± 0,2243	
5.	70	14,28	1,00 ± 0,4259	1,16 ± 0,1593	1,36 ± 0,1345	0,7443 ± 0,3169	0,8721 ± 0,1185	0,7811 ± 0,4509	0,7321 ± 0,3070	
6.	75	13,33	0,99 ± 0,4147	1,155 ± 0,9324	1,32 ± 0,9125	0,7368 ± 0,3086	0,8605 ± 0,6939	0,6810 ± 0,1862	0,5065 ± 0,4575	
7.	80	12,50	0,96 ± 0,5129	1,12 ± 0,8314	1,20 ± 0,8258	0,7145 ± 0,3817	0,8409 ± 0,6188	0,4502 ± 0,3731	0,3930 ± 0,5829	
8.	85	11,76	0,90 ± 0,6128	1,04 ± 0,3258	1,10 ± 0,3014	0,6773 ± 0,4561	0,7798 ± 0,2424	0,3464 ± 0,2378	0,3153 ± 0,2424	
9.	90	11,11	0,84 ± 0,2896	0,97 ± 0,6127	1,04 ± 0,6059	0,6326 ± 0,2155	0,7268 ± 0,4560	0,2534 ± 0,4786	0,2153 ± 0,1859	
10.	95	10,52	0,84 ± 0,3498	0,88 ± 0,4312	0,98 ± 0,4125	0,6305 ± 0,2603	0,6574 ± 0,3209	0,2002 ± 0,3410	0,1779 ± 0,5228	
11.	100	10,00	0,77 ± 0,2469	0,76 ± 0,2468	0,91 ± 0,2502	0,5802 ± 0,1837	0,5656 ± 0,1836	0,1574 ± 0,4787	0,1330 ± 0,4575	
12.	50	10,00	0,77 ± 0,2469	0,76 ± 0,2468	0,91 ± 0,2502	0,5802 ± 0,1837	0,5656 ± 0,1836	0,1417 ± 0,3823	0,1191 ± 0,3665	
13.	55	9,09	0,67 ± 0,3145	0,71 ± 0,6431	0,68 ± 0,6147	0,5021 ± 0,2340	0,5354 ± 0,4786			
14.	60	8,33	0,57 ± 0,1823	0,61 ± 0,5612	0,60 ± 0,5014	0,4316 ± 0,1356	0,4567 ± 0,4177			
15.	65	7,69	0,5 ± 0,6249	0,52 ± 0,7832	0,48 ± 0,7512	0,3721 ± 0,4651	0,3930 ± 0,5829			
16.	70	7,14	0,43 ± 0,3589	0,46 ± 0,3195	0,42 ± 0,3258	0,3274 ± 0,2671	0,3464 ± 0,2378			
17.	75	6,66	0,36 ± 0,3489	0,38 ± 0,4987	0,34 ± 0,4261	0,2679 ± 0,2596	0,2834 ± 0,3711			
18.	80	6,25	0,30 ± 0,2593	0,32 ± 0,2596	0,28 ± 0,2498	0,2307 ± 0,1929	0,2441 ± 0,1932			
19.	85	5,88	0,29 ± 0,4812	0,30 ± 0,4613	0,26 ± 0,4582	0,2158 ± 0,3581	0,2283 ± 0,3433			
20.	90	5,55	0,26 ± 0,1943	0,27 ± 0,7345	0,23 ± 0,7025	0,1935 ± 0,1446	0,2047 ± 0,5466			
21.	95	5,26	0,20 ± 0,7391	0,21 ± 0,6432	0,17 ± 0,6147	0,1488 ± 0,5501	0,1574 ± 0,4787			
22.	100	5,00	0,17 ± 0,6091	0,19 ± 0,5137	0,16 ± 0,4925	0,1339 ± 0,4533	0,1417 ± 0,3823			

**Tabelul 5.50. Variația conductivității specifice a soluțiilor apoase de abietat de di-izobutilamoniu (DIBAA) cu concentrația, la diferite temperaturi**

Nr. crt.	Volumul soluției, [ml]	Concentrația [Mm]	Conductanța [mS] (Media ± SD)			Conductivitatea specifică [mS/cm]			
			20°C		30°C	20°C		30°C	40°C
			20°C	30°C	40°C	20°C	30°C	40°C	
1.	50	20	1,26 ± 0,3589	1,29 ± 0,3648	1,30 ± 0,3589	0,9422 ± 0,2671	0,9672 ± 0,2715	0,9807 ± 0,2671	
2.	55	18,18	1,20 ± 0,1645	1,26 ± 0,1594	1,29 ± 0,1478	0,8953 ± 0,1224	0,9399 ± 0,1186	0,9663 ± 0,1100	
3.	60	16,66	1,15 ± 0,4922	1,23 ± 0,4785	1,27 ± 0,4689	0,8564 ± 0,3663	0,9168 ± 0,3561	0,9456 ± 0,3490	
4.	65	15,38	1,09 ± 0,4321	1,20 ± 0,4456	1,24 ± 0,4236	0,8174 ± 0,3216	0,8932 ± 0,3316	0,9244 ± 0,3152	
5.	70	14,28	1,04 ± 0,9134	1,16 ± 0,8956	1,22 ± 0,7892	0,7785 ± 0,6798	0,8692 ± 0,6665	0,9125 ± 0,5874	
6.	75	13,33	1,03 ± 0,4592	1,16 ± 0,4289	1,20 ± 0,4168	0,7707 ± 0,3417	0,8643 ± 0,3192	0,8970 ± 0,3102	
7.	80	12,50	0,97 ± 0,2731	1,14 ± 0,3215	1,19 ± 0,3654	0,7265 ± 0,2032	0,8495 ± 0,2392	0,8860 ± 0,2719	
8.	85	11,76	0,95 ± 0,4685	1,13 ± 0,4612	1,17 ± 0,4582	0,7089 ± 0,3487	0,8423 ± 0,3432	0,8761 ± 0,3410	
9.	90	11,11	0,92 ± 0,1593	1,10 ± 0,1620	1,16 ± 0,1029	0,6875 ± 0,1185	0,8256 ± 0,1205	0,8642 ± 0,0765	
10.	95	10,52	0,90 ± 0,2458	1,10 ± 0,2569	1,13 ± 0,2589	0,6745 ± 0,1829	0,8210 ± 0,1912	0,8456 ± 0,1926	
11.	100	10,00	0,87 ± 0,3574	1,05 ± 0,3498	1,08 ± 0,3254	0,6534 ± 0,2660	0,7854 ± 0,2603	0,8065 ± 0,2421	
12.	50	10,00	0,87 ± 0,3574	1,05 ± 0,3489	1,08 ± 0,3254	0,6534 ± 0,2660	0,7854 ± 0,2603	0,8065 ± 0,2421	
13.	55	9,09	0,84 ± 0,6348	0,93 ± 0,6358	0,93 ± 0,6450	0,6321 ± 0,4724	0,6994 ± 0,4732	0,6992 ± 0,4800	
14.	60	8,33	0,72 ± 0,1423	0,79 ± 0,1369	0,82 ± 0,1256	0,5365 ± 0,1059	0,5888 ± 0,1018	0,6152 ± 0,0934	
15.	65	7,69	0,60 ± 0,2589	0,65 ± 0,2315	0,72 ± 0,2531	0,4510 ± 0,1926	0,4873 ± 0,1723	0,5373 ± 0,1883	
16.	70	7,14	0,50 ± 0,1478	0,53 ± 0,1358	0,62 ± 0,1348	0,3760 ± 0,1100	0,3988 ± 0,1010	0,4662 ± 0,1003	
17.	75	6,66	0,44 ± 0,3692	0,43 ± 0,3158	0,56 ± 0,3258	0,3325 ± 0,2747	0,3232 ± 0,2350	0,4236 ± 0,2424	
18.	80	6,25	0,32 ± 0,2564	0,37 ± 0,2698	0,44 ± 0,2598	0,2413 ± 0,1908	0,2805 ± 0,2008	0,3299 ± 0,1933	
19.	85	5,88	0,30 ± 0,8651	0,26 ± 0,8245	0,42 ± 0,8325	0,2257 ± 0,6438	0,1937 ± 0,6136	0,3132 ± 0,6196	
20.	90	5,55	0,27 ± 0,4358	0,24 ± 0,4532	0,38 ± 0,4612	0,2024 ± 0,3243	0,179 ± 0,3373	0,2876 ± 0,3432	
21.	95	5,26	0,20 ± 0,6548	0,21 ± 0,6258	0,31 ± 0,6123	0,1557 ± 0,4873	0,1581 ± 0,4657	0,2344 ± 0,4557	
22.	100	5,00	0,18 ± 0,1648	0,15 ± 0,1589	0,29 ± 0,1612	0,1401 ± 0,1226	0,1168 ± 0,1182	0,2159 ± 0,1199	



După cum se observă din datele sintetizate în tabelul 5.51., valorile concentrației critice micelare determinate prin metoda conductometrică sunt în toate cazurile comparabile ca ordin de mărime cu cele obținute prin metoda tensiunii superficiale. Similar metodei tensiunii superficiale, valorile experimentale au dovedit dependența CMC-ului de structura compușilor analizați, în particular de ponderea restului hidrofobic respectiv mărimea ionului metallic. Spre deosebire de metoda tensiunii superficiale, metoda conductometrică prezintă avantajul că este mai puțin costisitoare atât din punct de vedere al timpului de lucru cât și al consumului de reactivi scumpi. În plus s-a dovedit a fi o cale simplă pentru a testa caracterul ionic al compușilor sintetizați. Valorile destul de mari ale conductanței respectiv ale conductivității specifice (ordinul miliSimens/cm) au arătat că produșii obținuți sunt săruri de amoniu și nu amide. Măsurătorile efectuate la alte temperaturi au evidențiat faptul că și din acest punct de vedere compușii testați se comportă similar substanțelor tensioactive cu caracter ionic, în sensul că odată cu creșterea temperaturii soluțiilor are loc și creșterea valorii CMC-ului mai evident la început cu ocazia saltului de la 20 la 30°C și apoi mai lent la ridicarea temperaturii la 40°C.

**Tabelul 5.51. Valorile comparative ale CMC-ului pentru sărurile acidului abietic determinate prin două metode la 20°C**

Nr. crt.	Substanța testată	CMC <sub>20°C</sub> (metoda tensiunii superficiale); [mM]	CMC <sub>20°C</sub> (metoda conductometrică); [mM]
1.	A-Na	18	16,42
2.	A-K	14	15,09
3.	MEAA	9	10,73
4.	DEAA	10	9,83
5.	TEAA	5	4,98
6.	IBAA	11	11,10
7.	DIBAA	9	9,23

#### 5.5.4. Puterea de umectare a sărurilor acidului abietic

Referințele bibliografice [251,253] situează compușii superficial activi anionici în categoria unor buni agenți de umectare în funcție de anumiți parametri (CMC, temperatură, solubilitate, pH). Luând în considerare faptul că deși aparțin aceleași clase de tenside, sărurile sintetizate ale acidului abietic se deosebesc printr-o serie de proprietăți structurale și fizico-chimice, în continuare ne-am propus să identificăm care dintre acești compuși au calități de umectare bună și în ce condiții.

Ca materiale textile s-au folosit runde confecționate din stofă, bumbac și mătase, iar concentrația soluțiilor apoase de săruri a variat de la 0,5 mM la 20 mM, respectiv 30 mM în cazul abietatilor de sodiu și potasiu. Temperatura soluțiilor a fost în toate cazurile aceeași și anume de 25°C. Pentru fiecare material textil și pentru fiecare compus au fost efectuate 10 repetiții luându-se în considerare valorile medii cuprinse în intervalul 25-300 sec. Rezultatele medii obținute sunt prezentate în tabelul 5.52. și în figurile 5.34- 5.36.

Tabelul 5.52. Valorile medii ale timpului de umectare a unor materiale textile la 30°C în soluții apoase de săruri ale acidului abietic

Nr crt	Materialul textil	Concentrația soluției [mM]	Timp de umectare [sec]; Media ± S.D.(%)									
			A-Na	A-K	MEAA	DEAA	TEAA	IBAA	DIBAA			
1.	Stofă	1	-	-	60 ± 1,36	65 ± 1,98	67 ± 1,32	64 ± 1,12	67 ± 1,58	-	-	
		3	-	-	-	-	86 ± 1,65	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	99 ± 2,01	-	-	-	-	
		5	32 ± 1,25	40 ± 1,05	89 ± 1,65	94 ± 1,56	115 ± 2,45	86 ± 2,14	67 ± 1,58	-	-	
		7,5	-	-	100 ± 2,89	104 ± 2,98	103 ± 1,65	103 ± 3,02	89 ± 1,58	-	-	
		8	-	-	-	-	91 ± 1,87	-	-	-	-	
		10	36 ± 3,21	59 ± 2,10	120 ± 1,85	123 ± 2,51	86 ± 2,58	110 ± 2,15	120 ± 1,25	-	-	
		15	55 ± 1,5	98 ± 1,05	110 ± 3,25	115 ± 3,45	-	103 ± 1,82	114 ± 1,85	-	-	
		18	96 ± 2,5	94 ± 2,45	-	-	-	-	-	-	-	
		20	90 ± 3,24	86 ± 1,64	95 ± 1,32	97 ± 2,47	-	92 ± 2,16	100 ± 1,36	-	-	
25	82 ± 1,5	80 ± 2,01	86 ± 1,45	88 ± 1,69	-	-	97 ± 2,13	-	-			
30	78 ± 1,56	78 ± 2,31	-	-	-	-	-	-	-			
2.	Bumbac	1	-	-	54 ± 2,02	57 ± 1,36	67 ± 3,2	64 ± 1,32	60 ± 2,45	-	-	
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		5	27 ± 2,54	35 ± 1,85	69 ± 1,65	73 ± 2,12	99 ± 2,89	89 ± 3,17	78 ± 2,14	-	-	
		7,5	-	-	86 ± 1,02	89 ± 1,41	115 ± 2,5	103 ± 4,05	89 ± 1,48	-	-	
		8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		10	33 ± 2,12	35 ± 4,21	97 ± 5,21	95 ± 1,89	103 ± 2,65	117 ± 2,69	106 ± 4,12	-	-	
		15	40 ± 1,45	76 ± 3,12	90 ± 4,21	86 ± 2,01	91 ± 1,58	110 ± 3,25	97 ± 3,2	-	-	
		18	72 ± 3,2	74 ± 2,65	-	-	-	-	-	-	-	
		20	68 ± 1,85	62 ± 1,69	87 ± 3,65	80 ± 1,45	86 ± 3,12	103 ± 1,96	84 ± 2,45	-	-	
25	60 ± 2,0	58 ± 1,58	78 ± 2,45	78 ± 2,13	86 ± 1,65	92 ± 2,85	80 ± 2,06	-	-			
30	54 ± 1,4	55 ± 3,025	-	-	-	-	-	-	-			
3.	Mătase	1	-	-	58 ± 1,25	60 ± 1,56	62 ± 1,62	58 ± 2,64	65 ± 1,87	-	-	
		3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		5	30 ± 1,54	38 ± 1,69	73 ± 1,98	80 ± 0,4	78 ± 1,47	74 ± 2,43	85 ± 3,56	-	-	
		7,5	-	-	95 ± 2,58	99 ± 1,14	94 ± 2,01	83 ± 1,87	98 ± 2,31	-	-	
		8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		10	37 ± 2,65	55 ± 2,05	108 ± 3,12	112 ± 2,54	100 ± 4,35	111 ± 1,39	114 ± 1,58	-	-	
		15	48 ± 1,65	86 ± 1,87	90 ± 1,98	100 ± 3,14	95 ± 2,73	100 ± 1,58	107 ± 2,81	-	-	
		18	80 ± 3,21	82 ± 2,54	-	-	-	-	-	-	-	
		20	76 ± 2,56	74 ± 2,01	85 ± 2,15	91 ± 2,05	84 ± 1,58	96 ± 2,78	99 ± 1,98	-	-	
25	64 ± 1,45	69 ± 1,78	79 ± 2,69	84 ± 1,3	79 ± 2,25	88 ± 2,64	85 ± 1,23	-	-			
30	59 ± 1,65	65 ± 2,5	-	-	-	-	-	-	-			

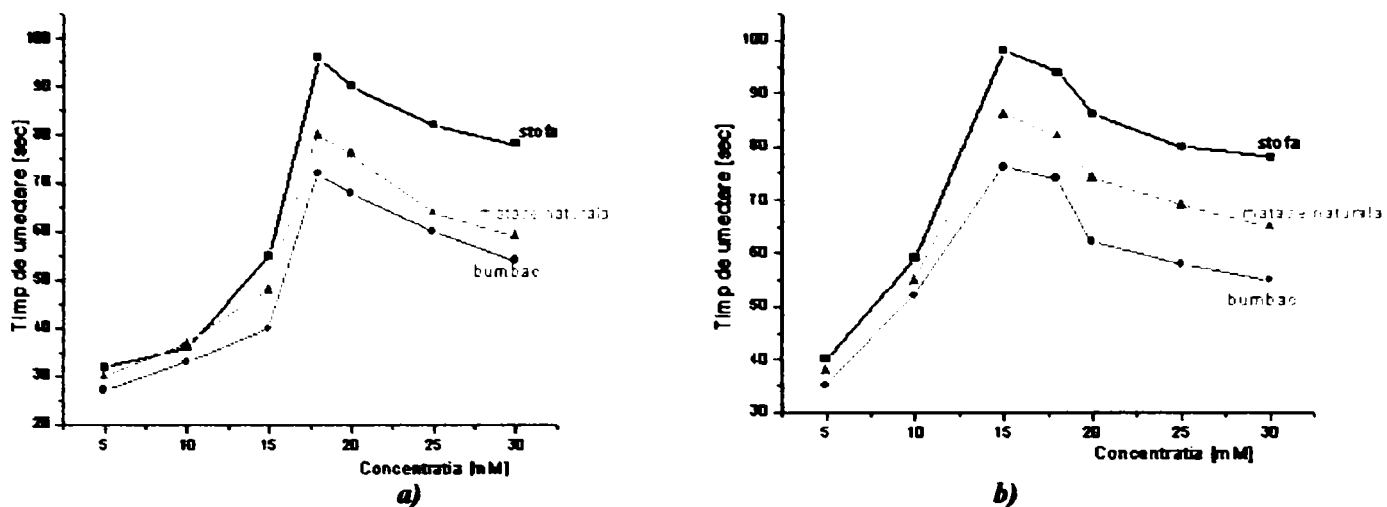


Fig.5.34: Variația timpului de umectare cu concentrația soluțiilor de abietati de sodiu (a), respectiv de potasiu (b)

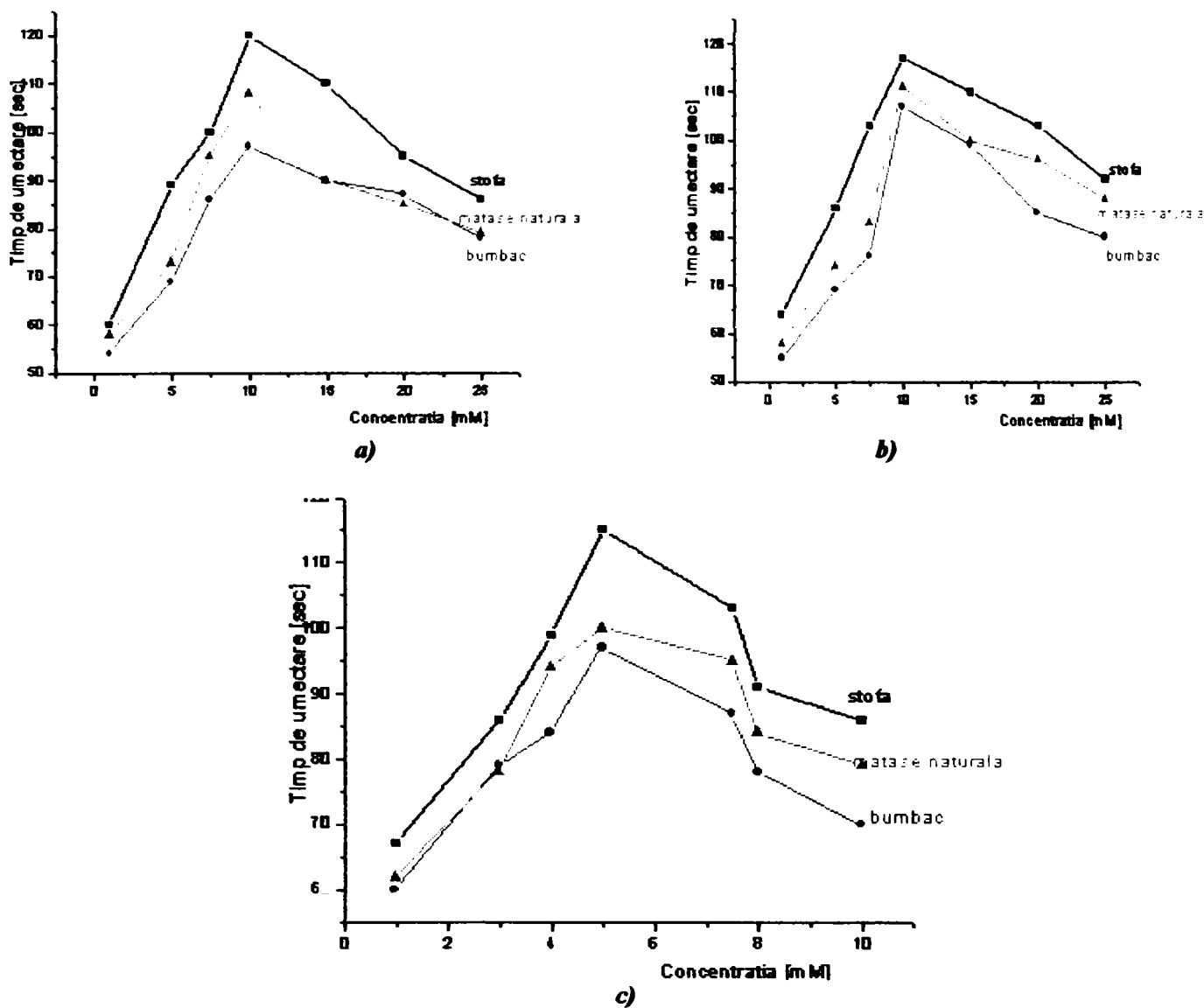


Fig.5.35: Variația timpului de umectare a soluțiilor apoase de săruri de amoniu ale acidului abietic cu concentrația: MEAA (a); DEAA, (b); TEAA, (c)

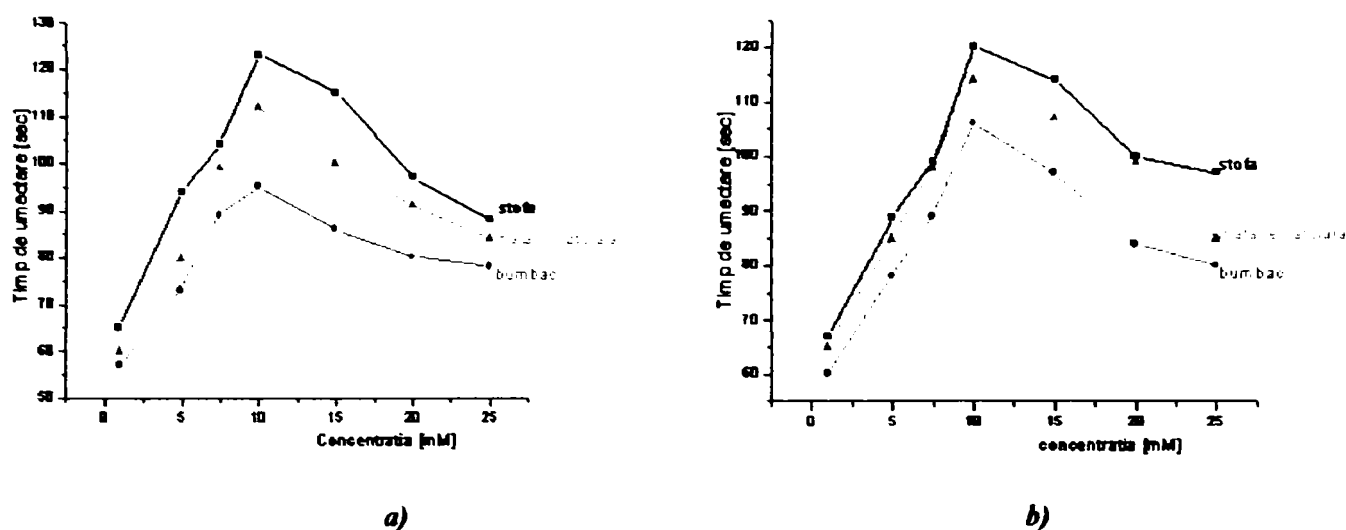


Fig. 5.36: Variația timpului de umectare a soluțiilor apoase de săruri de amoniu ale acidului abietic cu amine, cu concentrația: IBAA (a); DIBAA, (b);

Alura curbelor din graficele prezentate în figurile 5.34-5.36 reflectă faptul că timpul de umectare este funcție de concentrația soluțiilor de tenside atingând o valoare maximă în toate cazurile în apropierea concentrației critice micelare. Acest lucru nu este întâmplător dacă luăm în considerare structura și comportamentul substanțelor superficial active în soluții apoase. La ora actuală este recunoscut de către cercetătorii din domeniu că o soluție de compus tensioactiv prezintă trei componente și anume monomerii liberi de compus, miceliile și monomerii substanței adsorbiți la interfața aer-lichid și/sau lichid-lichid, componente aflate permanent într-un echilibru dinamic [251,253]. Acest echilibru dinamic se traduce prin aceea că odată cu aglomerarea monomerilor în miceli, are loc și procesul invers de desprindere a unor monomeri din agregat și migrarea lor în faza apoasă. Considerațiile teoretice dar și experiențele practice efectuate de Shah [250] au arătat că acest proces invers are loc cu o intensitate mai mică decât cel de formare a miceliilor. Pentru ca fenomenul de umectare a materialelor textile să fie eficient este necesar ca monomerii substanței tensioactive să se adsoarbă la nivelul pozițiilor hidrofobe în general reprezentate de molecule de aer care au fost anterior captate în material respectiv și să le transforme în poziții cu caracter hidrofil. Prin urmare eficiența umectării este strâns legată de numărul de monomeri disponibili pentru adsorbție. Formarea unor miceli relativ stabile, ce corespunde concentrației critice micelare a soluției de tensidă, va determina existența unui număr mic de monomeri care să migreze la interfață și prin urmare umectarea materialului se va realiza într-o perioadă de timp mai lungă. [254,255]. De aceea este preferabil pentru obținerea unei puteri de umectare bune a abietatilor, să se lucreze la concentrații în substanță activă inferioare concentrației critice micelare.

De asemenea, din graficele prezentate se poate observa că în toate cazurile timpii de umectare au avut valorile cele mai mici pentru bumbac și cele mai mari pentru stofă dovedindu-se dependența fenomenului de structura internă a țesăturii și grosimea materialului.

Comparând valorile timpilor de umectare obținuți experimental cu cele din literatura de specialitate pentru categoria de compuși ionici [251] se constată că în general abietatii au dat valori intermediare ale timpilor de umectare, între timpii de umectare corespunzători sărurilor de amoniu ai acizilor grași, respectiv sărurilor cuaternare de amoniu, pentru toate cele trei tipuri de materiale textile. În schimb, pentru stofă, abietatii de sodiu și potasiu au înregistrat valori ale timpilor de udare mai mari decât cei similari săpunurilor acizilor grași. Acest impediment poate fi corectat prin ajustarea pH-ului soluțiilor la 7,2-7,5 ceea ce va conduce la o scădere a tensiunii superficiale și deci și a concentrației critice micelare (vezi explicații 5.5.3.1). În plus, în cazul materialelor din stofă este recomandat, ca pH-ul soluțiilor de compuși superficiali activi să fie neutru sau ușor alcalin indiferent de concentrația în substanță activă a acestora [218]. În schimb atât bumbacul cât și mătasea naturală se umectează eficient atât în domenii acide cât și în cele alcaline.

Având în vedere datele experimentale obținute, se poate concluziona că:

- sărurile acidului abietic analizate sunt în general buni umectanți pentru materialele textile din bumbac și mătase la concentrații inferioare valorilor CMC-ului fiecărei sări; astfel la concentrații în substanță activă având valoarea jumătate din valoarea corespunzătoare CMC-ului, timpii de umectare (puterea de udare) au avut valori în jurul 60-70 de secunde cu excepția IBAA și DIBAA,

cea ce este în concordanță cu valorile timpilor de umectare pentru compușii anionici din clasa săpunurilor acizilor grași;

- în domeniul soluțiilor apoase cu concentrații superioare CMC-ului în toate cazurile valorile timpilor de umectare au fost mai mari decât 60 de secunde, valoarea medie corespunzătoare sărurilor acizilor grași la concentrații duble față de valoarea corespunzătoare a CMC-ului lor.

### 5.5.5. Determinarea capacității de spumare a sărurilor acidului abietic

Studiile efectuate de o serie de cercetători [218, 251, 253] cu privire la capacitatea soluțiilor de compuși superficiali activi de a spuma, au sugerat existența a două categorii de factori. O primă categorie de factori, denumiți "*factori cuantificabili*" se referă la proprietățile intrinseci ale tensidelor, în schimb cea de a doua categorie așa numiți "*factori imprevizibili*" se referă mai mult la condițiile de lucru în care au loc experiențele.

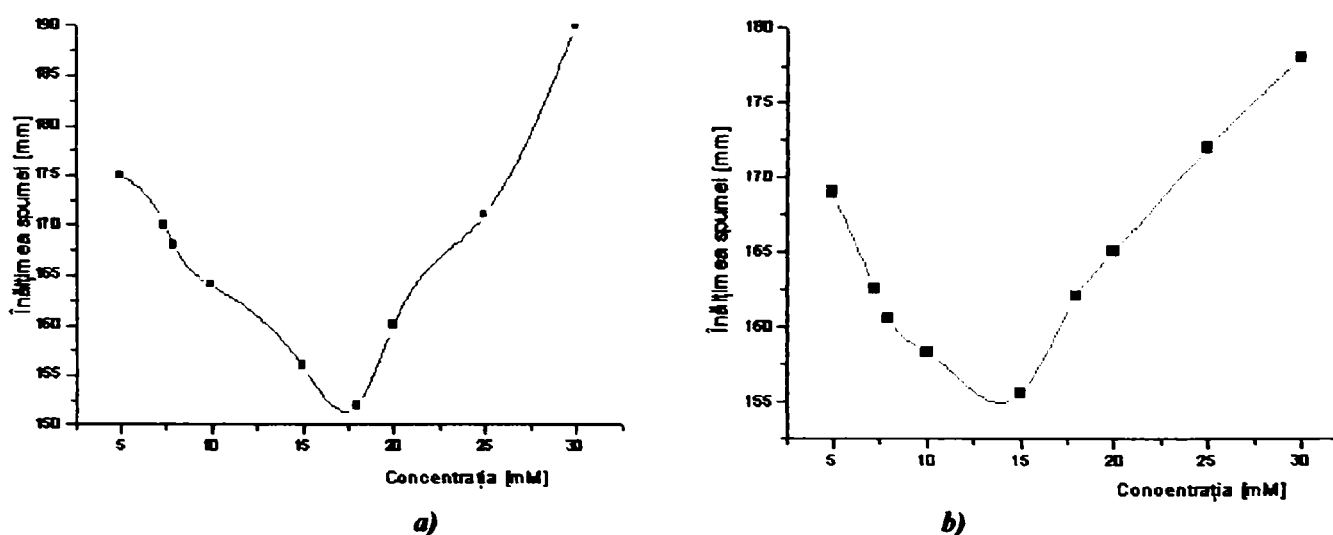
Studiul nostru experimental a luat în discuție doar influența unor factori din prima categorie și anume concentrația soluțiilor și implicit a concentrației critice micelare asupra înălțimii și stabilității spumei.

#### 5.5.5.1. Determinarea înălțimii de spumare

Măsurătorile s-au efectuat la 25°C în toate cazurile și în trei repetiții pentru fiecare valoare a concentrației. Rezultatele medii obținute la determinarea înălțimii de spumare sunt prezentate în tabelul 5.53 și în figurile 5.37-5.39.

**Tabelul 5.53. Valorile medii ale înălțimii de spumare a soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic la 25°C**

Nr. crt.	Conc. Soluție [mM]	Înălțimea spumei [mm] (Media ± SD)						
		A-NA	A-K	MEAA	DEAA	TEAA	IBAA	DIBAA
1.	1	-	-	-	-	189± 2,7	25 ± 0,5	20,8± 1,4
2.	3	-	-	155 ± 2	154± 1,6	179± 1,8	19,6± 0,4	16,6± 0,9
3.	4	-	-	150± 1,4	150± 1,5	165± 1,6	-	-
4.	5	175± 1,6	169± 1,9	148± 2,6	147± 2,5	159± 3,5	15,3± 0,2	13,8± 0,4
5.	7,5	170± 2,0	164± 3,2	143± 2,5	144± 2,9	180± 2,5	-	-
6.	8	168± 1,4	160± 2,5	140± 1,9	142± 1,4	187± 1,7	-	-
7.	10	164± 1,7	158 ±2,3	135± 4,1	136± 3,1	203± 4,5	10,1± 0,8	10,9± 0,7
8.	15	156± 1,6	155 ±4,2	148± 1,8	156± 2,0	231± 2,8	16,9± 0,1	15,7± 0,5
9.	18	152 ±4,0	162 ± 2	154± 3,4	163± 1,5	232± 3	21,5± 0,6	18,9± 0,3
10.	20	160± 1,8	165 ± 1,7	160± ,2	168± 3,2	-	29,6± 0,2	24,4± 1,2
11.	25	171± 2,6	172 ± 2,6	165± 2,1	169± 2,1	-	30,1± 0,9	26,9± 1,0
12.	30	190± 3,5	178 ± 1,0	168± 3,2	171± 1,2	-	30,1± 0,8	27,0± 0,8



**Fig.5.37: Variația înălțimii de spumare a abietatilor de sodiu A-NA, (a); potasiu A-K, (b), cu concentrația**

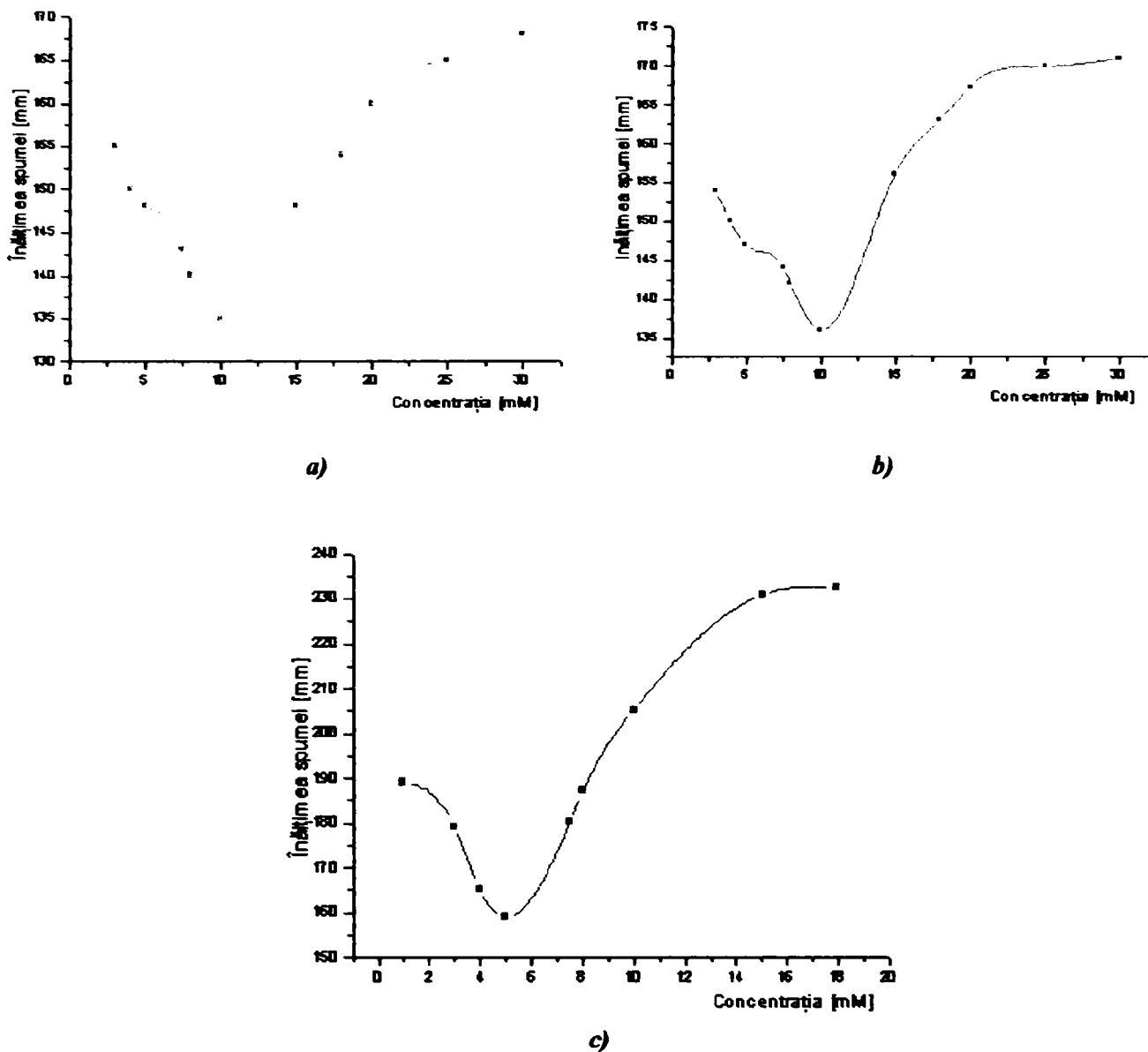


Fig.5.38: Variația înălțimii de spumare a soluțiilor apoase de săruri de amoniu ale acidului abietic, MEAA, (a); DEAA, (b); TEAA, (c), cu concentrația

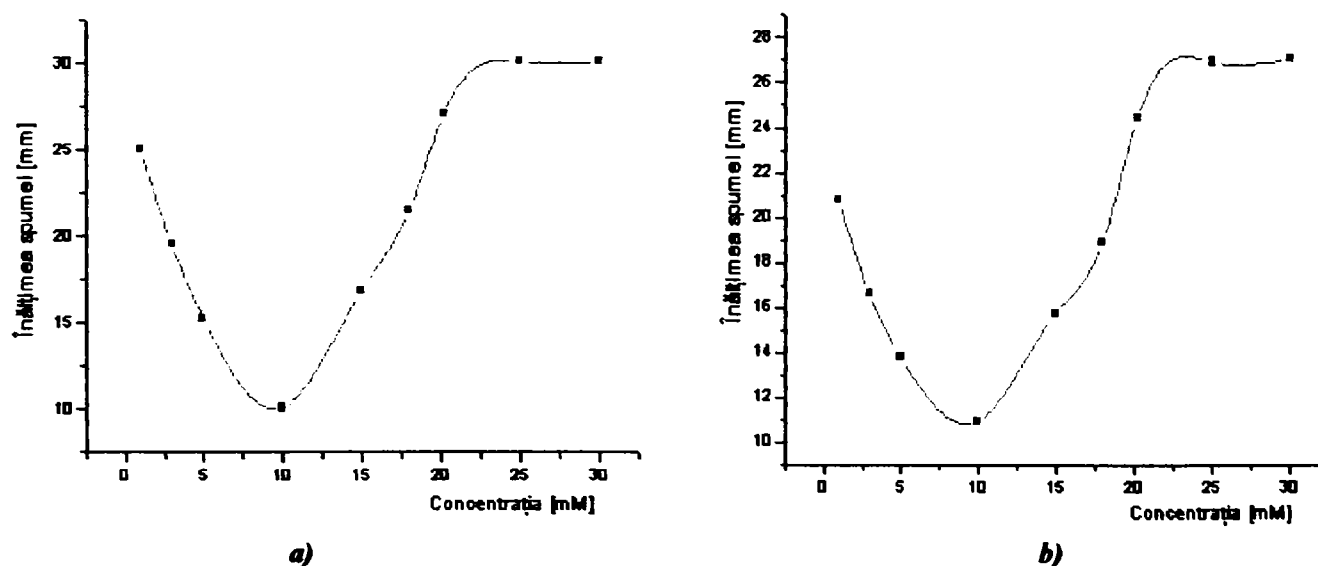


Fig.5.39: Variația înălțimii de spumare a abietatilor de izobutilamoniu, IBAA (a); respectiv di-izobutilamoniu, DIBAA, (b), cu concentrația

Reprezentarea grafică a rezultatelor experimentale reflectă faptul că înălțimea spumei (puterea de spumare) formate este funcție de concentrația acestora soluțiilor testate. La concentrații de substanță activă inferioare valorii CMC-ului fiecărei sări înălțimea spumei formate scade cu creșterea concentrației, atingând un minim când concentrația soluțiilor a devenit egală cu valoarea CMC-ului, după care, odată cu creșterea în continuare a concentrației, înălțimea de spumare începe și ea să crească rapid, pentru ca de la o anumită valoare a concentrației, aceasta să crească nesemnificativ sau să rămână constantă. Acest comportament poate fi explicat dacă luăm în considerare corelația care se stabilește între stabilitatea micelilor din soluția de tensidă și capacitatea acesteia de a furniza monomeri liberi capabili să se adsorbă la suprafața bulelor de aer din stratul de la suprafață [250, 253]. Pe de altă parte formarea de spumă implică apariția unei noi interfețe cu suprafață mare în urma pătrunderii moleculelor de aer în soluția de tensidă. Creșterea suprafeței interfaciale și apoi stabilizarea ei este asigurată prin formarea unui film adsorbant format din moleculele libere de compus tensioactiv, film care determină astfel scăderea tensiunii interfaciale aer/lichid [256]. Pe măsură ce moleculele de monomeri difuzează spre noua suprafață formată și se adsorb la aceasta, numărul lor în stare liberă scade, și prin urmare odată cu creșterea concentrației soluției, este rândul micelilor formate și aflate în cantitate mare să asigure monomerii liberi necesari adsorbției prin ruperea unor legături intramicelare. În cazul formării unor miceli stabile acestea nu vor fi capabile să asigure fluxul de monomeri necesari formării și ulterior stabilizării noii interfețe create și astfel puterea de spumare și în general stabilitatea spumei formate vor fi slabe. Pe de altă parte odată cu creșterea concentrației soluției de compus tensioactiv micelile devin tot mai rigide și din ce în ce mai stabile ceea ce va conduce la încetinirea creșterii noii suprafețe și ulterior la stabilizarea ei la un anumit nivel indiferent de cantitatea de tensidă adăugată în soluție.

Analiza datelor experimentale a arătat că există mari diferențe de valoare (de aproape un ordin de mărime) ale înălțimii spumei formate la sărurile cu metale alcaline și etanolamine pe de o parte, și cele cu amine pe de altă parte. Fenomenul poate fi explicat prin valorile mari ale CMC-ului (număr mare de monomeri liberi ce se pot adsorbi la noua interfață aer/lichid) abietăților alcalini comparativi cu ale celorlalte săruri testate. De asemenea este normal ca și în preajma valorii CMC-ului, abietății de sodiu și potasiu să formeze prin agitarea soluțiilor lor apoase o spumă abundentă și cu înălțime mare (158 mm/A-Na, respectiv 155 mm/A-K) având dintre toate substanțele testate valorile cele mai mari ale CMC-ului. Valorile înălțimii spumei în cazul soluțiilor apoase MEAA și DEAA sunt mai mici decât în cazul abietăților alcalini, dar fără prea mari diferențe (valorile minime 135 mm/MEAA, 136 mm/DEAA respectiv maxime 168 mm/MEAA, 171 mm/DEAA) și foarte apropiate ceea ce este explicabil având în vedere structura asemănătoare a celor două săruri.

Un caz aparte îl prezintă soluțiile de TEAA care au înregistrat cele mai mari înălțimi ale spumei (189 mm respectiv 232 mm cu un minim corespunzător CMC-ului de 159 mm). Această capacitate mare de spumare a TEAA poate fi explicată dacă luăm în considerare faptul că deși are o valoare mică a CMC-ului, prezența în faza apoasă a acestei sări determină o scădere semnificativă a tensiunii superficiale la interfața lichid-lichid (33-34 dyn/cm) și prin urmare filmul de monomeri adsorbiți la noua interfață aer/lichid va determina o scădere mai pronunțată a tensiunii chiar dacă aceștia se găsesc în număr mai mic [253]. Explicația a fost susținută și de constatarea practică că dacă, de exemplu pH-ul soluției de TEAA 3 mM a fost coborât de la 10 la aproximativ 7-7,5 prin adăugarea de soluție de acid acetic, înălțimea de spumare a atins valoarea de 300 mm, tensiunea superficială a soluției având valoarea de 24 dyn/cm. Puterea slabă de spumare a abietăților de izo- respectiv diizobutilamoniu (înălțimi ale spumei între 14-18 mm) poate fi justificată prin valoarea mare a tensiunii superficiale a soluțiilor, precum și printr-o solubilitate mult mai mică față de celelalte săruri.

#### 5.5.5.2. Determinarea stabilității spumei formate

Stabilitatea spumei formate prin agitarea soluțiilor testate anterior a fost determinată prin măsurarea volumului de spumă la intervale de 5, 10 respectiv 15 min. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 5.54-5.60 și figurile 5.40.-5.41.

Tabelul 5.54. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de sodiu (A-Na)

Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	5	219.8± 2.5	133.6± 2.9	127.9± 3.5	126.0± 2.0	61	58	57
2.	7.5	213.5± 1.5	144.2± 1.5	136.9± 3.1	135.7± 1.9	68	64	63
3.	8	211.0± 3.6	143.9± 3.2	136.8± 2.2	134.5± 2.5	68	65	64
4.	10	205.9± 4.2	146.8± 3.5	137.2± 2.6	135.6± 2.1	71	68	66
5.	15	195.9± 2.8	149.2± 2.8	140.3± 2.4	138.3± 3.2	76	73	70
6.	18	190.9± 3.4	149.9± 1.4	141.0± 1.6	138.9± 3.5	78	75	73
7.	20	200.9± 1.9	160.4± 4.1	149.5± 1.9	147.8± 1.4	80	76	74
8.	25	214.7± 3.5	178.3± 1.6	170.3± 1.7	163.4± 2.1	83	79	76
9.	30	238.6± 4.0	202.7± 3.2	194.9± 2.5	186.2± 1.5	85	81	78

Tabelul 5.55. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de potasiu (A-K)

Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	5	212.2± 0.6	104.9± 0.9	97.8± 1.1	92.6± 1.5	49	46	44
2.	7.5	205.9± 0.9	111.8± 1.1	116.1± 1.2	101.9± 0.6	54	52	49
3.	8	200.9± 2.5	109.8± 2.1	107.5± 2.3	101.2± 2.6	55	53	50
4.	10	198.4± 2.9	113.3± 2.4	106.6± 2.6	107.9± 2.3	57	57	54
5.	15	194.6± 1.6	120.6± 1.9	118.6± 2.0	114.1± 1.9	62	61	59
6.	18	203.4± 1.4	132.9± 1.5	129.3± 0.9	123.4± 0.8	65	64	61
7.	20	207.2± 2.9	138.8± 2.7	135.1± 2.3	128.2± 2.8	67	65	62
8.	25	216.0± 2.1	152.7± 1.9	148.9± 2.1	140.5± 2.4	71	68	65
9.	30	223.5± 1.8	162.4± 2.1	157.5± 1.7	152.2± 1.8	73	70	68

Tabelul 5.56. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de monoetanolamoniu (MEAA)

Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	3	194.6± 1.3	129.4± 1.2	113.9± 1.5	110.6± 1.3	66	58	57
2.	4	188.4± 2.0	126.6± 2.2	113.2± 2.6	108.3± 2.4	67	60	58
3.	5	185.8± 2.4	126.7± 2.5	114.2± 2.8	110.4± 3.1	68	62	59
4.	7.5	179.6± 0.5	126.6± 0.8	117.3± 0.6	110.3± 1.1	71	65	63
5.	8	175.8± 0.9	124.3± 0.4	116.3± 0.2	112.6± 0.5	72	66	64
6.	10	169.5± 3.1	122.7± 2.9	115.3± 3.2	112.2± 2.8	74	68	66
7.	15	185.8± 1.9	138.6± 1.7	131.7± 1.5	129.6± 1.3	75	71	70
8.	18	193.4± 2.0	145.6± 1.9	138.7± 2.1	136.8± 1.9	76	72	71
9.	20	200.9± 1.5	153.3± 1.3	146.0± 1.6	143.3± 1.4	77	73	72
10.	25	207.2± 0.3	161.3± 0.5	153.1± 0.2	151.0± 0.7	78	74	73
11.	30	211.0± 0.6	167.4± 0.9	160.1± 0.5	156.8± 0.8	79	76	74



**Tabelul 5.57. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de dietanolamoniu, (DEAA)**

Nr. crt.	Conc. Soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	3	193.4± 1.3	129.5± 0.6	125.1± 1.1	122.7± 0.9	67	64	63
2.	4	188.4± 2.5	128.7± 2.1	124.4± 2.3	122.5± 2.3	68	66	65
3.	5	184.6± 2.6	127.6± 2.4	123.8± 2.7	121.8± 2.0	69	67	66
4.	7,5	180.8± 0.6	129.1± 0.5	124.3± 0.6	123.0± 1.1	71	69	68
5.	8	178.3± 1.8	128.3± 1.3	123.3± 1.7	121.5± 1.2	72	70	69
6.	10	170.8± 0.9	124.6± 0.4	120.6± 0.5	118.8± 0.7	73	71	70
7.	15	195.9± 0.4	146.7± 0.9	142.6± 1.6	140.7± 1.3	75	73	72
8.	18	204.7± 1.5	156.3± 1.3	150.5± 1.2	148.4± 1.4	77	74	73
9.	20	211.0± 3.1	163.1± 2.9	156.2± 2.3	154.0± 2.2	78	75	74
10.	25	212.2± 3.5	168.1± 3.0	159.2± 2.9	158.2± 3.0	79	75	75
11.	30	214.7± 2.8	174.6± 2.2	164.0± 2.4	161.5± 2.5	81	76	75

**Tabelul 5.58. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de trietanolamoniu, (TEAA)**

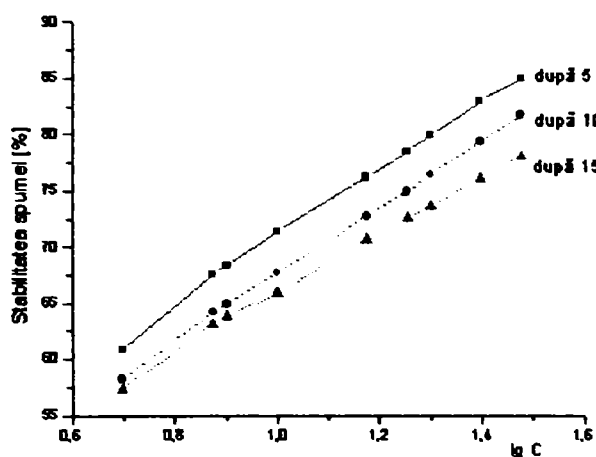
Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	1	237.3± 0.6	178.3± 0.3	166.9± 1.6	163.8± 1.5	75	70	69
2.	3	224.8± 0.4	178.1± 0.9	168.5± 2.1	163.7± 2.8	79	75	73
3.	4	207.2± 2.1	165.8± 1.1	159.1± 2.8	154± 3.1	80	77	74
4.	5	199.7± 1.5	161.1± 2.1	155.4± 1.4	151.3± 2.4	81	78	76
5.	7,5	226.0± 1.1	186.1± 0.8	179.9± 1.9	176.3± 2.6	82	80	78
6.	8	234.8± 3.1	194.6± 3.1	187.9± 2.4	184.3± 1.9	83	80	79
7.	10	254.9± 1.2	213.7± 1.5	206.8± 2.3	204.0± 2.5	84	81	80
8.	15	290.1± 2.6	247.5± 2.4	241.2± 2.7	238.3± 2.1	85	83	82
9.	18	291.3± 2.4	250.5± 2.6	245.3± 2.9	242.2± 1.4	86	84	83

**Tabelul 5.59. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de izobutilamoniu, (IBAA)**

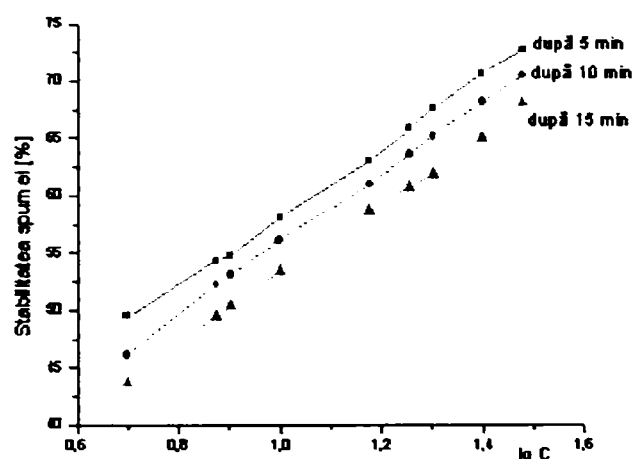
Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	1	31,4± 0,6	11,3± 1,9	6,7± 1,5	-	36	22	-
2.	3	24,6± 0,9	8,2± 1,4	5,0± 1,3	-	34	20	-
3.	5	19,2± 1,3	5,9± 1,2	3,5± 1,1	-	31	18	-
4.	10	12,6± 1,8	3,1± 1,6	2,2± 1,7	-	25	18	-
5.	15	21,2± 1,5	5,7± 1,3	4,1± 1,6	-	27	19	-
6.	18	27,0± 0,4	8,7± 0,6	5,5± 0,7	-	33	21	-
7.	20	37,1± 1,3	13,6± 0,8	8,5± 0,5	-	37	23	-
8.	25	37,8± 1,1	15,2± 0,9	8,7± 0,8	-	40	23	-
9.	30	37,8± 0,9	15,3± 0,7	9,0± 0,6	-	41	24	-

Tabelul 5.60. Valorile medii ale volumului și stabilității spumei la 25°C a soluțiilor apoase de abietat de di-izobutilamoniu, (DIBAA)

Nr. crt.	Conc. soluție [mM]	Volumul spumei formate, [ml] Media ± S.D.				Stabilitatea spumei, [%]		
		0 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]	5 [min]	10 [min]	15 [min]
1.	1	26,1±0,9	9,9±0,8	7,2±0,3	-	38	28	-
2.	3	20,8±1,7	7,3±1,6	5,3±1,2	-	35	25	-
3.	5	17,3±1,9	5,6±1,5	3,5±1,5	-	33	20	-
4.	10	13,6±1,2	4,1±1,7	2,4±1,8	-	34	18	-
5.	15	19,7±1,1	6,9±1,4	4,0±1,5	-	35	20	-
6.	18	23,7±1,5	8,7±1,3	5,2±1,4	-	37	22	-
7.	20	30,6±0,5	11,6±0,9	6,9±0,6	-	38	23	-
8.	25	33,7±0,7	13,1±0,5	7,8±0,1	-	39	23	-
9.	30	33,9±0,8	13,2±0,6	8,1±0,4	-	39	24	-

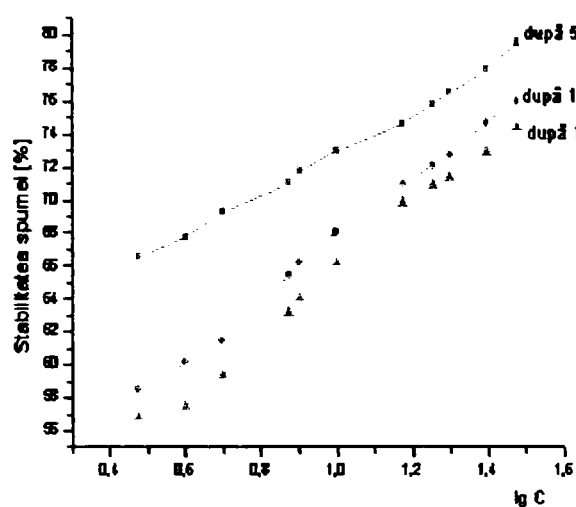


a)

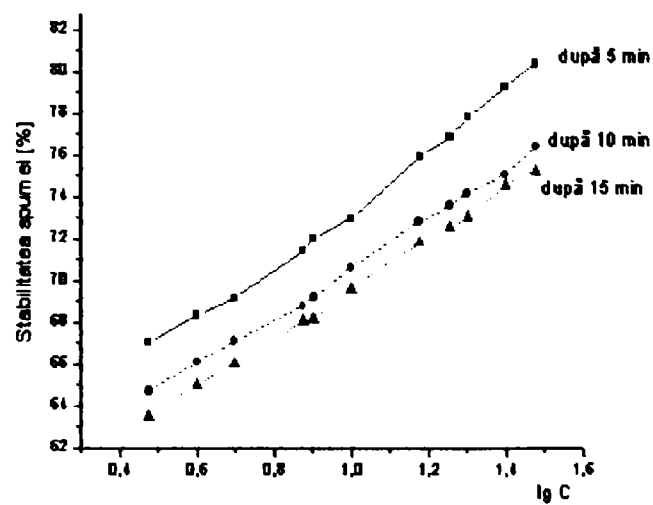


b)

Fig.5.40: Variația stabilității spumei cu timpul și concentrația soluțiilor apoase de abietati alcalini, A-Na (a); A-K (b)



a)



b)

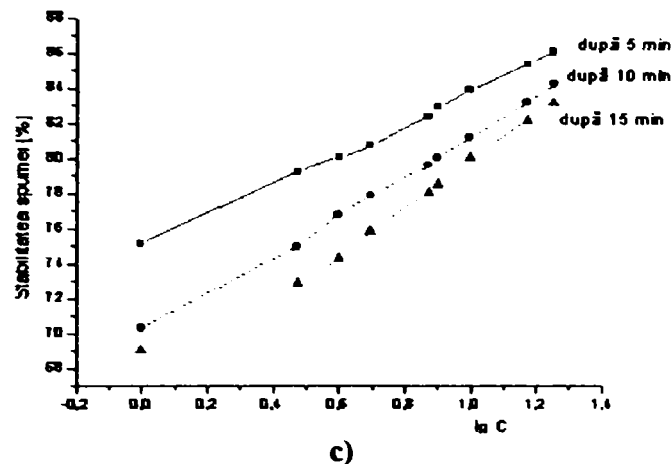


Fig.5.41: Variația stabilității spumei cu timpul și concentrația soluțiilor apoase de săruri de amoniu ale acidului abietic, MEAA (a); DEAA, (b); TEAA(c)

Datele experimentale, prezentate în tabelele și figurile de mai sus, vin să completeze rezultatele obținute cu privire la puterea de spumare a sărurilor acidului abietic. Astfel se poate constata că sărurile care au avut o putere mare de spumare (abietatii alcalini și sărurile cu etanolamine) au furnizat și o spumă mai stabilă (în funcție de concentrația soluțiilor scăderea volumului spumei a variat între 10-30% în primele 5 minute pentru ca în următoarele intervale de timp scăderea să fie mai lentă, de la caz la caz cuprinsă între 2-10%, după cum se observă și din figurile 5.40-5.41) sub forma unui strat dens format din bule de dimensiuni mici foarte apropiate unele de altele. Cea mai stabilă spumă indiferent de concentrația soluțiilor s-a dovedit a fi cea furnizată de soluțiile de TEAA (peste 80% din volumul inițial de spumă a persistat și după 15 minute de staționare). Soluțiile de DEAA au prezentat și ele o spumă stabilă, în primele 5 minute de repaus pierzându-se în jur de 13-27% din volumul inițial de spumă funcție de concentrația în substanță activă a soluțiilor, pentru ca apoi scăderea volumului de spumă să fie aproape neglijabilă, valoarea corespunzătoare stabilității spumei rămânând aproximativ constantă la 74% în medie. Soluțiile apoase de MEAA au prezentat valori ale stabilității spumei asemănătoare celor aparținând soluțiilor de DEAA (spre exemplu la o concentrație în substanță activă 10 mM, stabilitatea spumei a fost de 79,45% după 5 minute pentru ca apoi să scadă la 74,32 % după 15 minute). În schimb se poate constata atât din datele prezentate în tabele cât și din grafice că stabilitatea spumei a crescut în toate cazurile cu creșterea concentrației de substanță activă și în plus s-au înregistrat creșteri ale stabilității spumei formate chiar și la concentrații ale soluțiilor mai mici sau în jurul valorii CMC-ului sării analizate. Este de asemenea, interesant faptul că între stabilitatea spumei în timp și logaritmul concentrației sării există o dependență liniară fără apariția unui punct de rupere în jurul valorii CMC-ului. Acest fapt este semnificativ pentru aplicațiile practice ale acestor săruri atât din punct de vedere economic cât și mai ales ecologic deoarece se pot folosi cantități mici de săruri apropiate de valoarea CMC-ului substanței active respective pentru formarea unor spume cu o stabilitate apropiată celei formate la concentrații mari.

Trebuie să menționez că la ora actuală există o serie de investigații de natură teoretică și practică legate de posibila dependență între stabilitatea filmului de spumă și concentrația compusului tensioactiv. Conform acestor studii în derulare, stabilitatea filmului de spumă ar putea fi atribuită mai degrabă unei "stabilități cinetice" decât "termodinamice" adică unei stabilități datorate unor forțe de frecare hidrodinamice între moleculele de aer și lichid care împiedică în acest fel micșorarea grosimii filmului și mai puțin acțiunii forțelor de respingere intermoleculară de natură coulombiană. Prin urmare creșterea stabilității filmului de spumă cu concentrația până la valori apropiate CMC-ului ar putea fi rezultatul unei saturări a suprafeței de separare gaz-lichid cu un strat adsorbant de compus tensioactiv. La concentrații ce depășesc valoarea CMC-ului, creșterea stabilității spumei ar putea fi explicată prin stratificarea filmului, ceea ce ar putea justifica și absența punctului de rupere în preajma CMC-ului. [257,258].

În ceea ce privește sărurile acidului abietic cu amine acestea au înregistrat cele mai slabe valori ale stabilității spumei, ceea ce într-un fel era de așteptat având în vedere și puterea slabă de spumare a lor. Spuma obținută s-a prezentat sub forma unui strat rarefiat format din bule cu diametre mari cu tendință mărită de aderare la pereții cilindrului. Acest lucru poate fi explicat dacă luăm în considerare structura sărurilor respective care sunt mai puțin polare decât celelalte săruri analizate și mult mai puțin solubile în apă.

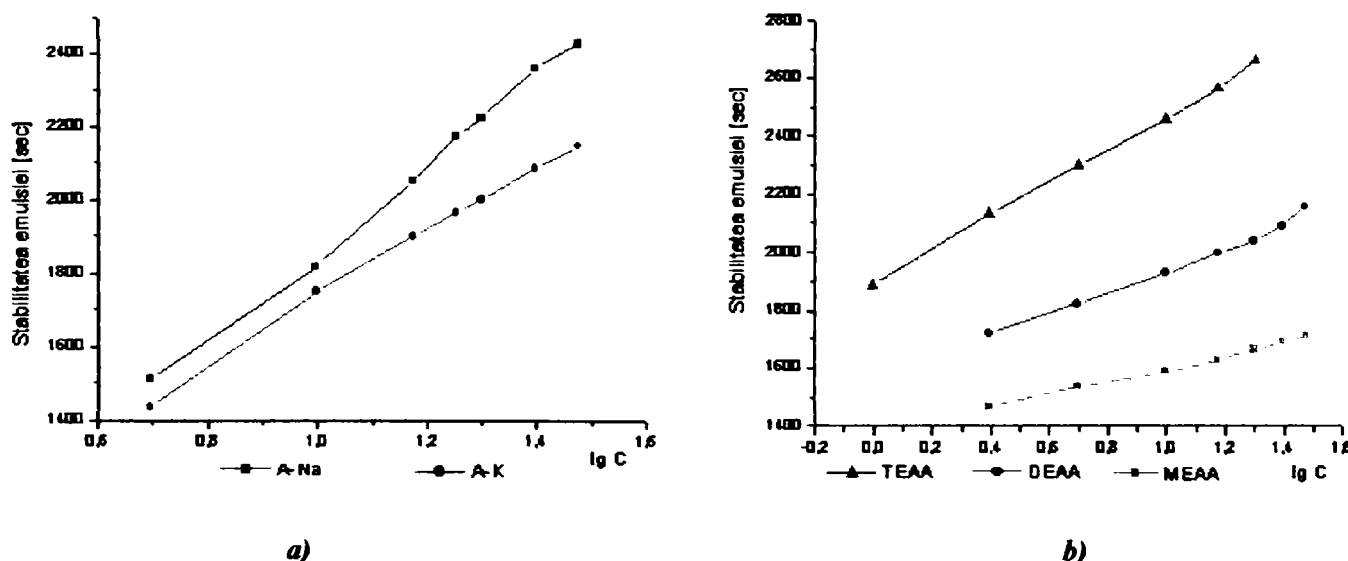
### 5.5.6. Capacitatea de emulsionare a sărurilor acidului abietic

Pornind de la datele biliografice care stipulează că în general, compușii tensioactivi anionici sunt utilizați ca buni emulgatori într-o serie de aplicații [256], cercetările experimentale efectuate au avut drept obiectiv testarea sărurilor acidului abietic ca potențiali emulgatori la formarea unor emulsii stabile de tip U/A. Studiul experimental s-a limitat doar la capacitatea de a stabiliza emulsiile de tip U/A deoarece balanța hidrofil-hidrofobă (HLB) a sărurilor analizate, calculată în conformitate cu relația lui Davis pentru compușii tensioactivi ionici [218] ia valori cuprinse între 15 și 18. De asemenea, sărurile sunt în general solubile în apă care, potrivit regulii empirice al lui Bancroft, va deveni și faza continuă a emulsiei atunci când ea se formează prin punerea în contact a celor două lichide nemiscibile (apă și benzenul) [259].

Prepararea soluțiilor de testat s-a făcut în așa fel încât intervalul de variație al concentrației să cuprindă valoarea CMC-ului fiecărei sări, precum și valori inferioare dar și superioare acesteia. Toate determinările au fost efectuate la 25°C și în trei repetiții pentru fiecare substanță de analizat. Rezultatele experimentale sunt prezentate în tabelul 5.61 și în figurile 5.42- 5.44.

**Tabelul 5.61. Valorile medii ale efectului de stabilizare a emulsiilor de tip U/A a sărurilor acidului abietic la 25°C**

Nr. crt.	Conc sol. [mM]	Timpul [sec] (Media ± SD)						
		A-NA	A-K	MEAA	DEAA	TEAA	IBAA	DIBAA
1.	1	-	-	-	-	1885±16,2	1119±16,5	1294±18,5
2.	2,5	-	-	1467±13,2	1719±11,7	2131±12,4	1220±11,7	1500±14,2
3.	5	1513±10,5	1435± 8,5	1534±16,1	1820±14,6	2296±18,1	1282±15,8	1611±11,5
4.	10	1820±11,6	1750±11,4	1585±10,2	1926±10,5	2455±13,3	1358±13,5	1773±14,6
5.	15	2051± 9,2	1900±12,7	1626±14,5	1994±13,7	2561±10,9	1400±11,3	1843±17,1
6.	18	2173±15,6	1965±19,1	-	-	-	-	-
7.	20	2225±11,7	2000±17,2	1660±18,2	2036±16,9	2657±11,4	1446±10,5	1896±12,9
8.	25	2356±16,3	2086±12,3	1690±15,1	2089±12,7	-	1490±12,6	1938±13,7
9.	30	2425±18,4	2148±16,2	1710±14,8	2153±13,9	-	-	-



**Fig.5.42: Variația stabilității emulsiei de tip U/A cu concentrația soluțiilor apoase de săruri alcaline (a) și de amoniu (b) ale acidului abietic**

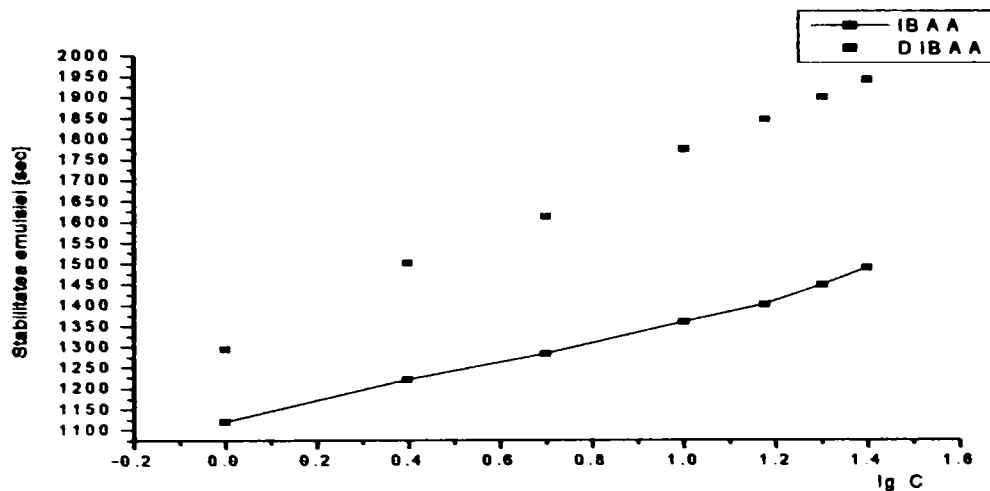


Fig.5.43: Variația stabilității emulsiei de tip U/A cu concentrația soluțiilor apoase de săruri cu amine ale acidului abietic

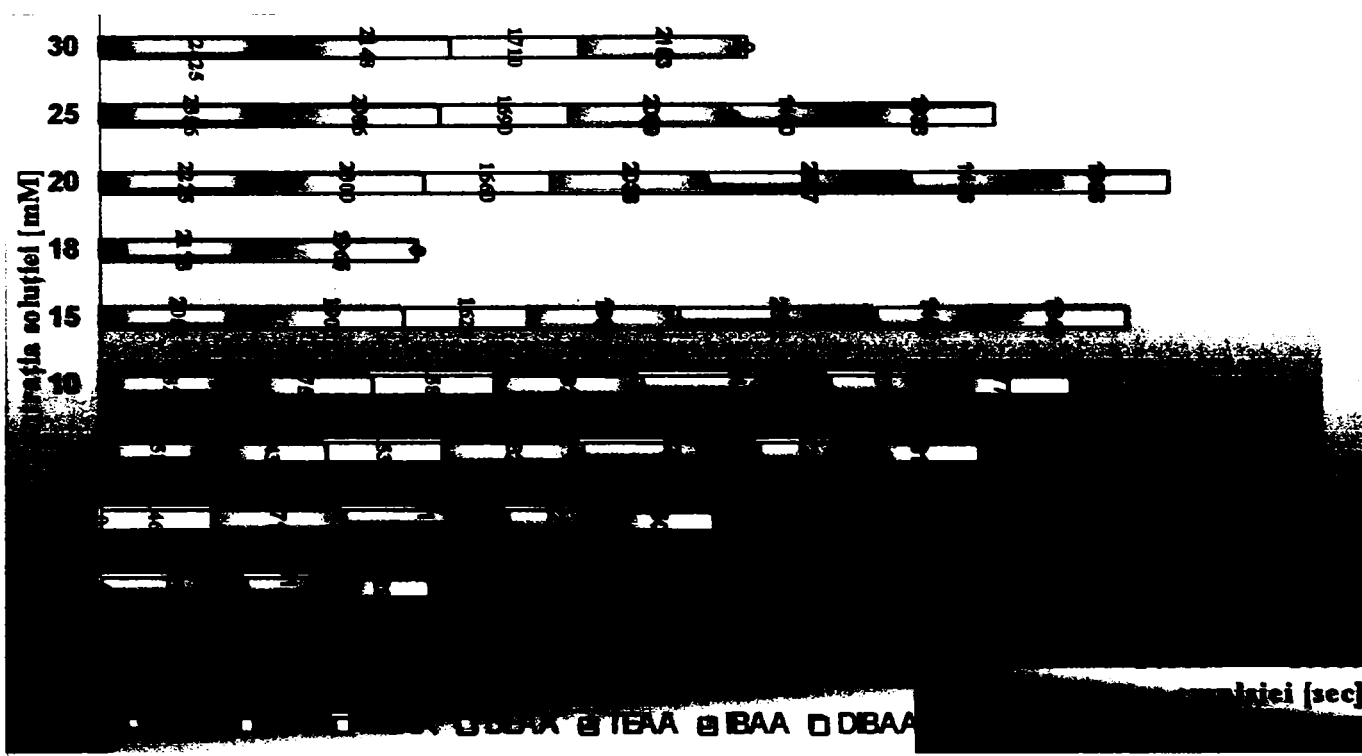


Fig.5.44: Influența tipului de sare asupra stabilității emulsiei de tip U/A

După cum se observă din graficele din figurile 5.42-5.43, stabilitatea emulsiilor a crescut cu creșterea concentrației agentului activ chiar și la concentrații sub valoarea CMC-ului. Trebuie remarcat că această legătură între stabilitatea filmului de emulsie și concentrația stabilizatorului, reprezintă din punct de vedere matematic o dependență liniară între perioada de timp în care nu are loc separarea de faze și logaritmul zecimal al concentrației sării. Această relație de proporționalitate poate fi explicată dacă se ia în considerare existența forțelor de frecare hidrodinamice care împiedică micșorarea grosimii filmului format la suprafața de separare dintre cele două lichide nemiscibile (apă-benzen) similar formării filmului de spumă. Aceste forțe de frecare devin din ce în ce mai puternice pe măsură ce are loc saturarea interfeței lichid-lichid cu sarea acidului abietic (la concentrații mai mici decât CMC-ul) respectiv stratificarea filmului de emulsie (la concentrații mai mari decât CMC-ul) ceea ce ar putea explica de asemenea, și lipsa modificărilor de comportament a emulsiei respective în apropierea CMC-ului. Aceste ipoteze teoretice însă, nu sunt încă pe deplin confirmate de cercetările experimentale, excepție făcând lucrările lui Danov și colaboratorii [259]. Pe baza unor investigații practice, aceștia propun o relație matematică care face legătura între creșterea concentrației compusului tensioactiv în faza continuă peste valoarea corespunzătoare CMC-ului și tendința de descreștere în timp a coalescenței emulsiei.

Stabilitatea emulsiilor formate în timp depinde de compoziția și proprietățile sărurilor analizate (figura 5.44). Astfel s-a constatat capacitatea abietatului de trietanolamoniu (TEAA) de bun emulgator și stabilizator al emulsiilor de tip U/A, atât la adaosul de cantități mici de sare (timp de stabilitate a emulsiei aproximativ 39 minute la o concentrație 5 mM) cât și la concentrații mult superioare CMC-ului, (45 minute la 20mM). Sărurile cu mono-etanolamină (MEAA) respectiv di-etanolamină (DEAA) au prezentat capacitate bună de stabilizare a emulsiilor în domeniile concentrațiilor mici sau chiar foarte apropiate de cea a concentrației critice micelare (aproximativ 25 minute la adaosul de MEAA în concentrație de 10mM, respectiv 32-33 minute la o concentrație de 10 mM DEAA.). În schimb sărurile cu metale alcaline sunt buni stabilizatori la concentrații mai mari decât valorile CMC-ului (aproximativ 37 minute la 20 mM adaos de A-Na față de 25 minute la adaosul de soluție 5 mM de A-Na ).

Trebuie remarcată capacitatea de stabilizare superioară a abietatului de di-izobutilamoniu (DIBAA) chiar și față de sărurile cu metale la adaosul acestuia în concentrații mici dar pe ansamblu eficiența sărurilor cu amine asupra stabilității emulsiilor de tip U/A s-a dovedit mai slabă datorită faptului că sunt mai puțin solubile în apă (în special IBAA) comparativ cu celelalte săruri analizate.

Aceste ultime rezultate pot fi explicate dacă luăm în considerare cele două reguli empirice de bază în studiul emulsiilor în general, regula lui Bancroft și valoarea balanței hidrofil-hidrofobă (HLB) [261]. Ambele reguli sunt în acord cu datele experimentale obținute, în sensul că viteza de micșorare a grosimii filmului de emulsie este mică ( deci stabilitatea emulsiei e mai ridicată), când sarea acidului abietic se dizolvă în faza continuă a emulsiei (apa) și are o elasticitate Gibbs mare. De asemenea, solubilitățile sărurilor și valorile HLB confirmă capacitatea bună a sărurilor acidului abietic cu metale și etanolamine de a fi utilizate în formarea unor emulsii stabile de tip U/A necesare în diverse aplicații practice (industria vopselelor, cauciucului, loțiunilor și cremelor cosmetice). În schimb, în cazul sărurilor cu izobutilamină și di-izobutilamină, alegerea unei concentrații ușor superioare CMC-ului poate determina o stabilitate minimă a emulsiilor respective.

## 5.6. Determinarea activității antimicrobiene a compușilor sintetizați

Activitatea antimicrobiană a sărurilor acidului abietic a fost testată folosind două metode și anume :

1. *metoda difuzimetrică* prin care s-a apreciat gradul de sensibilitate al unor microorganisme patogene față de aceste substanțe, în condiții de laborator 'in vitro';
2. *metoda diluțiilor* prin intermediul căreia s-a determinat concentrația minimă inhibitoare (CMI) respectiv cea minimă bactericidă (CMB).

Testarea substanțelor s-a efectuat atât pe microorganisme din specia bacteriilor  $G^+$  cât și  $G^-$ , cât și pe fungi. Concentrația soluțiilor testate după diluția soluțiilor stoc la 1:100000 a fost de 32mg/l în toate cazurile, în cazul metodei difuzimetrice.

Rezultatele experimentale obținute și prelucrate statistic sunt prezentate în tabelele 5.62.-5.63. cât și în figurile 5.44-5.48. Trebuie menționat că la 24 de ore de incubare, nu s-a observat cu ochiul liber apariția microorganismelor pe suprafața mediului de cultură impregnat cu rondellele de filtru cu excepția marginilor plăcii, deși în probele martor suprafața mediului a fost invadată cu colonii de microorganisme în toate cazurile. Din acest motiv măsurarea zonelor de inhibiție, în situațiile în care au apărut s-au efectuat la 48 ore de incubare a plăcilor.

**Tabelul 5.62. Activitatea antimicrobiană a sărurilor acidului abietic după 48 ore de incubare exprimată după valoarea diametrelor zonelor de inhibiție**

Nr. crt.	Subst. Testată	<i>Escherichia coli</i> (G)			<i>S.choleraesuis</i> (G)			<i>Staphylococcus aureus</i> (G <sup>+</sup> )			<i>Candida albicans</i>		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
1.	A-Na			++		8,4 ± 0.3			11,4 ± 1.1			13,2 ± 1.4	
2.	A-K			5,5 ± 0.3		9,5 ± 0.6				7,6 ± 0.2			7,4 ± 0.3
3.	MEAA		8,6 ± 0.7			7,1± 0.4							2,5
4.	DEAA	12,3 ± 1.1				10,8 ± 0.9			8,1 ± 0.5				3,1 ± 0.1
5.	TEAA	14,2 ± 0.2				11,7 ± 1.4			10,2 ± 1.0		-*		
6.	IBAA			++			++			++		8,4 ± 0.8	
7.	DIBAA			++	25,2 ± 1.3					++	-*		
8.	Martor			+++			+++			+++			+++

Semnificația simbolurilor: S- sensibil la substanța testată; I-intermediar ; R-rezistent la substanța testată; (+++)- foarte rezistent; (++)- puțin rezistent; cifrele indică diametrul mediu al zonelor de inhibiție [mm].

\*- în cazul testării sărurilor de amoniu ale acidului abietic pe medii inoculate cu *Candida* s-a apelat la o procedură mai specială în sensul că în mediul de cultură lichefiat și depus în placa Petri, s-a introdus cu o seringă sterilă 1 ml soluție de sare de concentrație 32 mg/l, soluție care s-a repartizat uniform pe toată suprafața plăcii, după care placa s-a inoculat cu suspensia microbiană.

În această primă etapă datele experimentale au arătat că abietatul de di-izobutilamoniu (DIBAA) a prezentat un caracter antifungic puternic față de *Candida* la o concentrație de 32 mg/l, Astfel la 48 de ore de incubare colonia de ciupercă a reușit să se dezvolte doar pe marginea plăcii, după cum arată și figura 5.44 (a). O sensibilitate mai mică dar totuși de remarcă a prezentat și abietatul de trietanolamoniu (TEAA), coloniile izolate de *Candida* apărând mai ales în partea dreapta jos a figurii 5.44 (b). În schimb coloniile de *Candida* au fost mai rezistente față de acțiunea soluțiilor de abietati (A-Na), acestea reușind să se dezvolte chiar lângă zonele cu runde după cum indică și figura 5.44 (c).



a)



b)



c)

**Fig.5.44: Sensibilitatea (rezistența) culturilor de *Candida albicans* la acțiunea soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic : DIBAA(a); TEAA (b); A-Na (c)**

Un fapt interesant l-a constituit sensibilitatea *S.choleraesuis* la acțiunea soluțiilor de abietat de di-izobutilamoniu (DIBAA), demonstrat prin diametrul mare al zonei de inhibiție care se poate remarca și în figura 5.45 (a). Este posibil însă ca acțiunea bacteriostatică a DIBAA să fie întărită de acțiunea antimicrobiană puternică a acidului abietic mai ales față de bacteriile Gram negative [205, 206]. Spre deosebire de acțiunea puternic bacteriostatică a soluțiilor de DIBAA, soluțiile de abietat de izobutilamoniu (IBAA) au avut o slabă sensibilitate față de tulpinile de *S.choleraesuis*, acestea invadând toată suprafața plăcii Petri după 48 de ore după cum se poate observa și din figura 5.45 (b).



a)

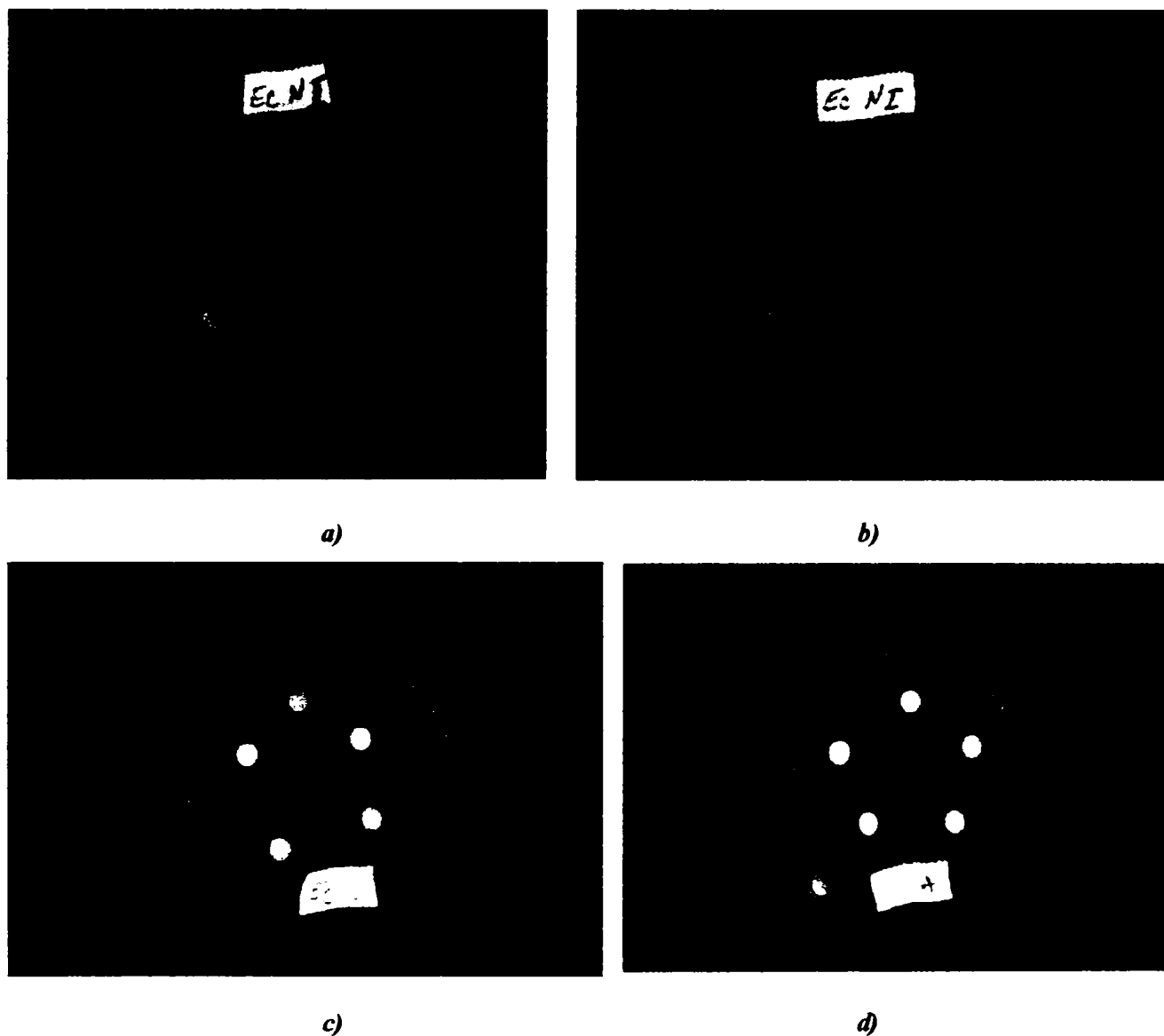
b)

**Fig.5.45: Sensibilitatea (rezistența) culturilor de *S.choleraesuis* la acțiunea soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic: DIBAA (a); IBAA (b);**

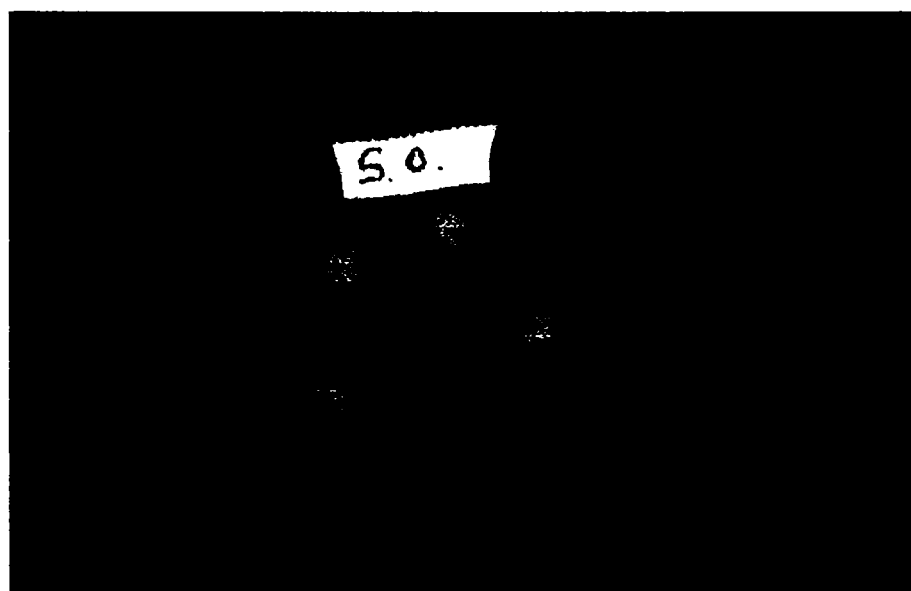
Așa după cum era de așteptat cele mai multe săruri ale acidului abietic au avut o activitate bacteriostatică bună față de culturile de *Escherichia coli*. Cea mai sensibilă s-a dovedit a fi soluția de TEAA diametrele zonelor de inhibiție depășind 14 mm, (figura 5.46 a) urmată de soluția de DEAA care a determinat apariția unor zone de inhibiție cu diametre medii de 12 mm (figura 5.46 b). O activitate bacteriostatică medie s-a remarcat în cazul soluțiilor de A-K și respectiv MEAA (figura 5.46c și d). În ceea ce privește acțiunea antimicrobiană față de *Staphylococcus aureus* s-a remarcat soluția de abietat de sodiu (A-Na) care a avut o activitate caracterizată drept intermediară cu tendințe spre sensibil după cum se poate constata și din figura 5.47. Celelalte probe supuse testării au dat



rezultate neconcludente motiv pentru care am procedat în continuare la determinarea CMI (CMB) prin metoda diluțiilor.



**Fig.5.46: Sensibilitatea (rezistența) culturilor de *Escherichia coli* la acțiunea soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic: TEAA (a); DEAA (b); MEAA(c); A-K (d)**



**Fig.5.47: Sensibilitatea culturilor de *Staphylococcus aureus* la acțiunea soluției apoase de abietat de sodiu**

Soluțiile stoc pentru prepararea diluțiilor au avut toate aceeași concentrație 1024 mg/l.. Pentru fiecare substanță testată precum și pentru fiecare specie de microorganism s-au folosit câte 10

eprubete. Concentrația finală a substanței de analizat după adaosul de mediu nutritiv în eprubete a variat de la 5,12 mg/l la 0,1 mg/l. Determinările au fost efectuate în câte trei repetiții. CMI a fost considerată a fi cea mai mică concentrație a substanței de analizat de la care nu mai e perceptibilă cu ochiul liber dezvoltarea microorganismelor inoculate în prealabil.

Din plăcile care au prezentat inhibarea creșterii au fost prelevate cu ansa în condiții sterile microorganisme care au fost apoi inoculate în câte trei flacoane, umplute în prealabil cu mediu de cultură, pentru fiecare gen de microorganism. Flacoanele au fost apoi temostatate timp de 24 ore la 37°C respectiv 28°C (*Candida*). Concentrația minimă bactericidă (CMB) respectiv fungicidă (CMF) a fost considerată a fi acea concentrație a substanței de analizat din flaconul care nu a prezentat o turbureală perceptibilă cu ochiul liber.

Rezultatele experimentale obținute sunt prezentate în tabelul 5.63.

**Tabelul 5.63. Activitatea antimicrobiană a sărurilor acidului abietic după 48 ore de incubare exprimată prin valorile CMI respectiv CMB (CMF)**

Nr. crt.	Subst. testată	<i>Escherichia coli</i> (G <sup>-</sup> )		<i>S.choleraesuis</i> (G <sup>-</sup> )		<i>Staphylococcus aureus</i> (G <sup>+</sup> )		<i>Candida albicans</i>	
		CMI [mg/l]	CMB [mg/l]	CMI [mg/l]	CMB [mg/l]	CMI [mg/l]	CMB [mg/l]	CMI [mg/l]	CMF [mg/l]
1.	A-Na	3,2 ±0,21	3,6 ±0,69	2,2 ±0,11	2,0 ±0,2	0,8 ±8,5	1,2 ±8,5	2,8 ±8,5	3,2±8,5
2.	A-K	4,8± 0,6	5,2 ± 0,4	1.84 ±0,12	1,6 ±0,16	2,8 ±8,5	3,0 ±8,5	3,8 ±8,5	3,8 ±8,5
3.	MEAA	1,8 ±0,25	2,56 ±0,43	1,64±0,45	2,1 ±0,14	1,4 ±8,5	1,64±8,5	4,8 ±8,5	5,12±8,5
4.	DEAA	1,6 ±0,32	2,2 ±0,12	1,56 ±0,36	2,2 ±0,23	1,32 ±8,5	1,56±8,5	4,2 ±8,5	4,56±8,5
5.	TEAA	0,8 ±0,29	1.2 ±0,16	1,2 ±0,45	2,48 ±0,36	1,24 ±8,5	1,33 ±8,5	1,56±8,5	1,64±8,5
6.	IBAA	6,3 ±0,47	6,4 ±0,20	6,4 ±0,8	7,5±0,25	8,4 ±8,5	12,8 ±8,5	6,4 ±8,5	8,0±8,5
7.	DIBAA	3,4 ±0,13	4,0 ±0,9	0,4 ±0,1	0,6 ±0,1	5,6±8,5	5,8 ±8,5	0,2 ±8,5	0,2 ±8,5
8.	Martor	---	---	---	---	---	---	---	---

După cum se observă din datele tabelului de mai sus, se poate aprecia că în general toate substanțele analizate au determinat o inhibare a creșterii coloniilor de microorganisme, însă această inhibare a fost mai accentuată sau mai slabă funcție de structura compușilor analizați. Astfel abietatul de sodiu a manifestat o activitate antimicrobiană mai intensă față de *Staphylococcus aureus*, datorată probabil restului de acid abietic și faptului că la concentrații mici, alături de abietatul de sodiu începe să se formeze acidul liber care în conformitate cu datele de literatură prezintă activitate bacteriostatică și respectiv bactericidă bună [205,206]. Activitatea antimicrobiană puternică a manifestat și DIBAA față de *S.choleraesuis* respectiv *Candida albicans*, valorile CMI (CMB), fiind de 0,4 mg/l (0,6mg/l) față de *S.choleraesuis* și de 0,2 mg/l față de *Candida*. De fapt în acest caz cele două metode au dat rezultate similare, în sensul că și metoda difuzimetrică indica sensibilitatea crescută a organismelor respective față de DIBAA. În schimb valorile CMI (CMB) în cazul IBAA sunt cele mai mari față de toate microorganismele sugerând o mai slabă activitate antimicrobiană. În ceea ce privește sărurile cu etanolamine se remarcă activitatea bacteriostatică bună a TEAA atât față de bacteriile Gram negative cât și față de cele Gram pozitive. (valorile CMI au variat între 0,8 mg/l pentru *Escherichia coli* și 1,24 mg/l pentru *Staphylococcus aureus*). De asemenea nu este de neglijat nici activitatea fungistatică a TEAA față de *Candida albicans* datele experimentale arătând o valoare a CMI de 1,56 mg/l. Celelalte două săruri au avut comportamente asemănătoare cu TEAA dar valorile CMI (CMB) au fost ceva mai mari sugerând o mai slabă activitate antimicrobiană.

Datele experimentale furnizate de cele două metode sunt comparabile cu cele din literatură [205,206] pentru această clasă de derivați ai acidului abietic ele sugerând posibilitatea folosirii sărurilor respective nu numai ca și agenți de spumare, emulsionare dar și ca agenți cu proprietăți bacteriostatice (bactericide). De altfel trebuie menționat că prin coroborarea celor două proprietăți cea de emulgator și de agent cu activitate antimicrobiană s-a putut breveta o rețetă de cremă dermatologică având efecte benefice împotriva unor infecții ale pielii cu Stafilococi [9].

### 5.7. Studii privind biodegradarea primară a sărurilor acidului abietic

În cazul sărurilor acidului abietic cu metale alcaline și monoamine alifatică cu număr mic de atomi de carbon, respectiv etanolamine, biodegradarea acestora presupune de fapt un număr de reacții de oxidare, de eliminare de apă, clivajul unui inel ciclic din restul acidului abietic. În urma acestor reacții catalizate de enzime se produce o anumită cantitate de CO<sub>2</sub> ca rezultat al activității microorganismelor în timpul mecanismului de biodegradare [95-99].

Pentru determinarea procentului de degradare a sărurilor acidului abietic de către microorganismele provenite din efluentul secundar neclorinat de la stația de epurare a apelor orășenești Timișoara, s-a folosit o metodă spectrofotometrică bazată pe măsurarea absorbției ( $\lambda=605$  nm) unui complex organic format din substanța de analizat și un colorant organic (cristal violetul), complex care este solubil într-o fază organică (benzenul) [242].

Pentru fiecare probă analizată s-au efectuat trei repetiții.

Rezultatele experimentale obținute sunt prezentate în tabelele 5.64-5.65 și figurile 5.48-5.51.

Tabelul 5. 64. Rezultatele procesului de biodegradare primară a sărurilor acidului abietic și a standardului OECD 301 modificat

Subst. testată	Nr. repetiții	Absorbanța												Concentrația [ppm]												% Biodegradare					
		A <sub>0</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>16</sub>	A <sub>19</sub>	A <sub>24</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>19</sub>	C <sub>24</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>16</sub>	D <sub>19</sub>	D <sub>24</sub>										
MEAA	1	0,713	0,491	0,166	0,155	0,059	0,058	0,058	4,70	3,20	1,22	1,05	0,48	0,47	0,47	31,91	74,04	77,65	89,78	90,00	90,00										
	2	0,718	0,524	0,171	0,158	0,094	0,093	0,092	4,72	3,37	1,30	1,1	0,56	0,54	0,53	28,60	72,45	76,69	88,13	88,55	88,77										
	3	0,722	0,496	0,168	0,157	0,090	0,060	0,060	4,76	3,25	1,25	1,08	0,53	0,49	0,49	31,72	73,73	77,31	89,49	89,49	89,49										
	media								4,72	3,27	1,25	1,07	0,52	0,50	0,490	30,74	73,41	77,22	89,13	89,35	89,42										
	S.D.								0,03	0,08	0,04	0,02	0,04	0,03	0,03	1,85	0,86	0,44	0,81	0,72	0,64										
DEAA	1	0,867	0,637	0,397	0,303	0,248	0,243	0,243	4,66	3,35	1,73	1,01	0,86	0,81	0,81	28,11	52,78	62,78	78,25	81,46	81,46										
	2	0,862	0,661	0,501	0,303	0,248	0,248	0,248	4,60	3,47	2,27	1,02	0,82	0,82	0,82	24,56	41,30	51,30	77,91	82,06	82,06										
	3	0,863	0,647	0,379	0,288	0,246	0,246	0,243	4,62	3,40	1,53	0,91	0,81	0,76	0,72	26,40	56,71	66,71	80,19	82,26	83,49										
	media								4,62	3,40	1,83	0,98	0,83	0,80	0,78	26,36	50,27	60,26	78,78	81,93	82,67										
	S.D.								0,03	0,06	0,36	0,05	0,024	0,03	0,03	1,76	8,121	8,007	1,230	0,419	0,729										
TEAA	1	1,149	0,934	0,701	0,418	0,351	0,348	0,348	4,65	3,74	2,82	1,54	1,34	1,32	1,32	19,56	39,35	66,88	71,18	71,61	71,61										
	2	1,149	0,949	0,697	0,432	0,348	0,346	0,346	4,65	3,80	2,80	1,60	1,32	1,30	1,30	18,27	39,78	65,59	71,61	72,04	72,04										
	3	1,138	0,944	0,681	0,437	0,344	0,345	0,345	4,60	3,78	2,74	1,64	1,28	1,29	1,29	17,82	40,43	64,34	72,16	71,95	71,95										
	media								4,63	3,77	2,78	1,59	1,31	1,30	1,30	18,55	39,85	65,60	71,66	71,87	71,87										
	S.D.								0,02	0,03	0,04	0,05	0,03	0,01	0,01	0,91	0,55	1,22	0,42	0,24	0,24										
IBAA	1	1,340	1,280	0,951	0,484	0,464	0,461	0,461	4,77	3,93	2,91	2,43	1,21	0,99	0,94	17,58	38,90	58,90	74,47	79,16	80,12										
	2	1,371	1,322	0,954	0,479	0,461	0,458	0,458	4,88	4,04	2,94	2,40	1,08	0,76	0,72	17,20	39,78	60,70	77,81	84,23	85,44										
	3	1,356	1,284	0,965	0,487	0,458	0,456	0,456	4,83	3,99	2,99	2,55	1,21	0,79	0,76	17,39	38,04	57,04	74,78	83,57	84,07										
	media								4,83	3,99	2,95	2,46	1,17	0,85	0,81	17,39	38,90	58,88	75,68	82,32	83,14										
	S.D.								0,05	0,05	0,02	0,08	0,07	0,12	0,11	0,14	0,82	1,830	1,845	2,756	2,682										
DIBAA	1	1,149	0,934	0,701	0,438	0,351	0,348	0,348	4,93	4,08	3,14	2,03	1,22	0,97	0,93	17,05	36,28	58,87	75,14	80,23	81,03										
	2	1,145	0,949	0,697	0,442	0,348	0,346	0,346	4,85	3,91	3,24	2,19	1,24	0,99	0,94	19,28	33,19	54,74	74,27	79,47	80,46										
	3	1,138	0,944	0,681	0,447	0,344	0,345	0,345	4,70	3,29	2,89	1,87	1,06	0,86	0,86	21,31	38,45	60,12	77,41	81,65	81,65										
	media								4,82	3,90	3,09	2,03	1,17	0,94	0,91	19,31	35,97	57,19	75,61	80,45	81,04										
	S.D.								0,11	0,19	0,17	0,16	0,101	0,071	0,046	2,13	2,64	2,81	1,61	1,106	0,595										

\* - valorile absorbanței și ale concentrațiilor soluțiilor de tenside sunt valori medii obținute prin prelucrări statistice ale celor trei repetiții din fiecare probă

**Tabelul 5. 64. Rezultatele procesului de biodegradare primară a sărurilor acidului abietic și a standardului pe baza testului OECD 301 modificat (continuare)**

Subst. Testată	Nr. repetiții	Absorbanta										Concentrația [ppm]										% Biodegradare			
		A <sub>0</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>16</sub>	A <sub>19</sub>	A <sub>24</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>19</sub>	C <sub>24</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>16</sub>	D <sub>19</sub>	D <sub>24</sub>				
A-Na	1	0,328	0,286	0,251	0,169	0,125	0,098	0,096	4,85	3,6	2,5	1,31	0,75	0,41	0,38	25,77	48,45	72,98	84,49	91,50	92,20				
	2	0,327	0,285	0,251	0,169	0,125	0,097	0,096	4,82	3,59	2,51	1,32	0,74	0,39	0,37	25,52	48,13	72,61	84,46	91,74	92,19				
	3	0,327	0,286	0,250	0,169	0,125	0,097	0,096	4,83	3,6	2,48	1,3	0,75	0,39	0,37	25,46	48,24	73,08	84,45	91,80	92,23				
	media	<b>0,328</b>	<b>0,285</b>	<b>0,250</b>	<b>0,169</b>	<b>0,125</b>	<b>0,097</b>	<b>0,096</b>	<b>4,83</b>	<b>3,59</b>	<b>2,49</b>	<b>1,31</b>	<b>0,75</b>	<b>0,40</b>	<b>0,376</b>	<b>25,58</b>	<b>48,27</b>	<b>72,89</b>	<b>84,46</b>	<b>91,68</b>	<b>92,21</b>				
	S.D.								<b>0,01</b>	<b>0,005</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,001</b>	<b>0,008</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>				
A-K	1	0,743	0,632	0,575	0,270	0,174	0,114	0,112	4,74	3,56	2,96	1,23	0,75	0,41	0,37	24,89	37,55	74,05	84,13	91,30	92,02				
	2	0,747	0,636	0,567	0,276	0,173	0,113	0,113	4,78	3,61	2,88	1,28	0,74	0,39	0,39	24,47	38,07	73,22	84,33	91,67	92,13				
	3	0,739	0,653	0,573	0,282	0,174	0,114	0,112	4,70	3,78	2,94	1,34	0,75	0,39	0,37	19,57	37,02	71,48	84,02	91,57	92,02				
	media	<b>0,743</b>	<b>0,640</b>	<b>0,572</b>	<b>0,276</b>	<b>0,174</b>	<b>0,114</b>	<b>0,112</b>	<b>4,74</b>	<b>3,65</b>	<b>2,920</b>	<b>1,28</b>	<b>0,75</b>	<b>0,40</b>	<b>0,38</b>	<b>22,98</b>	<b>37,54</b>	<b>72,92</b>	<b>84,16</b>	<b>91,51</b>	<b>92,06</b>				
	S.D.								<b>0,04</b>	<b>0,11</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,001</b>	<b>0,008</b>	<b>0,01</b>	<b>2,958</b>	<b>0,527</b>	<b>1,306</b>	<b>0,156</b>	<b>0,189</b>	<b>0,187</b>				
DBSS	1	1,529	1,348	0,889	0,627	0,377	0,366	0,366	4,85	3,85	2,98	1,98	1,64	1,54	1,54	20,61	38,55	59,17	66,18	68,25	68,25				
	2	1,539	1,346	0,880	0,592	0,371	0,363	0,363	4,92	3,83	2,80	1,90	1,62	1,53	1,53	20,12	43,08	61,38	67,07	69,31	69,31				
	3	1,546	1,349	0,884	0,570	0,378	0,365	0,365	4,95	3,88	2,85	1,85	1,65	1,51	1,51	21,61	42,42	62,62	66,66	69,10	69,10				
	media	<b>1,538</b>	<b>1,347</b>	<b>0,885</b>	<b>0,596</b>	<b>0,376</b>	<b>0,364</b>	<b>0,364</b>	<b>4,96</b>	<b>3,88</b>	<b>2,87</b>	<b>1,91</b>	<b>1,63</b>	<b>1,52</b>	<b>1,52</b>	<b>20,78</b>	<b>41,35</b>	<b>61,06</b>	<b>66,64</b>	<b>68,66</b>	<b>68,66</b>				
	S.D.								<b>0,05</b>	<b>0,04</b>	<b>0,09</b>	<b>0,06</b>	<b>0,01</b>	<b>0,015</b>	<b>0,001</b>	<b>0,761</b>	<b>2,44</b>	<b>1,74</b>	<b>0,441</b>	<b>0,561</b>	<b>0,561</b>				
DSS	1	0,768	0,676	0,615	0,289	0,186	0,122	0,120	5,0	3,80	3,16	1,31	0,80	0,44	0,39	27,57	51,84	78,09	90,40	91,91	92,66				
	2	0,756	0,681	0,607	0,295	0,186	0,121	0,121	4,95	3,86	3,08	1,36	0,80	0,42	0,41	27,30	51,50	77,69	90,37	92,27	93,26				
	3	0,760	0,698	0,613	0,302	0,186	0,121	0,120	4,97	4,04	3,14	1,42	0,80	0,42	0,39	27,24	51,61	78,20	90,36	91,00	92,14				
	media	<b>0,761</b>	<b>0,685</b>	<b>0,612</b>	<b>0,295</b>	<b>0,186</b>	<b>0,121</b>	<b>0,120</b>	<b>4,97</b>	<b>3,90</b>	<b>3,13</b>	<b>1,37</b>	<b>0,80</b>	<b>0,43</b>	<b>0,40</b>	<b>27,37</b>	<b>51,65</b>	<b>77,99</b>	<b>90,38</b>	<b>91,63</b>	<b>92,68</b>				
	S.D.								<b>0,21</b>	<b>0,12</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,00</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,005</b>				

\* - valorile absorbantei și ale concentrațiilor soluțiilor de tenside sunt valori medii obținute prin prelucrări statistice ale celor trei repetiții din fiecare probă

**Tabelul 5.65. Rezultatele procesului de degradare chimică a sărurilor acidului abietic în mediu fără inocul**

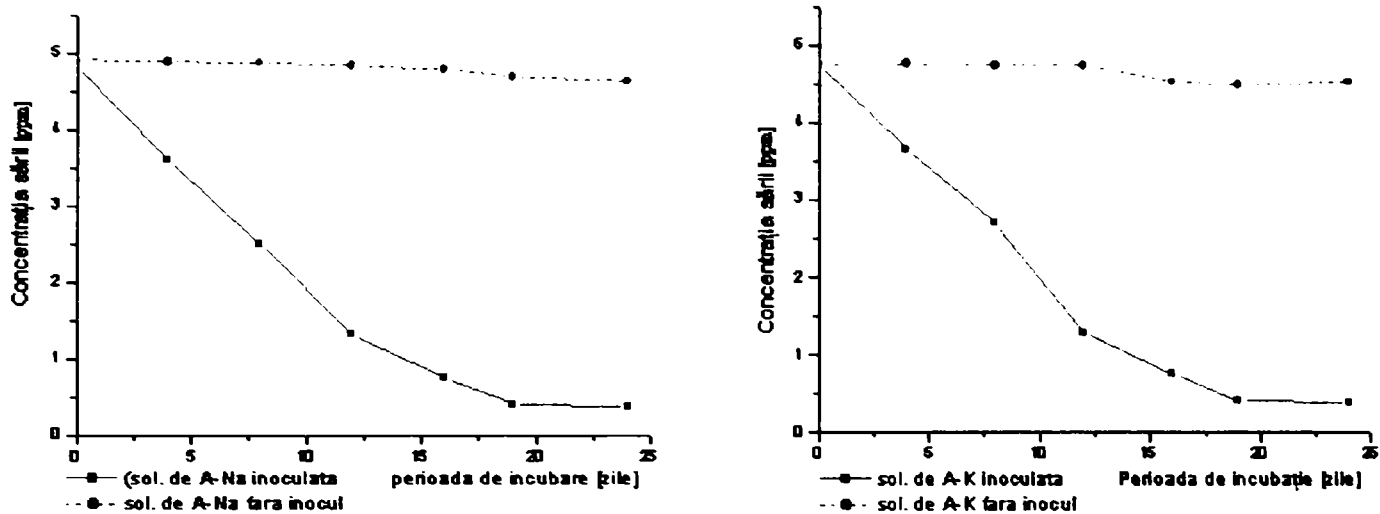
Subst. testată	Nr. repetiții	Absorbanta												Concentrația [ppm]												% Biodegradare					
		A <sub>0</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>16</sub>	A <sub>19</sub>	A <sub>24</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>19</sub>	C <sub>24</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>16</sub>	D <sub>19</sub>	D <sub>24</sub>										
MEAA	1	0,570	0,572	0,562	0,562	0,536	0,530	0,536	4,8	4,81	4,75	4,75	4,53	4,50	4,53	0,00	0,00	0,00	5,63	5,22	5,63										
	2	0,559	0,559	0,570	0,570	0,535	0,528	0,535	4,7	4,70	4,70	4,70	4,52	4,48	4,52	0,00	0,00	0,00	3,83	4,60	3,83										
	3	0,562	0,562	0,562	0,562	0,536	0,526	0,536	4,75	4,75	4,75	4,75	4,53	4,46	4,53	0,00	0,00	0,00	4,62	6,12	4,62										
	media	<b>0,563</b>	<b>0,564</b>	<b>0,564</b>	<b>0,564</b>	<b>0,535</b>	<b>0,528</b>	<b>0,535</b>	<b>4,75</b>	<b>4,75</b>	<b>4,73</b>	<b>4,73</b>	<b>4,526</b>	<b>4,48</b>	<b>4,526</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>4,46</b>	<b>5,36</b>	<b>4,46</b>										
	S.D.	<b>0,005</b>	<b>0,006</b>	<b>0,006</b>	<b>0,006</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,005</b>	<b>0,02</b>	<b>0,005</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,009</b>	<b>0,007</b>	<b>0,009</b>										
DEAA	1	0,925	0,919	0,925	0,915	0,905	0,882	0,879	4,85	4,80	4,85	4,75	4,70	4,62	4,60	1,03	0,00	2,06	3,09	4,74	5,15										
	2	0,942	0,942	0,934	0,925	0,915	0,890	0,882	4,95	4,95	4,90	4,85	4,75	4,66	4,62	0,00	1,01	2,02	4,04	5,86	6,66										
	3	0,942	0,934	0,925	0,919	0,915	0,886	0,877	4,95	4,90	4,85	4,80	4,75	4,6	4,59	1,01	2,02	3,03	4,04	6,06	7,27										
	media	<b>0,936</b>	<b>0,931</b>	<b>0,928</b>	<b>0,919</b>	<b>0,911</b>	<b>0,886</b>	<b>0,879</b>	<b>4,91</b>	<b>4,88</b>	<b>4,86</b>	<b>4,80</b>	<b>4,73</b>	<b>4,64</b>	<b>4,60</b>	<b>0,68</b>	<b>1,01</b>	<b>2,37</b>	<b>3,72</b>	<b>5,55</b>	<b>6,36</b>										
	S.D.	<b>0,009</b>	<b>0,011</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,004</b>	<b>0,002</b>	<b>0,057</b>	<b>0,076</b>	<b>0,028</b>	<b>0,05</b>	<b>0,028</b>	<b>0,020</b>	<b>0,015</b>	<b>0,005</b>	<b>0,01</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,058</b>	<b>0,067</b>										
TEAA	1	1,004	0,995	1,000	0,995	0,995	0,890	0,887	4,90	4,80	4,85	4,80	4,80	4,70	4,66	2,04	1,02	2,04	2,04	4,08	4,89										
	2	1,004	1,014	1,004	1,004	1,000	0,890	0,878	4,90	4,95	4,90	4,90	4,85	4,70	4,60	0,00	0,00	0,00	1,02	4,08	6,12										
	3	1,014	1,004	1,000	0,995	0,890	0,885	0,878	4,95	4,90	4,85	4,80	4,70	4,65	4,60	1,01	2,02	3,03	5,05	6,06	7,07										
	media	<b>1,007</b>	<b>1,009</b>	<b>1,001</b>	<b>0,998</b>	<b>0,961</b>	<b>0,888</b>	<b>0,881</b>	<b>4,91</b>	<b>4,88</b>	<b>4,86</b>	<b>4,83</b>	<b>4,78</b>	<b>4,68</b>	<b>4,62</b>	<b>0,67</b>	<b>1,01</b>	<b>1,64</b>	<b>2,70</b>	<b>4,74</b>	<b>6,03</b>										
	S.D.	<b>0,005</b>	<b>0,007</b>	<b>0,002</b>	<b>0,005</b>	<b>0,062</b>	<b>0,002</b>	<b>0,005</b>	<b>0,028</b>	<b>0,076</b>	<b>0,028</b>	<b>0,057</b>	<b>0,076</b>	<b>0,028</b>	<b>0,032</b>	<b>0,015</b>	<b>0,010</b>	<b>0,015</b>	<b>0,209</b>	<b>0,049</b>	<b>0,064</b>										
IBAA	1	1,265	1,259	1,259	1,248	1,238	1,229	1,234	4,62	4,60	4,60	4,58	4,53	4,50	4,52	0,43	0,43	0,86	1,94	2,59	2,16										
	2	1,270	1,265	1,259	1,248	1,245	1,234	1,229	4,65	4,62	4,60	4,58	4,56	4,52	4,50	0,64	1,07	1,50	1,93	2,79	3,22										
	3	1,259	1,259	1,248	1,248	1,248	1,245	1,236	4,60	4,60	4,58	4,58	4,58	4,56	4,54	0,00	0,43	0,43	0,43	0,86	1,30										
	media	<b>1,264</b>	<b>1,261</b>	<b>1,255</b>	<b>1,248</b>	<b>1,243</b>	<b>1,236</b>	<b>1,233</b>	<b>4,62</b>	<b>4,606</b>	<b>4,593</b>	<b>4,58</b>	<b>4,556</b>	<b>4,526</b>	<b>4,52</b>	<b>0,35</b>	<b>0,647</b>	<b>0,935</b>	<b>1,439</b>	<b>2,086</b>	<b>2,23</b>										
	S.D.	<b>0,005</b>	<b>0,003</b>	<b>0,006</b>	<b>0,00</b>	<b>0,005</b>	<b>0,008</b>	<b>0,003</b>	<b>0,025</b>	<b>0,011</b>	<b>0,011</b>	<b>0,000</b>	<b>0,025</b>	<b>0,030</b>	<b>0,02</b>	<b>0,003</b>	<b>0,003</b>	<b>0,005</b>	<b>0,008</b>	<b>0,191</b>	<b>0,022</b>										

\* - valorile absorbantei și ale concentrațiilor soluțiilor de tenside sunt valori medii obținute prin prelucrări statistice ale celor trei repetiții din fiecare probă

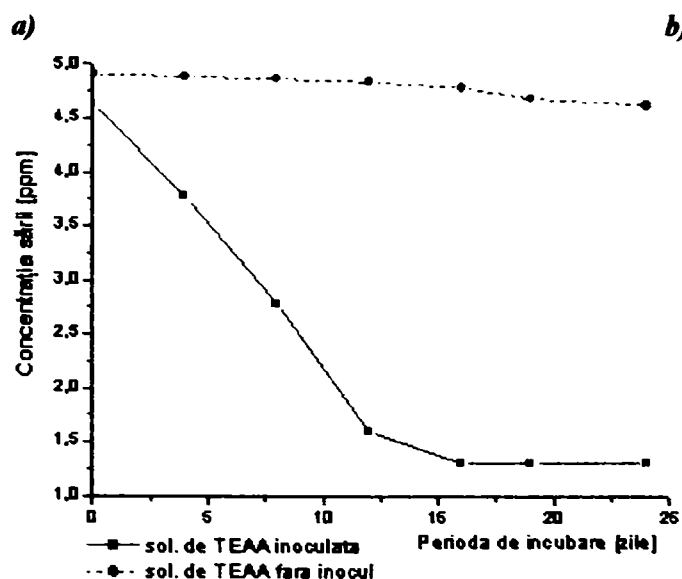
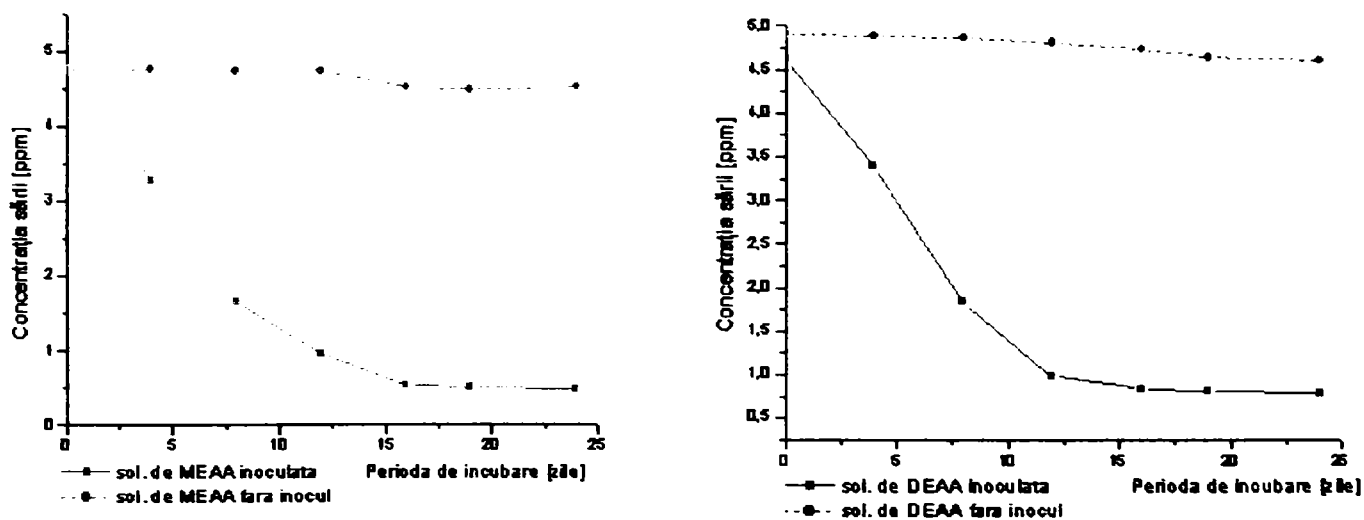
Tabelul 5.65. Rezultatele procesului de degradare chimică a sărurilor acidului abietic în mediu fără inocul (continuare)

Subst. testată	Nr. repetiții	Absorbanta										Concentrația [ppm]										% Biodegradare					
		A <sub>0</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>12</sub>	A <sub>16</sub>	A <sub>19</sub>	A <sub>24</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>19</sub>	C <sub>24</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>8</sub>	D <sub>12</sub>	D <sub>16</sub>	D <sub>19</sub>	D <sub>24</sub>						
DIBAA	1	0,570	0,572	0,562	0,562	0,536	0,530	0,536	4,8	4,81	4,75	4,75	4,53	4,50	4,53	0,00	0,00	0,00	5,63	5,22	5,63						
	2	0,559	0,559	0,570	0,570	0,535	0,528	0,535	4,7	4,70	4,70	4,70	4,52	4,48	4,52	0,00	0,00	0,00	3,83	4,60	3,83						
	3	0,562	0,562	0,562	0,562	0,536	0,526	0,536	4,75	4,75	4,75	4,75	4,53	4,46	4,53	0,00	0,00	0,00	4,62	6,12	4,62						
	media	<b>0,563</b>	<b>0,564</b>	<b>0,564</b>	<b>0,564</b>	<b>0,535</b>	<b>0,528</b>	<b>0,535</b>	<b>4,75</b>	<b>4,75</b>	<b>4,73</b>	<b>4,73</b>	<b>4,526</b>	<b>4,48</b>	<b>4,526</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>4,46</b>	<b>5,36</b>	<b>4,46</b>						
	S.D.	<b>0,005</b>	<b>0,006</b>	<b>0,006</b>	<b>0,006</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,05</b>	<b>0,05</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,005</b>	<b>0,02</b>	<b>0,005</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,009</b>	<b>0,007</b>	<b>0,009</b>						
A-K	1	0,925	0,919	0,925	0,919	0,919	0,882	0,882	4,85	4,80	4,85	4,80	4,80	4,70	4,70	1,03	0,00	2,06	2,09	2,74	2,74						
	2	0,942	0,942	0,934	0,925	0,915	0,918	0,918	4,95	4,95	4,90	4,85	4,75	4,76	4,76	0,00	1,01	2,02	2,14	2,86	2,86						
	3	0,942	0,934	0,925	0,919	0,915	0,915	0,915	4,95	4,90	4,85	4,80	4,75	4,75	4,75	1,01	2,02	3,03	3,24	2,86	2,86						
	media	<b>0,936</b>	<b>0,931</b>	<b>0,928</b>	<b>0,919</b>	<b>0,911</b>	<b>0,886</b>	<b>0,886</b>	<b>4,91</b>	<b>4,88</b>	<b>4,86</b>	<b>4,80</b>	<b>4,73</b>	<b>4,64</b>	<b>4,64</b>	<b>0,68</b>	<b>1,01</b>	<b>2,37</b>	<b>2,72</b>	<b>2,75</b>	<b>2,75</b>						
	S.D.	<b>0,009</b>	<b>0,011</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,004</b>	<b>0,004</b>	<b>0,057</b>	<b>0,076</b>	<b>0,028</b>	<b>0,05</b>	<b>0,028</b>	<b>0,020</b>	<b>0,020</b>	<b>0,005</b>	<b>0,01</b>	<b>0,005</b>	<b>0,005</b>	<b>0,058</b>	<b>0,058</b>						
A-Na	1	1,004	0,995	1,000	0,995	0,995	0,995	0,887	4,90	4,80	4,85	4,80	4,80	4,80	4,66	2,04	1,02	2,04	2,04	2,04	2,12						
	2	1,004	1,014	1,004	1,004	1,000	1,000	0,878	4,90	4,95	4,90	4,90	4,85	4,85	4,60	0,00	0,00	0,00	1,02	1,02	1,32						
	3	1,014	1,004	1,000	0,995	0,890	0,890	0,878	4,95	4,90	4,85	4,80	4,70	4,70	4,60	1,01	2,02	3,03	5,05	5,05	5,07						
	media	<b>1,007</b>	<b>1,009</b>	<b>1,001</b>	<b>0,998</b>	<b>0,961</b>	<b>0,961</b>	<b>0,881</b>	<b>4,91</b>	<b>4,88</b>	<b>4,86</b>	<b>4,83</b>	<b>4,78</b>	<b>4,78</b>	<b>4,62</b>	<b>0,67</b>	<b>1,01</b>	<b>1,64</b>	<b>2,70</b>	<b>2,70</b>	<b>2,78</b>						
	S.D.	<b>0,005</b>	<b>0,007</b>	<b>0,002</b>	<b>0,005</b>	<b>0,062</b>	<b>0,062</b>	<b>0,005</b>	<b>0,028</b>	<b>0,076</b>	<b>0,028</b>	<b>0,057</b>	<b>0,076</b>	<b>0,076</b>	<b>0,032</b>	<b>0,015</b>	<b>0,010</b>	<b>0,015</b>	<b>0,209</b>	<b>0,209</b>	<b>0,064</b>						

\* - valorile absorbantei și ale concentrațiilor soluțiilor de tenside sunt valori medii obținute prin prelucrări statistice ale celor trei repetiții din fiecare probă



**Fig. 5.48 : Variația concentrației soluțiilor apoase de săruri alcaline ale acidului abietic pe perioada de incubare: A-Na (a); A-K (b)**



**c)**

**Fig. 5.49 : Variația concentrației soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic pe perioada de incubare: MEAA (a); DEAA (b); TEAA (c)**



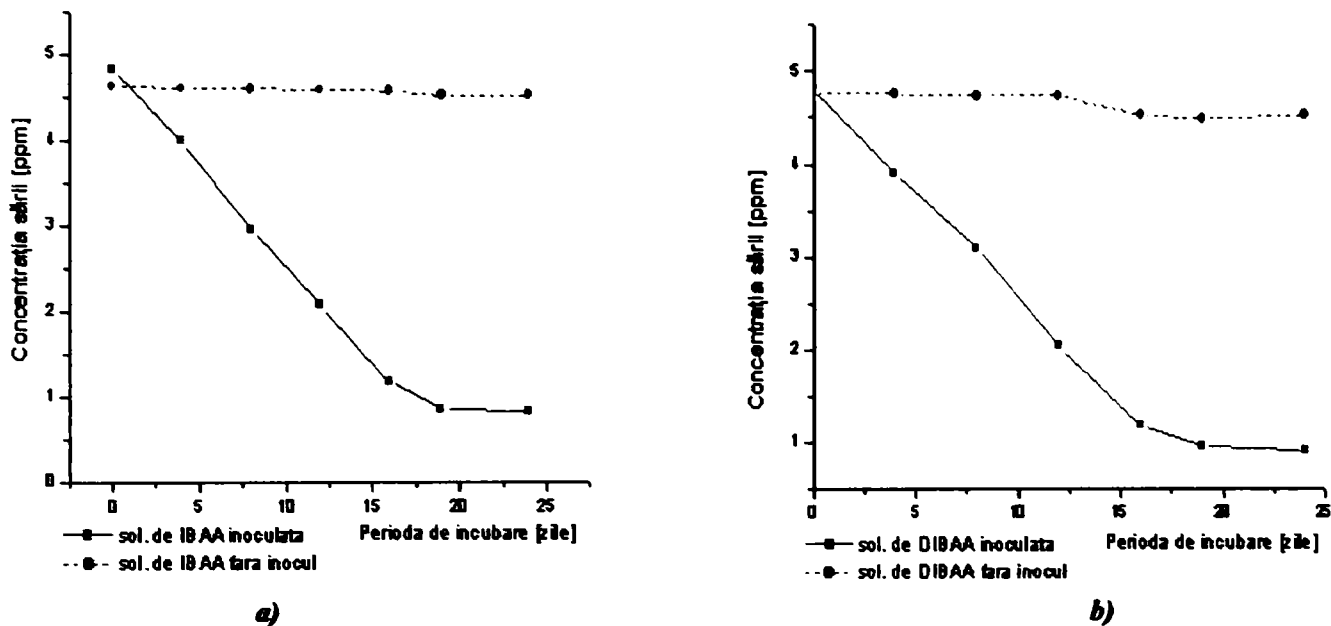


Fig. 5.50 : Variația concentrației soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic pe perioada de incubare: IBAA (a); DIBAA (b)

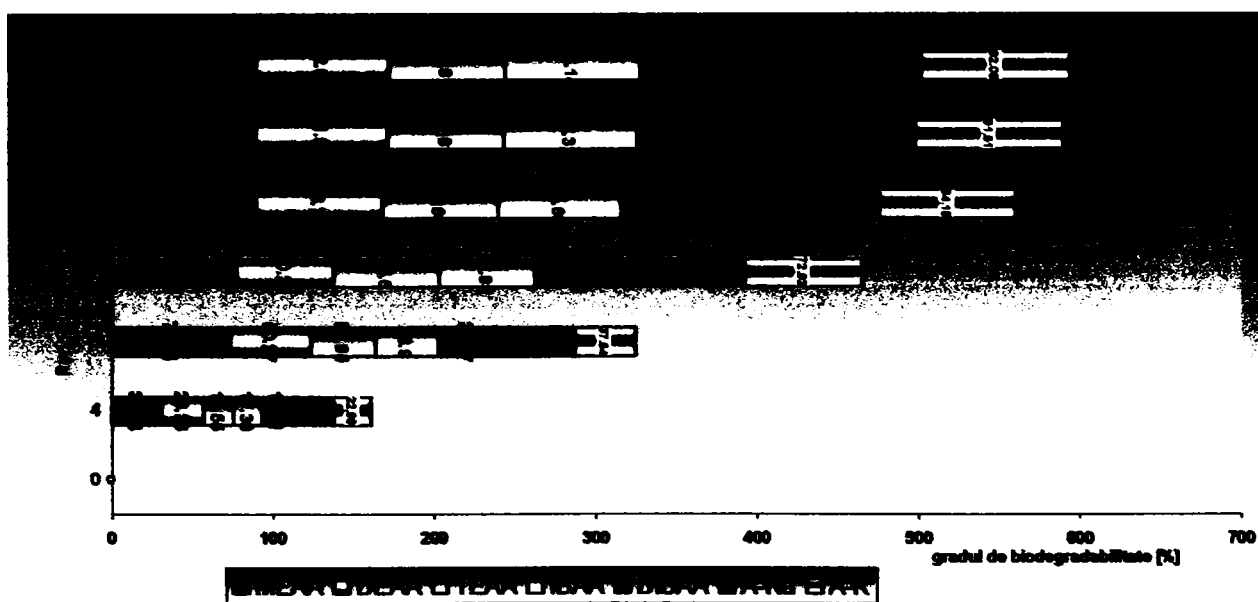


Fig. 5.51 : Variația gradului de biodegradabilitate a sărurilor acidului abietic pe perioada analizată

Cu o singură excepție, abietatul de trietanolamoniu, valorile gradului de biodegradabilitate a sărurilor acidului abietic luate în studiu au depășit încă din a 19-a zi de pragul de 80% stabilit de normele europene în domeniu [243]. De asemenea, dacă comparăm valorile gradului de biodegradabilitate obținute pentru sărurile acidului abietic cu cele ale compușilor anionici luați ca standarde (DSS, DBSS), se poate observa că abietatii alcalini, au avut un grad de biodegradabilitate foarte apropiat de ce al DSS, acesta fiind considerat în literatura de specialitate unul din compușii tensioactivi anionici ușor biodegradabili [236, 237] și anume:

Tabelul 5.66. Valorile comparative ale gradului de biodegradabilitate a abietatilor alcalini și a standardului

Nr. crt.	Compusul	Grad de biodegradabilitate [%]
1.	Abietat de sodiu (A-Na)	92,21
2.	Abietat de potasiu (A-K)	92,06
3.	Dodecilsulfat de sodiu (DSS)	92,68

În schimb față de DBSS, considerat o tensidă greu biodegradabilă (70% grad de biodegradare) [233, 237], toate substanțele analizate au prezentat valori superioare. Trebuie însă precizat că datele experimentale prezentate, reprezintă de fapt cantitatea totală de săruri care a fost îndepărtată din apă atât prin intermediul microorganismelor prezente în inoculul obținut din efluentul de la stația de epurare a apelor uzate, cât și în absența inocului. Rezultatele experimentale obținute fără inocul (tabelul 5.67) se referă la posibilitatea îndepărtării unor cantități de sare din apă ca urmare a unor procese fizice (volatilizare, adsorbție la pereții vasului) sau chimice (hidroliză, fotoliză). De asemenea se poate întâmpla ca probele să poată fi biodegradate chiar de unele organisme prezente în apa distilată folosită ca mediu de dizolvare a probelor (asemenea apă poate să conțină conform unor determinări până la  $10^3$  celule viabile/ml în cazul în care probele nu au fost în prealabil sterilizate corect).

Determinările efectuate în mediu abiotic au demonstrat că în medie ponderea proceselor chimice și/sau fizice s-a situat între 1-2% la sărurile cu metale alcaline până la 4-7% la sărurile acidului abietic cu etanolamine.

Datele de biodegradabilitate a sărurilor acidului abietic cu metale alcaline și etanolamine determinate prin metoda spectrofotometrică s-au încadrat în limitele determinate de alți cercetători prin metoda OECD standardizată [243]. În ceea ce privește sărurile acidului abietic cu izo-, di-izobutilamină, datele obținute nu au putut fi comparate ca urmare a faptului că pentru acești compuși nu există referințe bibliografice legate de biodegradabilitatea lor.

La o privire generală, putem să considerăm că metoda spectrofotometrică adaptată pentru acest tip de analize, a fost adecvată pentru monitorizarea scăderii conținutului de săruri a acidului abietic din apele naturale, determinat ca procent de biodegradare. De asemenea pe parcursul derulării experiențelor s-a putut evidenția stabilitatea complexului organic: sare – colorant neexistând situații în care valorile absorbției citite pentru aceeași probă să difere foarte mult între ele.

## 6. CONCLUZII FINALE

Studiul de cercetare efectuat în scopul elaborării tezei de doctorat a avut ca obiect de investigație *sinteza și caracterizarea sărurilor acidului abietic cu metale alcaline (Na, K), amine alifatică cu lanț scurt de atomi de carbon (izobutilamină, di-izobutilamină) și etanolamine (mono-, di- și trietanolamină)* din punct de vedere fizico-chimic, structural, al proprietăților superficial active și activității microbiologice în vederea unor posibile utilizări în industria detergenților, farmaceutică, cosmetică.

*Compușii tensioactivi sau superficial activi* fie că sunt denumiți generic agenți de spumare, agenți de udare, spălare sau emulgatori, reprezintă la ora actuală o clasă de substanțe organice folosită pe scară largă într-o serie de ramuri industriale, putându-se afirma fără posibilitatea unei erori că prezența acestora în viața noastră cotidiană a devenit indispensabilă. Deși principala lor sursă de sinteză o constituie produsele petroliere, în ultimii 10-20 de ani atenția cercetătorilor s-a concentrat și spre alte resurse naturale alternative, mai puțin costisitoare și totodată cu un efect toxic diminuat asupra mediului înconjurător. O posibilă resursă naturală alternativă de materie primă pentru producția de compuși superficiali activi anionici, poate fi considerat *acidul abietic*, produs de biosinteză conținut în oleorezina de conifere din specia *Pinus*. În urma distilării cu vapori de apă a oleorezinei, acidul abietic, alături de alți compuși nevolatili formează reziduul cunoscut comercial sub denumirea de colofoniu sau sacâz.

### 6.1. Izolarea acidului abietic din colofoniu și purificarea lui

*Izolarea acidului abietic levogir*, din colofoniu chinezesc s-a bazat pe încălzirea la reflux în anumite condiții de reacție a unei soluții acetice de colofoniu. După două recristalizări, puritatea acidului calculată ca puritate optică a fost de 75-80%.

Analiza cromatografică de HPLC a confirmat de asemenea puritatea acidului abietic ca fiind de 80%. Datorită sensibilității crescute a acidului abietic la lumină și la acțiunea oxigenului din aer, acesta în timp se racemizează. Deoarece, doar enantiomerul levogir prezintă acțiune biologic activă separarea și ulterior purificarea acestuia din racemicul format s-a făcut prin intermediul sărurilor sale cu *baze optice active din categoria alcaloizilor*.

Cel mai bun randament (62%) pentru purificarea enantiomerului levogir s-a obținut în cazul (-)- chininei anhidre. Puritatea acidului abietic a fost de peste 95%, valoare confirmată și de analiza cromatografică de lichid.

### 6.2. Sinteza sărurilor acidului abietic

Procedeul de obținere a *abietatilor alcalini* s-a bazat pe reacția de neutralizare la cald a unui volum determinat dintr-o soluție alcoolică de acid abietic, cu volume echivalente din soluțiile alcoolice de concentrație 1M de hidroxid de sodiu respectiv de potasiu.

Purificarea sărurilor brute obținute s-a realizat prin recristalizare de două ori din etanol absolut. Randamentele de sinteză au avut valori medii cuprinse între 88% în cazul abietatului de sodiu și 89% pentru cel de potasiu. Puritatea sărurilor s-a situat în ambele cazuri la valori de peste 98%. S-a constatat de asemenea, că acidul abietic purificat pe calea sărurilor cu baze optice active și-a păstrat sensul rotației optice pe perioada derulării procesului de neutralizare fiind stabil din punct de vedere termic.

Utilizarea unei părți din cantitatea necesară de soluție etanolică de hidroxid de sodiu, a condus în aceleași condiții de reacție, la obținerea unei sări complexe cu formula moleculară  $3C_{20}H_{30}O_2 \cdot C_{20}H_{29}O_2Na$  doar dacă a fost utilizat acid abietic levogir. Încercările de a obține o sare complexă pornind de la acid abietic dextrogir au eșuat, analiza spectrometrică de absorbție atomică a arătat că este vorba de un amestec format din 2 moli de acid abietic și un mol de abietat neutru de sodiu.

Sinteza sărurilor acidului abietic cu amine alifatică respectiv etanolamine, s-a bazat pe reacția dintre acidul abietic și aminele respective în condiții de temperatură și timp de reacție moderate.

Valorile medii ale randamentelor de sinteză au variat între valori de 74-75% în cazul MEAA, și 90-92% în cazul IBAA respectiv DIBAA.

### 6.3. Analiza structurală a colofoniului și a compușilor sintetizați

#### 6.3.1 Analiza colofoniului utilizat ca materie primă pentru acidul abietic

1. *Analiza de gaz cromatografie* a colofoniului chinezesc efectuată de furnizor a relevat un conținut de 40-44% acid abietic;
2. *Analiza de spectrometrie de masă folosind tehnica DTMS (Direct Temperature Resolved Mass Spectrometry)* a evidențiat: existența unui singur pic în "ionul curent total"(TIC); prezența în spectrul de masă însumat a ionului molecular de bază  $[M]^+$ , corespunzător acidului abietic; majoritatea ionilor desorbiți în TIC au fost detectați în intervalul de scanare a temperaturii 35-46 ceea ce indică o volatilitate relativ redusă a colofoniului; prezența ionilor moleculari ai unor produși de oxidare ai acidului abietic precum și ionii moleculari corespunzători unor acizi grași saturați  $[M+1]^+$  dar în cantități ne semnificative;
3. *Analizele de spectrometrie de masă folosind tehnica Electron Spray Ionisation în ambele variante (-ESI) respectiv (+ESI)*, la 16 ev sugerează faptul că în colofoniu, acidul abietic se găsește sub forme polimere (2M, 3M, 4M,); în varianta (-ESI), ionul de bază a apărut în forma  $[2M+H]^+$ ; în varianta (+ESI) ca ion de bază a apărut fragmentul cu (m/z 673). Nu s-a sesizat în schimb în cadrul acestei tehnici de analiză prezența ionilor moleculari ai unor produși de oxidare ai acidului abietic.
4. Din prezentarea comparativă a celor două de tehnici de analiză ale spectrometriei de masă se poate concluziona că în cazul colofoniului metoda DTMS oferă informații mult mai exacte și într-un timp mai rapid asupra compoziției structurale ale amestecului analizat.

#### 6.3.2. Analiza structurală a derivaților acidului abietic obținuți

1. *Analiza spectrelor de vibrații – rotație a abietatilor sintetizați* a confirmat structura acestora.
2. *Analiza DTMS a abietatului de sodiu* a evidențiat prezența a două picuri în TIC, corespunzător celor două intervale de scanare a temperaturii. Spectrul de masă însumat corespunzător primului pic, a dovedit prezența ionului molecular al acidului abietic liber ca și ion de bază, alături de seria de fragmente ionice și /sau radicali tipică acestui tip de produs. Ionii observabili în spectrul de masă însumat corespunzători picului 2 din TIC, au fost atribuiți abietatului de sodiu sodiatat respectiv unor clustre formate din sodiatat asociat cu o parte din abietatul neutru de sodiu. În afară de ionii de sodiatat, au mai fost detectați și ionii corespunzători acidului abietic liber, precum și cel corespunzător ionului de sodiu.
3. *Analiza DTMS a abietatului de potasiu* a confirmat în cazul primului pic din TIC, prezența acidului abietic în stare liberă, alături de fragmentele de ioni asociate. În cel de al doilea interval de scanare, spectrul de masă însumat a stabilit prezența abietatului de potasiu, m/z 340, dar nu și a omologului corespunzător sodiatatului de sodiu. În schimb în spectru apărut ionul molecular  $[M+2K]^+$ . Pe lângă acești ioni, similar spectrului DTMS corespunzător abietatului de sodiu, a apărut și în acest caz ionul molecular al acidului abietic cu fragmentele de ioni asociate, ca ion de bază. De asemenea, spre deosebire de spectrul abietatului de sodiu, în spectrul DTMS al abietatului de potasiu s-a remarcat o serie de ioni corespunzători unor produși de oxidare ai acidului abietic. În zona corespunzătoare valorilor mici ale masei s-a putut constata și apariția ionului metalic de potasiu.
4. *Analiza comparativă a structurii abietatilor alcalini, prin varianta (-)ESI-MS*, a confirmat în mare măsură analizele DTMS-ului. Astfel în spectrul de masă al abietatului de sodiu, ionul molecular de bază  $[2 M+Na]^+$ , a fost urmat de o serie de picuri corespunzând unor fragmente de ioni de forma  $[3M+2Na]^+$ ,  $[4M+3Na]^+$ ,  $[5M+4Na]^+$ . În schimb prezența impurităților datorate produșilor de oxidare nu s-a constatat în această variantă, aceasta datorându-se, contribuției ne semnificative a acestora la intensitatea curentului ionic.
5. *Analizele spectrale de masă efectuate asupra sărurilor de tip amoniu a acidului abietic în variantele (+ESI)-MS respectiv (-ESI)-MS*, la 16eV au semnalat prezența ca ioni de bază a ionilor de *monoetanolamoniu, trietanolamoniu, izobutilamoniu și diizobutilamoniu*. În varianta (-ESI) s-a constatat că pentru toate probele *ionul abietat* a ieșit ca ion de bază. Totodată în această ultimă variantă s-au înregistrat fragmentări de ioni puține și de slabă intensitate corespunzătoare unor impurități.

#### 6.4. Analiza sărurilor acidului abietic din punct de vedere al proprietăților superficial active

Analiza sărurilor acidului abietic din punct de vedere al proprietăților superficial active a condus la următoarele rezultate :

1. Valorile punctului Kraft nu au variat semnificativ cu concentrațiile soluțiilor (diferențele au fost în majoritatea cazurilor mai mici de 1%, cu excepția abietatilor de izobutilamoniu și respectiv di-izobutilamoniu) ceea ce este în conformitate cu datele de literatură, și în general s-au încadrat în limitele acceptate de standardul românesc referitor la compuşii ionici capilar activi ( $T_{kp} < 15^{\circ}\text{C}$ ).
2. Determinarea concentrației critice micelare a soluțiilor apoase de săruri ale acidului abietic s-a realizat prin două metode și anume a) metoda picăturii pentru determinarea tensiunii superficiale și b) metoda conductometrică permite reproductibilitatea datelor experimentale.
3. Rezultatele experimentale obținute prin metoda picăturii au arătat că în general soluțiile de săruri ale acidului abietic respectă regula generală a compuşilor tensioactivi referitoare la fenomenul de îmbătrânire, adică de scădere a valorilor tensiunii superficiale a unei soluții de tensidă până la stabilirea echilibrului interfacial.
4. Valorile CMC-ului obținute prin metoda picăturii au fost comparabile cu cele aferente săpunurilor alcaline și sărurilor de amoniu ale acizilor grași; în schimb, valorile tensiunii superficiale ale derivaților acidului abietic, au fost mai mari decât cele similare sărurilor acizilor grași. Afirmatia este valabilă doar în cazul în care pH-ul soluțiilor respective a avut valori alcaline. În schimb, experiențele efectuate cu soluții apoase de săruri ale acidului abietic de aceeași concentrație, au arătat, că valorile tensiunii superficiale au scăzut pe măsură ce pH-ul s-a deplasat spre valori slab alcaline respectiv neutre, până la atingerea unui minim în intervalul 7-7,5. Odată cu trecerea pH-ului soluțiilor în domeniul acid s-a înregistrat o nouă creștere a valorilor tensiunii superficiale ale acestora. Se poate afirma astfel că, printr-o combinație bine determinată pH-concentrație în sare, se pot obține valori ale tensiunii superficiale chiar sub limita de 30dyn/cm aferentă săpunurilor acizilor grași.
5. Utilizarea metodei conductometrice de determinare a concentrației critice micelare (CMC) a sărurilor sintetizate, a stabilit modul de variație a acestui parametru cu temperatura soluțiilor. Astfel, odată cu creșterea valorii temperaturii de la 20 la 35°C valoarea CMC-ului a crescut brusc iar apoi mai lent pe măsură ce temperatura soluțiilor a atins valoarea de 40°C.
6. Determinarea CMC-ului prin măsurători conductometrice constituie o cale facilă pentru a testa caracterul ionic al derivaților acidului abietic cu aminele/ (etanolaminele).
7. Testarea proprietăților de udare ale sărurilor acidului abietic a arătat că acestea sunt în general buni umectanți pentru materiale textile confecționate din mătase, stofă și bumbac la concentrații inferioare valorii CMC-ului. De asemenea, este preferabil ca pH-ul soluțiilor testate să fie ajustat la valori de 7,2-7,5, pentru a îmbunătăți puterea de umectare a acestora. O temperatură a soluțiilor de analizat cuprinsă între 25-40°C, influențează pozitiv valorile timpilor de udare.
8. Studiile experimentale efectuate în direcția testării capacităților spumante a sărurilor acidului abietic au demonstrat că, exceptând sărurile cu izo-butilamină și di-izobutilamină, toate celelalte substanțe au format spume abundente și stabile chiar și la concentrații în substanță activă inferioare CMC-ului. În general spumele formate au avut densitate mare, fiind alcătuite din bule mici, uniforme de formă sferică. Spumele formate prin agitarea soluțiilor de săruri cu amine s-au dovedit a fi instabile în timp; stratul de spumă având înălțimi mici și fiind foarte rarefiat. Cel mai bun spumant a fost abietatul de trietanolamoniu, urmat de abietatii metalelor alcaline și apoi de abietatii de mono-, dietanolamoniu.
9. Investigațiile experimentale cu privire la capacitatea de emulsionare au evidențiat faptul că prin adaosul de cantități mici de sare unui sistem nemiscibil apă-benzen se obțin emulsii stabile în timp. Prelucrarea datelor experimentale a relevat existența unei relații cvasiliniare între stabilitatea filmului de emulsie și logaritmul concentrației sării. Abietatul de di-izobutilamoniu, s-a dovedit a fi mai eficace decât abietatii de sodiu și potasiu la concentrații mici ( $c < 10\text{mM}$ ) în formarea unor emulsii stabile de tip U/A. Aceste constatări conduc la concluzia că sărurile respective pot fi folosite într-o vastă serie de aplicații.

### 6.5. Activitatea biologic activă a sărurilor sintetizate ale acidului abietic

Sărurile acidului abietic luate în studiu nu sunt doar buni umectanți, spumanți și/sau emulsionanți, dar au prezentat și proprietăți antimicrobiene asemănătoare compușilor superficiali activi din clasa cationicilor. Astfel testele de activitate antimicrobiană, efectuate prin două metode standard (metoda difuzimetrică, și metoda diluțiilor), atât față de microorganisme din clasa bacteriilor cât și față de fungi au condus la următoarele concluzii:

1. Toate substanțele analizate au determinat o inhibare a creșterii coloniilor de microorganisme, mai slabă sau mai vizibilă, funcție de structura compușilor compușilor analizați și de tipul de microorganism testat.
2. Abietatul de sodiu a manifestat o activitate antimicrobiană mai evidentă față de *Staphylococcus aureus*, activitate datorată probabil restului de acid abietic și faptului că la concentrații mici începe să se formeze acidul liber care, în conformitate cu datele de literatură prezintă activitate bacteriostatică și bactericidă bună. Prin coroborarea celor două categorii de proprietăți cea de emulgator și de inhibitor al creșterii de microorganisme s-a putut brevetă o rețetă de cremă dermatologică pe bază de abietat de sodiu având efecte benefice asupra unor infecții ale pielii cu Stafilococi.
3. Activitate bacteriostatică a manifestat și abietatul de di-izobutilamoniu față de culturile de *S.choleraesuis* respectiv *Candida albicans*.
4. Abietatul de trietanolamoniu s-a caracterizat printr-o activitate bacteriostatică bună atât față de bacteriile Gram pozitive (*Staphylococcus aureus*) cât și față de cele Gram negative (*Escherichia coli*). De asemenea nu este de neglijat nici activitatea fungistatică față de *Candida albicans*.
5. Abietații de monoetanolamoniu, dietanolamoniu, izobutilamoniu au prezentat activitate bacteriostatică slabă.

### 6.6. Biodegradabilitatea compușilor sintetizați

Folosirea unei metode modificate față de metoda standard pentru determinarea gradului de biodegradare a probelor analizate a condus la următoarele concluzii:

1. sărurile acidului abietic cu metale alcaline și amine alifactice respectiv etanolamine pot fi considerate substanțe ușor biodegradabile în condiții aerobe.
2. În general se poate considera că cu, cât structura sării este mai simplă cu atât perioada de timp în care se atinge limita superioară de biodegradare este mai mică.
3. Determinarea gradului de biodegradabilitate prin măsurători spectrofotometrice s-a dovedit mai puțin susceptibilă la erori ca urmare a unei stabilități mari a complexului organic colorat sare-cristal violet, ceea ce a permis ca citirile absorbției să nu înregistreze abateri mari de la medie, iar curbele de etalonare să fie trasate în condiții bune.
4. În toate cazurile în care s-au realizat și citirile probelor oarbe fără inoculum, procentul de degradare a fost nesemnificativ în comparație cu cel de biodegradare. Scăderea conținutului de sare din vasele de analizat în lipsa inocului, poate fi datorată unor procese fizice de adsorbție la suprafața paharului sau de evaporare, dar și consecința unor reacții chimice de fotoliză, respectiv hidroliză.

## BIBLIOGRAFIE

- [1]. **Croteau R., Kutchan T. M., Lewis N. G.**, "Natural products have primary ecological functions", ASPB, chapter no.24, Natural products (secondary metabolites), NY, 1999: 235-236.
- [2]. **Soltes E. J., Zinkel D. F.** "Chemistry of rosin". in: Zinkel D.F., Russel J. (eds): Naval stores: production chemistry utilisation. N.Y: Pulp and Chemical Association, 1989: 261-330.
- [3]. **Lee H-B, Peart T. E.** "Gas chromatographic and mass spectrometric determination of some resin and fatty acids in pulp mill effluents as their pentafluorobenzyl ester derivatives", J.Chromatography 498 1990:376-379.
- [4]. **Holmbom B.**, "Improved gas chromatographic analysis of fatty and resin acid mixtures with special reference to tall oil", J. Am.Oil Chem. :54 Soc. 1977: 289-293.
- [5]. **Kamatzuki W., Krause T.**, "Hochdruck-Flussigkeits-Cromatographie", HPLC. Papier (Darmstad) 34, 1980, Heft10A: 29-37.
- [6]. **Oikari A., Fragoso H., Keppanen H., Chan T.**, "Bioavailability to fish of sediment- borne retene, as PAH derived from abietic acid in pulp mill effluents", Presented at 20<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC, Philadelphia, PA, november 14-18,1999: 234-246
- [7]. **Keira T., Aizawa Y., Karube H., Niituya M.**, "Adverse effects of colophony". Industrial Health, 1997, p. 1-7
- [8]. **Caloianu M., Jianu I., Radu F. și al.**, "Procedeu de obținere a acidului abietic de înaltă puritate", Brevet de invenție RO 111265 C1, 13.12.1995
- [9]. **Caloianu M., Jianu I., Radu F. și al.**, "Cremă dermatologică antiseptică", Brevet de invenție RO 111329 B1, 13.12.1995
- [10]. **Gomez J., Selas R. S., Merino J.R.**, "Extraction of copper (II) with resin acids", CA, Vol. 102, No.10, 1985, 116896d,
- [11]. **Pecina R.**, "Shampoo based on triethanolamine salts of abietic acid", ES 548 463, 1987/6/12, CA, Vol.108, 1988, 118744x
- [12]. **Miyamoto M., și al.**, "Hair conditioners containing abietic acid derivatives of ammonium salts", J.P. 60. 0,1 112 [85 01, 112], 1984. CA vol. 102, Nr. 16, 1985, 172422e, .
- [13]. **Ryoichi F. R.**, "Preparation of dehydroabietyl amino acids and their salts as surfactants", J. Am.Chem.Soc., vol.146, 1986, p.1606-1609. CA, Vol.106, nr.19, 1987, 72799k.
- [14]. \*\*\*\* Global Forest Resources Assessment 2000 (FRA 2000).Committee on Forestry Rome, Italy 2001.Proceeding of FAO Expert Consultation to Review the FRA 2000 Methodology for Regional and Global Forest Change Assessment Program, Working Paper 42.
- [15]. **Tay S. C. H. și al.**, "High - intensity mechanical pretreatment and high-compression screw pressing for deresination of aspen Kraft pulps". TAPPI Journal, 1996: 265-268.
- [16]. **Zahaobang S.**, "Production and Standards for Chemical Non-Wood Forest Products in China", Occasional Paper 6,1995, ISSN0854-9818: 17.
- [17]. **Sadhra S., Foulds I.S., Gray C.N.**, "Colophony: uses, health effects, airborne measurement and analysis",The Annals of Occupational Hygiene, 38, 1994:385-394.
- [18]. **Bystrom L.**, "Pine: A Nutritional Supplement/Medicinal, Toxicant and Effective repellent": lmb43 @cornell.edu.
- [19]. **Bodea C.**, - *Tratat de Biochimie Vegetală. Partea 1. Fitochimie* vol. II, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1965 1189-1200.
- [20]. **Jantan I., Ahmad A. S.**, "Oleorezine of three Pinus Species from Malaysian Plantations", ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation, november-december, 1999: 1-9.
- [21]. **Freezaillah C. Y.**, "Pilot plantations for quick growing industrial tree Species", Malaysian Forester 30(4), 1967: 246-252.

- [22]. **Copper J. J. W., Greenhalgh P. Smith A. E.**, "Gum naval stores: An Industrial profile of turpentine and rosin production from pine resin", Report No. G.187. Tropical Development and Research Institute, 127 Clerkenwell Road London, EC1R 5DB. Overseas Development Administration, 1984, p.40.
- [23]. **Vincent A. J., Mitchell B. A. și Sandeasegaran K.**, "Permanent sample plot information on the stocking growth, crop development attained and yield of *Pinus caribaea*, *P. Merkusii* and *P. Insularis*". in Malaya, Malaysian Forester XXVII, 1965, p. 212-222.
- [24]. \*\*\*\* Adresa nr. 6451/01.048.1999 a Regiei Naționale a Pădurilor, Direcția Silvică Miercurea Ciuc.
- [25]. \*\*\*\* Chinese Forestry YearBook, 1986-1992, Publishing House of Chinese Forestry, Beijing, 1994: 15.
- [26]. \*\*\*\* International economic and Trade news. [www.wto.org/english/res\\_e/statis\\_e/](http://www.wto.org/english/res_e/statis_e/)
- [27]. **Chen D. He Y. și Brown A. G.** (eds), Forest Chemical Industry and Products. Publishing House of Chemical Industry, Beijing, 1992: 271.
- [28]. **Coppen J. J. W. și Houe G. A.**, "Non wood forest products", FAO. ISBN 92-5-103584-5, 1995: 1-9.
- [29]. **Brown A. G, Ho G.** (eds). "Black Wattle Tree and Its Utilisation". Publishing House of Chemical Industry, Beijing, 1992: 28.
- [30]. \*\*\*\* China Statistics Yearbook, 2000: 124-150.
- [31]. \*\*\*\* Statistical Reports – SILV1, SILV3, RNP – Bucharest, 1997: 38-45
- [32]. **Olenici, N., Olenici, V.** : "Hylobius abietis - particularități biologice, ecologice și comportamentale și protecția culturilor de molid împotriva vătămărilor cauzate de acesta., Bucovina Forestiera nr. 1și 2. 1994: 23-27
- [33]. **Nenițescu C. D.** - Chimie organică, vol. II. Editura Didactică și Pedagogică, Bucuresti, 1984: 456-468.
- [34]. **Avram M.** - Chimie Organică, vol. II (ediția a II-a). Editura Zecasin București, 1995: 478-498
- [35]. **Ruzicka L.**, "The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds", Experientia, 9, 1953, p.357. CA, vol 65, 1954, 26578d (rezumat)
- [36]. **Lichtenthaler H. K.**, "Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via mevalonate independent pathway", FEBS Leth. 400, 1997: 271-274
- [37]. **Cane D. E.**, "Isoprenoid Biosynthesis. Stereochemistry of the Cyclisation of Allylic Pyrophosphates", Assoc. Chem.Res., 18, 1985: 220.
- [38]. **Martin D., Tholl D., Gershenzon J., and Bohlmann J.**, "Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway Spruce Stems1", Plant Physiology, Vol. 129, 2002: 1003-1018.
- [39]. **Zinkel D.**, "Identification of new resin acids in Southern pine oleoresins and rosin", Naval Stores Rev., 96(3), 1986, p. 123-129.
- [40]. **Coppen J., Robinson J., Mullin L.**, "Composition of xylem resin from five Mexican and Central American *Pinus* species growing in Zimbabwe", Phytochem.27 (6), 1998, p.1731-1734.
- [41]. **Song, Z., Liu X. și Liang Z.**, "Chemical composition of oleoresins from Chinese pine species for gum rosin production", Naval Stores Rev. March/April, 1993: 6-9.
- [42]. **Lange W., Weibmann G.**, "Zusammensetzung der neutralteile des balsam Kolophonums von *Pinus Sylvestris*, *Pinus migna austriaca* Endl und *Pinus Pinaster* Ait.", Holz als Roh und Werkstoff, 45, 1987 :285-288.
- [43]. **Lange W., Weibmann G.**, "Die zusammensetzung der diterpenkohlenwasserstoffe des harz balsam von *Pinus Sylvestris*, *Pinus Austriaca* Endl und *Pinus Pinaster*", Ait.Holzforchung, 43 (6), 1989:359-362.
- [44]. **Gijzen M.**, "Conifer monoterpenes: biochemistry and bark beetle chemical ecology", American Chemical Society , 1993: 8-22.
- [45]. **Song Z.**, "Development of fine chemical from Chinese gum oleoresins", Chemistry and Industry of Forest Products, 14 (1), 1994: 67-74.
- [46]. **Arrabal C., Cortijo M., Cadahia E.**, "Oleoresina de *Pinus Pinaster* en arboles plus", Rev.Acta Phytochemica 34, 2000:109-117.



- [47]. **Fengel D. și Wegener G.**, "Wood. Chemistry. Ultrastructure. Reactions", Berlin :Walter de Gruyter,1984: 324-350
- [48]. **Obst J.**, "Special (Secondary) Metabolites from Wood. In Forest Products Biotchnology". Ed.Taylor& Francis.Scotland UK,1991, p. 151-165.
- [49]. **Dev S.**, "Terpenoids" .In: Rowe, J., ed., Natural products of Wood Plant II,Berlin: Springer-Verlag, 1989 p.691- 807 .
- [50]. **Bauer K., Garbe D.**, "Common Flavour and Fragrance Materials", Verlagsgesellschaft mbH,D-6940,Weinheim, RFG,1985.
- [51]. **Broderius S., Hemmerneister D. Russem C.**, "Toxicity Of Eight Terpenes to Fathead minnows(*Pinephales promelas*). *Daphnia* (*Daphnia magna*) and Algae (*Selanosium capricornutum*)", Unpublished raport to USEPA, 1990: 23-26
- [52]. **Derfer M., Traynor J.**, "The chemistry of turpentine", Naval Stores, Editors Zinkel D. Și Russell J. Pulp Chemical Association,N.Y., 1992: 123-125
- [53]. **Wagschal K., Savage T.G., Croteau R.**, "Isotopically sensitive branching as a tool for evaluating multiple product formation by monoterpenecyclases". Tetrahedron 47, 1991: 5933-5944.
- [54]. \*\*\*\* CRC, Handbook of Chemistry and Physics,1986: 287.
- [55]. **Meylon W. W.S.K.O.W.**,Syracuse Research Corporation,1993.
- [56]. **Bagci E. și Digrak M.**, "Antimicrobial activity of essential oils from trees Turkey". J. Biol.20, 1996: 191-198.
- [57]. **Bagci E. și Digrak M.**, "Antimicrobial activity of essential oils of some *Abies* species from Turkey", Flavour Fragrance J.11,1996: 403-411.
- [58]. **Canillac N. Și Mourey A.**, "Senzitivty of disteria to silver fir and maritime pine essential oils", Sci.Aliments 14, 1996: 403-411.
- [59]. **Lis-Balchin M., Deans S.G. și Eaglesham E.**, "Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils", Flavour Fragrance J.13, 1998: 98-104.
- [60]. **Byers J.A.**, "Host tree chemistry affecting colonization in bark beetle in R.T.Corde and W.J.Bell", Chemical Ecology of Insects 2. Chapman and Hall, N.Y., 1995: 54-160.
- [61]. **Blanchette R.A.**, "Anatomical responses of xylem to enjury and invasion by fungi". J. Biol. Chemistry 267, 1992: 21784-21792.
- [62]. **Cheniclet C.**, "Effects of wounding and fungus inoculation on monoterpene producing systems of maritime pine", J. Exp. Bot. 38, 1987: 1557-1567.
- [63]. **Joulain D., Konig W.A.** "The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpenes ", E. B.-Verlag, Hamburg (1998).
- [64]. **Croteau R. B., Bohlmann; J., Jetter R., Crock J. E., Steele; Christopher L.**, "Gymnosperm nucleic acid molecules encoding sesquiterpene synthases and methods of use". U. S. Patent No. 6,265,639 July 24, 2001.
- [65]. **Barton D.H.R., P.de Mayo.**, "Recent Advances in Sesquiterpenoid Chemistry." Quarterly Review 11, 1957:189-195 .
- [66]. **Bernard-Dagan C.**, Biosynthesis of lower terpenoids: genetic and physiological controls in wood plants" in Genetic Manipulation of Wood Plants (Hanover J.W. and Keathly D.E., eds), 1988: 329-351.
- [67]. **Bohlmann J., Meyer-Gauen G., Croteau R.**, "Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis." Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 95, 1998: 4126-4133.
- [68]. **Steel C.L. și al.**, "Sesquiterpene synthases from grand fir (*Abies Grandis*) comparison of constitutive and wound-induced activities and Cdna isolation, characterization and bacterial expression of  $\delta$ -selinene synthase and  $\gamma$ -humulene synthase." J. Biol. Chem., 273, 1998: 2078-2080
- [69]. **Croteau R., Davis E.M.**, "Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes." Top Curr Chem 209, 2000: 53-59.
- [70]. **Benedict C.R., Alchanati I., Harvey P. J., Liu J.**, "The enzymatic formation of  $\delta$ -cadinene from farnesyl diphosphate in extracts of cotton." Phytochemistry, 39, 1995: 326.
- [71]. **Näf F., Decorzant R., Giersch W., Ohloff G. A.**, "Stereocontrolled Access to ( $\pm$ )-

- (-)- and (+)-Patchouli alkohol." *Helvetica Chimica Acta*, 64, 1981: 1387
- [72]. **Cane D.E.** Enzymatic formation of Sesquiterpenes, *Chemical Review*, 90, 1990: 1089.
- [73]. **Croteau R., Johnson M. A.**, "Biosynthesis of terpenoid wood extractives." In T Higuchi, ed. *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*, Academic Press, Orlando, FL., 1985: 379-439.
- [74]. **Raffa K.F., Berryman AA., Simasko J., Teal W., Wong BL.**, "Effect of grand fir monoterpenes on the fir engraver, *Scolytus Ventralis* (Coleoptera: Scolytidae) and its symbiotic fungus." *Environ. Entomol.* 14, 1985, p. 552-556.
- [75]. **Lewinson E., Gizjen M., Savage T.J., Croteau R.** "Defense mechanism of conifers. Relationship of monoterpene cyclase activity to anatomical specialization and oleoresin monoterpene content". *Plant Physiol.*, 96, 1991b: 38-43.
- [76]. **Lewinson E., Gizjen M., Croteau R.**, "Defense mechanism of conifers. Differences in constitutive and wood-induced monoterpene biosynthesis among species". *Plant Physiol.*, 96, 1991a: 44-49.
- [77]. **Gizjen M., Lewinson E., Croteau R.**, "Antigenic cross reactivity among the Monoterpene Cyclases from Grand Fir and Induction of these Enzymes upon Stem Wounding". *Arch. Biochem. Biophys.*, 294, 1992: 670-674.
- [78]. **Ruzika L., Frank B.**, "Polyterpene und Polyterpenoide. LXXIII. Aulla gerung von Haleinsauranhybrid au Abietinsaurer und Dextropimarsaurer." *Helv. Chim. Acta* 15, 1932, p. 1289-1294
- [79]. **Chappel J.**, "Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants". *Ann. Plant Rev. Phys. Plant. Mol. Biol.* 46, 1995: 521-547.
- [80]. **McGarvey D.J., Croteau R.**, "Terpenoid metabolism." *Plant Cell* 7, 1995: 1015-1026.
- [81]. **Gershenzon J., Kreis W.**, "Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, sterols, cardiac glycosides and steroid saponins." *Ann Plant Rev* 3, 1999: 222-229.
- [82]. **Bohlmann J., Gershenzon J., Anbourn S.**, "Biochemical molecular genetic and evolutionary aspects of defense-related terpenoid metabolism in conifers." *Rev. Acta Phytochemica* 34, 2000: 109-117.
- [83]. **Funk C. și Croteau R.**, "Diterpenoid resin acids biosynthesis in conifers: characterization of two cytochrome P450-dependent monooxygenases and an aldehyde dehydrogenase involved in abietic acid biosynthesis." *ARCH. Biochem. Biophys.*, 308, 1994: 258-266.
- [84]. **LaFever R. E., Stofer V. B., Croteau R.**, "Diterpenoid resin acid Biosynthesis in conifers: enzymatic cyclisation of GGP to abietadiene, the precursor of abietic acid". *Arch. Biochem. Biophys.*, 313, 1994: 139-149
- [85]. **Hodges J.D. și al.**, "Oleoresin characteristics and susceptibility of four southern pines to southern pine beetle (Coleoptera Scolytidae) attacks". *Canadian Entomology Journal* 111, 1979: 889-896.
- [86]. **Ehmer E., Palkim F.**, "Content of 1-pimaric acid in pine oleoresin," *Anal. Ed. Nr. 14*, 1942: 146-147.
- [87]. **Sandermann W.**, "Crystallization of resins, Its causes disadvantages and prevention," *Fette and Seifen*, 50, 1943: 273-278.
- [88]. **Liss G.E.** Microbiology and biodegradation of resin acids in pulp mill Effluents: a minireview. *Can. J. Microbiol.*, 75, 1997: 1401-1405.
- [89]. **Liss G.E.** "Microbiology and biodegradation of resin acids in pulp mill effluents": a minireview. *Can. J. Microbiol.* 75, 1997: 599-611.
- [90]. **Chambell W.P.** "Haloderivates of dehydroabietic acid". *J. Chem. Phys.* Vol. 9, 1941: 341-351.
- [91]. **Van den Berg K.J., Pastorova I., Spetter L., Boon J.J.** "State of oxidation of diterpenoid Pinaceae resins in varnish, wax lining material, eighteenth century resin oil paint, and a recent copper resinat glaze". *Proceedings of the 11<sup>th</sup> Triennial Meeting of ICOM Committee for Conservation*, ed. by J. Bridgland, 1996: 930-937
- [92]. **Thoms B. R.**, "Biodegradation of resin acids in pulp and paper mill effluents". Literature review. *Environmental Microbiology* ESE 550, 2000, 13 pagini.

- [93]. **Peng G. și Robert J.C.**, "Solubility and toxicity of resin acids". *Water Research*, 34:10, 2000: 2779- 2785.
- [94]. **Werker A.G. și Hall E.R.**, "Limitations for the biological removal of resin acids from pulp mill effluent". *Wat. Sci. Tech.* 40 (11-12), 1999: 281-288.
- [95]. **Kutney J.P., Singh M., Hewitt G.**, "Studies related to biological detoxification of kraft pulp mill effluent .III. The biodegradation of abietic acid with *Mortierella isabellina*". *Helvetica Chimica Acta.* 65(3), 1982: 661-667.
- [96]. **Morgan C.A., și Wyndam R.C.**, "Isolation and characterization of resin acid degrading bacteria found in effluent from bleached kraft pulp mill". *Can.J.Microbiol.*42, 1996: 423-430.
- [97]. **Rintala J. and Lipesto R.**, "Thermophilic anaerobic-aerobic treatment of kraft bleaching effluents". *Wat. Sci. Tech.* 28 (2), 1993: 11-16.
- [98]. **Mohn W.W., Yu Z.**, "Isolation and characterization of thermophilic Bacteria capable of degrading dehydroabietic acid", *Can.J.Microbiol.*,45, 1999: 513-519.
- [99]. **Mohn W.W. și al.**, "Biochemistry and ecology of resin acid biodegradation in pulp and paper mill effluent treatment systems". *Wat. Sci.Tech.* 40 (11-12),1999: 273-280.
- [100]. **Hodges A.W.,Johnson J.D.**, "Chemicals and biofuels from pine oleoresin". *Southern Journal of Applied Forestry*,21(3), 1997: 108-111
- [101]. **Kirk R.E., Othmer D.F.**, *Encyclopedia of Chemical Technology*, ediția a 2-a (15 volume), Interscience, New York, 1983: 1234.
- [102]. **Fiessa F., Campbell W.P.**, "Concerning dehydroabietic acid and the structure of Pine resins acids", *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 60, 1938: 159-169.
- [103]. **Zinkel D. și Russell J.**, *Naval Stores: Production, chemistry, utilization*, Pine Chemicals Association, Atlanta, GA, 1989: 234.
- [104]. **Imamura H.**, "Contributions of extractives to wood characteristics. In: Rowe, J., ed., *Natural products of Wood Plant II*", Berlin: Springer-Verlag, 1989: 843- 860.
- [105]. **Harris P.**, "Concerning abietic acid and its derivates", *J. Am. Chem. Soc.* vol 56, 1934: 1935-1938.
- [106]. **Krishnamurty T., Juyal S. P., și Updahaya L. P.**, "A review of some investigations on pines for their oleoresin (review of tapping methods used worldwide" In: Seminar on the Role of Pine Resin in the Economic and Industrial Development of India, New Delhi, 1971: 1-35.
- [107]. \*\*\*\* Harcourt AP Dictionary of Science and Technology, [http:// www.harcourt.com](http://www.harcourt.com).
- [108]. **McConnel N.C.**, *Operating Instructions for Olustee Process for Cleaning and Steam Distillation of Pine Gum*. USDA publication ARS-687,1963: 452-254.
- [109]. **Bown D.**, *Encyclopedia of herbs and their uses*. N.Y.:DK Publishing, Inc, 1995, p 329
- [110]. **Clayton G., Clayton F.** *Patty's industrial hygiene and toxicology* 3<sup>rd</sup> revised edition,N.Y.: John Willy& Sons 1981: 3245
- [111]. **Smock G.A.**, *Handbook for pulp and paper technologists* 2<sup>nd</sup> edition. Vancouver: Angus Wilde Publications , 1992, p. 43-44.
- [112]. **Ekman R., Holmbom B.**, *The wood extractives in alkaline peroxide bleaching of groundwood from Norway spruce.Nordic*, *Pulp Paper Res.J.* 4,1989: 181-191
- [113]. **Mc Sweeney E. E., Arlt Jr. H. G., Russell J.**, *Tall oil and its uses (II)*. N.Y.: Pulp Chemical Association, Inc. 1987: 40-41.
- [114]. **Bruun H. H.**, Die Reinigung der Abietinsäure aus Kolophonium und die Darstellungeneinerger ihrer Derivate, *Finska Kemistsau, flindets. Medd.* 63, 1954, p.22-41
- [115]. \*\*\*\* China pine chemicals and aromatic chemicals supplier, <http://www.pinechemicals.biz>
- [116]. **Pavlyachenko M. M., Akulovich V. M., Bulyopo N. N.**,- "Products of oxidation of resin acids", *Zhur. Obschei Kim.*, 25, 1955: 914-918.
- [117]. **Pastorova I. Van den Berg K.J.,Boon J.J., Verhoeven J.W.**, "Analysis of oxidised diterpenoid acids using thermally assisted methylation with TMAH". *J.of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 43, 1997: 41-57.
- [118]. \*\*\*\* Rosin, *The Columbia Encyclopedia*, Sixth Edition. Copyright © 2001Columbia

- University Press. [www.bartleby.com](http://www.bartleby.com).
- [119]. \*\*\*\* Active Standards for rosin and turpentine under the jurisdiction of subcommittee D 31, <http://www.astm.org/commit/subcommit/D3.htm>
- [120]. Wherry R.W., "Other uses of rosin", Zinkel D.F., Russell J. (eds): Naval stores: production chemistry utilisation. N.Y.: Pulp Chemical Association, 1989, p.707-708.
- [121]. Lawrence R. V., "Processing pine gum into turpentine and rosin". In: Naval Stores. Production. Chemistry. Utilization. Editors Zinkel D. și Russell J. Pulp Chemical Association, N.Y., 1989: 123-142.
- [122]. Greenhalgh P., "The Production Marketing and Utilization of Naval Stores." Report of the Tropical Products Institute, 1982 p.170.
- [123]. \*\*\*\* Disproportionated Rosin. Huaiji Forest Products Chemical Co., Ltd, [www.HJFP.com](http://www.HJFP.com).
- [124]. Isutsui M., "Japanesse pine resins. Addition of abietic acid and levopimaric acid with maleic anhydride", J. Chem. Soc. Japan, Pure Chem. Sect., vol.72, 1951: 10-12
- [125]. Hoffmeister D., Berger K., - "Tall oil IV Additives from tall oil rosin", Plaste Kautschuk, vol. 31(1), 1984, p. 60-63
- [126]. \*\*\*\* Pottasium soap of disproportionated rosin, Wuzhou Pine Chemical Ltd. <http://www.wuzhouwahson.com/>
- [127]. \*\*\*\* Rosin glycerin ester, Zhang Jiagong City Yangguang Chemical Co. Ltd., [www.chinachemnet.com/yangguang/product-e.html](http://www.chinachemnet.com/yangguang/product-e.html)
- [128]. Ehrin E., Karlberg A.T., "Detection of rosin (colophony) components in technical products using an HPLC technique". Contact Dermatitis, 23, 1990, p.359-366.
- [129]. Fisher A. A. "Contact allergen alternatives" J. Am. Acad. Dermatol. 14, 1986:952-954
- [130]. \*\*\*\* EPA. 2000. Data Collection and Development on High Production Volume (HPV) Chemicals. Fed. Reg. Dec. 26, 2001 Vol. 65(248) 2001: 81686-81698.
- [131]. Nielsen N. H. și Menne T., "Allergic contact sensitization in an unselected Danish population", Acta Derm. Venereol. (Stockholm) 72, 1992:456-460.
- [132]. Widstrom L. "Contact allergy to colophony in soldering flux". Contact Dermatitis:9 1983: 295-301.
- [133]. Goh C.L., Ng. S.K., "Airborne contact dermatitis to colophony in soldering flux". Contact Dermatitis 1987:17: 89-91.
- [134]. Pryce D. W., White J., "Soluble oil dermatitis": A review. J. Soc. Occup. Med. 39, 1989: 93-98.
- [135]. Taylor J. S., "Adhesives, gum, and resins", In: Fisher A., (ed): Contact dermatitis, 3<sup>rd</sup> edition Philadelphia: Lea & Febiger, 1986, p.661.
- [136]. Maibach H. I., Engasser P.G., "Dermatitis due to cosmetics", In Fisher A. Ed. Contact Dermatitis 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia, 1989: 378-379.
- [137]. Sadhra S., Foulds I.S., "Allergenic potential of neutrals in unmodified colophony, and a method for their separation from resin acids". Br. J. Dermatol. 132, 1995: 69-73.
- [138]. Gafvert E., Bordalo O., Karlberg A-T., "Patch testing with allergens from modified rosin (colophony) discloses additional cases of contact allergy". Contact Dermatitis, 35, 1996: 290-298.
- [139]. Karlberg A-T and Gafvert E., "Isolated colophony allergens as screening substances for contact allergy". Contact Dermatitis, 35, 1996: 201-207.
- [140]. Andersson K. E., Burrows D., Allergens from the standard series. In 'Textbook of Contact Dermatitis', Springer-Verlag, Berlin, 1992: 415-417.
- [141]. Hausen B. M., Kreuger A., Mohnert J., "Contact allergy due to colophony (III). Sensitizing potency of resin acids and some related products". Contact Dermatitis, 20, 1989: 41-50.
- [142]. Khan L., Saeed M. A., "13 $\beta$ , 14 $\beta$ - Dihydroxy-13 $\alpha$ -isopropylabietic acid, an elicitor of contact allergy". J. Pharm. Sciences: 83, 1994: 901-910.
- [143]. Karlberg A-T, Bohlinger K., Boman A. și al., "Identification of 15-Hydroperoxyabietic acid as contact allergen in Portuguese colophony" J. Pharm. Pharmacol., 1988:40:42-47.

- [144]. **Karberg A-T, Boman A., Nilsson J.L.G.**, "Hydrogenation reduces the allergenicity of colophony (rosin)". *Contact Dermatitis*, 19, 1988: 22-29.
- [145]. **Karberg A-T, Gafvert E., Hagelthorn G., Nilsson J.L.G.**, "Maleopimaric acid - a potent sensitizer in modified rosin". *Contact Dermatitis*, 22, 1990: 193-201.
- [146]. **Gafvert E., Shao. L.P., Karlberg A-T, Nilsson U., Nilsson J.L.G.**, "The allergenicity of rosin (colophony) esters (II). Glycerylmonoabietate identified as contact allergen". *Contact Dermatitis*, 31, 1994: 11-17.
- [147]. **Karlberg A-T, Boman A. Hacksel U., Jacobsson S.**, "Contact Allergy to dehydroabietic acid derivatives isolated from Portuguese colophony". *Contact Dermatitis*, 19, 1988: 166-174.
- [148]. **Brus G., Marten G.**, "Determination of the degree of neesaturation of resin acids and products therefore", *Congr. Tech. intern, ind. Peintures ind. assoc.*, vol. 1, 1977: 317-320. CA vol. 88, 1338h (rezumat)
- [149]. **Levy P.**, "Zurkemtns des Amerikanischens Colophoniums", *Berliner Berichte*, vol.40, 1938, p.3658-3660.
- [150]. **Buchbauer G., Kolbe R.**, "Abietic acid, starting material for natural product synthesis", *Sci. Pharm.* 53, 1985: 173-176.
- [151]. **Dupont G.H.**, "Überführung von Harzen in krystallisierte Produkte", *Ind. Eng.-Chem. Ind.*, Ed.32. Detroit, Mich. Ruchhold. Chem. Inc. 1940: 273-279, CZB I, 1946, p.1250.
- [152]. **Kesler C.C., Lowy A.**, "Die Reinigung der Abietinsäure aus Kolophonium und die Darstellung einiger ihrer Derivate. *Ber. Dtsch- Chem, Ges* 36, 4200, C 1944: 288.
- [153]. **Lawler B., Ballow K.**, "Purification of l- abietic acid with l- bornylamine", *Can. J. Chem.*, 62 (12), 1984: 2822-2829, C.A. vol 102, no.5, 1985, 46161f
- [154]. **Le-Van Toi**, "Raman Spectra of resin acids and their derivatives". *Peintures, pigments and Vernish* 29, 1953:125-131.
- [155]. \*\*\*\* FDM FTIR Spectra of organic compounds, FDM Electronic Handbook, [www.fdmspectra.com](http://www.fdmspectra.com)
- [156]. **Haslinger E., Kalchhauser H., Robien W., Steindl H.**, "2D-NMR of Natural Products, Part 5. Structure Elucidation and Complete 1H- and 13C-Assignment of Resin Acid". *Derivatives Monatsh. Chem.* 115, 1984: 597-603.
- [157]. **Martin G. E., Crouch R. C.**, "Inversed-Detected Two-Dimensional NMR Methods: Applications in Natural Products Chemistry", *Journal of Natural Products*, 54, 1991: 1- 17.
- [158]. **Villalain J.**, "Location of toxic molecule abietic acid in model membranes by MAS-NMR". *Biochimica and Biophysica Acta* 1328, 1997: 281-289.
- [159]. **Van den Berg K.J., Boon J.J., Pastorova I.**, "Mass spectrometric methodology for the analysis of highly oxidized diterpenoid acids in Old Master paintings" *J. of Mass Spectrometry* 35(4) 2000: 512-533
- [160]. **Presser A., Haslinger E., Weis R.**, "Synthetic transformation of abietic acid IV. B- and C- ring oxidation", *Monatsh. Chem.* 129, 1998: 921-930.
- [161]. **Hashimoto, N., Aoyama, T., Shioiri, T.**, "New methods and reagents in organic synthesis. 14. A simple efficient preparation of methyl esters with trimethylsilyldiazomethane (TMSCHN<sub>2</sub>) and its application to gas chromatographic analysis of fatty acids", *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 29, 1981 :1475.
- [162]. **McGinnis Th.P.**, "Quantitative determination of fatty and resin acids in Kraft black liquors as their Trimethylsilyl derivatives by gas chromatography". *J. of Chromatography A*, 829, 1998: 235-249.
- [163]. **Mayr M.**, "Gaschromatographische und massenspektrometrische Untersuchungen von Harzsäuren und Diterpenoide des Tallols, sowie von modifizierten Diterpensäuren." Thesis University of Viena ,1984.
- [164]. **Luong J.H.T., Rigby T., Male K.B., Bouvrette P.**, "Derivatisation of resin acids with a fluorescent label for cyclodextrin-modified electrophoretic separation". *J.of Chromatography A* 849, 1999: 255-265.
- [165]. **Petit-Dominguez M.D. și Maganto J.M.**, "MCF fast derivatization procedure for the identification of resinous deposit components from the inner walls of roman age amphorae by GC-MS". *Talanta* 51, 2000, p.727-734.

- [166]. **Williams C.M. și Mander L.N.**, "Chromatography with silver nitrate". *Tetrahedron*, 57, 2000, p. 425-447
- [167]. **Cunningham A.F., Furneaux G.C., Hillmand D.E.**, "Determination of rosin in shellac by high performance liquid chromatography and gel permeation chromatography". *Analytical Chemistry* 48, 1976:2192-2194.
- [168]. **McMartin D.W., Peru K., Headley J.**, "Evaluation of liquid chromatography-negative ion electrospray mass spectrometry for the determination of selected resin acids in river water". *J. of Chromatography A*, 952, 2002: 289-293
- [169]. **Willard H. H., Merritt L. L. Dean, J., A.** Instrumental methods of analysis, Wadworth Publishing Company, Belmont, Ca 1988: 234-238.
- [170]. **Chow S. Z. și Shepard D.**, "High performance liquid chromatographic determination of resin acids in pulp mill effluent". *Tappi J.* 79(10), 1996: 173-179
- [171]. **Van den Berg K.J., Van der Horst J., Boon J. J.**, "Mass spectrometry as a tool to study processes of diterpenoid resins in work of art : GC and LC-MS studies" *Advances in Mass Spectrometry* , vol.14, Ed. By Karjalainen E.J. și al, Proceedings of the International Mass Spectrometry Conference , Tampere Finland , 1997: 563-573
- [172]. **Boon, J. J., și Van Och, J.**, "A mass spectrometric study of the effect of varnish removal from a 19<sup>th</sup> century solvent-sensitive wax oil painting" in ICOM-CC 11<sup>th</sup> triennial meeting, Edinburgh , 1996: 197-205.
- [173]. **Boon, J. J., Pureveen, J., Rainford, D., și Townsend, J. H.**, "The opening of the Wallhalla. 1842: studies on the molecular signature of Turner's paint by direct temperature-resolved mass spectrometry (DTMS)" in Turner's painting technique in context 1995, ed. J.H. Townsend, UKIC, London,1995 35-45
- [174]. **Dupont G. H. și Lafon P.F.**, "Beitrag zur Kenntnis der krystallisierten Salze der Abietinsäure" I, *CZB. I*, 1946: 3226.
- [175]. **Ellingson E. O.**, "Abietinsäure und einige ihrer Salze", *J. Am. Chem. Soc.* Vol.57, 1944: 325-335
- [176]. **George E., Wilmengton A.**, "Herstellung von Sulfonylierten Abietinsäureestern, die den Sulfonylrest im Alkoholrest des Esters enthalten, durch Umsetzung von abietinsäuren Na oder von Abietinsäurechlorid", *Helv. Chim. Acta.* Vol. 45, 1952: 1289-1294
- [177]. **Hoganei. R.**, "Messungen der Oberflächenspannung von Lösungen der Kalium und Natriumsalze", *Helv. Chim. Acta.* Vol.164, 1981, p.321-331
- [178]. \*\*\*\* Resinas Sinteticas Resicol, "Sodium resinate for paper sizing", [www.resinas.com](http://www.resinas.com)
- [179]. **Hubbe M.**, "Rosin soap sizing agent"s, *Wood and Paper Science*, NC State University, October 2000 [m\\_hubbe@ncsu.edu](mailto:hubbe@ncsu.edu)
- [180]. **Constant D., Wulff C.**, "Abietic acid derivatives and their use as emulsifiers-pretreatment with base; removal by extraction or steam distillation", *US Pat.* 5456861, 1995, 10/10. [www.chemweb.com/IFI CLAIMS\(r\)/Patent Service.htm](http://www.chemweb.com/IFI CLAIMS(r)/Patent Service.htm)
- [181]. **Davis C.B.**, "Rosin soaps as polymerization emulsifiers". In : Zinkel D.F., Russel J. (eds): *Naval stores: production chemistry utilisation*. N.Y.: Pulp and Chemical Association, 1989: 625-642.
- [182]. **Strom G., Stenius P., Lindstrom M.**, "Surface chemical aspects of the behaviour of soaps in pulp washing", *Mord. Pulp Pap. Res. J.*, 5 (1), 1990: 44- 49.
- [183]. **Palonen H., Stenius P., Strom G.**, "Surfactant behaviour of wood rosin components: solubility of rosin and fatty acid soaps in water and in salt solutions , *Svensk Papperstid.*", 85(12), 1989: 93-99.
- [184]. **Servizi J.A., Martens D.W., Kutney J.P.**, "Microbiological detoxification of resin acids", *Water Poll. Res. J. Canada* 21(1), 1986: 119-126
- [185]. **Lorenz R.**, "DaB Gibbschetheorem der Oberflächenspannung Angewandt auf Natriumabietinatlösung", *C.Z.B, III*, 1943, p.966-967 (Rezumat)
- [186]. **Varma R.P., Goel H.**, "Conductance behavior of lithium soaps in aqueous methanol" *J.of Surfactants and detergents*, 3(4), 2000: 527-532. ([www.chemweb.com/ Compendex Chemistry](http://www.chemweb.com/ Compendex Chemistry)).
- [187]. **Varma R.P., Kumar U., Sangal P** Characterisation of sodium abietate and their

- refractive index studies in methanol.* Asian J. of Chemistry 12(3) 2000: 659-662 (www.chemweb.com/ Compendex Chemistry).
- [188]. \*\*\*\* Zhejiang Taiz hou Biological Agrochemistry Factory, "Sodium resinate (Rongsha Jieman) specializing in eradicating Orchard Pest," Guangzhou CCM Chemicals Co., www.cnchemicals.com
- [189]. Lindner Ch. "Abietic acid derivates with amines and their use as emulsifiers," Pt. 54684516, 1996/3/13, Bayer Aktiengesellschaft, Cologne Germany, www.Chemweb.com/IFI CLAIMS(r) /Patent Service.htm
- [190]. Kein G. I. "Hydroabietyl-and dehydroabietyl amino componnds," U.S. Pat.2,686, 776, Aug. 17,1984.
- [191]. Kein G. I. "Hydroabietyl-and dehydroabietyl amino compounds," U.S.Pat.,4889795 1989/12/23, www.Chemweb.com/IFI CLAIMS(r) /Patent Service.htm
- [192]. Hasselstom T., Mc Pherson J. D. - "The d-abietic converssion in l-abietic acid.", J. Am. Chem Soc. Vol.61, 1939, p.2247-2248.
- [193]. Coak E. W., Hoss Ph. H. "Aliphatic amino propyl quaternary ammonium salts," U.S. Pat. 2, 589,674, Martie 18,1952.
- [194]. Johnson J.M., Mark F. "Amido-amino-amine soaps of abietic acid, surface active agents", U.S. Pat.2,514, 954, Iul. 11,1950.
- [195]. Pratt Y. T. - "Derivates of dehidroabietic acid with amines as ionic surfactants", J. Am. Chem. Soc. vol 60, 1951: 3803-3807
- [196]. Petit-Boido M.D. "The preparation of some alchyl (Et,izo-Pr, Bu, Amil, Hexametil)amino- abietates", Peintures, pigments and varnishes, vol.23, 1947: 168-170.
- [197]. Ryoichi F.R., "Preparation of abietylamines salts as fungistatic substances," P.US. 557564210,1988/05/12.  
w.w.w.. Chemweb.com/IFICLAIMS(r) /Patent Service.htm.
- [198]. Fiero G.W., "Salze von Triäthanolamin. Bei den Salzen des Triäthanolamins mit gesätt. Fettsauren", J. Am. Pharmac. Ass. Vol.127, 1988: 658-60.
- [199]. Kogonei R., "Über die aus kephalinerhaltenen Fettsäuren. Verbindungen von  $\beta$ -Aminoäthylalkohol mit gesäthigten und ungesäthigten Fettsäuren." J. Prakt. Chem. Vol.130/4, 1982: 331-339
- [200]. Belov N., Kuskova S. D. "Some transformation of abietic acid amino salts," Zhur Obsckei Kim., Nr.24,1954: 1087-1094. CA vol. 49, 1955, 13168f, rezumat).
- [201]. Kats J., "Capillaraktive Mittel. Fettsäuren verdem mit Isoalkylolaminen ungesetzt u. Dann die sek". A.P. 2216 618 vom 10/8, 1939, amsg. 1/10, 1940.
- [202]. Green C.L.,Keeble, B. și Burly J., "Further gum turpentine analyssis of some P. Oocarpa, P. Caribaea, P. Kesiya provenances."Tropical Siencie,17,1994: 165-174.
- [203]. Hyung-Joe L., Ravn M. M., Coates R.M., "Synthesis and characterization of abietadiene, levopimaradiene, palustradiene and neoabietadiene: hydrocarbon precursors of the abietane diterpene resin acids". Tetrahedron, 57, 2001: 6155-6167.
- [204]. Savage J., Croteau R., "Conifer oleoresin: biochemistry and bark beetle chemical ecology". J. Biol. Chem., 269, 1994: 4012.
- [205]. Mahmaud M. "Antibiotic properties of l- abietic acid and its abietyl compounds," Quart. J. Crude Drug Res. 10 (3), 1970:1601-1607. CA vol.75, 15721 h.
- [206]. Gubrynowicz O. "Contemporary possibilities of making use of terpenoid compounds of Pinus trees for synthesis of derivates with expected pharmacological action", Farmacol. Pol., 44 (4),1988: 209-213. CA vol.111, 170652 o.
- [207]. Radu F., Jianu I., Filimon M. "Researches proving the obtaining and properties of sodium and potassium abietates," Lucrări Stiințifice USAMVB Timișoara, 1-3 iunie, 1995:79-83.
- [208]. Radu F., Gergen I. "Sodium and potassium abietates- ingredients in cosmetic and pharmaceutical products", Acta Phytotherapica Romanica, VI (1-2), 2000: 91-94.
- [209]. Radu F., Georgescu L., Berbentea F. "Studiu privind obținerea și caracterizarea biologică a abietaților de sodiu și potasiu", 'Cercetări științifice, procese și tehnologii agroalimentare, Ed. Eurostampa Timișoara, 2000: 45-51.
- [210]. Radu F., Jianu I., "Researchs concerning the termodinamic of ion-exchange process of sodium acid abietate salt during the removal of some transitional metals,

- from residual waters*". Innovacio, a tudomány és a gyakorlat egysége az ezredforduló agráriumban, Debrecen, 11-12.04.2002 : 107-113.
- [211]. **Radu F., Jianu I.**, "Researchs concerning the kinetic of ion-exchange process of sodium acid abietate salt during the removal of transitional metals. from residual waters. Macro and trace elements-" The biological essentiality of macro and trace elements, Jena, 2002, 246-252.
- [212]. **Radu F., Jianu I.**, "Researches regarding the obtaining of the abietic acid salts with mono-, di, tri-ethanolamines, agents with tensioactive properties used in cosmetics and pharmaceutic industry", 'Zilele Academice Timișene', Ed. A-VI-a , 27-28 mai, Ed. Mirton, Timișoara, 1999: 191-198.
- [213]. **Radu F., Jianu I., Georgescu L.** " Obtaining of some condensates of abietic acid .Preliminary studies", Scientifical Researches USAMVB Timișoara, ed. Agroprint Timișoara, 1999: 85-90.
- [214]. **Becker H. și al.** "Organicum, chimie organică preparativă," Edit. Științifică și Enciclopedică București, 1982: 100-101.
- [215]. \*\*\*\* Test methods manual, 'Rosin Flux residue analysis—HPLC Method', IPC-TM-650. The Institute for Interconnecting and Packaging Electronic Circuits, Northbrook, IL,USA, 1995.
- [216]. **Sandermann W.** "A rapid method for the determination of free acidity and saponification index of some resin acids in paints varnishes", Farben, Lacke,Anstrichstoffen, 1950: 449-452.(CA vol. 45, 1951, 3168c, rezumat)
- [217]. \*\*\*\* Culegere de standarde și norme interne. "Coloranți organici. Produse ajutătoare. Detergenți," MIPC-ILA, 1965, București
- [218]. **Mândru I., Ceacăreanu D.M.**, "Chimia colorizilor și suprafețelor. Metode experimentale", Ed. Tehnică, București, 1976: 393-394.
- [219]. **Huang X., Yang J. și al.**, "Determination of the critical micelle concentration (CMC) of anionic surfactants by conductivity measurements", J. of Chem. Education, vol.76 (1), 1999: 93-94
- [220]. **Nakamura H., Sano A. Matsuura K.**, "Determination of critical micellar concentration of anionic surfactants by capillary electrophoresis using 2-Naphthalenmethanol as marker for micelle formation", Analytical science, 14, 1998: 379-383.
- [221]. **Radu F., Gergen I.**, " Critical micellar concentration determination of ammonium salts of abietic acid with ethanolamine by conductometric measurements ", Annals of West University of Timișoara, Series Chemistry,12, (1), 2003, p. 17-21.
- [222]. \*\*\*\* National Committee for Clinical Laboratory Standards. "Performance standards for antimicrobial disk diffusion method for susceptibility tests." Seventh ed. Approved Standard. M2-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne Pennsylvania, 1997
- [223]. **Hindler J.A., Thrupp L.D.**, "Interpretive Guidelines for Antimicrobial Susceptibility Test Results : What Do They Mean?". Clin. Microbiol. Newslet, 17, 1989: 129-136.
- [224]. **Sherris J.**, "Antimicrobial Susceptibility Testing. A Personal Perspective", Clin. Lab. Med.,9 (2),1989: 191-202
- [225]. **Booth C.**, "Methods in Microbiology", vol.4, Academic Press, London, 1975: 795-798.
- [226]. **Cruickshank R.**, "Medical Microbiological. A Guide to the Lab. Diagnosis and Control of Infection", E&S Livingstone Ltd, Edingburgh, 1965: 852.
- [227]. **Ritchie B.J.**, "Micolological media and methods". Plant Pathologist's Pocketbook, eds. J.M.Waller, J.M.Lenne, S.J. Waller, 2000: 413-420.
- [228]. **Trif R., Grozav S.**, "Microbiologie generală, îndrumător de lucrări practice", litografia Institutului Agronomic Timișoara, Timișoara, 1990: 107-117.
- [229]. \*\*\*\* European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). "Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution", EUCAST Definitive Document E.Def. 3.1, Clin Microbiology and Infection, vol. 6(9), 2000: 510-515.
- [230]. **Olsson-Liljequist B., Larsson P., Walder M.**, "Antimicrobial Susceptibility Testing



- in Sweden III. Methodology for susceptibility testing.* Scand. Infect. Dis., nr. 103, 1997: 23-30.
- [231]. Cruickshank R., "Handbook of bacteriology", E&S Livingstone Ltd, Edinburgh, 1960: 281-285.
- [232]. \*\*\*\* OECD Guideline for the testing of chemicals 301B: "Ready biodegradability- CO<sub>2</sub> evolution (modified Sturm test)", (original version, adopted in May, 1981). Paris.
- [233]. Sturm R. N., "Biodegradability of ionic surfactants : screening test for predicting rate and ultimate biodegradation". J. Am. Oil Chem. Soc., 50, 1973: 159-167.
- [234]. Hallaksela A-M., Salkinoja M., "Bacteria inhabiting artificially inoculated xylem of *Picea abies*", Scand.J. For. Res. 7, 1992: 165-170
- [235]. Mohn W.W., Wilson AE., Bicho P., "Physiological and phylogenetic diversity of bacteria growing on resin acids", System. Appl. Microbiol., 22, 1999: 68-71
- [236]. Larson R. J., Hansmann M. A., și Bookland E., "Carbon dioxide recovery in ready biodegradability- tests: mass transfer and kinetics constants", Chemosphere, 33, 1996: 1195-1200.
- [237]. \*\*\*\* US EPA Fate, transport and transformation Test Guideline. 835.3110. Carbon dioxide evolution test. Office, Prevention Pesticide and Toxic Substance , Washington, DC, 1996.
- [238]. Weytjens D., Van Ginneken I., "The recovery of carbon dioxide in the Sturm test for ready biodegradability", Chemosphere, 28, 1994: 801-812.
- [239]. Larson R. J., "Estimation of biodegradation potential of xenobiotic organic chemicals". Appl. Env. Microbiol., 38, 1979: 1153-1160.
- [240]. Madsen, T., "Biodegradation of tall oil rosin". GLP Study No. 308067/471. Water Quality Institute, Horsholm, Denmark, 1993: 23-39
- [241]. Eldib, I.A., "Biodegradability evaluation of rosin, and sodium salt". Eldib Engineering and Research, Newark, N.J., 1985: 154-156.
- [242]. \*\*\*\* ISO 7875/1 International Organisation for Standardisation. Determination of surfactants Part 1: "Determination of anionic surfactants by the methylene blue spectrometric method".
- [243]. \*\*\*\* HMSO Analysis of surfactants in water, wastewater, and sludges. Methods for the examination of waters and associated materials, Her Majesty's Stationery Office, London, 1981, ISBN0 11 751605 8.
- [244]. Lombart R., Ebelin J., "The hydrogenation of the resin acids of pine gum II". Bull. Soc. Chim. France, 1953: 930-936
- [245]. Wenbert E., Jackson B.G., "Partial degradation and reconstitution of podocarpic acid", J. Am.Chem. Soc.,80, 1958: 217-220.
- [246]. Matsuya Y. și Matsuya S., "Effect of abietic acid and poly(methylmethacrylate) on the dissolution process of zinc-oxide-eugenol cement". Biomaterials, vol.15(4), 1994, p.307-314.
- [247]. Gref. R., "Gas chromatographic analysis of underivatized resin acids." J. Chromatography 1988: 448:428-432.
- [248]. Seracu D., "Îndreptar de chimie analitică", Edit. Tehnică, București 1989: 111.
- [249]. Griesser F., "Surfactants and micelles", Marcel Dekker INC., N.Y. 10016, 1994:196-200.
- [250]. Shah D.O., "Micelles, microemulsions and monolayers", Science and Technology, Marcel Dekker Inc., N.Y. 10016, 1995: 3-11
- [251]. Patist A., Oh S.G., Leung R., "Kinetics of micellization: its significance to technological processes, Surfaces and Colloids A, 176, 2001:3-16.
- [252]. Nogueira J.M.F., Castanho A.R.B., "Crude tall-oil sodium salts micellization in aqueous solutions studied by static and dynamic light scattering", Surfaces and Colloids A, 191, 2001: 263-268.
- [253]. Huibers P.D., "Surfactant self-assembly, kinetics and thermodynamics in micellar and microemulsion systems, Ph. D. Thesis, 1996 : 124-128, [huibers@mit.edu](mailto:huibers@mit.edu).
- [254]. Oh S. G., Jobalia M., "Some physicochemical properties of colloidal surfactants", J.Colloid Interface Sci. 156, 1993: 511-516.

- [255]. **Oh S. G., Shah D.O.**, "*Chemistry, physics and applications of surface active surfactants*", *Langmuir* 8, 1992: 1232-1237.
- [256]. **Rosen M. J.** "*Surfactants and interfacial phenomena*", 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley & Sons, N.Y., 1989: 286-294.
- [257]. **Velikov K. P., Velev O. D. Marinova K.G.** "*Effect of the surfactant concentration on the kinetic stability of thin foam and emulsions films*", *J. Chem.Soc., Faraday Trans.* 93(11), 1997: 2069-2075.
- [258]. **Kim Y.H, Koczko K., Wasan D. T.**, "*Dynamic Film and Interfacial Tensions in Emulsion and Foam Systems*", *J. Colloid Interface Sci.*, 187, 1997:29-44.
- [259]. **Danov K., Velev O., Ivanov I.** "*Bancroft rule and hydrodynamic stability of thin films and emulsions*", *Book of Presentations of I World Congress on Emulsions, Paris, 1-21, 125 1993.*
- [260]. **Aderangi N.**, "*Coalescence of single drops at a liquid-liquid interface in the presence of surfactants/ polymers*". *Chem. Eng. Communications J.*, Vol. 132, 1995 : 207-222.
- [261]. **Camarda K. V., Bonnell B. W., Maranas C. D.**, "*Design of surfactant solutions with optimal target properties*", *Ind. Eng. Chem. Res.* 34, 1995: 4150.
- [262]. **Lupea A. X., Radu F., Gergen I.** "*Abietic acid ammonium salts, biodegradable surface-active agents, with antimicrobial activity*", *Revista de Chimie*, 54, f.11, 2003: 942-948.