2012

Darko H. Anđelković

Interakcija i specijacija hroma u model sistemima zemljišta i O-, N- i S-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla

– DOKTORSKA DISERTACIJA –

Univerzitet u Nišu
Prirodno-matematički fakultet
Departman Hemija

U N I V E R Z I T E T U N I Š U

PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

DEPARTMAN HEMIJA

Darko H. Anđelković

Interakcija i specijacija hroma u model sistemima zemljišta i O-, N- i S-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2012

	ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ **НИШ**
	КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број, **РБР**:	
Идентификациони број, **ИБР**:	
Тип документације, **ТД**:	монографска
Тип записа, **ТЗ**:	текстуални/графички
Врста рада, **ВР**:	докторска дисертација
Аутор, **АУ**:	Дарко Х. Анђелковић
Ментор, **МН**:	др Ружица Николић
Наслов рада, **НР**:	Интеракција и специјација хрома у модел системима земљишта и O-, N- и S-донор лиганада природног и антропогеног порекла
Језик публикације, **ЈП**:	српски
Језик извода, **ЈИ**:	српски и енглески
Земља публиковања, **ЗП**:	Србија
Уже географско подручје, **УГП**:	Србија
Година, **ГО**:	2012
Издавач, **ИЗ**:	ауторски репринт
Место и адреса, **МА**:	Ниш, Вишеградска 33
Физички опис рада, **ФО**: (поглавља, страна, цитата, табела, слика, графика)	7 поглавља; 304 страна; 443 цитата; 95 табела; 193 слика
Научна област, **НО**:	Хемија животне средине
Научна дисциплина, **НД**:	Хемија комплексних једињења
Предметна одредница/Кључне речи, **ПО**:	хром, интеракција, расподела, пестициди, хуминске супстанце, електроспреј масена спектрометрија, геохемијско моделовање
УДК:	546.76 : 614.77 + 546.21 + 541.49 546.76 : 614.77 + 546.17 + 541.49 546.76 : 614.77 + 546.22 + 541.49
Чува се, **ЧУ**:	библиотека
Важна напомена, **ВН**:	

Извод, **ИЗ**:	У раду је извршено испитивање и дефинисање интеракција које хром може да оствари са природним и антропогеним органским супстанцама у земљишту, односно дефинисање расподеле хрома и хемијских врста које гради са лигандима природног или антропогеног порекла преко O-, N- и S- донор атома у земљишту, о чему нема одговарајућих литературних података. Предмет истраживања дисертације обухвата испитивање хрома у различитим системима земљишта у погледу врсте и количине органске материје. Као лиганди антропогеног порекла у раду је испитивана интеракција хрома са следећим пестицидма: ацетампирид, трифлуралин, атразин, алахлор, дикамба и алдикарб, који такође садрже O-, N- или S- донорске атоме. У модел системима за проучавање интеракција хрома са хуминским супстацама, коришћене су бензоева, салицилна, фтална, лимунска киселина, као и 2,2'-бипиридин, N-алилтиоуреа, чиме су укључени сви битни донор атоми хетерогеног и полидисперзног лиганда, као што је хуминска или фулво киселина. У циљу дефинисања утицаја природе и количине органске материје на расподелу хрома између чврсте и течне фазе, у раду су испитивана земљишта различитог садржаја органске материје–кварцни песак, урбано земљиште ниског садржаја органске материје и супстрат за хортикултуру са високим садржајем органске материје. Проучавање интеракција хрома са лигандима природног и антропогеног порекла је вршено електроспреј-јонизационом масеном спектрометријом (ESI-MS), ултраљубичастом/видљивом (UV/VIS) спектрофотометријом и атомском апсорпционом спектрофотометријом (AAS). Применом равнотежног геохемијског модела MINTEQ потврђена је расподела хрома између течне фазе, земљишног раствора, и чврсте фазе, земљишта. Резултатима истраживања ове дисертације ближе су дефинисани процеси којима подлежу јони хрома у систему земљиште/вода.
Датум прихватања теме, **ДП**:	20.04.2011. – Наставно-научно Веће Факултета 09.05.2011. – Научно-стручно Веће Универзитета
Датум одбране, **ДО**:	
Чланови комисије, **КО**: Председник:	
Члан:	
Члан:	
Члан, ментор:	

	ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ **НИШ**
	KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, **ANO**:	
Identification number, **INO**:	
Dicument type, **DT**:	monograph
Type of record, **TR**:	textual/graphic
Contents code, **CC**:	doctoral dissertation
Author, **AU**:	Darko H. Anđelković, BSc Chemistry
Mentor, **MN**:	dr Ružica Nikolić, prof.
Title, **TI**:	Interaction and speciation of chromium in soil model systems with O-, N- and S-donor ligands of natural and antropogenic origin
Language of text, **LT**:	serbian
Language of abstract, **LA**:	serbian and english
Country of publication, **CP**:	Serbia
Locality of publication, **LP**:	Serbia
Publication year, **PY**:	2012
Publisher, **PB**:	author's reprint
Publication place, **PP**:	Niš, Višegradska 33
Physical description, **PD**: (chapters/pages/references/tables/pictures/ graphs/appendixes)	7 chapters; 304 pages; 443 references; 95 tables; 193 figures
Scientific field, **SF**:	Environmental chemistry
Scientific discipline, **SD**:	Chemistry of complex compounds
Subject/Key words, **S/KW**:	chromium, interaction, distribution, pesticides, humic substances, electrosprey mass spectrometry, geochemical equilibrium modeling
UDC:	546.76 : 614.77 + 546.21 + 541.49 546.76 : 614.77 + 546.17 + 541.49 546.76 : 614.77 + 546.22 + 541.49
Holding data, **HD**:	library
Note, **N**:	

Abstract, **AB**:		This work was carried out testing and defining the interactions that chromium can achieve with natural and anthropogenic organic substances in soil and describing the distribution of chemical species of chromium and ligands of natural or anthropogenic origin having O-, N-and S-donor atoms in the soil, of which there are no relevant literature data. Subject of dissertation research involves the examination of chromium in different systems of soil in reflection of the type and quantity of organic matter. As ligands of anthropogenic origin in the study, it was investigated the interaction of chromium with the following pesticids: acetampirid, trifluralin, atrazine, alachlor, dicamba and aldikarb, which also contain O, N or S-donor atoms. In model systems for studying the interaction of chromium with humic substances were used benzoic, salicylic, phthalic, citric acid, and 2,2 bipiridin, N-aliltiourea, which includes all relevant donor atoms of heterogeneous and polidispersed ligand such as humic and fulvic acids. In order to define the impact of nature and quantity of organic matter on the distribution of chromium between the solid and liquid phases, the paper examined the contents of different soil organic mater - quartz sand, urban soil of low organic matter and substrate for horticulture with a high content of organic matter . The study of the interaction of chromium with ligands of natural and anthropogenic origin was performed by electrospray mass spectrometry (ESI-MS), UV/VIS spectrophotometry and atomic absorption spectrophotometry (AAS). By using the equilibrium geochemical model MINTEQ, it was confirmed the distribution of chromium between the liquid phase, soil solution and solid phase. The results of this research closer defined processes in which chromium ions in the system soil / water are involved.
Accepted by the Scientific Board on, **ASB**:		20.04.2011. – Faculty Academic Board 09.05.2011. – University Academic Board
Defended on, **DE**:		
Defended board, **DB**:	President:	
	Member:	
	Member:	
	Member, mentor:	

Ova doktorska disertacija urađena je u laboratorijama Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, i laboratoriji Univerziteta „Pierre et Marie Curie“ u Parizu.

Zahvaljujem se zaposlenima u ovim institucijama, na pruženoj pomoći.

Mentoru, prof. dr Ružici Nikolić, redovnom profesoru Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, najtoplije se zahvaljujem na predloženoj temi disertacije, nesebičnom angažovanju na izradi disertacije, na savetima koji su doprineli kvalitetu ovog rada, kao i na divnoj saradnji i razumevanju.

dr Dejanu Markoviću, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta u Leskovcu, zahvaljujem na stručnoj i tehničkoj pomoći i na savetima i konsultacijama koje mi je pružio tokom rada na disertaciji.

Veliku zahvalnost dugujem i dr Srđanu Blagojeviću, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta u Zemunu, na pomoći oko realizacije pojedinih faza rada, kao i na korisnim savetima, koje mi je dao tokom izrade disertacije.

Takođe se zahvaljujem prof. dr Milovanu Purenoviću, redovnom profesoru Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, na stalnoj podršci i korisnim sugestijama koje mi je dao u toku doktorskih studija i izrade rada.

Svim članovima Komisije se zahvaljujem što su se rado prihvatili ocene ovog rada.

Prof. dr Jean-Claude Tabet-u Šefu laboratorije za stukturnu organsku hemiju Univerziteta UPMC u Parizu, kao i mr Natali Stojiljković dugujem veliku ličnu i profesionalnu zahvalnost za višegodišnju divnu saradnju i uticaj na moje opredeljenje za metode istraživanja koje su korišćene u disertaciji.

Zahvaljujem se i svim članovima moje porodice, a posebno supruzi Tatjani za bezbroj puta pruženu pomoć, podršku i razumevanje.

SADRŽAJ

1 UVOD 13

2 TEORIJSKI DEO 19

2.1 FIZIČKA I HEMIJSKA SVOJSTVA HROMA 21

2.1.1 Prozvodnja i upotreba hroma 21
2.1.2 Atomske i fizičke osobine hroma 22
2.1.3 Opšte hemijske karakteristike hroma 23
2.1.4 Kompleksna jedinjenja hroma 26
2.1.4.1 Opšte karakteristike kompleksa hroma(III) 26
2.1.4.2 Kompleksi Cr(III) sa O-donor ligandima 27
2.1.4.3 Kompleksi Cr(III) sa S-donor ligandima 31
2.1.4.4 Kompleksi Cr(III) sa N-donor ligandima 32
2.1.4.5 Kompleksi hroma drugih oksidacionih stanja 34

2.2 BIOLOŠKE I TOKSIKOLOŠKE OSOBINE HROMA 37

2.2.1 Biološke i toksikološke osobine hroma(VI) 37
2.2.2 Biološke i toksikološke osobine hroma(III) 39
2.2.3 Hrom kao nutrijent i esencijalni mikroelement 40

2.3 ANALITIČKE METODE ODREĐIVANJA HROMA 41

2.4 FIZIČKO-HEMIJSKI PROCESI U KOJIMA UČESTVUJE HROM U ZEMLJIŠTU I VODI 45

2.4.1 Vezivanje katjona u zemljištu 45
2.4.1.1 Sorpcija tragova metala u zemljištu 47
2.4.1.2 Rastvorena organska materija u suspenzijama zemljište – voda 50
2.4.2 Interakcije hroma sa jonoizmenjivačkim komponentama zemljišta 53
2.4.3 Interakcije pesticida u sistemima zemljište/voda 57
2.4.4 Interakcije huminskih supstanci sa pesticidima 60

2.5 SPECIJACIONA ANALIZA HROMA GEOHEMIJSKIM MODELOM MINTEQ 63

2.6 EKOLOŠKE KARAKTERISTIKE LIGANADA ANTROPOGENOG POREKLA 67

2.6.1 Ekološke karakterakteristike dikambe 67
2.6.2 Ekološke karakterakteristike acetamiprida 68
2.6.3 Ekološke karakterakteristike atrazina 69
2.6.4 Ekološke karakterakteristike alahlora 70
2.6.5 Ekološke karakterakteristike aldikarba 71
2.6.6 Ekološke karakterakteristike trifluralina 72

2.7 METODE ISPITIVANJA SISTEMA METAL-LIGAND 75

2.7.1 UV/VIS spektrofotometrija u ispitivanju koordinacionih interakcija 76
2.7.2 ESI-MS tehnika 78
2.7.3 Mogućnosti primene ESI-MS metode u ispitivanju kompleksa 83
2.7.4 Nedostaci ESI-MS metode u ispitivanju kompleksa 84
2.7.4.1 ESI-MS i promene sastava rastvora 84
2.7.4.2 Reakcije u gasnoj fazi 86
2.7.4.3 Aplikacija ESI-MS za metal-ligand sisteme 87
2.7.4.4 Poređenje kvalitativne ESI-MS i drugih tehnika 88
2.7.4.5 Komparacija kvantitativne ESI-MS i drugih tehnika 91
2.7.4.6 Studije ternarnih sistema 92
2.7.4.7 Ostale studije metal-ligand sistema sa ESI-MS 94
2.7.5 Primene ESI-MS za makromolekulske sisteme Host-Guest i proteinske sisteme 95

3 EKSPERIMENTALNI DEO 97

3.1 PROGRAM I METODIKA EKSPERIMENTALNOG RADA 99

3.2 EKSPERIMENTALNI POSTUPAK 101

3.2.1 Hemikalije korišćene u eksperimentalnom radu 101
3.2.2 UV/VIS karakterizacija interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama 102
3.2.3 ESI MS karakterizacija interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama 105
3.2.4 Ispitivanje distribucije hroma u ternarnim sistemima zemljište – voda – antropogena/prirodna organska materija 110
3.2.5 Geohemijsko modelovanje hemijskih vrsta hroma u ispitivanim model sistemima 111

4 REZULTATI I DISKUSIJA 113

4.1 REZULTATI UV/VIS ANALIZE INTERAKCIJE HROMA SA ANTROPOGENIM LIGANDIMA I MODEL HUMINSKIM SUPSTANCAMA 115

4.1.1 Ligandi sa O-donor atomima 115
4.1.1.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – benzoeva kiselina 115
4.1.1.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – salicilna kiselina 117
4.1.1.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – ftalna kiselina 119
4.1.1.4 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – limunska kiselina 121
4.1.1.5 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – dikamba 123
4.1.2 Ligandi sa N-donor atomima 125
4.1.2.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – 2,2'-bipiridin 125
4.1.2.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – acetamiprid 127
4.1.2.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – atrazin 129
4.1.3 Ligandi sa O, N ili S-donor atomima 131
4.1.3.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – alahlor 131
4.1.3.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – aldikarb 133
4.1.3.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – trifluralin 135
4.1.3.4 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – *N*-aliltiourea 137
4.1.4 Uporedni pregled eksperimentalnih rezultata UV/VIS ispitivanja 139

4.2 REZULTATI ISPITIVANJA INTERAKCIJE HROMA SA ANTROPOGENIM LIGANDIMA I MODEL HUMINSKIM SUPSTANCAMA ESI-MS TEHNIKOM 143

4.2.1 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – O-donor ligandi 143
4.2.1.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – benzoeva kiselina 143
4.2.1.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – salicilna kiselina 147
4.2.1.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – ftalna kiselina 151
4.2.1.4 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – limunska kiselina 156
4.2.1.5 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – dikamba 161
4.2.2 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – N-donor ligandi 170
4.2.2.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – 2,2'-bipiridin 170
4.2.2.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – acetamiprid 174
4.2.2.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – atrazin 178
4.2.3 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – O, N ili S-donor ligandi 182
4.2.3.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – alahlor 182
4.2.3.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – aldikarb 187
4.2.3.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) –trifluralin 192
4.2.3.4 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – *N*-aliltiourea 196
4.2.4 Uporedni pregled eksperimentalnih rezultata ESI-MS ispitivanja 201
4.2.4.1 Pregled preliminarnih ESI MS ispitivanja 201
4.2.4.2 ESI MS LOOP hromatogramska kvantifikacija interakcija liganada i hroma 203
4.2.4.3 Uporedni pregled interakcija hroma sa O-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom 206
4.2.4.4 Uporedni pregled interakcija hroma sa N-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom 209
4.2.4.5 Uporedni pregled interakcija hroma sa O, N ili S-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom 210
4.2.4.6 Sumarna evaluacija dobijenih rezultata i ESI MS analize kompleksa 212

4.3 REZULTATI ISPITIVANJA RASPODELE HROMA IZMEĐU PRIRODNE ORGANSKE MATERIJE U ČVRSTOJ FAZI I ANTROPOGENE ORGANSKE MATERIJE U TEČNOJ FAZI....217
4.3.1 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i aldikarba u tečnoj fazi....217
4.3.2 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i acetamiprida u tečnoj fazi .219
4.3.3 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i alahlora u tečnoj fazi....221
4.3.4 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i atrazina u tečnoj fazi....224
4.3.5 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i dikambe u tečnoj fazi....225
4.3.6 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i trifluralina u tečnoj fazi....227
4.3.7 Uporedni pregled ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i antropogene organske materije u tečnoj fazi....229
4.4 REZULTATI GEOHEMIJSKOG MODELOVANJA HEMIJSKIH VRSTA HROMA....231
5 ZAKLJUČAK....237
6 LITERATURA....241
7 PRILOG....261
7.1 OPŠTE KARAKTERISTIKE LIGANADA PRIRODNOG I ANTROPOGENOG POREKLA....263
7.1.1 Opšte karakteristike O-donor liganada....263
7.1.1.1 Benzoeva kiselina....263
7.1.1.2 Salicilna kiselina....264
7.1.1.3 Ftalna kiselina....265
7.1.1.4 Limunska kiselina....266
7.1.1.5 Dikamba....267
7.1.2 Opšte karakteristike N-donor liganada....268
7.1.2.1 2,2'-Bipiridin....268
7.1.2.2 Acetamiprid....269
7.1.2.3 Atrazin....270
7.1.3 Opšte karakteristike O, N ili S-donor liganada....272
7.1.3.1 Alahlor....272
7.1.3.2 Aldikarb....273
7.1.3.3 Trifluralin....274
7.1.3.4 *N*-aliltiourea....275
7.2 ATOMSKE KARAKTERISTIKE HROMA....276
7.3 DISTRIBUCIJA IZOTOPSKIH MASA....277
7.4 PRIKAZ ESI-MS SPEKTARA LIGANADA U DRUGAČIJIM USLOVIMA SNIMANJA....284
7.4.1 ESI MS spektri O-donor liganada....284
7.4.1.1 Benzoeva kiselina....284
7.4.1.2 Salicilna kiselina....285
7.4.1.3 Ftalna kiselina....287
7.4.1.4 Limunska kiselina....289
7.4.1.5 Dikamba....291
7.4.2 ESI MS spektri N-donor liganada....293
7.4.2.1 2,2'–Bipiridin....293
7.4.2.2 Acetamprid....294
7.4.2.3 Atrazin....295
7.4.3 ESI MS spektri O, N ili S-donor liganada....297
7.4.3.1 Alahlor....297
7.4.3.2 Aldikarb....299
7.4.3.3 Trifluralin....300
7.4.3.4 *N*-Aliltiourea....302
BIBLIOGRAFIJA....305

1 UVOD

Prisustvo teških metala u prirodi ima negativan uticaj na zdravlje ljudi i stanje životne sredine. Njihovo stanje, forma, pokretljivost, sorpcija, mobilnost i biodostupnost zavise od fizičko-hemijskih uslova sredine u kojoj se nalaze, kao i od prirode prisutnih hemijskih vrsta u toj sredini, sa kojima mogu da interaguju. Tako će na migraciju teških metala iz zemljišne faze u podzemne vode, veliki uticaj pokazati priroda sredine, odnosno fizičke i hemijske karakteristike zemljišta, sadržaj minerala gline, prisustvo prirodne organske materije – huminskih supstanci, kao i prisustvo organskih jedinjenja antropogenog porekla – pesticidi, poliaromatični ugljovodonici, polihlorovani bifenili i dr. Imajući u vidu da je njihova migracija uslovljena i samom prirodom metala, odnosno njegovom valentnošću, veličinom jona, jonskim potencijalom i acido-baznim svojstvima, specijacionom analizom metala je moguće definisati njegovu diferencijaciju na osnovu njegovih oksidacionih stanja, pojave u vidu jednostavnih ili koordinisanih jona, pojave u katjonskim, anjonskim ili neutralnim formama, protonovanim ili neprotonovanim, kao i monomernim ili polimernim formama.

Radi potpunijeg definisanja procesa transporta i raspodele teških metala u životnoj sredini, potrebno je sagledati u kvalitativnom i kvantitativnom pogledu doprinos svih ovih navedenih faktora. Stoga, cilj naučnog istraživanja ove disertacije je ispitivanje i definisanje interakcija koje hrom može da ostvari sa prirodnim i antropogenim organskim supstancama u zemljištu, odnosno definisanje raspodele hroma i hemijskih vrsta koje gradi sa ligandima prirodnog ili antropogenog porekla preko O-, N- i S- donor atoma u zemljištu, o čemu nema odgovarajućih literaturnih podataka. Predmet istraživanja disertacije obuhvata ispitivanje hroma u različitim sistemima zemljišta u pogledu vrste i količine organske materije.

Hrom se u životnoj sredini može naći u dva oksidaciona stanja +3 i +6, koja imaju različitu hemijsku, fizičko-hemijsku i biohemijsku reaktivnost. Cr(VI) hemijske vrste su rastvorljivije, mobilnije i bioaktivnije od Cr(III) hemijskih vrsta. U prirodnoj sredini kao što je zemljište, hrom prvenstveno ostvaruje interakciju sa organskom materijom zemljišta, ali i sa različitim antropogenim ligandima (npr. pesticidi), koji su prisutni u zemljištu. U model sistemima za proučavanje interakcija hroma sa huminskim supstacama, korišćene su benzoeva, salicilna, ftalna, limunska kiselina, kao i 2,2'-bipiridin, *N*-aliltiourea, čime su uključeni svi bitni donor atomi heterogenog i polidisperznog liganda, kao što je huminska ili fulvo kiselina. Ispitivanje model jedinjenja huminskih supstanci je opravdano imajući u vidu njihovu heterogenost funkcionalnih grupa i multifunkcionalnost. U strukturi su najviše prisutna "tvrda" vezivna mesta koja poseduju kiseonik kao donor atom, a to su uglavnom karboksilna i fenolna vezujuća mesta, ali se javljaju i „meka" vezivna mesta, koja poseduju N- ili S- kao donor atome. Stoga je proučavanje mogućnosti interakcije hroma sa svakim

pojedinačnim donor atomom liganda, a zatim i proučavanje u složenoj smeši donor atoma O-, N- i S- u samoj huminskoj kiselini, dobra aproksimirajuća metoda za definisanje interakcije hroma sa polifunkcionalnim, polidisperznim i polielektrolitnim ligandom, kakav je humatni makromolekul.

Kao ligandi antropogenog porekla u radu je ispitivana interakcija hroma sa sledećim pesticidma: acetampirid, trifluralin, atrazin, alahlor, dikamba i aldikarb, koji takođe sadrže O-, N- ili S- donorske atome.

U cilju definisanja uticaja prirode i količine organske materije na raspodelu hroma između čvrste i tečne faze, u radu su ispitivana zemljišta različitog sadržaja organske materije – kvarcni pesak, urbano zemljište niskog sadržaja organske materije i supstrat za hortikulturu sa visokim sadržajem organske materije.

Proučavanje interakcija hroma sa ligandima prirodnog i antropogenog porekla je vršeno elektrosprej-jonizacionom masenom spektrometrijom (ESI-MS), ultraljubičastom/vidljivom (UV/VIS) spektrofotometrijom i atomskom apsorpcionom spektrofotometrijom (AAS).

Primena ESI masene spektrometrije, predstavlja novinu u ispitivanju interakcija hroma i liganada prisutnih u zemljištu. ESI je „meka“ jonizaciona tehnika sa limitiranom fragmentacijom hemijskih vrsta. U literaturi nema dovoljno podataka o primeni ove metode u proučavanju interakcija metala sa organskim ligandima, pogotovu onih koji su prisutni u zemljištu. Glavna prednost ESI-MS metode za analizu metalnih organskih kompleksa leži u blagim uslovima jonizacije, usled koje kompleks kao i nekompleksirani organski molekuli ostaju celoviti, pri čemu daje spektar sa zadovoljavajućom osetljivošću i mikromolarnom do nanomolarnom detekcionom granicom. Mnoge jonske vrste se mogu odrediti simultano, što predstavlja važnu prednost u pogledu jednostavnosti i brzine analize, kao i mogućnost poređenja intenziteta signala različitih jonskih vrsta. Prednost je i što se ESI-MS može vršiti bez prethodne pripreme uzorka, čime se izbegavaju potencijalni artefakti koji se mogu uneti kroz interakciju sa stacionarnom fazom. ESI-MS daje mogućnost akvizicije masenog spektra direktno iz rastvora, tako da se analiziraju ravnotežne vrste u njihovoj primarnoj sredini.

Radi sagledavanja postavljenih ciljeva rada, metodika eksperimentalnog dela istraživanja obuhvata sledeće tri faze:

- ispitivanje interakcije hroma sa antropogenim ligandima i sa model supstancama prirodnih liganada UV/VIS spektrofotometrijom i ESI-MS tehnikom;
- ispitivanje raspodele hroma između tečne i čvrste faze različitog sadržaja organske materije;
- specijaciona analiza hroma geohemijskim ravnotežnim modelom MINTEQ u cilju definisanja ravnotežnih procesa između rastvorene, adsorbovane, čvrste i tečne faze u sredini zemljište – zemljišni rastvor.

Na osnovu hemijskih analiza analiza zemljišta i ispirnih voda, koje obuhvataju ukupne koncentracije rastvorenih komponenti od interesa, pH, *redoks* status, kao i parcijalni pritisak jednog ili više gasova, pomoću MINTEQ ekstenzivne termodinamičke baze podataka izvršena je geohemijska specijacija sistema.

Dobijenim eksperimentalnim rezultatima definisan je uticaj količine i vrste organske materije na sorpciju hroma. Pored količine organske materije na porast sorpcije hroma značajno utiče i prisustvo minerala gline, koji pokazuju „nivelišući efekat“ u pogledu sorpcije hroma. UV/VIS spektrofotometrijska karakterizacija nagrađenih kompleksa hroma sa O-, N- i S- donor ligandima antropogenog porekla je stavljena u korelaciju sa ESI-MS karakterizacijom kompleksa, kako u kvantitativnom, tako i u kvalitativnom pogledu.

Sa druge strane, u pogledu distribucionih karakteristika hroma, faktor acidifikacije, odnosno raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline i humina) između čvrste i tečne faze sistema značajno utiče na raspodelu hroma.

Izluživanjem hroma u sistemu zemljište – drenažna voda različitog pH, utvrđena je dominantna jonska vrsta hroma u čvrstoj i tečnoj fazi, ispitan je uticaj acidifikacije (simulacija kiselih kiša) na proces izluživanja hroma, analogno *in situ* zagađenjima podzemnih voda u horizontima zemljišta kontaminiranog hromom. Primenom ravnotežnog geohemijskog modela MINTEQ potvrđena je raspodela hroma između tečne faze, odnosno zemljišnog rastvora, i čvrste faze zemljišta.

Rezultatima istraživanja ove disertacije bliže su definisani procesi kojima podležu joni hroma u sistemu zemljište/voda. Time je dat doprinos istraživanjima složenih procesa translokacije hroma u sisteme podzemnih voda njegovim izluživanjem iz zemljišta, odakle može biti dalje transportovan i dispergovan u biotičke i abitičke sisteme u prirodnom okruženju.

2 TEORIJSKI DEO

2.1 Fizička i hemijska svojstva hroma

Prelazni hemijski elemenat hrom je igrao važnu ulogu u razvoju neorganske i koordinacione hemije. Prvi poznati mineral hroma (lat. *chromium*) je 1766. godine otkrio francuski hemičar Leman i nazvao ga je *sibirskim crvenim olovom*. Danas se ovaj retki mineral naziva *krokoit* (olovo-hromat, $PbCrO_4$). Tridesetak godina kasnije, 1797. Volken (*Louis Nicolas Vauquelin*) je izdvojio iz njega čisti metal, a njegovi saradnici su ga nazvali hromom, prema grčkoj reči *chroma – χρωμα*, što znači *boja*, s obzirom na to da su hromova jedinjenja uglavnom obojena. Tako se pronalazačem hroma smatra Volken, mada je oko toga bilo dosta polemike. Godine 1898. hrom je dobijen alumotermijskim putem iz oksida hroma.

Slika 2.1-1. Kristali hroma i kocka metalnog hroma veličine 1 cm^3.

2.1.1 Prozvodnja i upotreba hroma

Komercijalna proizvodnja hroma i njegovih legura je u stalnom porastu (slika 2.1-2.). Najveći deo (~85%) rude hromita, $FeCr_2O_4$ se podrvrgava procesu redukcije koksom (C) na visokoj temperaturi, u cilju proizvodnje tzv. *ferohroma* (legure Fe – Cr, sa primesama Ni), a koji se dalje prerađuje u legirane čelike različitog sastava. Čisti metalni hrom za legure koje ne sadrže gvožđe i za tzv. *metal-dispergovnu keramiku*, proizvodi se redukcijom Cr_2O_3. Uobičajena redukciona sredstva su aluminijum, ugljenik ili silicijim. Alternativno, može se dobiti elektrolizom rastvora hromne stupse, $NH_4Cr(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$.

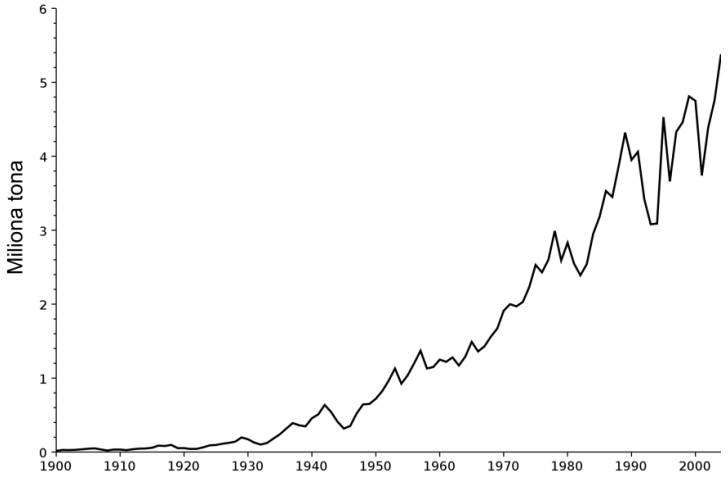
Manje od 15% hromita se transformiše u različita hromna jedinjenja, uglavnom hromate, dihromate, hrom(VI)-oksid, hrom(III)-oksid, itd.

Alkalno oksidativno prženje hromita u rotacionim pećima daje natrijum-hromat, koji se izlužuje vodom i obično dalje prerađuje u natrijum-dihromat tretmanom sa sumpornom kiselinom ili ugljen-dioksidom:

$$4FeCr_2O_4 + 4Na_2CO_3 + 7O_2 \rightarrow 8Na_2CrO_4 + 2Fe_2O_3 + 8O_2\ (>1000°C) \quad (2.1\text{-}1)$$

$$2Na_2CrO_4 + H_2SO_4 \rightarrow Na_2Cr_2O_7 + Na_2SO_4 + H_2O \quad (2.1\text{-}2)$$

$$2Na_2CrO_4 + H_2O + 2CO_2 \rightarrow Na_2Cr_2O_7 + 2NaHCO_3 \quad (2.1\text{-}3)$$



Slika 2.1-2. Svetski trend proizvodnje hroma u XX veku (godišnja proizv. u milionima tona)

Uobičajene industrijske primene hroma su prvenstveno:

- Proizvodnja legiranih čelika sa nerđajućim osobinama (*inox*, *prohrom*) obično sa oko 18% Cr i 5 – 15% Ni
- Za proizvodnju legura sa više od 50% Cr koje se odlikuju izrazitom termootpornošću (na primer, za gasne turbine)
- Hrom(VI)-oksid („hromna kiselina“) za elektrolitičko – *galvansko prevlačenje* korozivno manje otpornih metala (gvožđe, čelik) radi zaštite od korozije i dekoracije. Posebnim tretmanom se dobijaju galvanske prevlake velike debljine koje služe za zaštitu osnovnog metala od habanja (nanošenje tzv. „tvrdog hroma“).
- Elementarni hrom se koristi kao katalizator, na primer pri polimerizaciji etilena.
- Hromna jedinjenja se koriste kao neorganski pigmenti u mnogim bojama, još od 1870. godine. Jedinjenja hroma imaju primenu u industriji stakla, tekstilnoj i kožarskoj industriji [sredstva za štavljenje kože, na primer $Cr(OH)SO_4$], fotografiji i grafici, zatim kao *fungicidi* (zaštita drveta).
- Hromit se koristi za izradu vatrostalnih materijala. Na primer, hrommagnezitne opeke su i visoko koroziono-otporne i vatrostalne.
- Hrom(VI)-oksid, NH_4, K i Na-hromati i dihromati imaju primenu u hemijskoj industriji, kao reagensi visokog oksidacionog potencijala.

2.1.2 Atomske i fizičke osobine hroma

Atomski broj hroma je 24. Od 26 poznatih izotopa (masenih brojeva 42 – 67), četiri je stabilno i daju prosečnu relativnu atomsku masu hroma 51,9961. U *Prilogu* su prikazane osnovne atomske karakteristike nekih hromovih izotopa, kao i neke date osnovne fizičko-hemijske karakteristike elementarnog hroma.

Izotop ^{53}Cr nalazi određenu primenu u NMR spektroskopiji, dok se radioaktivni ^{51}Cr upotrebljava u medicinskim *tracer*-ispitivanjima.

Praćenje koncentracije ^{53}Cr kao proizvoda radioakativnog raspada ^{53}Mn, se koristi u izotopskoj geologiji i kosmohemiji, za određivanje porekla meteora izučavanjem nukleosintetičkih procesa neposredno posle koalescencije Sunčevog sistema. Takođe, ^{53}Cr je favorizovan u pojedinim transfernim procesima u morskoj vodi, odnosno okeanskim sedimentima, što je u relaciji sa promenom koncentracije atmosferskog kiseonika u različitim

periodima geološke istorije Zemlje [FREI *et al.*, 2009]. U *Prilogu* su prikazane karakteristike izotopa hroma, kao i određene fizičko hemijska osobine.

2.1.3 Opšte hemijske karakteristike hroma

Hrom (CAS num. 7440-47-3) je čelično-siv metal plavičaste nijanse. Sličan je po izgledu molibdenu i volframu. Spada u vrlo tvrde metale i može se polirati do visokog sjaja. Teško se prerađuje plastičnim deformacijama na hladno.

Na povišenoj temperaturi, hrom neposredno reaguje sa halogenima, sumporom, borom, azotom, kiseonikom i ugljenikom.

Veoma je otporan prema uobičajenim korozivnim agensima i rezistentan je prema mnogim kiselinama, pošto stvara pasivizirajuću oksidnu prevlaku na površini. Pod određenim uslovima, pasivizirajući sloj može se periodično stvarati i degradirati, što dovodi do oscilacija u brzini razvijanja vodonika usled rastvaranja metala. Rastvara se u razblaženoj HCl i H_2SO_4, ali ne u azotnoj i fosfornoj kiselini, niti u carskoj vodi. Nepasivizirani hrom je jak redukujući agens.

U hemiji hroma (Cr: [Ar] $4s^1 3d^5$) daleko najzastupljenija oksidaciona stanja hroma su +3, +4, a znatno ređe +2. Druga stanja su relativno egzotična, na primer, registrovano je nekoliko stabilnih jedinjenja tetra- i pentavalentnog hroma, uglavnom intermedijera u redoks reakcijama. Takođe, π-kiseli ligandi stabilizuju hrom u vrlo niskim formalnim oksidacionim stanjima (čak do –4). U tabeli 2.1-1. su prikazani standardni *redoks*-potencijali nekih hromnih vrsta [KING, 2001].

Tabela 2.1-1. Standardni (formalni) *redoks*-potencijali jonskih vrsta hroma.

***Redoks*-reakcija**	$E^0_{ox/red}$ **[V]**	**Sredina**
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$	+ 1,36	
	+ 1,15	0,1 M H_2SO_4
	+ 1,03	1,0 M $HClO_4$
$CrO_4^{2-} + 4H_2O + 3e^- = Cr(OH)_4^- + 4OH^-$	– 0,13	1,0 M NaOH
$Cr^{3+} + e^- = Cr^{2+}$	– 0,424	
$Cr^{3+} + 3e^- = Cr$	– 0,74	
$Cr^{2+} + 2e^- = Cr$	+ 0,90	

HEMIJA HROMA(II). Sva jedinjenja hroma (II) su jaka redukciona sredstva. Vodeni rastvori ovog jona su nebesko plave boje koja se brzo gubi usled oksidacije hroma(II) vazduhom, a brzina procesa zavisi od kiselosti rastvora i prirode anjona u njemu. Rastvori Cr^{2+} jona se dobijaju elektrolitičkim rastvaranjem čistog metala u razblaženim kiselinama. Redukcijom drugih jona jonom Cr^{2+} proučeni su brojni kompleksi Cr^{3+} koji pri tom nastaju, a koji bi teško bili ispitani, jer su kompleksna jedinjenja Cr^{3+} relativno inertna u reakcijama izmene liganda.

Hrom(II) gradi brojne komplekse sa koordinacionim brojem 6 i geometrijom oktaedra sa ligandima koji se koordiniraju preko azota (amonijak, hidrazin, bipiridin, cijanid itd.).

HEMIJA HROMA(III). Najstabilnije oksidaciono stanje hroma je +3 i najveći broj jedinjenja gradi trovalentni hrom, koji je dominantan i u prirodnom okruženju, a njegova zastupljenost, koncentracija i oblici u životnoj sredini zavise od brojnih fizičkih i hemijskih procesa, kao što su: hidroliza, *redoks* reakcije, reakcije kompleksiranja i adsorpcija.

Hidratisani oksid je amfoternih osobina, rastvaranjem u kiselinama daje heksahidrat $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$, a u koncentrovanim bazama gradi soli – *hromite*. Ovaj oksid hroma nanesen na površinu Al_2O_3, koji služi kao nosač, je značajan katalizator.

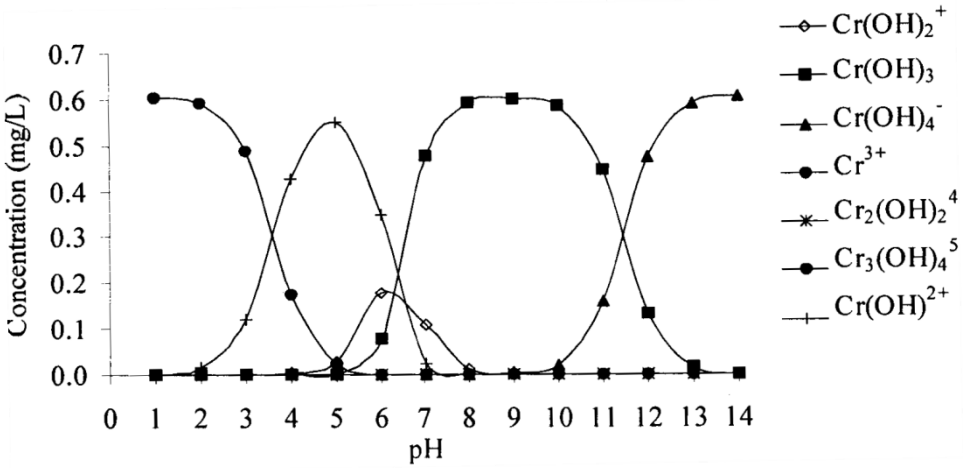
U odsustvu kompleksirajućih sredstava rastvoreni Cr(III) egzistira kao $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ i/ili kao proizvod njegove hidrolize. $Cr(OH)_3$ pokazuje amfoterno ponašanje, a na većim pH vrednostima prelazi u rastvorljiv tetrahidrokso kompleks:

$$Cr(OH)_3(s) + 2H_2O \rightarrow [Cr(OH)_4]^- + H_3O^+ \qquad (2.1\text{-}4)$$

Dakle, karakteristika hroma(III) jeste da pokazuje kisele osobine, a odatle dolazi tendencija da hidrolizuje i formira polinuklearne komplekse, kao posledica gubitka protona iz koordinisane vode i vezivanja OH^- za sledeći katjon:

$$[Cr(H_2O)_6]^{3+} \rightarrow [Cr(H_2O)_5OH]^{2+} \rightarrow [(H_2O)_4Cr\overset{OH}{}_{HO}Cr(H_2O)_4]^{4+} \qquad (2.1\text{-}5)$$

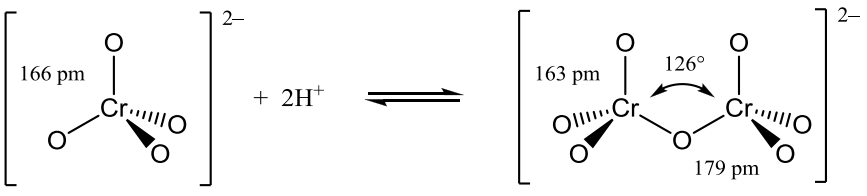
Deprotonizacija se lako odvija, jer heksaakva-jon ima kiselost kao sirćetna kiselina ($pK_a = 4$), te se daljom polimerizacijom pri porastu pH, gradi hidratisani hrom(III)-oksid ili „hrom-hidroksid“. Prikaz raspodele jonskih vrsta hroma (III) dat je na slici 2.1-3.



Slika 2.1-3. Specijacija Cr(III)-vrsta u zavisnosti od pH vrednosti vodenog rastvora [KING, 2001].

HEMIJA HROMA(VI). Sva jedinjenja Cr(VI), osim CrF_6, sadrže kiseonik i potencijalno su oksidaciona sredstva. Od binarnih jedinjenja sa kiseonikom, najvažniji je hrom(VI)-oksid CrO_3, („hromna kiselina“) koji se lako rastvara u vodi i izuzetno je jak otrov. Ovo jedinjenje energično oksiduje organska jedinjenja, sa alkoholima gradi estre hromne kiseline, koji su eksplozivne supstance. Hrom(VI)-oksid se rastvara u bazama, dajući žuti rastvor tetraedarskog hromatnog jona. Hromati Ba^{2+}, Pb^{2+}, Ag^+ i drugih metala su često vrlo nerastvorni i lako se izdvajaju iz rastvora, a barijum-hromat i olovo-hromat su komercijalno značajni žuti pigmenti.

Joni hromata su slabe baze, i na niskim pH vrednostima formiraju $HCrO_4^-$ ($pK_a = 6{,}49$) i eventualno H_2CrO_4 ($pK_a = 0{,}74$), koji se u ravnoteži sa narandžastim dihromatnim jonom ($Cr_2O_7^{2-}$) (2) [KING, 2001].



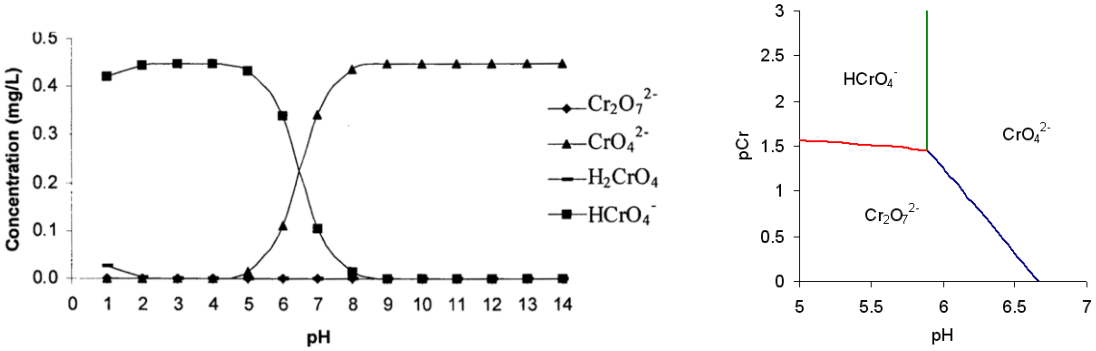
(1) (2) (2.1-6)

Hromna kiselina, H_2CrO_4, je dosta jaka, te se potpuno protonovani oblik može naći tek na pH < 1; iznad pH = 7 samo jon CrO_4^{2-} postoji u rastvoru, a između pH = 1 – 6 dominira $HCrO_4^-$ (slika 2.1-4.) Sa porastom kiselosti rastvora, boja rastvora hromata prelazi iz žute u narandžastu zbog građenja dihromatnog anjona, $Cr_2O_7^{2-}$:

$$CrO_4^{2-} + H^+ \rightarrow CrO_3(OH)^- \quad (2.1\text{-}7)$$

$$CrO_3(OH)^- + H^+ \rightarrow H_2CrO_4 \quad (2.1\text{-}8)$$

$$2CrO_3(OH)^- \rightarrow Cr_2O_7^{2-} + H_2O \quad (2.1\text{-}9)$$



Slika 2.1-4. Specijacija Cr(VI)-vrsta u zavisnosti od pH vrednosti vodenog rastvora [KING, 2001].

U jako kiselim sredinama, daljom polimerizacijom se grade tri- i tetrahromati ($Cr_3O_{10}^{2-}$ i $Cr_4O_{13}^{2-}$), a poređenjem strukturalnih podataka za seriju mono- i polihromata pokazuje određenu korelaciju rastojanja Cr–O i stepena polimerizacije [PRESSPRICH *et al.*, 1988]. U poređenju sa težim elementima VI grupe (Mo, W) hrom pokazuje malu tendenciju da gradi *polioksometalate*[*], verovatno usled manjeg radijusa koji favorizuje KB = 4 umesto KB = 6, i postojanja relativno jake dvostuke veze Cr=O, koja teže prelazi u jednostruku.

Hrom(VI) jedinjenja su prilično rastvorljiva i zahvaljujući toj osobini veoma mobilna u okruženju, s tim da se Cr(VI) lako redukuje do trovalentnog oblika reagujući sa elektron-donorima kao što su organska jedinjenja i neorganska redukcijska sredstva koja su prisutni u zemljištu, vodi i atmosferi. U kiseloj sredini rastvori dihromata su izuzetno jaka oksidaciona sredstva (tabela 2.1-1.), prema reakciji:

$$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightarrow 2Cr^{3+} + 7H_2O \quad (2.1\text{-}10)$$

dok je u alkalnijoj sredini hromat-jon mnogo slabije oksidaciono sredstvo

$$CrO_4^{2-} + 4H_2O + 3e^- \rightarrow Cr(OH)_3 + 5OH^- \quad (2.1\text{-}11)$$

Drugi redukcioni put hromata (CrO_4^{2-}) daje hromat(V) jone (CrO_4^{3-}) koji se mogu izolovati u obliku soli alkalnih i zemnoalkalnih metala, na primer Na_3CrO_4 i $Ba_3(CrO_4)_2$, koje se u vodenom rastvoru disproporcionišu na Cr(III) i Cr(VI). Dalja redukcija CrO_4^{3-} vodi nastanku paramagnetičnih CrO_4^{4-} vrsta (na primer, tamno zeleni Na_4CrO_4), sa d^2 konfiguracijom elektrona.

Dodatkom-vodonik-peroksida baznim rastvorima hromata, nastaje, uz hlađenje, crveni perokso-hromat-jon, CrO_8^{3-} u kome je hrom petovalentan. Zapravo bi se očekivao nastanak

[*] Polioksometalat (POM) je *poliatomski jon*, obično anjon, koji se sastoji od tri ili više oksianjona prelaznih metala, povezanih preko deljenih kiseonikovih atoma, i koji formira veliku, zatvorenu 3-dimenzionalnu strukturu. Metalni atomi su obično iz grupe V ili VI prelaznih metala u višem oksidacionom stanju, sa elektronskom konfiguracijom d^0 ili d^1 (V^{5+}, Nb^{5+}, Ta^{5+}, Mo^{6+}, W^{6+}). Struktura oksianjona može da uključuje jedan ili više heteroatoma, kao što su fosfor ili silicijum. Jedan od najpoznatijih primera, jon $[PW_{12}O_{40}]^{3-}$ ima dvanaest oktaedarskih volframovih oksoanjona koji okružuju centralnu fosfatnu grupu.

CrO_8^{2-} jona, ali taj jon oksiduje prisutne OH^- jone u HO_2^- pri čemu se hrom redukuje iz stanja (VI) u (V):

$$2CrO_4^{2-} + 8HO_2^- \rightarrow 2CrO_8^{2-} + 8OH^- \quad (2.1\text{-}12)$$

$$2CrO_8^{2-} + 3OH^- \rightarrow 2CrO_8^{3-} + 8HO_2^- + H_2O \quad (2.1\text{-}13)$$

$$\Sigma: \quad 2CrO_4^{2-} + 7HO_2^- \rightarrow 2CrO_8^{3-} + H_2O + 5OH^- \quad (2.1\text{-}14)$$

Iako je neobično da hrom postoji u obliku jedinjenja sa oksidacionim stepenom (V) u prisustvu tako jakog oksidacionog sredstava kao što je peroksidna grupa, to je ipak potvrđeno razmatranjem kristalne strukture.

2.1.4 Kompleksna jedinjenja hroma

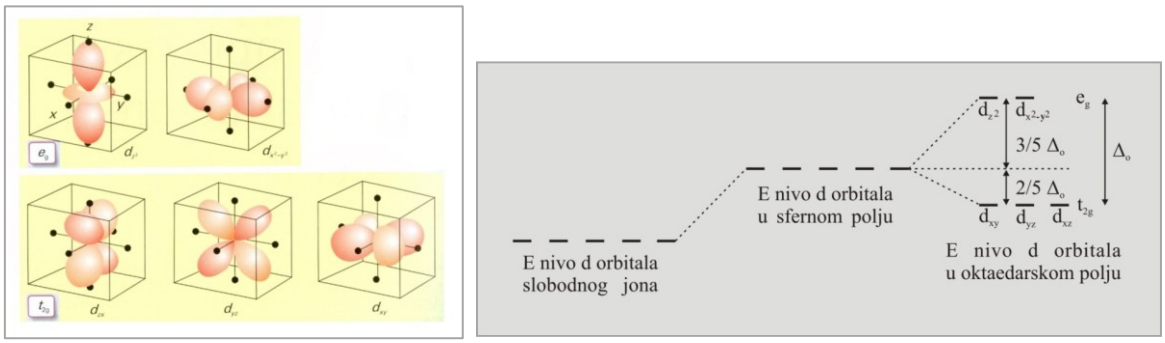
Koordinaciona jedinjenja hroma su izuzetno brojna i egzistiraju sa različitim formalnim oksidacionim stanjima centralnog metalnog jona (–4 do +6). Oni sa ekstremo niskim stanjima su stabilizovani π-kiselim ligandima (na primer, ugljen-monoksid), Cr(II) kompleksi imaju KB 3 – 7, a dominira oktaedarska geometrija. Daleko najčešći su Cr(III) oktaedarski kompleksi d^3 konfiguracije centralnog metala, Cr(IV) je relativno stabilno stanje ali sa malim brojem sintetisanih jedinjenja, dok je postojanje izolovanog Cr(VI) jona zapravo nemoguće, te se njegova hemija zapravo zasniva na građenju jakih kovalentnih veza između hroma i kiseonika ili halogena. U poređenju sa molibdenom i volframom, hrom ima manju težnju da gradi *klasterna jedinjenja*. U tabeli 2.1-2. su dati podaci o efektivnim jonskim prečnicima hroma u zavisnosti od oksidacionog stanja i koordinacionog broja (KB).

Tabela 2.1-2. *Efektivni jonski radijusi jona hroma, [pm]; Cr(0) atomski radijus 128 pm.*

Jon Cr	Koordinacioni broj (KB)		
	4	6	8
1+	81		
2+		73	
3+		61,5	
4+	41	55	
5+	34,5	49	57
6+	26	44	

2.1.4.1 Opšte karakteristike kompleksa hroma(III)

Kompleksi jona Cr(III) sa koordinacionim brojem metala KB = 6, sa *oktaedarskom* strukturom koja pruža najveću energetsku stabilizaciju ligandnog polja, jesu najčešća, najuobičajenija i najstabilnija koordinaciona jedinjenja hroma, a njihova sinteza, kristalne strukture, stabilnost, elektronski spektri i fotohemijske i druge karakteristike su najobimnije istraživane [LAY i LEVINA, 2004]. Kod oktaedarske geometrije kompleksa, zbog rasporeda liganada oko centralnog atoma metala, nisu svi *d*-elektroni metala podjednako izloženi uticaju ligandnog polja, kako je prikazano na slici 2.1-5. [NIKOLIĆ *et al.*, 2010].



Slika 2.1-5. Orjentacije *d*-orbitala metala u odnosu na ligande u O_h ligandnom polju (levo); cepanje d-podnivoa centralnog atoma u O_h polju liganada (desno).

U mononuklearnim kompleksima, d^3 elektronska konfiguracija daje isključivo spinski magnetni moment od oko 3,87 μ_B, (S = 3/2, što teorijski odgovara 3,88 μ_B). Međutim, u velikom broju Cr(III) polinuklearnih kompleksa (na primer, sa mostnim hidroksidnim ligandima), antiferomagnetsko kuplovanje spinova Cr(III) jona uzrokuje niže vrednosti magnetnog momenta. Elektronski spektri Cr(III) kompleksa su dosta proučavani, a njihovo teorijsko tumačenje se bazira na odgovarajućem *Tanabe-Sugano* dijagramu, koji predviđa tri spinski dozvoljena prelaza, $^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{2g}(F)$, $^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(F)$ i $^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}(P)$. Ove trake su zaista nađene u mnogim kompleksima, a najniža energija prelaza, kao direktna mera enrgestkog cepanja ligandnog polja (10 Dq ili Δ_0) za, na primer, jon $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ je oko 18.000 cm^{-1} [IRWIN i KIRK, 2001].

U ovom oksidacionom stanju sa konfiguracijom Cr^{3+}: $1s^2\ 2s^22p^6\ 3s^23p^6\ 3d^3$ hrom gradi ogroman broj kompleksa koji su kinetički vrlo stabilni (spore ligand-supstitucione reakcije) i zbog toga u rastvorima ostaju dugo u neizmenjenom obliku, čak i kada su termodinamički nestabilni. Kumulativne konstante stabilnosti nekih kompleksa Cr(III) date su u tabeli 2.1-3. Najbolje su proučeni aminski kompleksi i to kako sa monodentantnim ligandima tipa NH_3 tako i sa bidentantnim ligandima tipa etilendiamina [GREENWOOD i EARNSHAW, 1997].

Tabela 2.1-3. *Kumulativne konstante stabilnosti nekih kompleksa Cr(III) [DEAN, 1992].*

$$K_n = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n}$$

Ligand	**log K_1**	**log K_2**	**log K_3**	**log K_4**
F^-	4,41	7,81	10,29	
OH^-	10,1	17,8		29,9
SCN^-	1,87	2,98		
5-sulfosalicilna kis.	9,56			
acetat	1,8	4,72		
EDTA	23			

2.1.4.2 Kompleksi Cr(III) sa O-donor ligandima

Heksaakva-jon $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$, ljubičaste boje, stabilan je u vodenom rastvoru, a postoji i u kristalnim solima (hloridima itd.), kao i u mnogim stipsama sastava $M'Cr(SO_4)_2{\times}12H_2O$. Ima pravilnu oktaedarsku geometriju sa dužinom Cr – O veza od 191,5 – 199,1 pm u zavisnosti od prisutnih anjona. EXAFS (engl. *Extended X-ray Absorption Fine Structure*) spektroskopijom razblaženih rastvora je dokazano postojanje sekundarnog hidratacionog

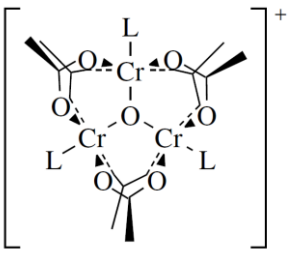
sloja, koji sadrži prosečno 13,5 molekula H_2O, sa Cr – O rastojanjem od oko 402 pm [MUNOZ-PAEZ i MARCOS, 1992].

Postoji nekoliko stabilnih izomera heksaakvahrom(III)-hlorida, među kojima je tamno zeleni *trans*-$[CrCl_2(H_2O)_4]Cl\times 2H_2O$ i komercijalno dostupan. Zagrevanjem rastvora u kojima osim jona Cr(III) postoji i Cl^- jon ljubičasta boja polako prelazi u svetlo zelenu, a potom u tamno zelenu, što je posledica izmene molekula vode u koordinacionoj sferi hroma(III) hloridnim jonima. Moguće je dobiti tri izomera $CrCl_3\times 6H_2O$ iste bruto formule, ali različitih struktura i različite boje [FILIPOVIĆ i LIPANOVIĆ, 1987]:

$[Cr(H_2O)_6]Cl_3$	ljubičast
$[Cr(H_2O)_5Cl]Cl_2\times H_2O$	svetlo zelen
$[Cr(H_2O)_4Cl_2]Cl\times 2H_2O$	tamno zelen

Brzina izmene vode u $[Cr(H_2O)_6]^{3+}$ je vrlo spora ($k = 4{,}5\times 10^{-7}$ s^{-1} na 20°C), a mnogobrojne studije sugerišu da se reakcija odvija I_a mehanizmom (*asocijativna izmena*). Akva-jon je dosta kiseo, a rezultujući hidrokso-kompleks dimerizuje u dvostruko mostni $[(H_2O)_4Cr(\mu\text{-}OH)_2Cr(H_2O)_4]^{4+}$. Dodatak baze favorizuje dalju polimerizaciju – nastajanje hidrokso-kompleksa veće nuklearnosti, od koji su neki izolovani jonoizmenjivačkom hromatografijom.

Sintetisani su mnogi *acetilacetonatni* kompleksi i srodni β-diketonati hroma(III), od kojih su neki dovoljno isparljivi da su njihovi izomeri mogli biti separisani gasnom hromatografijom, a struktura im je određena elektronskom difrakcijom u gasnoj fazi. Zahvaljujući stabilnosti i rastvorljivosti u organskim rastvaračima, paramagnetični $[Cr(acac)_3]$ se upotrebljava kao relaksacioni agens u ^{13}C-NMR spektroskopiji. Elektrofilne supstitucije na koordinisanom diketonato-prstenu su lako izvodljive, što dokazuje postojanje aromatične strukture u kompleksu. Pokušaji sinteze Cr(III)-acetata tipično dovodi do nastanka trinuklearnog kompleksa uobičajenog karboksilatnog tipa:



(2.1-15)

Tri acetatne grupe prave most između hromovih atoma, koji dele jedan centralni jon oksida (O^{2-}), a preko preostalih šest koordinacionih mesta su vezani molekuli vode ili grugih liganada.

Hrom(III) gradi brojne komplekse sa anjonima neorganskih i organskih kiselina vezujući se preko O-donor atoma, takozvane „ato"-komplekse (*oksalato*, *sulfato*, *karbonato* itd. Oksalato-kompleksi su najbolje proučeni (na primer, kalijum-trioksalatohromat(III), $K_3[Cr(C_2O_4)_3]\times 3H_2O$), kalijum-dioksalatodiakvahromat(III), $K[Cr(C_2O_4)_2(H_2O)_2]$, i predstavljaju primere kompleksnih jedinjenja sa geometrijskom izomerijom. Oksalatni (ox, $C_2O_4^{2-}$) kompleksi Cr(III) su poznati od samih početaka koordinacione hemije – reakcija hiralnog $[Cr(ox)_3]^{3-}$ sa anjonom strihnina je bila prva sinteza koordinacionog jednjenja sa optički aktivnim anjonom. Takođe, postoji serija bis(oksalato) kompleksa tipa $[Cr(ox)_2X_2]^{2+/0}$, gde je X neki od neutralnih donora (H_2O, NH_3 itd.) ili anjonskih liganada (SCN^-, N_3^- itd.). Opisani su i kompleksi Cr(III) sa drugim ligandima koji sadrže O-donorske atome, na primer THF (tetrahidrofuran) $[Cr(THF)_3Cl_3]$, urea $[Cr\{OC(NH_2)_2\}_6]^{3+}$, različiti sulfoksidi, na primer $[Cr(DMSO)_6]X_3$, amidi, na primer dimetilformamaid $[Cr(DMF)_6]X_3$, N-oksidi, itd.

Kompleksi benzoeve kiseline. U literaturi su opisani kompleksi benzoeve kiseline i prelaznih metala npr. Zn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+} Cr^{3+}, Pd^{2+}, Cd^{2+} itd., koji su ispitivani u tečnoj ili čvstoj

fazi. Kompleksi Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+} sa benzoevom kiselinom, iz etanolnih rastvora uz 7 časovni refluks, daju kristale paramagnetičnih kompleksa tipa ML_6 oktaedarske geometrije [ARUNACHALAM *et al.*, 2009].

Iako srodni i izomorfni, oni pokazuju dosta različite UV/VIS apsorpcione karakteristika, odnosno maksimume λ:

MnL_6 18900, 23100, 24970, 28000, 29700 cm^{-1}
CoL_6 17250, 25000, 35700 cm^{-1}
NiL_6 23000 cm^{-1}
CuL_6 13333 cm^{-1}

dok su IR karbonilne (C=O) trake na identičnim pozicijama kod navedenih kompleksa. Poznati su i kompleksi benzoeve kiseline sa šestovalentnim hromom, dobijeni iz CrO_3, benzoeve kiseline i etanola: $CrO_2(C_6H_5COO)(C_2H_5OH)(H_2O)$ [MISHRA i MISRA, 2011].

Kompleksi salicilne kiseline. Salicilna kiselina ima dva jonizabilna H-atoma, iz karboksilne i hidroksilne grupe, ali deprotonacija OH grupe se odvija na vrlo visokim pH, tako da se ne može pouzdano odrediti staklenom elektrodom ($pK_{a2} \approx 13{,}80$). Salicilna kiselina, kao i *o*-hidroksinaftoeva kiselina i njihovi derivati (H_2L), mogu formirati tri tipa kompleksa sa metalima MHL_i, ML_i i $M_p(OH)_qL_i$ u zavisnosti od pH. U kiseloj sredini formiraju se MHL_i kompleksi, u kojoma OH grupa nije deprotonovana. U manje kiselom medijumu mogu se očekivati ML_i helati, u kojima postoji koordinacija preko fenolatnog i karboksilatnog kiseonika. Bazne sredine favorizuju različite rastvorne hidrokso vrste $M_p(OH)_qL_i$ (npr. sa Al(III), i 3+ jonima lantanida).

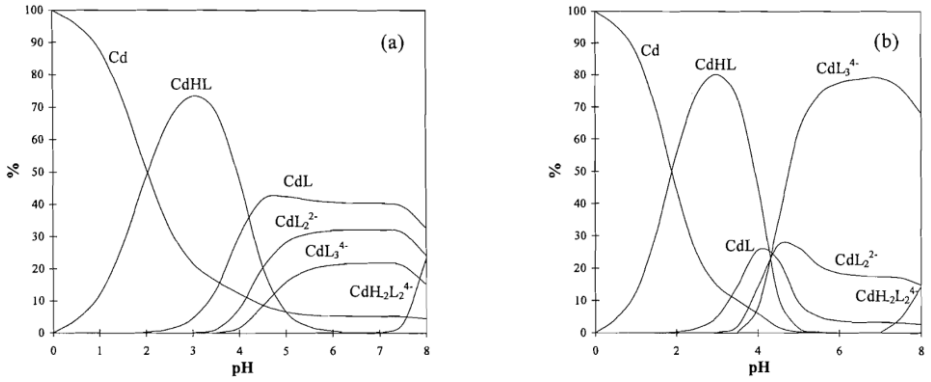
Prelazni metali i neki joni iz glavnih grupa elemenata kao Fe^{3+}, Cu^{2+}, Be^{2+}, Zn^{2+}, Cr^{3+}, Co^{2+}, Al^{3+} itd. imaju tendenciju stvaranja stabilnih kompleksa, a u mnogim slučajevima formiranje ML kompleksa se odvija na tako niskim pH da se konstanta stabilnosti ne može odretiti konvencionalnom potenciometrijskom titracijom, već se koriste spektrofotometrijske i druge metode. Fe(III) gradi mnogo stabilnije komplekse nego Fe(II), koji su uz to, intenzivno obojeni, omogućavajući spektrofotometrijsko određivanje Fe pri koncentracijama reda mg/L. U analitičkoj hemiji se koristi kvantifikacija Fe sa 5-sulfosalicilnom kiselinom, a još je osetljivija reakcija sa 1-hidroksi-4-sulfo-2-naftoatnom kiselinom. Ove dve kiseline se koriste i sepearcionim *ion-exchange* tehnikama za gvožđe i druge metalne katjone.

Tabela 2.1-4. Konstante stabilnosti kompleksa metala i salicilne kiseline [LAJUNEN *et al.*, 1997].

Jon	**$\log(K_1/M^{-1})$; $\log(K_2/M^{-1})$; $\log(K_3/M^{-1})$**
Al^{3+}	13,22 10,51
Cr^{3+}	*K* (M + HL = MHL) 3,47
	K (M + 2HL = $M(HL)_2$) 6,24
	K (M + 3HL = $M(HL)_3$) 8,41
Mn^{2+}	6,10
Fe^{3+}	16,30 15,40 7,80
Ni^{2+}	6,96 4,82
Cu^{2+}	10,63 8,36
Zn^{2+}	*K* (M + HL = MHL) 1,4
Cd^{2+}	*K* (M + HL = MHL) 1,9
Ca^{2+}	0,74
Mg^{2+}	5,153

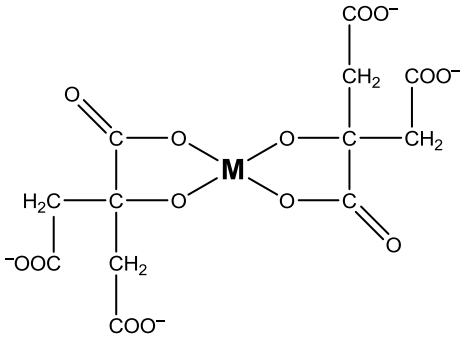
Aluminijum(III) može, u drugostepenoj reakciji, da formira sa već nagađenim mononuklearnim AlL_i (i = 1, 2) kompleksima, različite mononuklearne i polinuklearne hidroksi-vrste sa salicilnom kiselinom [ÖHMAN i SJÖBERG, 1983]. Kod zemnoalkalnih metala stabilnost kompleksa sa salicilnom kiselinom raste sa smanjenjem jonskog radijusa (Be^{2+} > Mg^{2+} > Ca^{2+} > Sr^{2+} > Ba^{2+}). Kostante stabilnosti nekih metalnih salicilata su date u tabeli 2.1-4. [LAJUNEN *et al.*, 1997].

Kompleksi ftalne kiseline. Molekul ftalne kiseline sa dve –COOH grupe podleže dvostepenoj deprotonizaciji i može se pojaviti kao ligand različite dentatnosti pri različitim pH (H_2Pht, $HPht^-$, Pht^{2-}) dajući komplekse različitog stehiometrijskog sastava i tipa. Ftalna kiselina se u istraživanjema model-sistema često koristi kao surogat jedinjenje za ispitivanja zemljišne organske materije, odnosno huminske kiseline, a u hemijskom pogledu, predstavlja dobar ligand za Cr(III) i mnoge druge jone prelaznih metala i, kao takva, može da utiče na mobilnost teških metala u zemljištu, pored drugih parametara [SCHNIDLER, 1990; STUMM, 1992]. Interakcije ftalne kiseline i hroma sa komponetama zemljišta (tj. u binarnim i ternarnim sistemima) su detaljnije prikazane u poglavlju 2.4.1. Varijabilnost kompleksnih vrsta binarnog sistema Cd(II) i ftalne kiseline i njihova distribucija u funkciji pH je prikazana na slici 2.1-6. [LUCAS VAZ *et al.*, 1996].



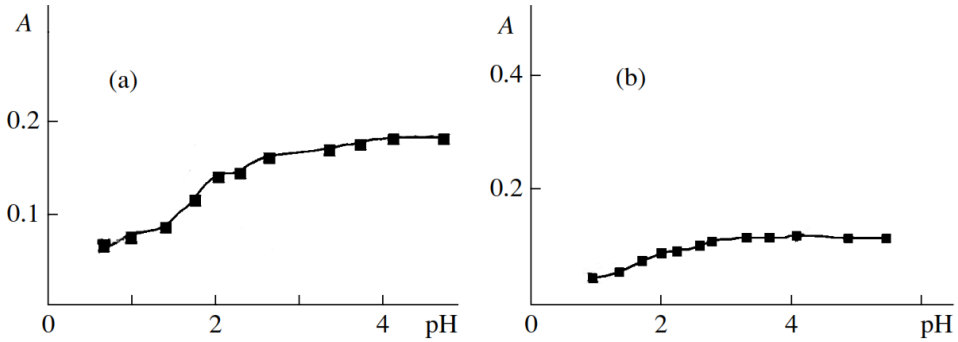
Slika 2.1-6. Distribucija kadmijumovih kompleksa sa ftalnom kiselinom u funkciji pH za odnos ligand/metal (a) 2 i (b) 100 [LUCAS VAZ *et al.*, 1996].

Kompleksi limunske kiseline. Molekul daje mogućnost trostepene deprotonizacije usled posedovanja tri –COOH grupe, a pri nešto višim pH i četvrti, nekarboksilni H-atom može da učestvuje u proton transferu, te se limunska kiselina može prikazivati i kao H_3Cit, ali kao H_4Cit. Limunska kiselina je odličan helatni agens (slika 2.1-7.) koji dobro vezuje katjone metala, zato ima primenu za uklanjanje kamenca iz bojlera i isparivača, za omekšavanje vode, kao sastojak sapuna i deterdženata za mašinsko pranje. Kao ilustracija helatnih sposobnosti citrata, interesantna je njegova primena kao prvog uspešnog eluenta u separaciji lantanida jonskom izmenom, za potrebe *Manahattan Project*-a 1940-tih u USA (razvoj atomske bombe). Helat limunske kiseline sa hromom(III) je važna karika u prirodnom metabolizmu jona hroma u zemljištu („ciklus hroma“) i vodi [NAKAYAMA *et al.*, 1981].



Slika 2.1-7. Struktura helatnog kompleksa metal – citrat.

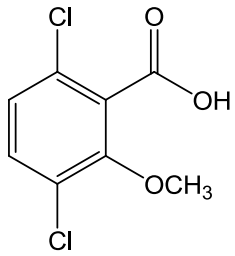
Konstante stabilnosti homoligandnih (homoleptičkih) kompleksa hroma(III) i H_4Cit imaju vrednosti: $\log\beta\ [CrH_2Cit]^+ = 29{,}59$; $\log\beta\ [CrHCit] = 27{,}11$ pri jonskoj jačini $I = 0{,}1$ mol/L [LURIE, 1989]. Elektronski spektri Cr(III) akva kompleksa pokazuju dve trake na 575 ($^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{2g}$, ^4F) i 405 nm ($^4A_{2g} \rightarrow {}^4T_{1g}$, ^4F), koje posle dodavanja limunske kiseline daju veću apsorbancu (A) uz pojavu hipsohromnog efekta. Sa povećanjem pH rastvora apsorbanca raste, kako je prikazano na slici 2.1-8.



Slika 2.1-8. Grafički prikaz apsorbance apsorbance, A vs. pH na (a) 400 nm i (b) 540 nm vodenih rastvora $Cr(ClO_4)_3$ i H_4Cit u molskom odnosu 1 : 3; $c(Cr^{3+}) = 8{,}84\times10^{-4}$ mol/L [KORNEV i MIKRYUKOVA, 2004]

UV/VIS spektar heteroleptičkog kompleksa $(NH_4)_4[Cr(C_6H_4O_7)(C_6H_5O_7)]\times3H_2O$ pokazuje više apsorpcionih traka niskog intenziteta: $\lambda_{max} = 570$ nm ($\varepsilon = 27{,}8$); $\lambda_{max} = 450$ nm ($\varepsilon \sim 22$); $\lambda_{max} = 393$ nm ($\varepsilon = 33{,}3$); $\lambda_{max} = 318$ nm ($\varepsilon \sim 9$); $\lambda_{max} = 270$ nm ($\varepsilon = 244{,}5$). X-ray analiza pokazuje komplikovanu slojevitu kristalnu strukturu usled postojanja velikog broja vodoničnih veza [GABRIEL *et al.*, 2006]. Zbog jakih helatnih svojstava citrat gradi i heteroligandne (mešovite) komplekse sa Cr^{3+} i EDTA [KORNEV i MIKRYUKOVA, 2004].

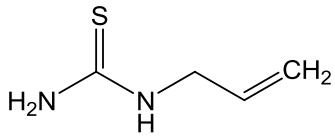
Kompleksi dikambe. U literaturi su opisani metalni kompleksi dikambe, od kojih neki imaju karakteristične osobine, kao $[Ca(dicamba)_2(H_2O)_2]_n$ koji ima ortorombičnu geometriju molekula i poseduje dva molekula vode [Ca-O, 2.414(3) Å] i šest karboksilatnih kiseonika iz dve bidentatne helatne grupe [Ca-O, 2.516, 2.517(3) Å] kao i dve mostne karboksilne veze između molekula [2.372(3) Å], što rezultuje beskonačnom linearnom polimernom strukturom kristala [KENNARD *et al.*, 1984]. Kompleksi sa hromom do sada nisu referencirani, a sintetetisani su kompleksi sa cinkom $\{[Zn(dicamba)_2(H_2O)_3]\times2H_2O\}_n$, kao i sa njim izomorfni Co(II) i Mn(II) kompleksi [Smith *et al.*, 1983], zatim kompleksi sa Hg(II), Pb(II) i Cd(II) u kojima je konstantovan kako bidentatni, tako i monodentatni karakter dikambe [TUREK *et al.*, 2004].



2.1.4.3 Kompleksi Cr(III) sa S-donor ligandima

Generalno, Cr(III) jon sa svojim efektivnim jonskim radijusom, ima manje izraženu tendenciju za vezivanje sa S-donoskim atomima liganada u odnosu na O i N-donore, odnosno energetska stabilizacija ligandnog polja je bolja sa donorima manjih radijusa. Uvođenje liganada sa S-donor atomima u koordinacinu sferu vodenih rastvora Cr(III) jona je postignuto oksidacijom $Cr^{2+}(aq)$ različitim oksidantima koji sadrže sumporni atom, pri čemu je dobijena serija kompleksa sastava $[Cr(SR(H_2O)_5]^{2+}$ (R = H, alkil, aril). Svi oni podležu supstituciji sumpornog liganda vodom.

U neakvatičnim medijima su sintetisani brojni *tiolato*-kompleksi $[Cr(SR)_3]$ (R = Me, Et, Ph, benzoil, itd.) i tioetarski adukti Cr(III) halida $[CrX_3(L)_3]$ (X = Cl, Br; L = THT – tetrahidrotiofen, SMe_2, SEt_2). Isto tako, postoje brojni kompleksi sa bidentatnim sumpornim ligandima, kao što su ditiokarbamati, 1,2-ditiodiketonati, 1,2-ditiolati i drugi [KING, 2001].



***N*-aliltiourea.** Kompleksi sa hromom nisu referencirani u literaturi. Sintetisani su različiti kompleksi *N*-aliltiouree u kristalnom stanju, na primer tri-*N*-aliltiourea kadmijum-hlorid [$CdCl_2(C_4H_8N_2S)_3$], tri-*N*-aliltiourea-živa(II)-bromid [$HgBr_2$-$(C_4H_8N_2S)_3$], itd. [SAGAYARAJ i JOSEPH, 2009], od kojih Cd(II)-kompleks u UV/VIS spektru pokazuje najnižu granicu transparentnosti (285 nm) i najširi pojas bez apsorpcije (300 – 1.500 nm). Kao polifunkcionalni ligand, *N*-aliltiourea ima mogućnost koordinacione interakcije kako preko S, tako i preko dva N-atoma primarne i sekundarne amino grupe. Međutim, sa metalnim hromom i sa drugim metalima (Fe, Ni itd.), ona ima mogućnost formiranja dosta jakih veza sa atomima na površini metala, gradeći tako kompaktan monomolekularni sloj (hemisorpcija). Ova osobina je iskorišćena za njenu upotrebu kao inhibitora korozije različitih legura gvožđa. Treba naglasiti da se mehanizmi i interakcije koje se pri tome ostvaruju, bitno razlikuju od onih koje su prisutne u metal-ligand sistemima u tečnoj fazi

2.1.4.4 Kompleksi Cr(III) sa N-donor ligandima

Kompleksi trovalentnog hroma sa NH_3 i aminima (mono- i polidentatnim) su dokazani u najraznovrsnijim koordinacionim kombinacijama, i spadaju u prva proučavana kompleksna jedinjenja koja su dobili WERNER i njegovi savremenici početkom XX veka. Tipični predstavnici ove klase jedinjenja uključuju $[CrA_6]^{3+}$ (A = NH_3, amin) i mnogobrojne mešovite (heteroleptičke) komplekse tipa $[CrA_{6-(n+m)}L_nX_m]^{(3-m)+}$ (L = neutralni donor ligand, npr. H_2O; X = monoanjonski ligand, npr. halidi). Tako se žute akvapentaaminhrom(III)-soli, $[CrH_2O(NH_3)_5]X_3$ mogu dobiti ako se odgovarajuće heksaaminhrom(III)-soli, $[Cr(NH_3)_6]X_3$ zagrevaju sa vodom. Grimizni hloropentaaminhrom(III)-hlorid, $[CrCl(NH_3)_5]X_2$ nastaje ako se kroz vodeni rastvor koji sadrži hrom(II)-hlorid, amonijum-hlorid i amonijak, produvava vazduh.

U ovom oksidacionom stanju, hrom, pored polinuklearnih kompleksa sa oksidnim ili kiseoničnim mostovima, koji često komplikuju i reakcije ovog jona u neutralnim i alkalnim rastvorima, gradi slične strukture i sa amino-ligand mostovima.

Cijano-kompleksi nisu posebno stabilni, obično su žute boje, karakteristični predstavnik je kalijum-heksacijanohromat(III), $K_3[Cr(CN)_6]$ koji se dobija dodatkom KCN rastvoru $Cr(OH)_3$ u sirćetnoj kiselini. Među *tiocijanato*-kompleksima je najpoznatija takozvana Rejnekova (*Reinecke*) so: $NH_4[Cr(NCS)_4(NH_3)_2]\times H_2O$, čiji se anjon koristi u analitičkoj hemiji za taloženje velikih katjona iz rastvora i to kako neorganskih tako i organskih. Nastaje laganim dodavanjem $(NH_4)_2Cr_2O_7$ rastvoru NH_4SCN. Kristalizacija se vrši iz alkohola. Postoji takođe, i veliki broj mešovitih *acido-amino-akva kompleksa*.

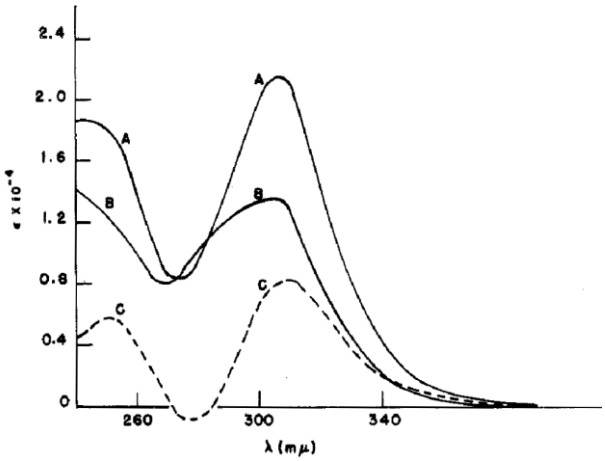
Azotna heterociklična jedinjenja takođe grade seriju Cr(III) kompleksa, uz nastajanje π-veze pored osnovne veze metal – ligand. Kompleksi ovog tipa mogu sadržati piridin i njegove derivate, imidazole, pirazine i pirazole, a svi imaju oktaedarsku geometriju (KB = 6).

2,2'-Bipiridin. Karakterističan je kao bidentatni helatni ligand, koji formira komplekse sa mnogim prelaznim metalima. Kompleksi rutenijuma i platine sa 2,2'-bipiridinom pokazuju intenzivnu *luminescenciju*, te stoga imaju praktične primene kao *luminofori*. U seriji kompleksa sa 2,2'-bipiridinom kao helatnim ligandom, od $[Cr(bipy)_3]^{3+}$ do $[Cr(bipy)_3]^{3-}$, prva i najoksidovanija vrsta u nizu, je dobro proučena u pogledu kristalne strukture i spektroskopskih karakteristika [HAUSER *et al.*, 1987].

Iako se nekoordinisani 2,2'-bipiridin obično predstavlja strukturnom formulom sa azotovim atomima u *cis* položaju, najnižu energiju, kako u čvrstom stanju, tako i u rastvoru, ima zapravo koplanarna konformacija sa N-atomima u *trans*-poziciji. Samo u kiselim rastvorima 2,2'-bipiridin ima dominatan udeo *cis*-konformacije [GÖLLER i GRUMMT, 2000]. Slični *N*-heterociklični ligand *fenantrolin*, ne poseduje takvu konformacionu fleksibilnost i

pokazuje jaču tendenciju vezivanja metala. Ispitivana su takođe i koordinaciona svojstva supstituisanih mnogih bipiridina [SMITH i LAMBA, 2004; SMITH i SAVAGE, 2004]. Među kompleksima 2,2'-bipiridina u literaturi su navođeni $Mo(CO)_4(bipy)$ sintetisan iz $Mo(CO)_6$, zatim $RuCl_2(bipy)_2$ koji je korišćen kao prekursor za sintezu mešovitih kompleksa [LAY, SARGESON i TAUBE, 1986]. $Ru(bipy)_3Cl_2$ je dobro proučen kao *luminofor*, a opisan je i $[Fe(bipy)_3]^{2+}$ preko koga se vrši kolorimetrijska analiza gvožđa, itd.

Izolovani su kristalni kompleksi 2,2'-bipiridina sa hromom(III) sa različitim anjonima, na primer *tris*(2,2'-bipridin)hrom(III) perhlorat, $[Cr(bipy)_3](ClO_4)_3$ [LEE i HOGGARD, 1989]. Bipiridinski kompleksi mogu intenzivno da apsorbuju u vidljivom delu spektra (slika 2.1-9.). Elektronski prelazi su definisani mehanizmom metal-ligand prenosa naelektesanja (engl. *Metal-to-Ligand Charge Tranfer*, MLCT). U *tris*-(bipy) kompleksima, tri molekula 2,2'-bipiridina koordinišu metalni jon (Co, Fe, Cr, Rh, Ru itd.), dajući oktaedarsku geometriju odgovarajućeg kompleksa sa $K_b = 6$, ali sa dve moguće enantiomerne forme*. Ovi i drugi homoleptični tris-2,2'-bipy kompleksi mnogih prelaznih metala su elektroaktivni, odnosno, elektrohemijske reakcije na metalu ili na ligandu su reverzibilni procesi sa transferom jednog elektrona, i mogu se proučavati cikličnom voltametrijom. Pri jako redukcionim uslovima, većina *tris*(bipy) kompleksa može biti redukovana u neutralne vrste koje sadrže $(bipy)^-$ ligande, kao na primer $[M(bipy)_3]^0$, gde je M = Al, Cr, Si.



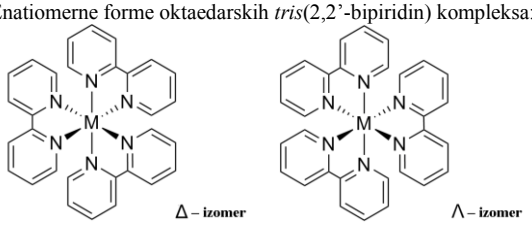
Slika 2.1-9. UV/VIS spektri hrom-bipiridin kompleksa: (A) rastvor $[Cr(bipy)_2Cl_2]^+$; (B) $[Cr(bipy)_3]^{2+}$; (C) razlika spektara A – B; [SOIGNET i HARGIS, 1973].

Proces kompleksiranja 2,2'-bipiridina jonima hroma je predmet brojnih radova, a u literaturi je naznačeno više mogućih vrsta kompleksirajućih reakcija u zavisnosti od *redoks*-uslova, a koje su indikovane polagrafskom metodom. Podaci iz pojedinih istraživanja ukazuju i na mogućnost stvaranja Cr(II)-bipy koordinacionih jedinjenja, jona ili neutralnih vrsta, na primer:

$$[Cr(bipy)_2Cl_2]^+ + e^- = [Cr(bipy)_2Cl_2]^0 \qquad [E_{1/2} = -0{,}73\ V] \qquad (2.1\text{-}16)$$

$$[Cr(bipy)_2Cl_2]^0 + 4H_2O = [Cr(bipy)(H_2O)_4]^{2+} + 2Cl^- + bipy \qquad (2.1\text{-}17)$$

* Enatiomerne forme oktaedarskih *tris*(2,2'-bipiridin) kompleksa:



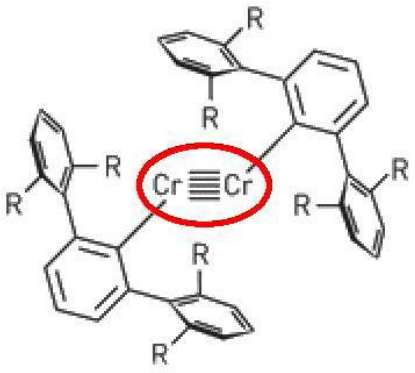
$$[Cr(bipy)_2Cl_2]^0 + bipy = [Cr(bipy)_3]^{2+} + 2Cl^- \quad (2.1\text{-}18)$$

Generalno, koordinacione karakteristike jona hroma i 2,2'-bipiridina mogu da pokazuju složene reakcione puteve, s obzirom na različita elektrohemijska ravnotežna stanja kako Cr(II)/Cr(III), tako i bipiridina i nastalih kompleksa, zatim na koordinaciona zasićenja anjonima i molekulima matriksa, *redoks*-uslove itd., pri čemu se $[Cr(bipy)_3]^{3+}$ javlja samo kao jedna od mogućih vrsta, pri izraženim oksidacionim uslovima [SOIGNET i HARGIS, 1973].

2.1.4.5 Kompleksi hroma drugih oksidacionih stanja

KOMPLEKSI HROMA(0). Redukcijom uobičajenih hromnih soli ($CrCl_3$, $CrCl_2$, $Cr_2(OAc)_4$) u prisustvu helatnih azotnih heterocikličnih jedinjenja kao što su 2,2'-bipiridin ili fenantrolin nastaju formalno neutralni Cr^0 kompleksi $Cr(L{-}L)_3$ kao i soli tipa $[Cr(L{-}L)_3]X$ (gde je L–L = bipy, phen; X = I^-, ClO_4^-). $[Cr(bipy)_3]$ je crna čvrsta supstanca, trigonalno deformisane oktaedarske strukture (Cr–N 208 pm; N–Cr–N 74,7°). Usled jakog ligandnog polja ovih liganada, $Cr(L{-}L)_3$ oni poseduju nisko-spinsku konfiguraciju (t_{2g}^6), dok na primer $[Cr(bipy)_3]X$ ima efektivni magnetni moment 2,07 μ_B, u skladu sa postojanjem jednog nesparenog elektrona (t_{2g}^5).

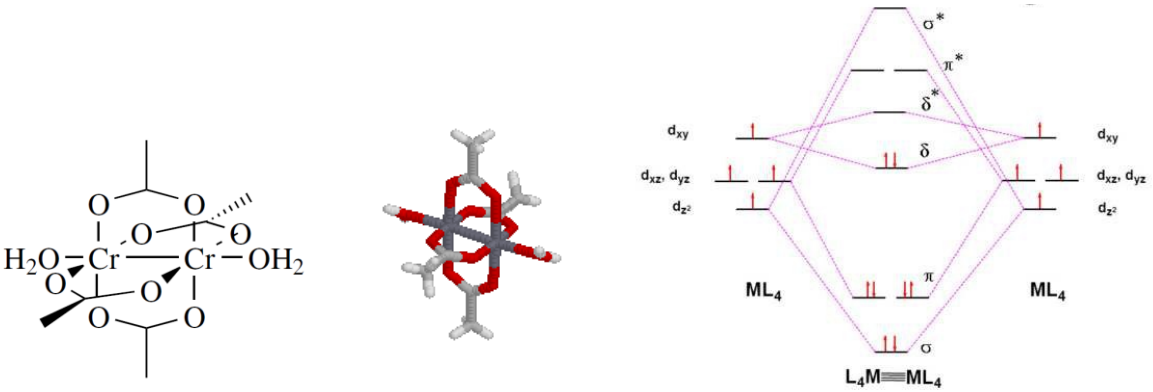
KOMPLEKSI HROMA(I). Nedavnim istraživanjima je potvrđena struktura kompleksnog jedinjenja hroma sa petostrukom vezom između dva Cr(I) – Cr(I) jona. Jedinjenje Ar'CrCrAr' (R = izopropil) se izdavaja u obliku tamno crvenih kristala, koji su veoma oseljivi prema vazduhu i vlazi (slika 2.1-10.). Difrakcija X-zraka pokazuje dužinu Cr-Cr veze od oko 1,84 A. Isto tako je ustanovljeno postojanje Cr(0) i Cr(I) kompleksa aril- i alkil- izocijanida (RCN) cijanida, sa organometalnom Cr – C vezom.



Slika 2.1-10. Struktura kompleksa Ar'CrCrAr'

KOMPLEKSI HROMA(II). Koordinaciona hemija Cr(II) se može podeliti na dva domena: prvi čine mononuklearni kompleksi, koji se formalno mogu izvesti iz plavog $[Cr(OH)_6]^{2+}$ jona, a sa druge strane su jedinjenja koja uključuju postojanje metal – metal veza (najčešće oktaedarski visokospinski kompleksi tetragonalne distozije, usled *Jahn-Teller*-ovog efekta).

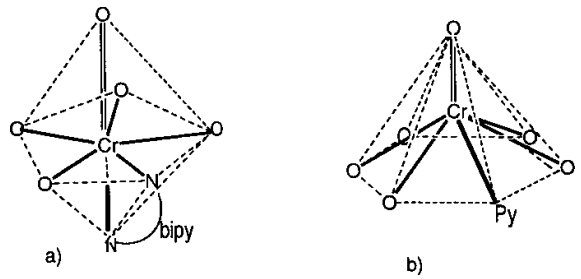
Jedinjenje $[Cr_2(OAc)_4]\times 2H_2O$, (slika 2.1-11.). predstavlja primer Cr(II) kompleksa koji je, posle izolovanja, relativno stabilan na vazduhu. Svaki Cr(II)-jon ima 4 *d* elektrona, ali je kompleks dijamagnetičan, što se objašnjava formiranjem četvorostruke veze između dva metalna jona. Međuatomsko rastojanje je određeno između 195 i 225 pm (elektronska difrakcija u gasnoj fazi). Konstanta disocijacije ovog kompleksa u pogledu njegovog prelaska u odgovarajuće monomere (sa jednim Cr) je ispitivana u tečnim sistemima sirćetna kiselina/voda: $K_D = 7\times 10^{-7}$ M ($[H_2O]$ = 8,32 M) i $K_D = 4{,}5\times 10^{-5}$ (čista H_2O) [WILSON i CANNON, 1988].



Slika 2.1-11. Struktura i MO-dijagram $[Cr_2(OAc)_4]$ kompleksa.

KOMPLEKSI HROMA(VI). Zbog jakih oksidacionih osobina Cr^{6+} jona, njegova kompleksna jedinjenja su srazmerno retka. Pored CrF_6 koji nije sa sigurnošću dokazan, jedini sigurni *halo*-kompleksi Cr(VI) jesu *oksihalidi* – CrO_2X_2 u kojima X može biti veliki broj anjonskih grupa (NO_3^-, ClO_4^-, FSO_3^-, OAc^-, N_3^-, O_2CR^- itd.).

U koordinacionoj hemiji uopšte, relativno mali broj kompleksa ima pentagonalno-bipiramidalnu strukturu, koja se objašnjava d^3sp^2 hibridizacijom. Od koordinacionih jedinjenja hroma(VI) ovakve geometrije, i sa koordinacionim brojem KB = 7, opisan je mešoviti peroksobipiridinski kompleks $[CrO(O_2)_2(bipy)]$ Dat na slici 2.1-12.a, kod koga je aksijalna perokso-veza znatno kraća (157 pm) od aksijalne bipiridinske veze (223 pm). Sličan mešoviti peroksopiridinski kompleks (slika 2.1-12.b) šestovalentnog hroma $[CrO(O_2)_2py]$ ima drugačiju geometriju, to jest, heksagonalno piramidalno strukturu, kod koje je aksijalna perokso-veza kraća (164 pm) od ostale četiri veze (180 pm).



Slika 2.1-12. Struktura dva Cr(VI), KB = 7 kompleksa, peroksobipiridinski (levo) i perokso-piridinski (desno).

Na kraju ovog prikaza koordinacione hemije hroma, u tabeli 2.1-5. je dat pregled poznatih koordinacionih geometrija za različite kombinacije oksidacionog stanja metala i KB vrednosti, sa odgovarajućim primerima.

Tabela 2.1-5. Primeri koordinacionih jedinjenja za pojedina oksidaciona stanja hroma

Oksidaciono stanje	Koordinacioni broj	Koordinaciona geometrija	Primer
Cr^{-4}	?	?	$Na_4[Cr(CO)_4]$
Cr^{-2}	?	?	$Na_2[Cr(CO)_5]$
Cr^{-1}	6	oktaedar	$Na_2[Cr_2(CO)_{10}]$
Cr^{0}	6	oktaedar	$Cr(CO)_6$, $Cr(bipy)_3$
Cr^{+1}	6	oktaedar	$[Cr(NCR)_6]^+$
Cr^{+2}	4	kvadratno planarna	$Cr(O_2CCF_3)_2(Me_2py)_2$
	4	tetraedar	$CrCl_2(MeCN)_2$
	4	*cis*-divakantni oktaedar	$Tp^{tBu,\ Me}CrCl$
	4	trigonalna piramida	$[Na(THF)_2(N_3N)Cr]$
	5	trigonalna bipiramida	$[CrBr\{N(CH_2CH_2NMe_2)_2\}_3]^+$
	6	oktaedar	$CrCl_2$, $[Cr(en)_3]^{2+}$
	7	trigonalna prizma	$[Cr(CO)(diars)_2X]^+$
Cr^{3+}	3	trigonalno planarna	$Cr\{N(SiMe_3)_2\}_3$
	4	tetraedar	$[CrCl_4]^-$
	5	trigonalna bipiramida	$CrCl_3(NMe_3)_2$
	6	oktaedar	$[Cr(NH_3)_6]^{3+}$, $[Cr(CN)_6]^-$
Cr^{4+}	4	tetraedar	$Cr(NEt_2)_4$, $Cr(O\text{-}t\text{-}Bu)_4$
	6	oktaedar	$[CrF_6]^{2-}$
	8	dodekaedar	$CrH_4(dmpe)_2$
Cr^{5+}	4	tetraedar	$[CrO_4]^{3-}$
	5	kvadratno piramidalna	$[CrOCl_4]^-$
	6	oktaedar	$[CrOCl_5]^{2-}$
	8	dodekaedar	$[Cr(\eta^2\text{-}O_2)_4]^{3-}$
Cr^{6+}	4	tetraedar	$[CrO_4]^{2-}$, CrO_2Cl_2

2.2 Biološke i toksikološke osobine hroma

Hrom je jedan od esencijalnih, ali istovremeno i toksičnih mikroelemenata u zavisnosti od njegovog valentnog stanja i od prirode liganda koji je vezan [*Toxicological Profile for Chromium*, 2002]. Tako npr. manje rastvorna jedinjenja hroma koja se mogu taložiti u plućima imaće veće retenciono vreme od rastvorljivih formi hroma, dok s druge strane, jedinjenja hroma(VI) kao manje rastvorana, se u stomaku mogu brzo redukovati, preko intermedijera koji sadrže Cr(V) ili Cr(IV), do Cr(III) koji je manje štetan. U literaturi koja se odnosi na biohemiju i fiziologiju hroma postoje brojni podaci sa opštim zaključkom da se jedinjenja Cr(III) i metalni hrom ne smatraju previše opasnim po zdravlje, dok je toksičnost šestovalentnog hroma mnogo više izražena i proučavana je decenijama unazad.

2.2.1 Biološke i toksikološke osobine hroma(VI)

Jedinjenja hroma(VI) su toksičnija od jedinjenja hroma(III). Slično jonima sulfata i fosfata, hrom(VI) ulazi u ćelije ubrzanim transportom kroz membranu eritrocita i vezuje se za globinski deo hemoglobina, dok hrom(III) prolazi ćelijsku membranu jednostavnom difuzijom. Takođe, u biološkim sistemima redukcija hroma(VI) do hroma(III) dovodi do stvaranja slobodnih radikala, koji mogu da nagrade komplekse sa intracelularnim komponentama. Akutna toksičnost hroma(VI) je posledica jakog oksidacionog potencijala. Po ulasku u krvni sistem, on oštećuje bubrege, jetru i same krvne ćelije putem oksidacionih procesa. Medicinska terapija ovakvih stanja se bazira na intenzivnoj dijalizi. Zdravstveni efekti hroma(VI) zavise od načina prodiranja hroma u organizam, tako da su respiratorni efekti direktno vezani sa inhalacijom jedinjenja hroma, ali nisu ispoljeni u slučaju oralnog ili dermalnog unosa, dok su npr. gastroinestinalni efekti uslovljeni oralnim unosom.

Respiratorni efekti. Respiratorni trakt je najviše izložen pri inhalacionom unosu jedinjenja hroma (VI). Respiratorni efekti su najčešće uočeni kod radnika u hemijskoj industriji, kod kojih su zapažene sledeće posledice: epistakis, hronična rinorea, svrab, bol i atrofija nazalne sluznice, perforacije i ulceracije nosnih pregrada, bronhitis, upala pluća, astma.

Gastrointestinalni efekti. Akutna oralna izloženost ljudi dovodi do: bolova u stomaku, povraćanja, ulceracije, krvarenja, nekroza, krvavih proliva.

Imunoloski efekti. Ovi efekti se pre svega ogledaju kroz alergiju, a ponekad kroz dermatitis i astmu. Postoje dva tipa hiperzenzitivnosti: tip A) neposredni početak IgE posredovan imuni mehanizam, tip B) produženi, ćelijski posredovan. Posledice od par dana

do par nedelja: eritem, edem, plikovi, zadebljanja. Dešava se kod radnika u štamparijama, litografskoj industriji, fabrikama automobila, cementnoj i papirnoj industriji. Može da dovede i do astme, ako se nalazi u vazduhu. Kod životinja, napada imuni sistem.

Hematološki efekti. Hrom(VI) se distribuira u organizmu krvotokom i akumulira se u eritrocitima. Kada se nađe u ćeliji, brzo se redukuje do hroma(III) i vezuje za hemoglobin i druge ligande. Kompleks hrom-hemoglobin je relativno stabilan i ostaje unutar ćelije tokom postojanja eritrocita, pri čemu se do 1% hroma eluira iz eritrocita dnevno. Kod ljudi su retko uočavani hemalotoški efekti, mada su kod životinja uočene mikrocitične, hipohromične anemije (kod pacova traje od 4 dana do 1 godine; manifestuje se kroz smanjenje količina hematokrita, hemoglobina, eritrocita).

Dermalni efekti. Hrom(VI) može izazvati efekte na koži i membrani sluzokože – iritacije, opekotine, čireve, alergijski tip dermatitisa. Većina dermalnih efekata se javlja u slučaju srednjeg hroničnog izlaganja hromu i izloženosti velikim količinama hroma(VI). Spoljna izloženost ne izaziva dermalne efekte. Akutna izloženost hromu(VI) može izazvati opekotine na koži. Osobe koje dođu u direktan kontakt sa hromičnom kiselinom dobijaju ozbiljnije opekotine. Iako kontakt sa hromnim solima moze izazvati samo svrab, neizlečeni čirevi ili rane (takođe zvani "rupe hroma") na koži mogu predstavljati problem zato što hrom može prodreti duboko u kožu usled produžene izloženosti.

Okularni efekti. Mogu se javiti pri direktnom kontaktu sa hromom(VI). Efekti su zagušenje konjuktiva, oštećenje rožnjače i opekotine.

Efekti na DNK. Rezultati istraživanja kod ljudi pokazuju pojavu hrom(VI) indukovane DNK, hromozomske aberacije, neplanske DNK sinteze, povećane hromatinske razmene. Iako ima različitih studija i rezultata, istraživanja su ipak dokazala hromozomske efekte kod radnika koji su duže vreme izloženi hromu. Tri sukcesivna mehanizma su predložena kao objašnjenje kancerogenosti i genotoksičnosti hroma(VI) [CRICHTON, 2008]:

a) Prvi mehanizam uključuje visoko reaktivne *hidroksilne radikale*, kao i druge reaktivne radikale, koji su nuzproizvod redukcije Cr(VI) u Cr(III).
b) Drugi proces uključuje direktno vezivanje Cr(V), nastalog redukcijom u ćeliji, i Cr(IV)- jedinjenja, na DNA.
c) Treći faktor genotoksičnosti podrazumeva vezivanja na DNA trovalentnog hroma, kao krajnjeg stadijuma redukcije.

Rak. Dugoročnom izloženošću hromu(VI) povećava se rizik od raka respiratornog sistema, primarno bronhogenog i nazalnog. Hronično udisanje para hromatne kiseline Cr(VI) ili njene prašine prouzrokuje bronhijalni rak pluća, a zabeleženi su brojni smrtni slučajevi kod radnika dugoročno izloženih hromu(VI). Kancerogen je i kod životinja, koje su izložene hroničnoj inhalaciji.

Smrt. Smrt je moguća samo ukoliko se jedinjenja hroma unesu oralno u organizam. LC50 za mužjake pacova kreće se od 33 – 82 mg, a za ženke od 29 – 45 mg. Ženski pacovi su osetljiviji od mužjaka na mnoga jedinjenja hroma izuzev natrijum-hromata koji je podjednako toksičan i za mužjake i za ženke. Posledice koje se javljaju su respiratorne tegobe, iritacije i smanjena telesna težina.

Akutna oralna toksičnost hroma(VI) kod ljudi se procenjuje na 50 – 150 μg/kg. Svetska zdravstvena organizacija (WHO) određuje maksimalnu dozvoljenu koncentraciju Cr(VI) na 0,05 mg/l u vodi za piće. Takođe, jedinjenja Cr(VI) su na listi supstanci čija se upotreba ograničava evropskim regulativama (*EU – Restriction of Hazardous Substances Directive*, 2002/95/EC). U nekim delovima Rusije, petovalentni hrom je primećen kao uzročnik prerane demencije [CRICHTON, 2008].

2.2.2 Biološke i toksikološke osobine hroma(III)

Za razliku od Cr(VI), Cr(III) pokazuje manju toksičnost. U kojoj meri će jedinjenja Cr(III) biti toksična zavisi od dužine ekspozicije. Hrom(III) se smatra korisnim za normalan rad metabolizma i njegovo unošenje u niskim količinama u organizam se ne smatra štetnim, ali nedostatak Cr(III) ne izaziva nikakve bolesti. Osnovni neželjeni efekti jedinjenja Cr(III) odnose se na respiratorni i imuno sistem. Rezultati istraživanja na životinjama pokazuju da se neželjeni efekti javljaju prilikom razvoja i reprodukcije odraslih jedinki, dok takvi negativni efekti nisu primećeni kod ljudi. Vršena su ispitivanja delovanja različitih hromnih jedinjanja kao sto su hrom(III)-acetat, hrom(III)-hlorid, hrom(III)-oksid itd., a dobijeni rezultati pokazuju da se javljaju gastrointestinalni, hematološki, kardiovaskularni i skeletni neželjeni efekti. Ova jedinjenja imaju manji negativni efekat od jedinjenja sa Cr(VI).

Respiratorni efekti. Na osnovu vršenih ispitivanja uočeno je da nakon izlaganja jedinjenjima Cr(III) dolazi do pojave neželjenih respiratornih efekata, pri čemu je respiratorni trakt na meti prilikom disanja, a mogu se javiti i hronična oboljenja.

Gastrointestinalni efekti. Apsorpcija trovalentnog hroma je manja od 1% u odnosu na dozu koja se unosi normalnom ishranom, a kisela sredina želuca održava hrom u trovalentnom obliku i redukuje šestovalentni hrom do trovalentnog. Apsorpcija hroma(III) u samom želucu je zanemarljiva. Bazna sredina dvanaestopalačnog creva prevodi soli hroma u nerastvorne komplekse, tako da samo kompleksna jedinjenja hroma ostaju u rastvoru.

Imunološki i reproduktivni efekati. Prilikom izlaganja organizma jedinjenjima hroma(III), kao što su hrom(III)-hlorid, mogu se javiti alergijske reakcije. Štetno dejstvo na reproduktivno zdravlje ispitivano je i uočeno kod miševa i pacova, koji su bili izloženi hromu preko hrane ili vode. Posledica je manji broj začeća kod ženki pacova, promene u seksualnom ponašanju, agresivno ponašanje prema mužjacima i gubitak telesne težine.

Rak. Ispitivanja pokazuju da se rak kod ljudi može javiti samo u slučaju dugotrajne inhalacije sa Cr(III), dok ekspozicija dermalnim putem nije uzrokovala ni jedan zabeležen slučaj.

Mehanizam apsorbcije i transporta hroma(III) u organizmu još uvek nije potpuno poznat. Apsorbcija hroma nije spontan, difuzan proces, već je aktivan proces koji zahteva utrošak energije i zavisi od brojnih faktora. Apsorbcija hroma se intenzivno smanjuje prisustvom fitične kiseline (inizitol-heksafosfata), a povećava prisustvom askorbinske kiseline. Takođe je dokazana konkurencija u apsorpciji između Cr i metala Fe, Zn, Mn i V. [BURROWS, 1983]. Pokazano je da je brzina apsorcije hroma u gastrointestinalnom traktu relativno spora i da se različita jedinjenja trovalentnog hroma apsorbuju različitim brzinama. Tako se recimo, Cr_2O_3 znatno sporije apsorbuje od $CrCl_3$. Utvrđeno je da se jedinjenja Cr(VI) apsorbuju znatno brže nego jedinjenja Cr(III). Nakon apsorpcije hroma u gastrointestinalnom traktu, smatra se da se transport hroma u krvi vrši pomoću *transferina* – glikoproteina krvne plazme sa molekulskom težinom 80 kD, koji je prvenstveno značajan u prenosu gvožđa, usled specifično vezujućih mesta, a zatim se hrom(III) raspoređuje u tkivima vezan za siderofilin [CRICHTON, 2008].. Mehanizam prenosa hroma transferinom još uvek nije detaljno proučen. Rezultati ispitivanja su pokazali pisustvo više od 80% precipitovanog ^{51}Cr na transferinu, kod pacova izloženih izotopski obogaćenom hrom(III)-hloridu. Na kraju metaboličkog procesa, samo mali deo hroma se izlučuje putem urina, a najveći deo kako apsorbovanog, tako i neapsorbovanog hroma, izlučuje se u fecesu.

Ispitivanja letalnih doza na životinjama pokazala su, na primer, da mačke tolerišu 1g/kg trovalentnog hroma u njihovoj dnevnoj ishrani. Pacovi pokazuju rastuću depresiju i oštećenje jetre i bubrega kada se hrane sa 50 ppm šestovalentnog hroma. Uopšte, telo sisara toleriše oko 100 – 200 puta veći višak hroma od onog koji ulazi u sam njegov sastav bez

manifestovanja bilo kakvih simptoma trovanja. Nasuprot tome, šestovalentni hrom je oko 100 puta toksičniji od trovalentnog delom i zbog male apsorpcije Cr(III) pri oralnom unosu.

Prema važećim propisima u Srbiji, MDK ukupnog hroma [sve forme Cr(III) + Cr(VI)] u vodama za piće u redovnim prilikama je 0,05 mg/l (*Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće*, Službeni list SRJ, br. 42/98), tj. $\sim 1\times10^{-6}$ mol/L. MDK u zemljištu nije definisano, a smatra se da je prosečna koncentracija hroma u urbanom zemljištu 40 – 80 mg Cr/kg [TUNCELI i TURKER 2002]. S obzirom na široko rasprostranjenost i primenu u industriji, jedinjenja hroma se često nalaze u tlu ili podzemnim vodama u okviru napuštenih industrijskih zona, što zahteva remedijaciju zahvaćenih područja [KATZ i SALEM, 1994].

2.2.3 Hrom kao nutrijent i esencijalni mikroelement

Prema istraživanjima, ovaj metal se kvalifikuje kao esencijalni mikroelement za ljudski organizam, mada se još uvek ne zna tačno kakva mu je uloga i koje su zapravo granice toksičnosti. Biološki relevantna forma, Cr(III), je potrebna u metabolizmu ugljenih hidrata i masti kod sisara. Zajedno sa insulinom, koristi se za smanjenje nivoa glukoze u krvi i za kontrolu dijabetesa Tip 2, i dijabetesa kod trudnica, uz još nerazjašnjen mehanizam delovanja [CRICHTON, 2008]. Utiče takođe, na smanjenje nivoa holesterola u krvi smanjivanjem koncentracije lipoproteina LDL. U poslednje vreme postaje veoma popularan, kao dodatak hrani, u preparatima za gubljenje telesne težine (mršavljenje) ili za razvijanje mišićne mase. U ove se svrhe široko koristi, kao drugi po redu važnosti, odmah posle Ca-preparata. Namirnice najbogatije hromom su pekarski kvasac, kukuruz, kuvana junetina, jabuka, crnihleb, ovsane pahulje. Prema dosadšnjim saznanjima, Nacionalni Istraživački Centar u SAD je predložio da optimalni dnevni unos hroma kod odraslih osoba treba da bude između 50 – 200 μg/dan.

Deficit hroma u organizmu nije do sada potvđen kao medicinska indikacija. Nisu do sada otkriveni nikakvi enzimi ili proteini, čija bi aktivnost zavisila od hroma, mada postoje istraživanja koja su dokazala ekskreciju hroma u vezanoj formi sa oligopeptidom – *hromoduliom*. Hromodulin ima molekulsku težinu 1438, sadrži Gly, Cys, Glu i Asp, od kojih posledenje dve amino kiseline čine više od polovine ukupnih aminokiselinskih ostataka. Hromodulin jako vezuje četiri Cr^{3+} jona (konst. disocijacije kompleksa: $k_d = 10^{-21}$ mol^{-4}) [CRICHTON, 2008]. Pretpostavlja se da vezani oblik, kompleks hrom-hromodulin (tzv. *holohromodulin*) može da služi kao signalnom sistemu regulacije insulina. Prateći vezivanje insulina na njegov receptor, receptor stiče aktivnost tirozin-kinaze, i na taj način prenoseći signal insulina unutar ćelije. Izgleda da holohromodulin vezuje receptor u njegovoj aktivnoj konformaciji, pojačavajući kinaza-aktivnost receptora. Kada signalizacija prelazi u silaznu fazu, receptor se vraća u svoju originalnu konformaciju, oslobađajući holohromodulin, koji se potpuno izlučuje urinom. *Transferin*, Fe-transportni protein iz seruma, je takođe istraživan kao bitan za transport Cr^{3+} u tkivima u insulin-regulacionom smislu. Iako postoje očigledne sličnosti, kako u pogledu imena, tako i kod predloženog mehanizma delovanja, hromodulina i Ca^{2+} – proteina *kalmodulina*, dosta toga ostaje da se ispita, kako bi se razjasnio mehanizam delovanja hromodulina na molekularnom nivou.

2.3 Analitičke metode određivanja hroma

U mnogobrojnim radovima koji se bavi analitikom hroma sa raznih aspekata, uglavnom su opisane i preporučene sledeeće metode [EPA 1983a,b,c; EPA 1986a,b,c,d,e; EPA 1996a,b; FISHBEIN 1984; IARC 1986, 1990; TORGRIMSEN 1982; WHO 1988]:

- Atomska apsorpciona spektrofotometrija (AAS)
- Neutron-aktivaciona analiza (NAA)
- Masena spektrometrija (MS)
- Atomska emisiona spektrofotometrija (AES); grafit, sa varnicom
- Atomska aporpciona spektrofotometrija sa grafitnom kivetom (engl. *graphite furnace*, GFAA)
- X-ray fluorescentna analiza sa totalnom refleksijom (TXRF)
- Diferencijalna pulsna polarografija (DPPA)
- Jonska hromatografija (IC)
- UV/VIS spektroskopija
- ICP emisiona spektrometrija (engl. *inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry*, ICP-AES)
- ICP sa masenim detektorom

U tabeli 2.3-1. je dat prikaz preporučenih instrumentalnih metoda za određivanje hroma u uzorcima biogenog i abiogenog porekla.

Tabela 2.3-1. Pregled instrumentalnih analtičkih metoda za određivanje hroma u različitim vrstama prirodnih uzoraka i biološkim matriksima.

Matriks uzorka	Metod pripreme	Analitička metoda	Detekcioni limit	Referenca
Vazduh, ukupni Cr	Čvrste čestice iz vazduha skupljene na filtru izlažu se X-zracima	XRF	0,017 µg/m^3	WIERSEMA *et al.*, 1984
Vazduh, ukupni Cr	Čvrste čestice na filtru rastvorene u HNO_3, sušene i rastvorene u zakiseljenoj vodi	ICP-AES	0,05 – 0,2 ng/m^3	BARRIE i HOFF, 1985
Vazduh, ukupni Cr	Čvrste čestice sakupljene na estar-celuloznom filtru, rastvorene u carskoj vodi	ICP-AES	1,0 µg/m^3	LO i ARAI, 1988
Vazduh, ukupni Cr	Čvrste čestice sakupljene na estar-celuloznom filtru, rastvorene u HCl/HNO_3	AAS (plamen)	0,06 µg/uzorak	NIOSH 1994c (Method 7024)

Matriks uzorka	Metod pripreme	Analitička metoda	Detekcioni limit	Referenca
Vazduh, ukupni Cr	Čvrste čestice sakupljene na estar-celuloznom filtru, rastvorene u smesi kiselina	ICP-AES	1,0 µg/uzorak	NIOSH 1994d (Method 7300)
Vazduh, Cr(VI)	Uzorak skupljen na celuloznom filtru impregriranim Na_2CO_3 i ekstrahovan $NaHCO_3$	Jonska hromatografija / kulometrija	0,1 ng/m^3 za 20 m^3 uzorka	CARB 1990
Vazduh, Cr(VI)	Uzorak skupljen na celuloznom filtru sa $NaHCO_3$ puferom; protok 15,0 L/min	Jonska hromatografija / kulometrija	0,01 ng/m^3 za 20 m^3 uzorka	SHEEHAN *et al.*, 1990
Vazduh sa parama od zavarivanja metala	Čvrsta materija na filtru mokro spaljena sa H_2SO_4 i Cr(III) oksid. do Cr(VI) sa Na_2O_2; centrifugovani rastvor zakiseljen sa HCl i redukovan sa SO_2 do Cr(III); rastvor kompleksiran sa β-izopropil tropolonom u $CHCl_3$	HPLC-UV	10 pg	MAITI i DESAI, 1986
Vazduh sa parama od zavarivanja metala, Cr(VI)	Ekstrakcija sa 0,05 M $(NH4)_2SO_4$ – 0,5 M $(NH)_2SO_4$ – 1,0 M NH_3	FIA-UV/VIS	0,11 ng	WANG *et al.*, 1986
Pare od zavarivanja, Cr(VI)	Čvrste čestice sakupljene na PVC filtru, ekstrahovane sa toplim 3% Na_2CO_3 i 2% NaOH, zakiseljeno sa H_2SO_4 i kompleksirano sa difenilkarbazidom	UV/VIS, na 540 nm	0,05 µ/uzorak	NIOSH 1994e (Method 7600)
Simultano odr. Cr(III) i Cr(VI) u vodenom ekstraktu od metalnih para	Rasvor uzorka na pH 5; reakcija sa di-Na-EDTA na 50°C za 1 čas	HPLC sa anjonskom kolonom i simultanim UV i AAS odr.	0,2 ng sa UV za Cr(VI); 5 ng sa AAS za Cr(VI)	SUZUKI i SERITA, 1985
Pijaća voda, industrijski efluent, rastv. Cr(VI)	Kompleksiranje Cr(VI) u vodi sa APDC na pH 2,4 i ekstrahovan sa MIBK	AAS u grafitnoj kiveti	2,3 µg/L	EPA 1983c (Method 218.5)
Pijaće i podzemne vode i efluenti, Cr(VI)	Puferski rastvor u jonskom hromatografu. Derivatizacija sa difenilkarbazidom	IC-UV/VIS na 530 nm	0,3 µg	EPA 1996a (Method 7199)
Otpadne vode i industr. efluenti, Cr(VI)	Puferovan uzorak pomešan sa $AlCl_3$ i precipitovan centrifugom ili filtracijom	DPPA na pH 10 – 12	30 µg/L	HARZDORF i JANSER, 1984
Otpadne vode, Cr(VI)	Reakcija s maskirajućim reagensom i rastvorom cetiltrimetil-amonijum-bromida na pH 4,7 – 6,6; greje se 10 min. na vodenom kupatilu na 50°C	UV/VIS na 583 nm	30 µg/L	QU i ZHU, 1986
Voda, ukupni Cr	$Ca(NO_3)_2$ i Cr se konvertuje u Cr(III) zakiseljenim H_2O_2	GFAAS ili ICP-AES	1,0 µg/L (GFAAS); 7,0 µg/L	EPA 1983a, 1986a (Method 218.2; 7191)

Matriks uzorka	Metod pripreme	Analitička metoda	Detekcioni limit	Referenca
Industrijski otpad, zemljište, mulj i sedimenti, ukupni Cr	Digestija sa azotnom kiselinom i vodonik-perokisdom	ICP-AES	4,7 µ/L	EPA 1996b (Method 6010b)
Podzemne vode, industrujski efluenti i otpad, Cr(VI)	Cr(VI) se taloži sa $PbSO_4$, redukuje i rastvara u HNO_3	AAS ili GFAAS	0,05 mg/L (AAS) 2,3 µg/L (GFAAS)	EPA 1986c (Method 7195)
Voda i otpadna voda, Cr(VI)	Direktno	DPPA	10 µg/L	EPA 1986e (Method 7198)
Zemljište, sedimenti i mulj, Cr(VI)	Kisela digestija i ekstrakcija sa HNO_3	AAS		AYYAAMPERUMAL, 2006
Krvna plazma	Mokro spaljivanje sa HNO_3 / $HClO_4$ / H_2SO_4; ostatak se kompleksira sa APDC i ektrahuje sa MIBK; upareni ostatak se rastvara u HNO_3 / HCl (polikarbonatna folija)	PIXE	0,3 µg/l	SIMONOFF *et al.*, 1984
Serum	$Mg(NO_3)_2$ se dodaje serumu, suši liofilizacijom, spaljuje i rastvara u 0,1 M HCl	GFAAS	0,005 µg/L	RANDAL i GIBSON, 1987
Krv, serum	Uzorak se posle mokre digestije konvertuje u isparljivi helat sa fluorovanim acetilacetonom	GC/ECD	0,03 pg – 1,0 ng	FISHBEIN, 1984
Urin	Bez pripreme	GFAAS	0,05 µg/L	RANDAL i GIBSON, 1987
Tkivo, Cr(V)	Unošenje $Na_2Cr_2O_7$	EPR	0,1 mmol/kg	LIU *et al.*, 1994

APDC = amonijum pirolidin ditiokarbonat; FIA = engl. *flow injection analysis*; PIXE = engl. *proton induced X-ray emission spectroscopy*; ECD = engl. *electron capture detector*; MIBK = metilizobutilketon; EPR = elektron paramagnetna rezonanca; GC = engl. *gas chromatography*; DPPA = diferencijalna pulsna polarografska analiza.

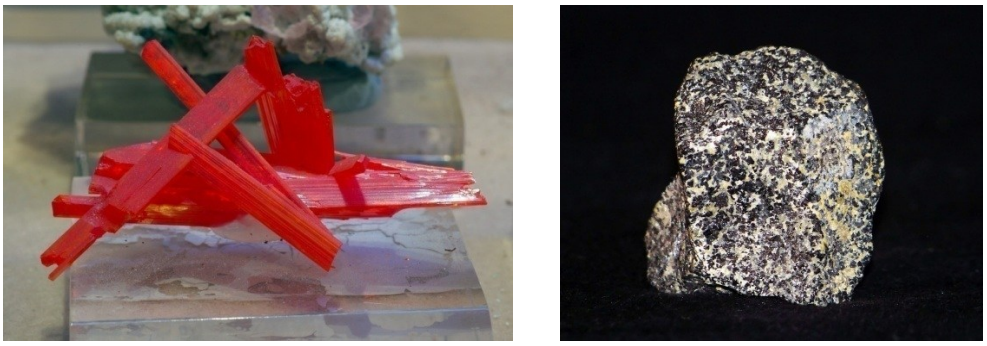
Metode za kvantitativno određivanje koje su u najširoj praktičnoj upotrebi u analitičkoj hemiji hroma jesu:

- UV/VIS spektrofotometrijska metoda, koja se zasniva na merenju koncentracije šestovalentnog hroma reakcijom sa difenilkarbazidom u kiseloj sredini. Razvija se crveno-ljubičasta boja, koja potiče od kompleksa nepoznatog sastava, molarne apsorptivnosti 40.000 $Lg^{-1}cm^{-1}$, koja se meri na $\lambda = 530 – 540$ nm.
  Ukupni hrom se određuje kao šestovalentni, uz prethodno oksidovanje trovalentnog hroma amonijum-persulfatom. Sam trovalentni hrom se onda izračunava iz razlike koncentracija ukupnog i šestovalentnog hroma.
- Metoda jonske hromatografije na koloni sa fotometrijskom detekcijom
- Atomska apsorpciona spektrofotometrija (AAS) u grafitnoj kiveti ili plamenu. Ako se primenjuje određivanje u plamenu , koristi se smeša vazduh – acetilen, a granica detekcije instrumenta je oko 0,02 mg/l, dok je optimalni analtički rang koncentracija 0,2 – 10 mg/l Cr.

2.4 Fizičko-hemijski procesi u kojima učestvuje hrom u zemljištu i vodi

U Zemljinoj kori hroma ima oko 106 ppm (~0,01%) i po tome je 21. hemijski element po rasprostranjenosti. U morskoj vodi se njegova koncentracija procenjuje na oko 2×10^{-4} ppm. Glavni mineral iz koga se hrom industrijski dobija je *hromit* – teorijskog sastava $FeCr_2O_4$, ali praktično, on sadrži manje ili veće količine MgO, Al_2O_3 i SiO_2. Glavni prozivođači hromita su Južna Afrika, Kazahstan, Filipini, Iran, Indija i Turska. Značajna takođe su nalazišta u Evropi – u Finskoj, Albaniji i Makedoniji. Od 1990, svetska proizvodnja hromita je rasla po stopi 60 – 70% svake dekade, a i dalje je u neprestanom usponu.

Ostali značajniji minerali hroma su: *krokoit* – $PbCrO_4$ (slika 2.4-1.), *loperit* – $K_2Cr_2O_7$, *magneziohromit* – $MgCr_2O_2$ i drugi. Tragovi jona hroma daju boju zelenu boju *smaragdu* – $Be_3Al_2Si_6O_{18}$) i crvenu boju *rubinu* – Al_2O_3. Vrlo retko se nalazi u nativnom stanju, kao metalni hrom.



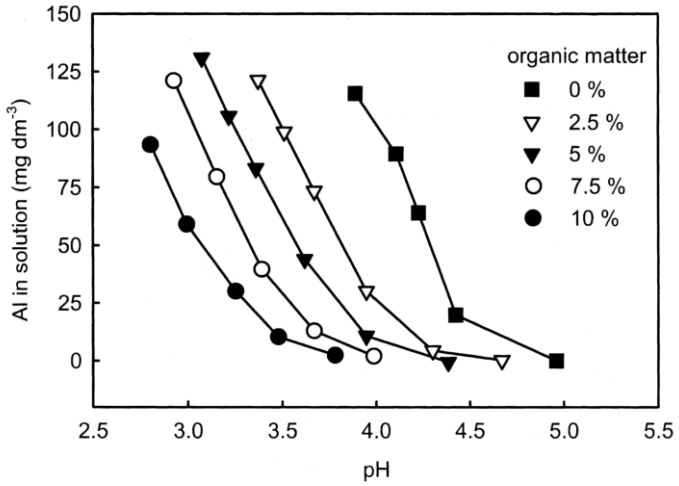
Slika 2.4-1. Mineral krokoit, Tasmanija (levo); ruda hromit (desno).

2.4.1 Vezivanje katjona u zemljištu

Decenijama unazad su vršena ispitivanja hemije metalnih katjona u kiselim zemljištima, zbog interesovanja za procese fitotoksičnosti, transfera toksičnih metala u podzemne vode i potrebe da se sagledaju translokacioni procesi u pravcu stvaranja podzolnih zemljišta[*]. HARGOVE i THOMAS (1981) su zapazili, na primer, da je koncentracija Al u rastvorima (sistemima zemljište – voda) kontrolisana interakcijom sa čvrstom nerastvornom organskom materijom tla, kako je prikazano na slici 2.4-2. Uočena je pravilnost da povećani

[*] Podzolizacija (podzol = „*pod pepelom*“, od ruskog зола = *pepeo*) je kompleksan proces (ili skup podprocesa) u kome se organska materija i rastvorni minerali (gvožđe i aluminijum) izlužuju iz A i E horizonta zemljišta u B horizont. Podzoli su tipična zemljišta četinarskih (severnih) šuma i obično su nepogodna za agrikulturu.

sadržaj organske materije (SOM, engl. *Soil Organic Matter*) favorizuje povećanje koncentracije Al pri nižim pH.

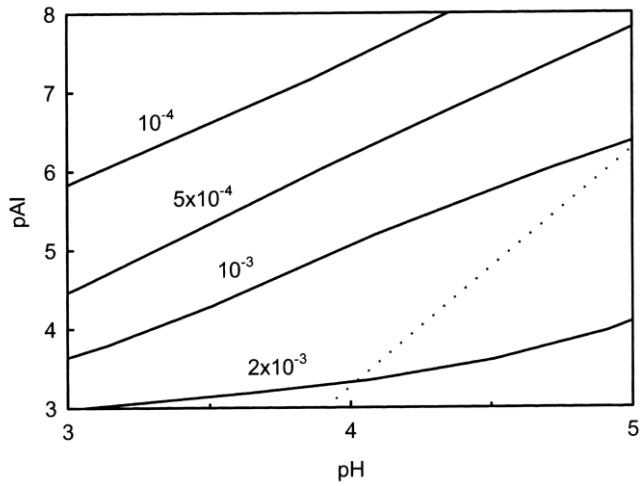


Slika 2.4-2. Koncentracije Al u rastvoru posle uravnoteženja 10 g mineralnog zemljišta sa različitim količinama H-zasićenog treseta u cilju postizanja različitog udela organske materije (SOM). Osnovni elektrolit je 0,1 mol/L KCl [HARGOVE i THOMAS, 1981].

WALKER i saradnici (1990) su određivali koncentraciju rastvorenog Al u ravnoteži sa čvrstom materijom organskog zemljišta, koje je prethodno zasićeno sa H^+, a zatim tretirano sa Al. Rezultati su pokazali da je, u zavisnosti od pH i totalnog Al, aluminijum u tečnoj fazi bio manje koncentracije no što bi se očekivalo na osnovu ravnotežnog stanja sa kristalnim ili amorfnim $Al(OH)_3$, što ukazuje da je koncentracija rastvorenog Al kontrolisana interakcijom sa prisutnom organskom materijom zemljišta.

Koncentracija H+ u kiselim organskim zemljištima se kontrolišu ukupnom koncentracijom jake kiseline ili baze, u kombinaciji sa puferskim efektima prisutnih funkcionalnih grupa SOM, kao i reakcijama hidrolize Al ili drugih katjona, koji su velikim delom vezani na SOM [HARGOVE i THOMAS, 1981; SKYLLBERG, 1999]. U odsustvu većih mineralnih katjon-izmenjivačkih površina, vezivanje drugih važnih katjona (Na^+, Mg^{2+}, K^+, Ca^{2+}, Fe^{3+}) je pod uticajem specifičnog kompleskiranja funkcionalnim grupama SOM, ili je kontrolisano akumulacijom nespecifičnih *counterion*-a.

Jedan od novijih modela koji se koriste u opisu kinetike katjonske apsorpcije i desorpcije u zemljištu jeste ravnotežni model WHAM (Windermere Humic Aqueous Model, *The Centre for Ecology & Hydrology*, UK) koji je razrađen za hemijsku specijaciju prirodnih voda. Model uključuje interakcije katjona (protona i metala) sa prirodnim kompleksantima – huminskim supstancama, mineralnim oksidima (Al_2O_3, Fe_2O_3, Mn(II)/(III)/(IV)-oksidi), glinom itd. kao *vezujućim fazama* [ZHENQING, 2008; GUODONG, 2009; TIPPING i HURLEY, 1992; TIPPING, 1994]. Primer WHAM modelovanja rasvorljivosti aluminijuma je prikazan na slici slika 2.4-3.



Slika 2.4-3. WHAM-generisani grafici –log[Al^{3+}] vs. pH, za Al u 50:50 smesi fulvo i huminske kiseline (ukupne koncentracije 4,0 g/L). Rezultati su izračunati za jonsku jačinu 0,01 mol/L, t = 10°C. Brojevi pored linija reprezentuju odnose Al i huminskih supstanci u mol/g. Isprekidana linija predstavlja ravnotežnu relaciju za gibsit (log K_{SO} = 7,74 na 25°C).

2.4.1.1 Sorpcija tragova metala u zemljištu

Teromdinamička i kinetička razmatranja sorpcionih procesa jona teških metala ili radionuklida se zahtevaju specifičan pristup, jer se radi o količinama, odnosno koncentracijama, koje su toliko male da obično ne utiču na interakcije drugih, zastupljenijih komponenti zemljišnih sistema. U ovim slučajevima, pored SOM, oksidi Mn, Al i Fe znatno utiču na kontrolu ponašanja tragova metala u sistemu. Površine SiO_2 i alumosilikata su relativno slabi adsorbenti metalnih katjona, ali i ove komponete mogu donekle uticati na proces usled njihovog relativno velikog udela u zemljišnom sastavu.

Generalno, tla bogata organskom materijom, oksidima i/ili mineralima gline, pokazuju najizraženiju retenciju tragova metala. Proučavanje vezivanja katjona na suspendovanim česticama je pokazalo da je, prema masenim odnosima, najjača interakcija sa huminskim supstancama i MnO_2, ali te relacije dosta komplikuju faktori kao što su:

- inerakcije huminskih materija sa površinom čestica minerala,
- kompeticija u vezivanju od strane glavnih katjonskih vrsta (Al^{3+}, Fe^{3+} i njihovi produkti hidrolize,
- zahvatanje različitih katjona unutar rastuće oksidne faze [BRÜMMER *et al.*, 1988]

MCBRIDE *et al.* (1997) su analizirali eksperimentalne rezultate SAUVE *et al.* (1997) za 70 vrsta zemljišta, uz variranje pH (3,4 – 7,6) ukupnog sadržaja bakra (Cu_{total} = 14 – 3083 μg/g), organske materije (SOM = 0,4 – 55,5% C) i aktiviteta Cu^{2+} u vodenom rasvoru (log{Cu^{2+}} = –12,2 do – 6,2), i pokazali su da {Cu^{2+}} može biti dobro opisan (r^2 = 0,80) sledećom jednačinom:

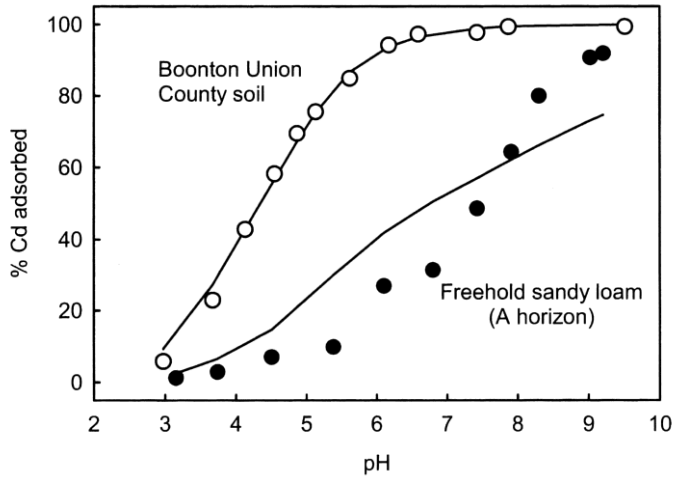
$$\log\{Cu^{2+}\} = a + b\,\mathrm{pH} + c\log(Cu_{total}) + d\log(\mathrm{SOM}) \qquad (2.4\text{-}1)$$

sa vrednostima konstanti a = –1,28; b = –1,37; c = 1,95, d = –1,95. Ovo sugeriše da se aktivitet bakra u rastvoru smanjuje sa pH, povećava sa ukupnim sadržajem bakra, a smanjuje sa organskom materijom. Kako su MCBRIDE *et al.* zaključili, ovo je u saglasju sa situacijom kada je organska materija dominantni adsorbent bakra. Međutim, u daljim radovima, SAUVE *et al.* (2000) su ukazali da nije potrebno uključivati član (SOM) u opisu aktiviteta Cd^{2+}, za zemljišta u kojima SOM varira 0,8 do 10,8% C.

JANSSEN *et al.* (1997) su sproveli istraživanje sa 20 uzoraka zemljišta poreklom iz Danske, kontaminiranih sa Cd, Cr, Cu, Ni, Pb i Zn, određujući karakteristike tla u relaciji sa *distribucionim* (*particionim*) *koeficijentom*, K_D, definisanim kao:

$$K_D = \frac{\text{masa vezanog metala po jedinici suve čvrste mase zemljišta}}{\text{masa metala po jedinici zapremine rastvora}} \qquad (2.4\text{-}2)$$

Pri tome su našli da K_D značajno varira u zavisnosti od metala i tipa tla, kao i da daje najjaču korealciju (r^2 = 0,54 – 0,85) sa pH vrednošću. Zemljišni sadržaj gvožđa i koncentracija rastvorene organske materije (DOC, engl. *Dissolved Organic Matter*) su takođe uticale na promene K_D, za razliku od ukupne organske materije (SOM) koja nije pokazivala uticaj.

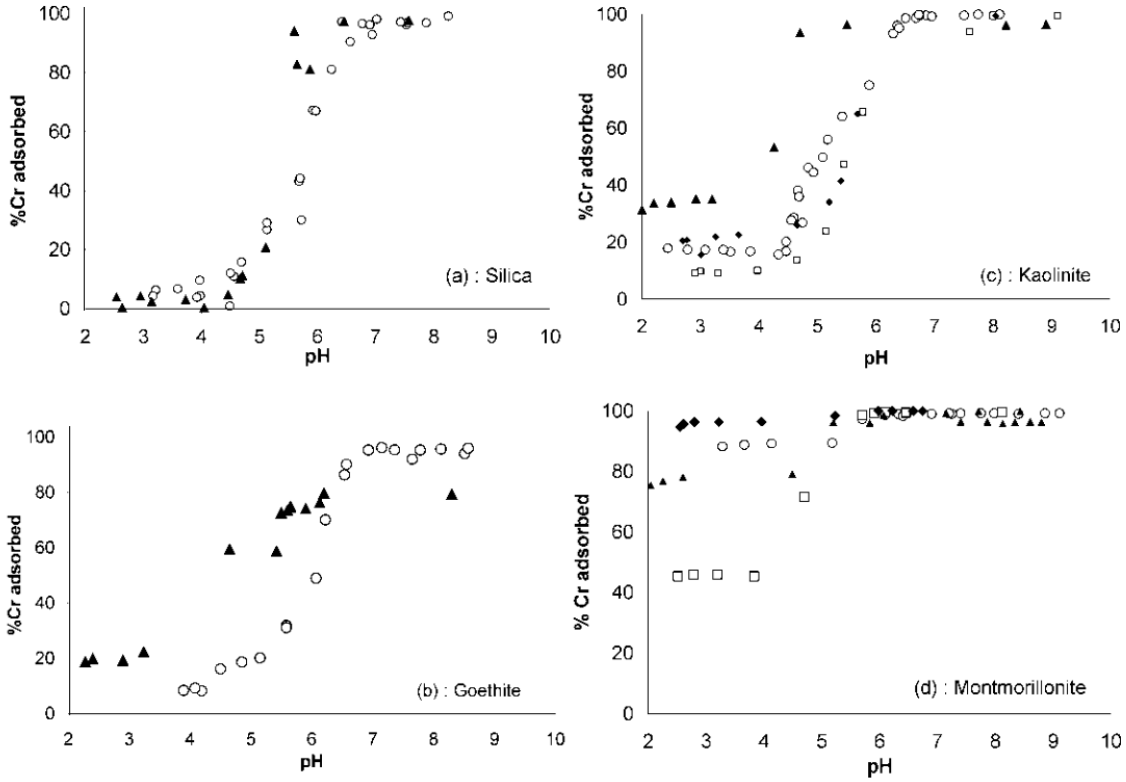


Slika 2.4-4. Eksperimentalno dobijeni podaci (*tačke*) i WHAM-fitovane adsorpcije (*linije*) kadmijuma u dva uzorka zemljišta. 10^{-4} mol/L $Cd(NO_3)_2$ je dodano u suspenziju (10 g/L) zemljišta u 0,01 mol/L $NaNO_3$ [LEE *et al.*, 1996].

LEE *et al.* (1996) su merili vezivanje dodatog kadmijuma, pri visokim koncentracijama, u suspenzijama 15 uzoraka različitog mineralnog zemljišta. Nađeno je da, na datom pH, razlika između pojedinih tipova tla može biti dobro korelisana sa razlikom u sadržaju SOM, dok su varijacije u sadržaju metalnih oksida bile bez većeg značaja. U zaključku se konstatuje da su mesta površinske apsorpcije (engl. *surficial adsorption sites*) principijelno povezana sa organskom materijom. Na slici slika 2.4-4. je dat prikaz njihovog rada za dva ispitivana zemljišta, u smislu poređenja eksperimantalnih rezultata i WHAM simulacija. Za *Boonton Union County* zemljište, bogato SOM (8,6 w%), WHAM model daje verodostojnu simulaciju promene vezivanja kadmijuma sa promenom pH, sa pretpostavkom da se 32% ponaša kao izolovana huminska materija (to jest, odnos huminska/fulvo kiselina = 50:50). Rezultat podržava pretpostavku da je sadržaj SOM dominantan faktor u vezivanju Cd. Međutim, za peskovitu ilovaču (0,2% SOM) analogna WHAM simulacija znatno odstupa, tako da je pretpostavljeno da dominira sorpcija na površini mineralnih čestica.

U *binarnim* sistemima Cr(III)/mineral dešavaju se sorpcioni procesi vrlo zavisni od pH, a različito ponašanje nekih sistema je prikazano na slici 2.4-5. [BOIS *et al.*, 2003]. U slučaju silicijum-dioksida i getita, plato adosrpcione krive je pH rangu 5 – 6. Za anatas (TiO_2), ovo se dešava pri pH 2 a za aluminijum-oksid na pH 4. Na Si i Al oksidima nije primećena znatna promena u apsorpciji sa promenom koncentracije Cr(III). Na getitu, povećana adsorpcija Cr(III) je primećena u nižem opsegu pH, kada je koncentracija Cr(III) niska, 1×10^{-5} mol/L.

Sorpcija Cr(III) $c = 1\times10^{-4}$ mol/L vs. pH na glinama pokazuje zasićenje adsorpcije na pH 5 – 6. U slučaju montmorilonita, adsorpcija je vrlo visoka (90%) pri niskom pH, (verovatno usled adsorpcionog mehanizma koji se dešava na spoljašnjoj jonskoj sferi), dok za je pri istim uslovima adsorpcija na kaolinitu samo 20%.

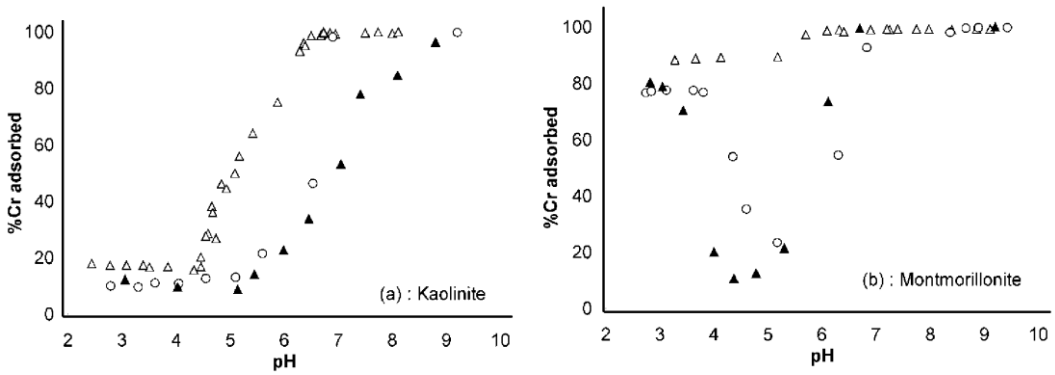


Slika 2.4-5. Adsorpcija Cr(III) na mineralnim komponentama zamljišta [BOIS *et al.*, 2003]
a) silicijum-dioksid, b) getit, c) kaolinit, d) montmorilonit pri sledećim uslovima:
○ – c[Cr(III)] = 1×10^{-4} mol/L, I = 0,05 M
▲ – c[Cr(III)] = 1×10^{-5} mol/L, I = 0,05 M
◆ – c[Cr(III)] = 1×10^{-4} mol/L, I = 0,01 M
□ – c[Cr(III)] = 1×10^{-4} mol/L, I = 0,10 M

Takođe, na kaolinitu i getitu je procenat adsorpcije povećan ako se koncentracija Cr(III) smanji na 10^{-5} mol/L. Suprotno tome, na montmorilonitu slaba adsorpcija opada sa smanjenjem c[Cr(III)] = 1×10^{-5} mol/L. I druge realcije koje su ustanovljene ukazuju da sorpcija hroma i drugih metala nije jednostavan jednoznačan proces, te da složenost fizičko-hemijskih reakcija i ravnoteža ne dozvoljava jasnu generalizaciju i interpretaciju čak ni prostih binarnih sistema metal/mineral, a pogotovo realnih sistema metal/zemljište.

Među brojnim istraživanjima *ternarnih* sistema, može se navesti determinisanje adsorpcione ravnoteže u sistemu hrom(III) – minerali gline – ftalna kiselina [BOIS *et al.*, 2003]. Nađeno je da se na mineralima oksida, Cr(III) (c = 10^{-4} mol/L), u pristvu ftalne kiseline (10^{-3} i 2×10^{-3} mol/L) adsorpcija gotovo ne menja u funkciji pH. Adsorpcija Cr(III) (10^{-4} mol/L) na mineralima gline sa ftalnom kiselinom (10^{-3} i 2×10^{-3} mol/L) je prikazana na slici 2.4-6. U sistemu sa kaolinitom, postoji veliki pomeraj platoa (zasićenja) adsorpcije. Ukoliko se povećava koncentracija ftalne kiseline, raspodela Cr(III) ovde se pomera ka tečnoj fazi. Suprotno, u montmorilonitu se smanjuje adsorpcija Cr(III) u rangu pH 4 – 6. U baznijim ili kiselijim oblastima, nije primetna promena adsorpcije hroma.

Pomeraj platoa zasićenja ka većim pH, kod kaolinita se može objasniti jakim kompleksiranjem hroma i ftalatnog jona, koji deluje kao helatni ligand koji stabilizuje metal u rastvoru. Na ovaj mehanizam smanjenja adsorpcije upućuju i druga slična istraživanja [BARBIER *et al.*, 2000; BENYAHYA i GARNIER, 1999; PULS *et al.*, 1991).



Slika 2.4-6. Adsorpcija Cr(III). c[Cr(III)] = 1×10^{-4} mol/L na mineralima gline u odsustvu (△) i u prisustvu ftalne kiseline c[Pht] = 1×10^{-3} mol/L (○) i 2×10^{-3} mol/L (▲); (a) kaolinit, (b) montmorilonit [BOIS *et al.*, 2003].

Na montmorilonitu, smanjenje adsorpcije u srednjem rangu pH se može objasniti formiranjem Cr(III)-ftalatnih vrsta kao $CrPht_2^-$ slabog afiniteta prema površinskoj adsorpciji. Pri pH > 6 ove vrste nestaju, dok $Cr(OH)_3$ postaje dominatna vrsta, koja ne može da formira komplekse sa ftalatima. Smanjenje adsorpcije na ovim mineralima u prisustvu ftalne kiseline, objašnjava se time da je mehanizam jonske izmene sprečen formiranjem anjonskih vrsta hroma(III).

Može zaključiti da je u ovom ternarnom sistemu gline, ftalne kiseline i hroma, Cr(III) adsorpcija na glini smanjena usled nastajanja vodenih Cr(III)-ftalatnih vrsta. Utvrđeno je i da ftalna kiselina potiskuje Cr(VI) forme u adsorpiji na Al_2O_3 usled kompeticije ftalata. U ternarnim sistemima koji uključuju i huminsku kiselinu, Cr(III) adsorpcija je povećana na niskim pH zbog nastanka ternarnog kompleksa HS-Pht–Cr(III), a smanjena na visokim pH zbog formiranja rastvornih Cr(III)-humatnih kompleksa, u vodenoj fazi.

Iz navedenih primera, kao i na bazi mnogih drugih radova, može se konstatovati da je zemljišna organska materija dominatna u vezivanju katjona teških metala u mnogim, ali ne u svim slučajevima, odnosno da je u nekim SOM-siromašnim zemljištima preferirana *solid-phase* adsorpcija na mineralnim komponetama. Generalno, matematička modelovanja (WHAM, SCAMP itd.) za organska zemljišta daju bolje slaganje sa eksperimentalnim vrednostima, ali usled složenosti sistema, nijedan model nije idealan. I pored intenzivnog proučavanja interakcija zemljišta sa vodom i katjonskim i anjonskim vrstama pod različitim prirodnim (*in situ*) ili laboratorijskim uslovima, mnogi radovi daju često različite zaključke ili pokazuju neslaganja i nekonzistentnosti u fizičko-hemijskom modelovanju i tumačenju ovih sistema.

2.4.1.2 Rastvorena organska materija u suspenzijama zemljište – voda

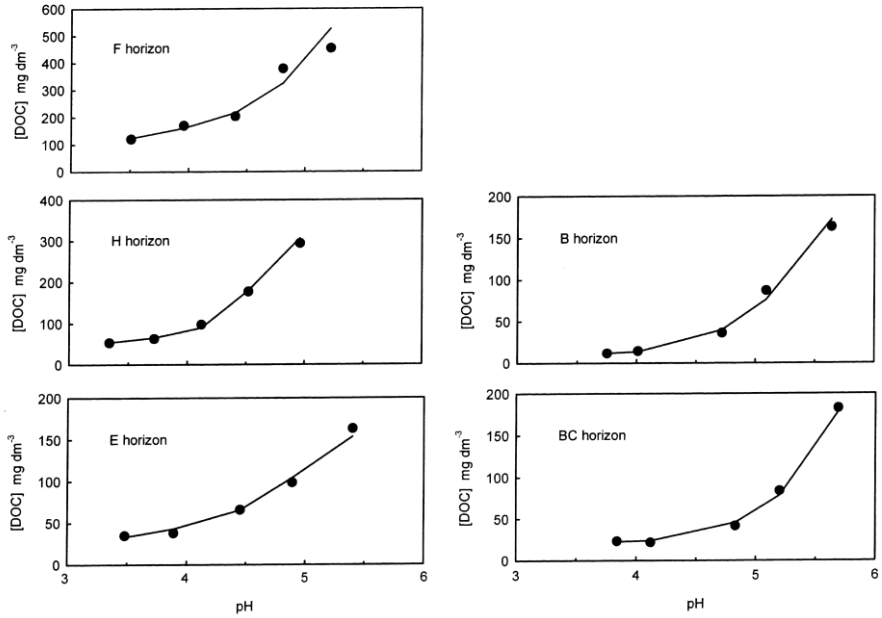
Organska materija tla koja može da pređe u vodeni rastvor (DOM) se uglavnom sastoji od huminskih supstanci, i predstavlja značajan faktor u specijaciji metalnih katjona, ali je bitna i za hemizam raspodele pesticida i drugih organskih polutanata. Jedan od modela koji je uveden za opis distribucije DOM između čvste faze (zemljišta) i tečne faze (voda) dali su TIPPING i WOOF (1991), na osnovu prepostavke da u ovom procesu glavni faktor čine huminske materije inkorporirane u zemljišnom matriksu. Oni su definisali proces koristeći jednostavnu particionu funkciju, ali uvodeći faktor zavisnosti od ukupnog naelektrisanja molekula huminske materije (NHC, engl. *net humic charge*). Ukoliko je nelektrisanje NHC veće, manja je tendencija da molekul humnske materije ostane adsorbovan na česticama zemljišta, odnosno favorizovan je prelaz u rastvor. Pretpostavljena je relacija:

$$K_{\mathrm{P}} = \frac{C\,\mathrm{FA}_i}{[\mathrm{FA}_i]} = \exp\left\{\beta|Z_i| - |Z|\right\} \qquad (2.4\text{-}3)$$

gde je CFA_i zemljišni sadržaj (na primer, mg/g) apsorbovane huminske materije (pretpostavljeno, fulvo kiseline, FA), $[FA_i]$ je koncentracija u rastvoru, $|Z|$ je magnituda NHC naelektrisanja (sumirano za sva vezujuća mesta), $|Z_i|$ je magnituda „karakterističnog" naelektrisanja, β je skalirajuća konstanta.

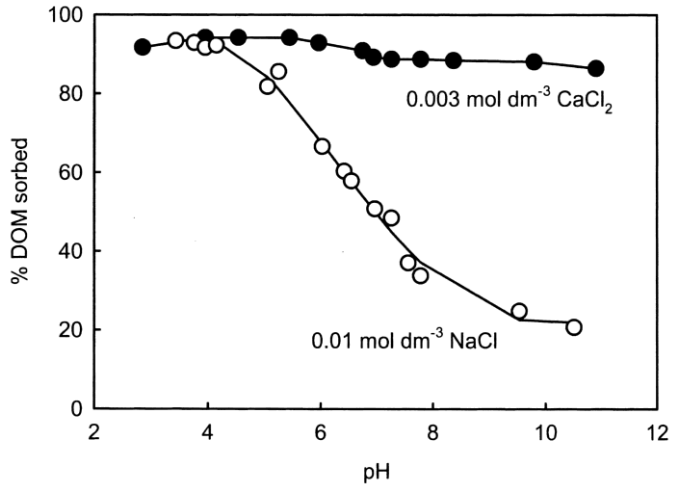
Kada je $|Z| < |Z_i|$, K_P je veće od jedinice, odnosno *adsorpcija na zemljišnoj organskoj materiji* je realtivno jaka. Ako je K_P manje od jedinice, adsopcija je slaba. Tako je zaključeno da raspon particionisanja zavisi od kompetitivnih procesa, najpre *hidrofobnosti* koja favorizuje adsorpciju, i sa druge strane, *solvatacije* naelektrisanih grupa, koja promoviše bolju rastvorljivost.

Vrednost $|Z_i|$ se može posmatrati kao mera hidrofobnosti fulvo kiseline. Što je veće $|Z_i|$, potrebna je veća vrednost $|Z|$ da se savladaju hidrofobne interakcije. Fulvo kiselina je postulirana kao serija različitih frakcija, koje imaju različite $|Z_i|$ vrednosti, što je odraz opšte heterogenosti huminskih materija. Za primenu modela, vrednosti $|Z|$ se dobijaju preko parametara vezivanja katjona (putem kompjuterske kalkulacije), a na taj način se mogu uzeti u obzir doprinosi u promeni $|Z|$ od strane glavnih katjona (H^+, Mg^{2+}, Al^{3+}, $AlOH^{2+}$, Ca^{2+}). Ukoliko je veći obim kompleksiranja, nastaje niže $|Z|$, izraženija je i adsorpcija na organskoj materiji. Na slici 2.4-7. su prikazani rezultati primene ovog modela u poređenju sa eksperimentalnim rezultatima sa različitim horizontima podzolnog zemljišta [LOFTS *et al.* 2001].



Slika 2.4-7. Oslobađanje DOM iz F, H, E, B i BC horizonta Norveškog podzola. U zemljišnim suspenzijama (10 g vlažnog zemljišta + 25 cm^3 10^{-3} mol/L NaCl) su podešavane različite pH vrednosti dodatkom kiseline ili baze, i merene su koncentracije DOC u supernatantu nakon postizanja ravnoteže. Tačkama su prikazani eksperimentalne vrednost, dok su matematičke simulacije prikazane linijama. Primetni su različiti rangovi DOC koncentracija (skala *y*-ose) [LOFTS *et al.*, 2001].

Iako opisani model dobro aproksimira interakcije DOM sa huminskim supstancama kako u organskim tako i u mineralnim horizontima, mnogi autori nalaze da je adsorpcija na površini mineralnih čestica, posebno oksida, glavni sorpcioni proces u mineralnim zemljištima [KAISER i ZECH, 1999]. Istraživanje SHEN-a (1999) je pokazalo da prisutvo katjona metala, na primer Ca^{2+} ima jak uticaj na adsorpciju (slika 2.4-8.), tako da su efekti vezivanja katjona na sorpcione reakcije u mineralnim zemljištima okarakterisane kao kvalitativno slične onima u model-sistemima baziranim na čistim oksidima.



Slika 2.4-8. Apsorpcija DOM u funkciji pH u mineralnom zemljištu sa Tajvana, u različitim rastvorima elektrolita slične jonske jačine. Ukupna koncentracija DOC je bila 65 mg/L, a korišćena suspenzija zemljišta je bila 26,0 g suve materije u 1,0 L rastvora. Linije samo aproksimiraju eksperimentalne tačke, tj. nisu dobijene modelovanjem [SHEN, 1999].

Uticaj DOM na particioni koeficijent metala u sistemima zemljište-voda je fenomen koji je posebno razmatran i do sada je postavljeno nekoliko fizičko-hemijskih modela. Jednačina distribucionog koeficijenta može biti definisana i na sledeći način:

$$K_D = \frac{N_{soil}}{[M]_{aq}} \tag{2.4-4}$$

Gde je N_{soil} broj molova po gramu zemljišta, $[M]_{aq}$ je koncentracija rastvorenog metala u vodi [mol/L]. Akvatične metalne vrste čine akva-jon metala, M^{n+}, kompleksi sa neorganskim ligandima, sa dobro definisanim organskim ligandima i huminskim kiselinama, što se zbirno može predstaviti:

$$[M] = [M^{n+}] + [ML_{inorg}] + [ML_{org}] + [M - HS] \tag{2.4-5}$$

odnosno, na drugi način:

$$[M] = [M^{n+}] + (1 + \alpha_{inorg} + \alpha_{org} + \alpha_{HS}) \tag{2.4-6}$$

gde α članovi reprezentuju odgovarajuće ravnotežne konstante i koncentracije liganada. Sa druge strane, alternativni distribucioni koeficijent, K_D^*, može biti definisan kao:

$$K_D^* = \frac{N_{soil}}{[M^{n+}]} \tag{2.4-7}$$

što ima donekle bolji hemijski smisao nego K_D, budući da je direktna mera jačine interakcije samostalnog metalnog jona sa čvrstom materijom. Odavde izlazi da je:

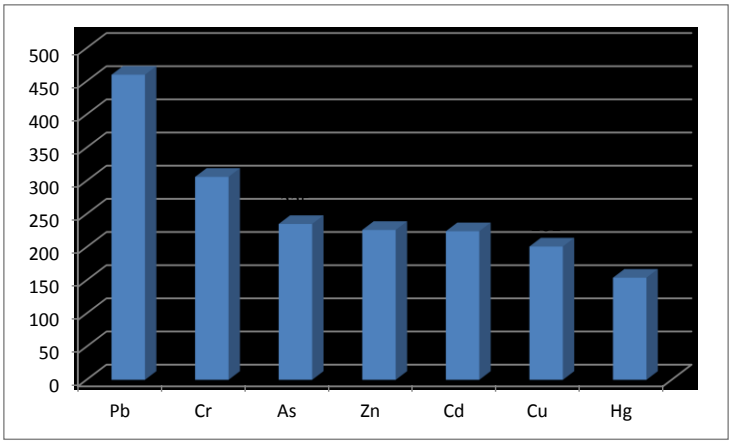
$$K_D = \frac{K_D^*}{(1 + \alpha_{inorg} + \alpha_{org} + \alpha_{HS})} \tag{2.4-8}$$

Iz ovih razmatranja se vidi da što je više kompleksiranog metala u rastvoru, niža je vrednost K_D. Metal sa visokim afinitetom prema rastvorenim ligandima (neorganskim i DOM), među kojima obično dominira HS, može stoga imati vrlo različite vrednosti K_D u zavisnosti od koncentracija liganada, ali pri tome zadržava konstantnu vrednost K_D^*.

Jedan metal može imati nižu K_D^*, ali višu K_D od drugog, ako je metal sa većim afinitetom više kompleksiran u rastvoru. Jednostavna K_D veličina je više uobičajena varijabla, ali koja ne pruža ništa više od proste distribucije u sistemu zemljište – voda, pod datim uslovima. K_D^* može viti informativnija veličina, mada ni ona ne uključuje efekte pH niti kompetitivne metalne vrste, za šta su potrebni sofisticiraniji modeli vezivanja metala (kao WHAM ili NIC(C)A–Donnan).

2.4.2 Interakcije hroma sa jonoizmenjivačkim komponentama zemljišta

Prve izveštaji o zagađenju životne okoline hromom datiraju još iz vremena II Svetskog rata, kada je primećeno obimno zagađenje podzemnih voda iz postrojenja za galvanizaciju fabrika ratnog vazduhoplovstva USA. U kasnijim godinama, u mnogobrojnim *case-study* izveštajima EPA je obuhvaćeno preko hiljadu zagađenih oblasti sa značajnim negativnim uticajima po životnu sredinu i zdravlje ljudi. Oko 40% ovih slučajeva se odnosilo na zagađenja metalima, većinom od toga u kombinaciji sa organskim jedinjenjima, a nešto ređe su polutanti bile soli metala, same ili u kombinaciji sa drugim neorganskim jedinjenjima [ALLEN et al., 1995]. Na slici 2.4-9. je sumarno dat prikaz brojnosti pojave različitih metala kao kontaminanata na ispitivanim područjima. Prema eksperimentalnim nalazima, jedinjenja hroma su bila prisutna u nedozvoljenim koncentracijama u 306 slučajeva, što hrom svrstava na 2. mesto po učestanosti njegovog prisustva kao polutanta zemljišta, vode i vazduha.



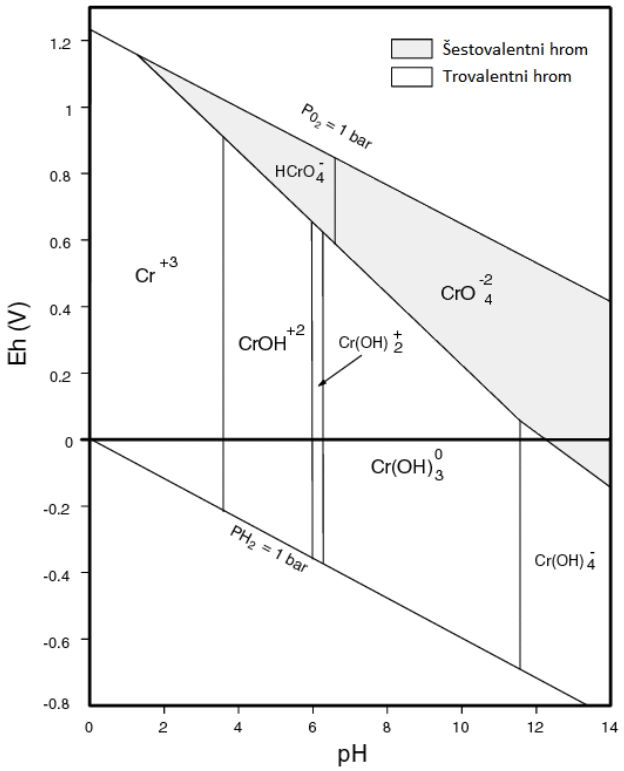
Slika 2.4-9. Poređenje broja slučajeva zagađenja različitim metalima, prema sumarnom izveštaju [EPA, 2000], za oko hiljadu lokacija; hrom je detektovan u oko 31% slučajeva.

Akvatična hemija hroma i pH efekti pokazuju specifične karakteristike u sistemima prirodnih voda. Cr(III) je najčešća forma hroma u prirodi, relativno niske mobilnosti u životnoj sredini, što obično rezultuje nalaženjem hroma u vodi samo u tragovima, osim ako prirodna voda nema vrlo nizak pH. Pod jakim oksidacionim uslovima, hrom je prisutan u Cr(VI) stanju, kao hromatni anjon, praktično uvek industrijskog porekla – iz pogona elektroplatiranja, proizvodnje boja, štavljenja kože, sredstava za zaštitu drveta itd. [ROUSE i PYRIH, 1990; PALMER i WITTBRODT, 1991].

Purbeaux-ov Eh-pH dijagrami redoks potencijala (slika 2.4-10.) pokazuju ravnotežna stanja i hemijske forme hroma koje egzistiraju pod određenim Eh i pH uslovima. Ipak, granice između pojedinih vrsta nisu tako oštre, kako bi se iz dijagrama zaključilo, jer u praksi, na transformaciju utiču i koncentracija, pritisak, temperatura, prisustvo ili odsustvo drugih akvatičnih jona, što se mora imati na umu kada se razmatra konkretni slučaj.

PALMER i WITTBRODT (1991) su razmatrali postojanje hroma u nekoliko oksidacionih stanja od (0) do (VI). Pod redukcionim uslovima, Cr(III) je termodinamički najstabilniji, ali Cr(VI) takođe može ostati stabilan u dugom vremenskom periodu, te su u zemljištima i akvatičnim sistemima, ovo dva dominantna oksidaciona stanja.

Cr(III) postoji u širokom Eh i pH opsegu, pri čemu jon Cr^{3+} zastupljen na pH < 3,0. Na pH > 3,5 počinje hidroliza Cr(III)-akva jona u hidroksi-vrste [$CrOH_2^+$, $Cr(OH)_2^+$, $Cr(OH)_3^0$, $Cr(OH)_4^-$]. $Cr(OH)_3^0$ je jedina čvrsta faza, koja se javlja u obliku amorfnog precipitata. Postojanje nerastvornog hidroksida u procesu remedijacije tla putem redukcije Cr(VI) u Cr(III) je glavni faktor u remedijacionim tretmanima tehnologijom reaktivnih zona, kao što je mikrobiološka bioredukcija. Hrom(III) gradi stabilne, rastvorne (i stoga mobilne) organske komplekse sa organskim kiselinama niske i srednje molekulske maase (na primer, limunska kiselina i fulvo kiseline), čiji se značaj ogleda u tome oni omogućavaju opstanak Cr(III) u rastvoru na pH vrednostima pri kojima hrom inače precipituje u obliku hidroksida [BARTLETT i KIMBLE, 1976a; JAMES i BARTLET, 1983a].

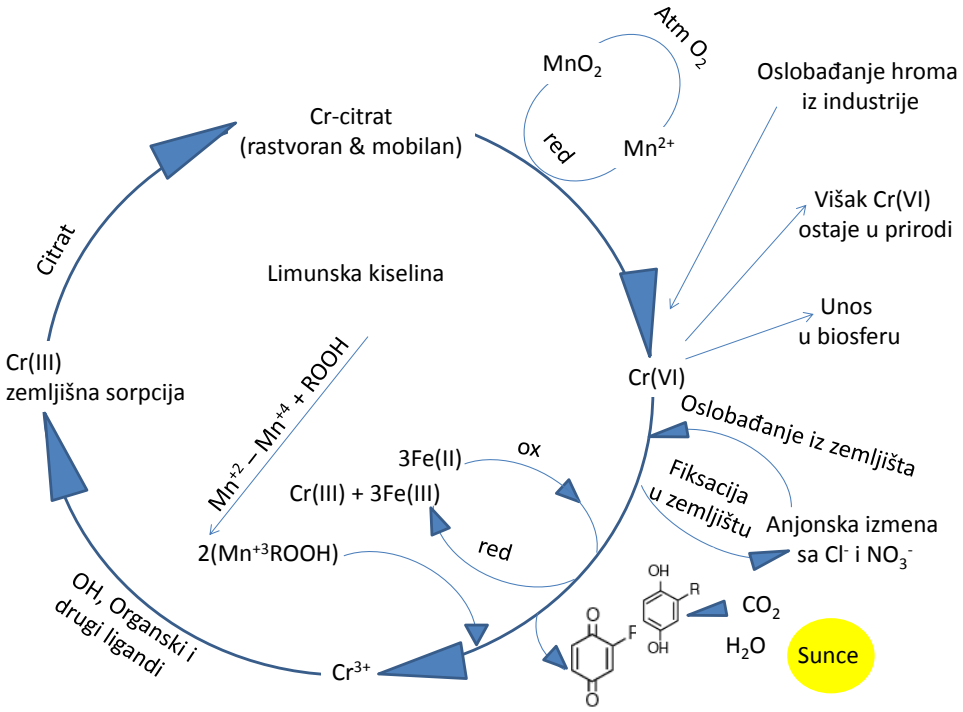


Slika 2.4-10. Eh-pH dijagram hroma [PALMER i WITTBRODT, 1991].

Hemija hroma u prirodnim vodenim telima je složena usled interakcije zemljišta i vodene sredine, a pojedini reakcioni putevi su ciklični, uključujući različite transferne procese između čvrste i tečne faze i različita oksidaciona stanja. „Ciklus hroma“ u prirodnoj sredini je prikazan šematski na slici 2.4-11. Prema BARTLETT-u (1991), Cr(VI) je najviše oksidovano, najmobilnije, reaktivno i toksično stanje hroma. Generalno, u odsustvu antropogene kontaminacije, samo male koncentracije Cr(VI) su prisutne, kao posledica prirodne oksidacije Cr(III). Vlažna zemljišta i sedimenti, u delimičnoj ravnoteži sa atmosferskim kiseonikom, poseduju uslove pod kojima se procesi oksidacije i redukcije mogu odigravati simultano. Cr(III) vrste mogu biti oksidovane do Cr(VI) preko oksidujućih komponenti zemljišta (na primer, mangan-dioksid – MnO_2), dok se istovremeno Cr(VI) može redukovati do Cr(III) uz MnO_2 u prisustvu redukovanog mangan(II)-oksida (MnO) i organskih kiselina iz organske materije zemljišta (SOM). Dalje, redukcija Cr(VI) u Cr(III) se odvija i u kontaktu sa SOM (uključujući huminsku kiselinu, fulvo kiselinu i humin), zatim reakcijom sa Fe^{2+} vrstama, i sa redukovanim sumpornim jedinjenjima [PALMER i WITTBRODT, 1991; KATZ i SALEM, 1994].

Uspešnost geohemijske fiksacije se bazira na formiranju nerastvornih i nereaktivnih vrsta. Precipitacija i adsorpcija rezultuju fiksiranjem Cr(III) u čvstoj fazi, a ovi procesi, svaki zasebno, zavise od fizičko-hemijskih uslova vodenih tela. Precipitacione reakcije se, prema proizvodu reakcije, mogu podeliti na tri tipa: *čista čvrsta faza*, kao $Cr(OH)_3^0$ (amorfna precipitacija); *mešovita čvrsta faza* ili *koprecipitati*, kao $Cr_nFe_{1-n}(OH)_3$; i *kompleksi velike molekulske mase* sa huminskim kiselinama [PALMER i WITTBRODT, 1991; JAMES i BARTLET,

1983b]. Na primer, u tretmanima sa propusnom reaktivnom barijerom (engl. *Permeable Reactive Barrier*) podzemnih voda *in situ*, metalno gvožđe (Fe^0) se upotrebljava za redukciju hroma, uz koprecipitaciju Cr/Fe-hidroksida. Nerastvorni kompleksi sa huminskim materijama su generalno dosta stabilni i čine prepreku za oksidaciju do Cr(VI) stanja, istovremeno usporavajući dekompoziciju organske materije. Ovo kompleksiranje je dobilo ime „hromno štavljenje" (engl. *chrome tanning*) organske materije, zbog analogije sa tehnologijom štavljenjem kože [ROSS *et al.*, 1981].



Slika 2.4-11. Ciklus hroma u prirodnoj sredini [BARTLETT, 1991].

Adsorpcione reakcije zavise od *kapaciteta katjonske izmene* (CEC, engl. *Cation Exchange Capacity*) za Cr(III) forme, odnosno od *kapaciteta anjonske izmene* (AEC) za Cr(VI) vrste. Adsorpcija uključuje katjonsku izmenu Cr(III), kao Cr^{3+} ili hidroksidnih jonskih formi, sa hidratisanim Fe i Mn oksidima, lociranih na površini čestica gline. Karakterizacija CEC mehanizama je ključna za definisanje *in situ* tehnoloških tretmana, kao što su ispiranje tla, ekstrakcija hroma, ili elektrokinetička remedijacija. Uopšteno, ukoliko je niži CEC konkretnog zemljišta, pomenute tehnologije su efikasnije. Tipične vrednosti kapaciteta katjonske izmene za uobičajene vrste zemljišta su prikazane u tabeli 2.4-1. [DRAGUN, 1988]. Od zemljišnih komponeti, SOM kao izdvojena frakcija ima najveću vrednost CEC, zatim slede *vermikulit*, *saponit*, *montromorilinit* (minerali gline), a među tipovima zemljišta, glina poseduje najveću CEC vrednost..

Anjonska izmena $HCrO_4^-$ i CrO_4^{2-} se vrši sa Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-} i PO_4^{3-}, pri čemu su GRIFFIN *et al.* (1977) pokazali da je adsorpcija Cr(VI) na mineralima gline kaolinitu i montmorilonitu, visoko zavisna od pH: adsorpcija Cr(VI) se povećava sa smanjenjem pH, a dominantna Cr(VI) adsorbovana vrsta je $HCrO_4^-$. BARTLETT i KIMBLE (1976b) su utvrdili da se hromati dobro fiksiraju u poređenju sa Cl^- ili NO_3^-, ali da se mogu desorbovati u tlu preko i PO_4^{3-} jona, jer ortofosfati pokazuju kompeticiju prema adsorpcionim centrima. Oni su zaključili da je ponašanje Cr(VI) vrsta i PO_4^{3-} slično, ali za razliku od fosfata, Cr(VI) se brzo imobilizira redukcijom organskom materijom. Zato, po njihovom zaključku, Cr(VI) ostaje mobilan samo ako njegova koncentracija prelazi kako apsorpcione, tako i redukcione kapacitete zemljišta.

Tabela 2.4-1. Vrednosti CEC (kapacitet kajonske izmene) za pojedine tipove zemljišta i mineralne komponente (u miliekvivalentima/100 g) [DRAGUN, 1988].

Tipovi zemljišta	CEC [meq/100 g]
SOM (čista frakcija)	> 200
Pesak	2 – 7
Peskovita ilovača	2 – 18
Ilovača	8 – 22
Muljevita ilovača	9 – 27
Glinovita ilovača	4 – 32
Glina	5 – 60

Adsorpcija sulfata na kaolinitu se takođe menja sa pH, mada ne tako izrazito kao kod hromata. ZACHARA *et al.* (1988) su zapazili da su SO_4^{2-} i CrO_4^{2-} u kompeticiji prema adsorpcionim centrima amorfnog Fe-oksihidroksida, ali da se u odnosu na kaoilinit, vezuju za različite adsorpcione centre, te u ovom slučaju ne pokazuju kompeticiju. Studija ZACHARA *et al.* (1989) i radovi drugih istraživača daju sledeće zaključke:

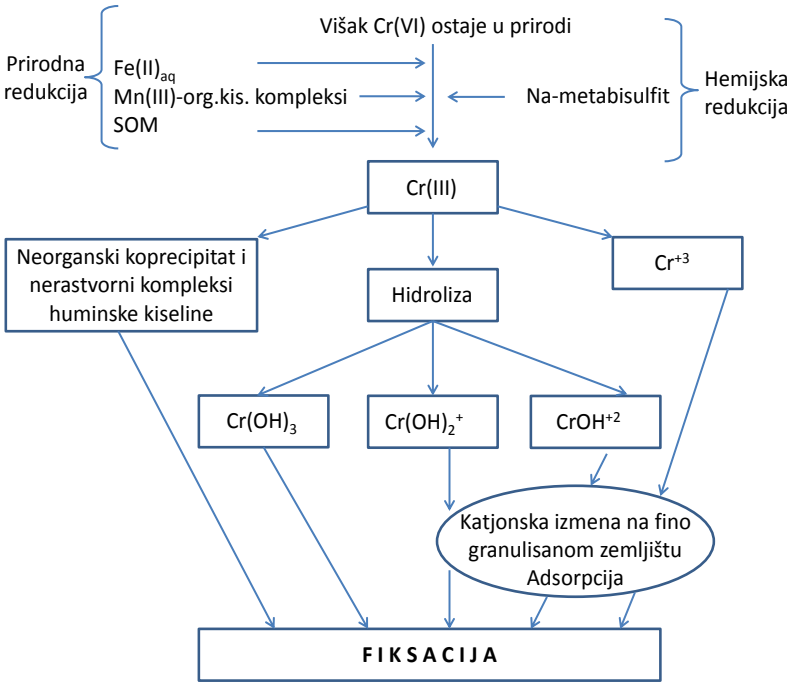
- adsorpcija hromata se povećava sa smanjenjem pH;
- zemljišta koja sadrže više Al i Fe oksida pokazuju veću adsorpciju Cr(VI);
- vezivanje hromata se suzbija u prisustvu SO_4^{2-} i neorganskog ugljenika, usled kompeticije na adsorpcionim centrima.

In situ tretmani za zemljište i vode zagađene hromom obično uključuju redukciju Cr(VI) do manje pokretnih oblika Cr(III). Mogući načini redukcije su putem dodatka natrijum-metabisulfita (za podzemne vode) ili natrijum-ditionita za redukciju Fe(III) u Fe(II), koji zatim redukuje hrom(VI). U ovim procesima SO_4^{2-} je sporedni proizvod koji inhibira vezivanje preostalog hromata, održavajući ga u mobilnoj fazi i čineći ga dostupnim do kompletiranja redukcionog procesa. Međutim, permanentna fiksacija Cr(III) može biti sprečena, ako se zna da kompleksi sa organskim kiselinama male molekulske mase (na primer, hrom-citrat) mogu da migriraju do površine i da budu reoksidovani do Cr(VI) u prisustvu MnO_2. Na slici 2.4-12. su dati primeri prirodnih i hemijski indukovanih *redoks*-procesa, sa mehanizmima fiksacije.

Mangan-dioksid se prirodno formira u gornjim, aerisanim slojevima tla (engl. *vadose zone*), oksidacijom MnO atmosferskim kiseonikom, i tako se objašnjava uočeni paradoks da se *redoks*-procesi hroma simultano odvijaju *in situ*.

Ipak, pod uslovima normalne vlažnosti, mobilni Cr(III) (na primer, Cr^{3+} ili hrom-citrat) ne podleže lako oksidaciji, koja se odigrava tek ako je zemljište vlažno i ako je površinski MnO_2 sveže nagrađen (to jest, amorfan pre nego kristalan) [BARTLETT, 1991]. Dalje, Mn(III) kompleksi sa organskim kiselinama mogu takođe redukovati Cr(VI), a sam Mn(III) nastaje u reakciji Mn(II) sa Mn(IV) u prisustvu organskih kiselina iz SOM [BARTLETT, 1991]. Proces se dalje spontano ponavlja, kao posledica ciklusa hrom-citrata.

Kako je BARTLETT (1991) zaključio, sve dok je celokupan sadržaj Cr(VI) redukovan, a postojeći ili novonastali Cr(III) vezan organskim polimerima iz zemljišne organske materije, hrom ostaje inertan i imobilisan, u slučaju da je kiseonik isključen iz sistema – drugim rečima, izolovanje dna zagađenog područja (prema podzemnim vodama) nije neophodno, ako je površinski gornji sloj tla izolovan od dejstva atmosferskog kiseonika.



Slika 2.4-12. Šema redukcije i fiksacije hroma [BARTLETT, 1991].

2.4.3 Interakcije pesticida u sistemima zemljište/voda

Pokušaji da se analizira ponašanje pesticida u tlu, kao kombinacija interakcija sa separatnim zemljišnim konstituentima je imala samo ograničeni uspeh [LAFLEUR,1979] usled njihove brojnosti, varijabilnosti i međusobne interakcije komponeti zemljišta na komplikovan i često nepredvidljiv način. Nakon više od četrdeset godina intenzivnih istraživanja sorpcije pesticida, ukoliko se želi precizno (unutar nekoliko %) determinisanje sorpcionih procesa specifičnog pesticida u specifičnom zemljištu – primenjuje se još uvek empirijski pristup – to jest, moraju se vršiti neposredna merenja, jer nijedan teorijski model ne može u potpunosti da pruži sasvim zadovoljavajuće slaganje sa realnim stanjem.

Faktori koji utiču na retenciju pesticida su: broj, vrsta i dostupnost HS funkcionalnih grupa, hemijska priroda pesticida, karakteristike tla, uključujući vrste i udele minerala gline i drugih komponenti, pH, izmenljive katjone, vlagu temperaturu itd. [STEVENSON, 1982]. Još su BAILEY i WHITE (1970) odredili nekoliko osobina pesticida koji utiču na retenciju i tip vezivanja na komponetama zemljišta, pre svega, vrste funkcionalnih grupa (karboksilna, alkoholna, amini, itd.) i njihove alteracije u zemljištu, aromatična jezgra i nezasićenost molekula koji utiču na liofobni/liofilni balans, kiselo-bazne karakteristike, prisustvo i ekspozicije π-elektrona, itd.

Zemljišna sorpcija pesticida se karakteriše kao *particiona* (distrubuciona) *konstanta*, K_D, koja se direktno meri tako što se uzorak zemljišta mase m_s (g) pomeša sa zapreminom V (mL) vode (ili drugog medijuma, npr. 0,1 mol/L $CaCl_2$ da bi se minimizovao poremećaj mineralnog balansa). Masa m_p (g) pesticida se dodaje u suspenziju, čime se dobija početna koncentracija $C_i = m_p/V$ u tečnoj fazi, a zatim se uz povremeno blago mešanje u toku 2 – 48 h, u sistemu uspostavi ravnoteža [BOESTEN *et al.*, 1989; GREEN i KARICKHOFF, 1990). Zatim se tečna faza analizira na postignutu ravnotežnu koncentraciju pesticida u tečnoj fazi, C_c. Idealno je da je se analizira i zemljišna faza, u cilju potivanja balansa masa, ali se ovo često izostavlja, usled analitičkih poteškoća. Pretpostavljajući da je sav pesticid uklonjen iz rastvora istoveremeno sorbovan u zemljištu (nije degradiran, ili volatilizovan itd.), masa frakcije pesticida u čvrstoj fazi (x) se izračunava kao $x = V(C_i - C_c)$, koncentracija je x/m_s (g g^{-1}), a K_D se definiše kao:

$$K_{\mathrm{D}} = \frac{x / m_{\mathrm{s}}}{C_{\mathrm{c}}} \tag{2.4-9}$$

Visoke vrednosti K_{D} (~ 100 ili više) pokazuju da je pesticid jako sorbovan i da će imati malu mobilnost u zemljištu *in situ* (što je obično u vezi sa smanjenjem mogućnosti mikrobiološke degradacije), da verovatno veliku bioakumulaciju, hidrofobnost i nerastvorljivost, mada postoje izuzeci [KARICKHOFF *et al.*, 1979, 1989; CHIOU *et al.*, 1977]. Poslednjih decenija je izvršeno na hiljade određivanja K_{D}, a ustanovljena je samo jedna opšte prihvaćena pravilnost – ako se vrednost K_{D} pesticida meri u različitim zemljištima, postoji generalno visoka korelacija između sadržaja organske materije (SOM) i K_{D}.

Kako je sugerisao HANCE još 1965. god, za datu primenjenu dozu, herbicidi su pokazivali veću fitotoksičnost u zemljištima sa niskim SOM, što je potvrđeno i ranim radovima brojnih drugih autora [SHERBURNE i FREED, 1954; SHEETS, 1958; UPCHURCH, 1968; HARRIS i WARREN, 1964; HANCE, 1965 b; LAMBERT *et al.*, 1965; BAILEY i WHITE, 1964, 1970; GORING, 1967; LENHEER i ARHLICHS, 1971]. Zapažanja se objašnjavaju činjenicom da SOM, kao nepolarna faza, ima veliki afinitet ka pesticidima kao tipično nepolarnim molekulima. Čak i kada je tlo razliženo na granulometrijske frakcije, sadržaj SOM može da objasni razlike u sorptivnosti. Kvantitativni sadržaj SOM se može izraziti na više načina, a često se koristi SOM kao *ukupni organski ugljenik* (OC), određen digestijom ili spaljivanjem [NELSON i Sommers, 1982]. Odnos mase SOM i mase organskog ugljenika je 1,72 – 2,0 dakle nije konstantan, pa se OC-sorpcioni koeficijent pesticida dobija deljenjem izmerenog KD vrednošću za OC-frakciju (F_{OC}) uzorka zemljišta

$$K_{\mathrm{OC}} = \frac{K_{\mathrm{D}}}{F_{\mathrm{OC}}} \tag{2.4-10}$$

Kada se jednom izračuna K_{OC} iz K_{D} i F_{OC} merenja za pesticid u zemljištu, K_{D} za taj pesticid se u principu može izračunati za svako drugo zemljište čije je F_{OC} poznato, sa pretpostavkom da je vrednost K_{OC} gotovo konstantna za sva zemljišta. Ipak, u slučajevima kada se proučavaju zemljišta niskog sadržaja SOM, dešava se da K_{OC} može više da varira nego vrednost K_{D} [MUSHTAQ *et al.*, 1996].

K_{OC} se univerzalno koristi kao relativna mera potencijalne mobilnosti pesticida u zemljištu [COHEN *et al.*, 1986; CLEVELAND, 1996; KOSKINEN i HARPER, 1990] i u *fugasnim modelima* koji opisuju distribuciju pesticida u sistemima zemljište/voda/atmosfera [MACKAY i PATERSON, 1982, 1991]. Kada se pesticidi porede na ovaj način, i ako se samo velike međusobne razlike (faktor 10 i više) smatraju signifikantnim, ovaj parametar ima vrlo široku upotrebu, jer su dostupne relativno kompletne baza podataka K_{OC} vrednosti [USDA-NRCS; USDA-ARS; WAUCHOPE *et al.*, 1992; AUGUSTIJN-BECKERS *et al.*, 1994; HORNSBY *et al.*, 1995]. Različiti direktni i izvedeni parametri relativne mobilnosti se primenjuju u brojnim teorijsko/empirijskim modelima razrađenim u naučno-istraživačke i inženjerske svrhe – na primer, GUS [GUSTAFSON, 1989] i JURY *et al.* (1983) *leaching index*-i, NRCS *leaching* i *runoff risk indices* [GOSS, 1992], SWMI – *Surface Water Mobility Index* (CHEN *et al.*, 2002], i drugi *Risk index* algoritmi u kombinaciji sa GIS (*Geographic Information System*) itd.

Za razliku od prethodnih relacija, predstavljenih jednostvnim jednačinama, u praksi se pokazuje da sistemi zemljište/voda/pesticid ipak imaju daleko kompleksnije međusobne odnose, a uzroci odstupanja od prikazanog jednostavnog modela se mogu svesti na sledeće:

A) **Organska materija zemljišta nije jedini mogući sorbent.** Za pesticide male polarnosti i rastvorljivosti reda mg/L, SOM je dominantan sorbent, ali takođe i polarniji molekuli, i čak joni, se mogu vezati na SOM. Za polarnije molekule se i površine drugih komponenti zemlišta konkurišu kao sorbenti, pogotovo ako je sadržaj SOM nizak. [SPENCER i CLIATH, 1974; FARMER *et al.*, 1972; KETCHERSID

et al., 1969; BARDSLEY *et al.*, 1968]. Zapaženo je da, osim pesticida i 2,2'-bipridinijum jon može da pokaže sorpciju na mineralima zemljišta [NICHOLLS i EVANS, 1991].

B) **Ravnoteža koja se postiže je samo prividna.** Sorpcija i desorpcija predstavljaju kompleksan sistem procesa sa sporom i brzom kinetikom. Prvo, dolazi do brze, reverzibilne difuzije, kada se mogu pratiti vremenski zavisne koncentracije unutar nekoliko minuta; drugo, odvija se sporija izmena pesticida uzmeđu čvste faze i zemljišnog rastvora, koja traje od 1 h do 1–2 dana; treće, nastaju vrlo spore reakcije, koje su posledica „starenja" zemljišta (engl. *aging*) koje ireverzibilno uklanjaju pesticid iz rastvora unutar nekoliko nedelja ili čak nekoliko godina [PIGNATELLO *et al.*, 1993; MOSTAFA *et al.*, 1982; SAWHNEY *et al.*, 1988].

C) **Apsorpciona izoterma je često nelinearna.** Pretpostavljajući da je dostignuto barem kvazi-ravnotežno stanje, najčešće odstupanje od jednačine 2.4-9 je postepeno smanjenje K_D sa porastom primećene koncentracije pesticida u rastvoru, što daje nelinearnu izotermu sa negativnim zakrivljenjem. *Freundlich*-ova izoterma, koja se za konkretan slučaj dobija fitovanjem uz *log-log* transformaciju podataka, ima analitički oblik:

$$\frac{x}{m} = K_f (C_c)^{1/n} \quad \text{ili} \quad \log\left(\frac{x}{m}\right) = K_f^* + \left(\frac{1}{n}\right)\log(C_c) \qquad (2.4\text{-}11)$$

gde su K_f i $1/n$ konstante (vrednost $1/n$ je obično 0,7 – 1,0). Odstupanje od linearnosti se primećuje pre svega kod pesticida koji koji nisu ekstremno hidrofobni [Scheunert, 1992; Chiou i Kile, 1998].

D) **Ravnoteža ne mora biti potpuno reverzibilna ili jednoznačna.** SWANSON i DUTT (1973) su primetili povećanje K_D, kada je apsorpciono uravnotežavanje zemljišnog rastvora praćeno naknadnom zamenom vodene faze i desorpcionim uravnoteženjem – pojava koja se opisuje terminom *histerezis* [CORWIN i FARMER, 1984; GROVER, 1975].

E) **Struktura i hemijske osobine SOM su kompleksne i kontroverzne.** WALKER (1972) i MOYER *et al.* (1972) su utvrdili da organska materija pokazuje ireverzibilnost u desorpciji posle sušenja i naknadnog ovlaživanja.

F) **Jonizujući pesticidi mogu imati sorpciju vrlo zavisnu od pH.** Uopšteno, pH promene igraju malu ulogu u adsorpciji nejonogenih molekula. Ali oko jedne trećine savremenih pesticida su jače ili slabije kiseline ili baze, i oni pokazuju znatnu varijaciju K_D u zavisnosti od pH [UKRAINCZYK i AJWA, 1996; STOUGAARD *et al.*, 1990; WEBER, 1993]. Površinsko naelektrisanje zemljišnih komponenti se menja sa pH, pojačavajući efekat. Anjonske vrste imaju dosta niske K_D vrednosti zbog odbojnih sila negativno naelektrisnih zemljišnih komponenti, dok se katjoni mnogo bolje adsorbuju i mogu pokazati veću korelaciju sa sadržajem gline nego nego sa SOM. Primeri uključuju oštro povećanje K_D kod protonovanih triazina u kiselim zemljištima, a sa druge strane, povećanje mobilnosti karboksilnih kiselina i sulfonilureatnih herbicida na visokim pH kada anjonske vrste dominiraju [WERKHEISER i ANDERSON, 1996; WEED i WEBER, 1974]. U tabeli 2.4-2 je dato opšte poređenje kiselo-baznih karakteristika pesticida, sa efektima na prirodno okruženje.

Tabela 2.4-2. Mobilnost (sorpcija) kiselih i baznih pesticida [WAUCHOPE *et al.*, 1999].

pK_a/pK_b vrednost	Dominantna forma pesticida na pH 5–8 (prosečan tip zemljišta)	Posledice na životnu sredinu
$pK_a < 3$	X^- (anjon)	Visoka mobilnost u zemljištu, ukoliko se ne formiraju hemijski kompleksi; manja mobilnost pod vrlo kiselim uslovima; vrlo rastvoran; neisparljiv.
$pK_a > 10$	XH (neutralna)	Ponaša se kao nejonogeni molekul, osim pod vrlo alkalnim uslovima; manje mobilna od anjona; verovatno znatno manje rastvoran od anjona, moguća isparljivost.
pK_a 3 – 10	X^-/XH, u *f*(pH)	Ako je pH blisko pK_a mobilnost, rastvorljivost i isparljivost će zavisiti od pH.
$pK_b < 4$	$(XH)^+$ ili X^+ (katjon)	Vrlo imobiliziran (sorpcija na glini); vrlo rastvoran; velika sorpcija u zemljištu dovodi do dugačkog poluživota, ali i male biološke aktivnosti; neisparljiv.
pK_b 4 – 11	$(XH)^+$/X ili X^+/X(OH), u *f*(pH)	Ako je vrednost (14 – pH zemlj.) bliska pK_b mobilnost, rastvorljivost i isparljivost biće zavisne od pH. Ekstremna sorpcija katjona dovodi do efekta „površinske kiselosti" zemljišta.
$pK_b > 11$	X ili X(OH) (neutralno)	Ponaša se kao nejonogeni materijal, osim pod vrlo kiselim uslovima; mnogo mobilniji i manje rastvoran nego katjon; moguća isparljivost.

G) **Degradacija pesticida unutar vremenskog okvira eksperimenta.** Tipične *soil-coloumn* ili *batch* studije adsorpcije-desorpcije traju od nekoliko sati do 48 h ili duže. Za to vreme pojedini pesticidi mogu biti delimično degradirani, i ako se ne sprovede analiza masenog balansa, gubitak pesticida iz rastvora može biti pripisan sorpciji, što pogrešno daje previsoke K_D vrednosti [WOLFE, *et al.*, 1990; DEKKERS, 1978]. Degradacija pesticida za vreme sorpcije u zemljištu može biti *abiotska* (hidroliza, fotoliza, kataliza na površini minerala ili kataliza metalnim jonima) ili *mikrobiološka* (oksidacione reakcije: hidroksilacija, *N*-dealkilovanje, β-oksidacija, dekarboksilacija, cepanje etarskih veza, epoksidacija, oksidativno kuplovanje, sulfoksidacija; redukcione reakcije, npr. na nitro ili alkenskoj grupi; reakcije hidrolize, npr. estri, amidi, organohalogeni; reakcije sinteze, kao konjugacija ili kondenzacija).

2.4.4 Interakcije huminskih supstanci sa pesticidima

Huminske kiseline u svojoj strukturi sadrže i hidrofilne i hidrofobne fragmente, tako da mogu stupiti u interakcije i sa polarnim i sa nepolarnim jedinjenjima, što ih čini veoma bitnim konstituentima geosorbenata. Uopšte, huminske kiseline su veoma aktivne u interakcijama sa različitim organskim i neorganskim polutantima, tako da utiču na njihovu degradaciju, dostupnost živom svetu, pokretljivost, itd.

Od funkcionalnih grupa zavisi karakter međusobnog delovanja huminskih kiselina (HK) sa sredinom koja ih okružuje. Približno 80% vodonika u huminskim supstancama je vezano za ugljenik, dok je ostatak vezan za kiseonik. Huminske supstance (HS) poseduju čitav spektar slabo kiselih funkcionalnih grupa, uključujući i karboksilne i fenolne grupe. Sve karboksilne grupe HS disosuju pri pH < 7.

HS su sposobne da reaguju sa mnogim specifičnim organskim jedinjenjima koja se nalaze u vodi i zemljištu. Organski pesticidi su jedni od njih. Nema sumnje da organska materija igra glavnu ulogu u vezivanju pesticida za zemljište, kao i da je ova pojava obično najvažniji razlog za interakciju pesticida sa zemljišnim okruzenjem.

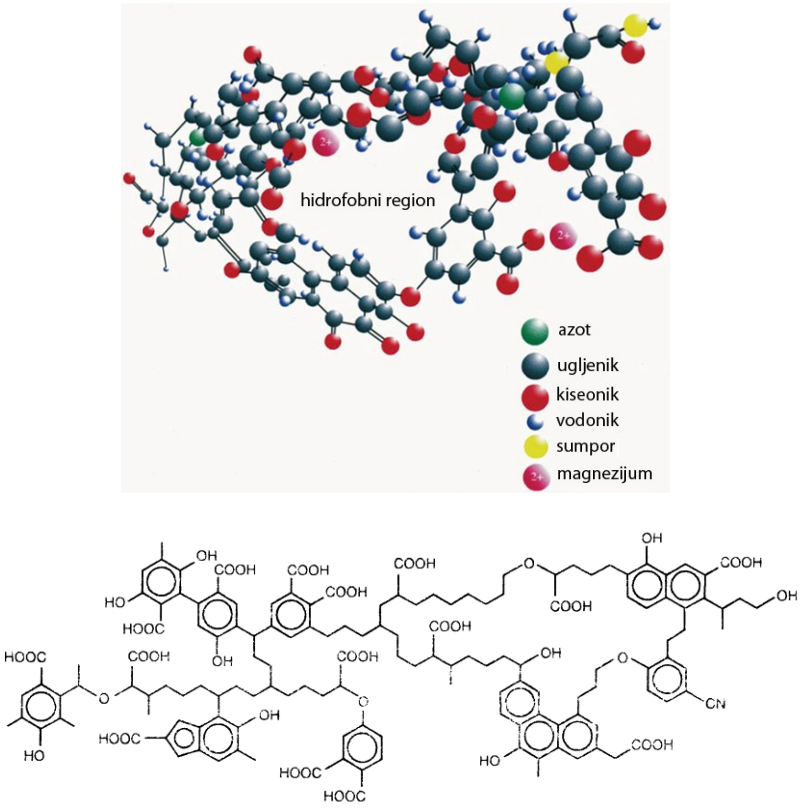
Fulvo i huminske kiseline (slika 2.4-13.) najčešce učestvuju u ovim interakcijama. Vezivanje može doći sa originalnim pesticidima ili transformisanim oblikom. Interakcija se odvija preko nekoliko mehanizama. Među njima su *Van der Vaals*-ove sile koje su izvor slabog privlačenja. Jače interakcije nastaju usled sledećih procesa [TIPPING i WOOF, 1991]:

A) **Reakcije između pozitivno naelektrisanih vrsta i negativno naelektrisanih delova molekula HS.** Na primer u kome je supstrat atrazin, široko upotrebljivan herbicid iz klase triazina. Pod tipičnim uslovima životne sredine (pH=8) molekul atrazina je pozitivno naelektrisan usled protonovanja jednog od atoma azota iz prstena. Kao posledica toga, dolazi do reakcije ovog herbicida sa karboksilnom grupom HS.

B) **Vodonična veza.** Moguće su različite vrste vodoničnih veza koje nastaju između atoma N- ili O- iz funkcionalnih grupa HS i organskih molekula pesticida. Polarne grupe mogu učestovati u stvaranju vodoničnih veza što može značajno uticati na trodimenzionalnu strukturu organske materije.

C) **Jonske veze ili izmena liganada.** Ova interakcija se vrši sa prelaznim metalima ili metalima kao sto je Ca^{2+}. S obzirom da su polarne grupe uglavnom kiselog karaktera mogu se kompleksirati sa metalnim jonima (Ca^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}). Pri maloj jonskoj jačini i odgovarajućem pH, polarne grupe mogu biti disosovane, što će izazvati odbojne elektrostatičke interakcije koje će usloviti "otvorenu" strukturu prirodnih organskih materija. Ali, ako su dvovalentni katjoni (npr. Ca^{2+}) vezani za funkcionalne grupe, nema odbojnih elektrostatičkih interakcija, dolazi do formiranja mostova između grupa i "uvijanja" makromolekula što dovodi do formiranja hidrofobnih šupljina, pa je pri ovim uslovima izraženija sorpcija organskih jedinjenja na huminskim supstancama.

D) **Hidrofobne interakcije.** Nepolarni molekuli mnogih pesticida, ostvaruju kompatibilno vezivanje uglavnom sa ugljovodoničnim delom HS. Asocijacija uključuje gubitak energije zato što molekul mora da raskine uspostavljenu strukturu u vodenom rastvoru kako bi prešao iz vodene faze u HS.



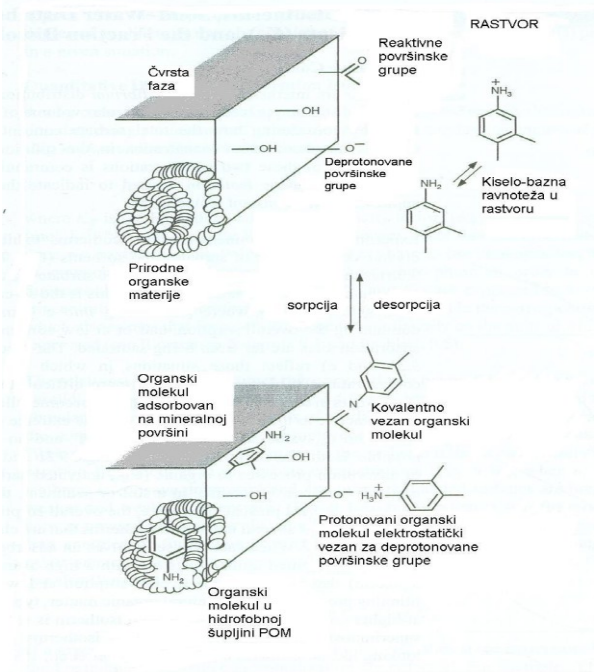
Slika 2.4-13. Hipotetička struktura huminske kiseline [SCHULTEN i SCHNITZER, 1993].

Kombinacija svih ovih faktora doprinosi formiranju veze između organskih molekula i HS. Još detaljniji opis interakcija zahteva uzimanje u obzir i drugih faktora okoline kao što su pH i jonska jačina. U baznoj sredini (na većim pH vrednostima) triazini postaju podeljeni u frakciji HK zbog hidrofobnosti, dok u kiseloj sredini (na nižim pH vrednostima) vodonično vezivanje se verovatno javlja između molekula triazina i polimera huminskih kiselina.

Većina malih neutalnih molekula, koji su prisutni u vodi, je pod jakim uticajem prisustva HS, a kao posledica toga nastaje jonsko vezivanje. U suprotnom, nerastvorne organske supstance mogu biti prevedene u rastvor asocijacijom sa rastvornim materijama. Suprotan proces se takođe dešava. Ako HS postanu nerastvorne (to na primer može da se dogodi kada se rečna voda spoji sa morskom u ušću) one prilikom agregacije povlače sa sobom na dno i organske molekule. U tom slučaju, takođe i usled direktne asocijacije sa čvrstom HS, takvi molekuli su *nepokretni*. Dakle, u zavisnosti od okolnosti, HS mogu da povećavaju rastvorljivost ili uklanjaju iz rastvora organske materije kao što su npr. pesticidi. Osim toga, kada se jednom uspostavi asocijacija, reaktivnost rastvora se menja. U primeru hemijske reakcije, kao što je hidroliza atrazina, degradacija se ubrzava usled asocijacije sa HS. Ima takođe slučajeva kada je degradacija inhibirana asocijacijom, npr. bazna hidroliza DDT-a (dihlorodifeniltrihloroetan).

Drugi mogući tip interakcije HS sa okolinom je asocijacija sa metalima, uz stvaranje jonske ili kovalentne veze.

Treći oblik u kome se HS javljaju u prirodnoj okolini su asocijati sa glinom u sistemu zemlja – voda. Ovi kompleksi su dosta ispitivani korišćenjem različitih tipova mikroskopa. Sa mineralnim glinama dolazi do posebne interakcije i dobro je poznato da HS daju formu tankog sloja na izloženim mineralnim površinama. Površinsko vezivanje se ostvaruje preko specifičnih kovalentnih interakcija između metala (Al^{3+}, Fe^{3+}) na površini gline ili metala (Ca^{2+}, Al^{3+}) iz susednog rastvora i između HS, a poznato je kao slabo vodonično vezivanje. Iz razloga što obe površine gline i HS imaju negativno neto-naelektrisanje, jednostavne elektrostatičke interakcije ne igraju značajnu ulogu. Azot igra važnu ulogu u nastanku jakih vezivnih mesta za određene jone metala, a sumpor je važan element koji učestvuje u stvaranju stabilnih kompleksa sa polarizabilnim metalima, kao što je živa. Na slici 2.4-14. su šematski prikazani mehanizmi interakcije organskih molekula sa zemljišnom organskom materijom.



Slika 2.4-14. Vrste interakcija organskih molekula sa prirodnim organskim materijama (HS).

2.5 Specijaciona analiza hroma geohemijskim modelom MINTEQ

Prilikom ispuštanja polutanata u životnu sredinu oni postaju učesnici velikog broja reakcija koje uslovljavaju njihovo ponašanje, distribuciju, tranfsormaciju u životnoj sredini, pa samim tim i njihovu toksičnost. Ove reakcije i/ili procesi uključuju sorpciju, precipitaciju i kompleksiranje. Usled široke i intenzivne upotrebe hroma u industriji kako metalurškoj, tako i u hemijskoj i industriji vatrostalnih materijala, specijaciji hroma se pridaje puno značaja poslednjih decenija. Prilikom ispuštanja hroma u životnu sredinu on postaju učesnik velikog broja reakcija koje uslovljavaju njegovo ponašanje, distribuciju, tranfsormaciju u životnoj sredini, pa samim tim i njegovu toksičnost. Ove reakcije i/ili procesi uključuju sorpciju, precipitaciju i kompleksiranje.

Specijacione analize predstavljaju procese merenja, kojima se dobijaju kvalitativne i kvantitativne informacije o hemijskim vrstama i oblicima nekog elementa, kao i o raspodeli hemijskih vrsta kroz različite sredine. Ove analize uglavnom obuhvataju dva koraka: separacija traženog elementa od matriksa u kome se nalazi i određivanje elementa. Specijacijom se vrši diferencijacija elementa na osnovu njegovih oksidacionih stanja, pojave u katjonskim, anjonskim ili neutralnim formama, protonovanim ili neprotonovanim, pojave u vidu jednostavnih ili kompleksiranih jona, kao i monomernim ili polimernim formama.

Da bi se opisale kompleksirajuće osobine huminskih supstanci, predloženo je nekoliko teorijskih matematičkih modela (DZOMBAK *et al.*, 1986; STEVENSON *et al*., 1993; STEVENSON, 1994):

A. Modeli diskretnih vezivnih mesta tretiraju HS, odnosno njihove kompleksirajuće osobine kao rezultat limitiranog broja vezivnih mesta, ignorišući efekte koji proističu iz varijacija u naelektrisanju huminskih makromolekula, kao i varijacija u njihovoj molekulskoj konfiguraciji. Najjednostavniji model je model sa jednim vezivnim mestom (single site model, *engl*.) koji najmanje reprezentuje kompleksirajuće osobine HS. Ovaj model tretira HS kao smešu nekoliko jednostavnih kiselina, koje sa jonima metala reaguju na isti način kao i jednostavni organski ligandi (PERDUE *et al.*, 1984; SPOSITO, 1986). Prema ovim autorima vrednosti ravnotežnih konstanti i koncentracije vezivnih mesta dobijenih fitovanjem potenciometrijskih kriva, predstavljaju srednje vrednosti za nekoliko vrsta liganda. Iako se fitovanjem može postići visok stepen korelacije, fitovanjem dobijeni parametri ne moraju imati hemijski značaj. Ovakav model nije pogodan za složenu smešu različitih liganada, kakve su HS.

B. Modeli kontinualne distribucije (continuous distribution models, engl.) bolje opisuju kompleksirajuće osobine HS. Veliki broj autora se slaže da je heterogenost huminskih substanci veoma velika, tako da pokazuju kontinuum jačina vezivanja, pa samim tim i

ravnotežnih konstanti. Ovi modeli predpostavljaju da konstante stabilnosti predstavljaju kontinuum vezivnih mesta HS, a ne diskretne klase vezivnih mesta, i da taj kontinuum nastaje usled sekundarnih efekata, koji menjaju afinitet vezivnih mesta, a javljaju se sa smanjenjem broja slobodnih vezivnih mesta, odnosno kako se kompleksiranje dalje odvija. Da bi se opisale ovakve osobine, koje se menjaju na kontinualan način, primenjuju se krive distribucije, odnosno distribucioni spektri, čijim se integraljenjem u granicama distribucije logK vrednosti mogu dobiti podaci o ovim osobinama. Jedan od pristupa, koji uključuje distribuciona spektre u opisivanju osobina makromolekula, je normalni distribucioni model, tzv. Gauss-ov distribucioni model (POSNER, 1964; PERDUE i LYTLE, 1983; PERDUE *et al*., 1984).

C. Elektrostatički modeli. Ovi modeli nastoje da uključe i elektrostatičke efekte koji utiču na vezivanje metala, koji se posebno javljaju tokom titracije. Pretpostavka je da su sva vezivna mesta hemijski identična, sa varijacijama u uslovnim log$K$ vrednostima, što se pripisuje promeni naelektrisanja huminskog molekula tokom vezivanja metala. Ovaj model ne uključuje parametre koji bliže opisuju heterogenost huminskih supstanci.

D. Elektrostatički modeli diskretnog vezivnog mesta (engl. *discrete site electrostatic models*). Ovi modeli se baziraju na radu WILSON i KINNEY (1977) i uključuju parametre za više od jednog vezivnog mesta, kao i jonsku jačinu. EPHRAIM *et al.* (1986) su bili prvi koji su razmatrali ovaj pristup kroz razvoj polielektrolitnog gel modela. TIPPING (2002) i saradnici su dalje razvili ove pretpostavke sa serijom modela, pri čemu je integralni koncept ovih modela da se protoni i metalni joni vezuju za nekoliko hemijskih diskretnih mesta, pri čemu se u razmatranje uzimaju i elektrostatički sekundarni efekti (BACKES i TIPPING, 1987; TIPPING i HURLEY, 1988, 1992; TIPPING *et al.*, 1988, 1990; TIPPING i WOOF, 1990; TIPPING, 1993).

Jedna od mogućnosti definisanja ovih reakcija/procesa je korišćenje modela MINTEQA2. Visual MINTEQA2 je *Microsoft Windows*© baziran hemijski program za specijaciju. MINTEQA2 je geohemijski ravnotežni model koji daje proračun ravnoteže između rastvorene, adsorbovane, čvrste, tečne i gasovite faze u određenoj prirodnoj sredini. MINTEQA2 zahteva podatke hemijske analize uzorka koji se modeluje, što znači da proračun vrši na osnovu unete ukupne koncentracije rastvorenih komponenti od interesa i drugih podataka, kao što su pH, *redoks*-status (pe), kao i parcijalni pritisak jednog ili više gasova. Pomoću MINTEQA2 ekstenzivne termodinamičke baze podataka moguće je izvršiti geohemijsku specijaciju sistema. MINTEQA2 je odličan alat za istraživanje u oblasti hemije životne sredine, jer daje mogućnost definisanja fizičkih i hemijskih procesa koji kontrolišu ponašanje polutanata u životnoj sredini. Važno je naglasiti da su za precizan opis prirodnog sistema potrebni i precizni analitički podaci. Takođe, MINTEQA2 se zasniva isključivo na termodinamičkim podacima i ne uključuje kinetički aspekt geohemijskih reakcija. Stoga, prilikom korišćenja MINTEQA2 moraju se uvek imati u vidu hemijski principi, jer program može nekada dati hemijski nelogična rešenja.

Vezivanje katjona teških metala za huminske supstance je važan proces u mnogim prirodnim vodama. Modelovanje ovog procesa pomoću hemijskih ravnotežnih modela je relativno kompleksno pošto su huminske supstance heterogeni ligandi koji sadrže veliki broj vezivnih mesta. Takođe, treba imati u vidu da vezivanje katjona za huminske supstance može da se odvija i usled akumuliranja protiv-jona (engl. *counterion*) na negativnim vezivnim mestima huminskih makromolekula.

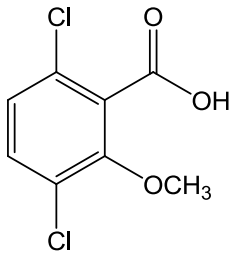
Rastvorljive huminske supstance se dele na fulvo i huminske kiseline, koje pokazuju različita kompleksirajuća svojstva. S obzirom da huminske supstance mogu da se jave i u rastvornoj i u nerastvornoj fazi, važno je uzeti u obzir vezivanje katjona i za rastvorne i za nerastvorne huminske supstance (humine).

Postoje različiti alternativni modeli proračuna katjonskog vezivanja za huminske supstance. Od ovih modela, tri su dostupna u Visual MINTEQ:

- **Gausov DOM model.** Ovaj model je preuzet iz originalnog MINTEQA2 ver. 4.0
- **Stockholm Humatni Model**. Može se koristiti i za specijaciju u vodenom rastvoru i za studije particije čvrsto-tečno (Gustafsson, 2001).
- **NICA-Donnan Model**. Ovaj model ima najveću termodinamičku bazu podataka, ali je dostupan samo za specijaciju u vodenim rastvorima (Benedetti *et al.*, 1996).

2.6 Ekološke karakteristike liganada antropogenog porekla

2.6.1 Ekološke karakterakteristike dikambe



Dikamba, kao organohlorni derivat benzoeve kiseline, je herbicid koji se masovno koristi za kontrolu jednogodišnjih i višegodišnjih biljaka u pšenici i drugim žitaricama, pašnjacima, kao i zasadima leguminoza, ali se primenjuje i za zaštitu urbanih površina, ograda, puteva ili deponija od masovnog zakorovljavanja. Uništava širokolisne korove pre i posle faze nicanja, a često se upotrebljava u kombinaciji sa drugim komponentama, na primer fenoksi-herbicidima. Četinarske vrste pokazuju osetljivost prema dikambi, dok su travnate monokotiledone biljke znatno otpornije [ARNOLD *et al*., 2002]. Kao herbicid deluje tako što stimuliše rast biljaka preko fizioloških granica, te pri dovoljnim koncentracijama, tretirana biljka svojim metabolizmom prevazilazi moguću asimilaciju nutrijenata, što dovodi do odumiranja.

Toksični efekti prema životinjskim vrstama i humanoj populaciji su procenjeni kao umereni za unos ingestijom, a još manji u pogledu inhalacije ili dermalne ekspozicije (oralni LD_{50} za pacove 757 mg/kg telesne mase, dermalni LD_{50} – 2.000 mg/kg, inhalacioni LD_{50} – 200 mg/kg). Toksičnost prema ribama i drugim akvatičnim organizmima je vrlo mala ili beznačajna [*U.S. Environmental Protection Agency*, EPA]. Studije na životinjama su pokazale male negativne efekte na reproduktivne procese, a zapaženo je neznatno uvećanje ćelija jetre kod intoksifikovanih pasa, što je efekat koji nije primećen u humanoj populaciji.

Uticaj dikambe na životnu sredinu se ogleda pre svega u napadu na biljke koje se ne smatraju korovskim vrstama (neselektivnost), a ova opasnost se povećava usled visoke mobilnosti dikambe u tlu i s tim u vezi, mogućnošću njenog prodora u vodene slojeve. Adsopcija ovog jedinjenja u organsko-glinovitim zemljištima je pod uticajem zemljišnog pH, tako da kisela zemljišta pokazuju najveću adsorpciju. U zemljištu pokazuje umerenu perzistentnost, sa procenjenim vremenom poluživota od 1 – 6 nedelja, s tim da se znatno brže degradira u uslovima visoke mikrobiološke aktivnosti tla. Zapaženo je takođe da je realna disipacija dikambe dosta sporija u šumskim područjima i močvarama, u odnosu na rezultate laboratorijskih simulacija. Pri koncentraciji od 10 mg/kg u peskovito-glinovitom tlu, dikamba uzrokuje prolazno smanjenje nitrifikacionih procesa u roku od 2 – 3 nedelje od inkubacije.

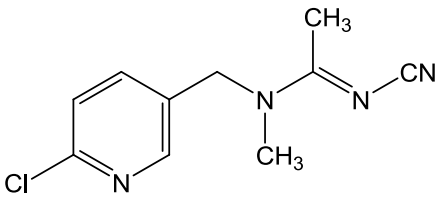
Soli dikambe su lako rastvorne u vodi, i povremeno se nalaze u podzemnim vodenim slojevima, tako da su pojedine studije [*U.S. Geologic Survey*, USGS 1998] dokazale ovo jedinjenje u 0,11 – 0,15% ispitivanih podzemnih voda, uz maksimalno detektovane koncentracije od 0,0025 mg/L, ali i sa karakterističnim neočekivanim nalazom da postojanje

dikambe u vodama na agrikulturnim terenima (0,11%) nije u korelaciji sa nalaženjem u nepoljoprivrednim urbanim oblastima (0,35%).

Nekoliko drugih studija [SERA, 1994; MILLER *et al.*,1995; RITTER *et al.*, 1996; GROVER *et al.*, 1997] je ukazalo na znatno veću učestanost nalaženja dikambe u podzemnim i površinskim vodama na terenima zahvaćenim agrotehničkim merama, čak 17 – 55% uzoraka vode je imalo detektibine koncentracije herbicida.

Analtičko određivanje je definisano različitim metodama, koje uključuju FT-IR spektroskopiju, kao i *reversed-phase* HPLC sa UV detekcijom na 280 nm. Procedure uključuju preparaciju sa SPE na C-18 adsorbensu [KRZYSZOWSKA i VANCE, 1994] kao i detekciju u ACPI i ESI negativom modu MS i MS/MS jonske detekcije.

2.6.2 Ekološke karakterakteristike acetamiprida



Acetamiprid spada u sistemične *neonikotinoidne* insekticide* za primenu u lisnatom povrću, citrusima, jabučastom voću, grožđu, pamuku, ukrasnim biljkama. Veoma je efikasan u komercijalnom uzgoju višanja, jer suzbija larve višnjeve muve *Rhagoletis cerasi*, rasprostranjene bolesti koja napada voćnjake u Evropi. Toksičnost acetamiprida prema ljudskoj populaciji i životinjama – sisarima je generalno niska, kako u akutnom obliku, tako i u hroničnim ekspozicijama, bez evidentne kancerogenosti, neurotoksičnosti ili mutagenosti.

Acetamprid ne pokazuje značajnu hidrolizu na pH 5 i 7 (pri 22, 35 i 45°C), odnosno pH 9 (22°C), kao ni fotolizu u zemljištu, dok u vodi fotolitički proces lagano redukuje koncentraciju acetamiprida, sa periodom poluživota od 34 dana na pH 7 (25°C).

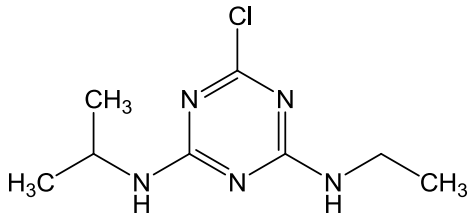
Anaerobna degradacija u vodenoj sredini se karakteriše vremenom poluživota od 45 dana sa metil(6-hloro-3-piridil)metilaminom kao glavnim produktom, koji dostiže maksimum od 62,3% od primenjenog acetampirida posle 6 meseci, sa tendencijom pada na 32,5% posle 10-mesečnog intervala. Pri ovim uslovima su detektovana su još dva metabolita koji dostižu maksimalni nivo od 21% (1 mesec) i 17,7% (6 meseci), a zatim se dalje degradiraju.

Usled malih koncentracija u komercijalnoj primeni i hemijsko-ekoloških karakteristika (brza degradacija), acetamprid se ne smatra mobilnim zemljišnim polutantom, a nisu nađene ni značajne rezidualne koncentracije u pijaćoj vodi (*U.S. Environmental Protection Agency*, *EPA*). Takođe ne pokazuje tendenciju bioakumulacije u ribama i drugim vodenim organizmima, kao ni zadržavanje u sedimantima. Zbog svih karakteristika, prema sadašnjim saznanjima primena acetamiprida se odlikuje niskim rizikom po zdravlje i životnu srednu, u komparaciji sa primenom drugih insekticida.

Analitička hemija acetamiprida uključuje različite varijante HPLC i masene spektrometrije uz MS/MS identifikaciju, [NEAL, 2003; KENJI, 2003], dok se različite *Column Leaching* metode primenuju pri ispitivanju i modelovanju kinetike acetamprida i njegovih metabolita u zemljištu i vodi [HARDY, 2003] uključujući i primenu ^{14}C-markiranog acetamprida [SIMMONDS, 2003].

* Neonikotinodi su klasa insekticida koji deluju na centralni nervni sistem insekata, uz malu toksičnost prema sisarima. Zbog toga spadaju u najrasprostranjenije pestide u komercijalnoj upotrebi, mada postoje i još uvek neproverene studije koje pokazuju moguće negativne efekte na kolonije medonosnih pčela.

2.6.3 Ekološke karakterakteristike atrazina



Atrazin je široko uporebljavani herbicid, čija je primena praćena mnogim kontraverzama, u smislu široko raprostranjene konaminacije tla i pijaćih voda ovim preparatom, a čije se neželjeno dejstvo povezuje sa defektima u prenatalnom razvoju dece, menstrualnim problemima i malignim oboljenjenima, čak i kada se unosi u dozama ispod onih definisanih nacionalnim standardima. Mada se njegova upotreba u Evropskoj Uniji od 2004 godine sve više ograničava, on i dalje predstavlja jedan od najrasprostranjenijih herbicida u svetu [ACKERMAN, 2007]. U Sjedinjem Državama atrazin je još uvek vrlo zastupljen, sa preko 34.000 tona godišnje upotrebe.

Herbicidno dejstvo atrazina se ogleda u suzbijanju širokolisnih i travnih korova u zasadima žitarica, pri čemu ispoljava visoku efikasnost, dok je proizvodna cena samog preparata relativno niska, što ga čini atraktivnim za primenu u intenzivnoj i visokoprofitabilnoj poljoprivrednoj proizvodnji. U literaturi se navodi povećanje prinosa od 1 – 6 % usled primene atrazina [ACKERMAN 2007, FAWCETT 2008].

Biodegradacija atrazina u tlu se odvija prevashodno pod uticajem mikroorganizama. Poluživot atrazina u tlu iznosi 13 – 261 dana, pri čemu su do sada zapažena dva puta degradacije:

1. Dealkilovanje amino-grupe, kojim se dobija 2-hloro-4-hidroksi-6-amino-1,3,5-triazin čiji dalji degradacioni proces nije poznat. Mehanizam se javlja kako kod *Pseudomonas* sp. tako i kod mnogih drugih bakterija.
2. Hidroliza C–Cl veze katalizovana hidrolaza-enzimima AtzA, AtzB i AtzC. Krajnji proizvod je relativno nestabilna cijanurna kiselina. Ovaj put je dokazan kod bakterija roda *Pseudomonas* sp. [WACKET i SADOWSKY 2002].

Stepen biodegradacije je u vezi sa malom rastvoljivošću atrazina, tako da surfaktanti mogu da ubrzaju proces. Iako dva alkil ostatka relativno lako podležu bakterijskom metabolizmu, atrazinski prsten je slab izvor energije, s obzirom na visok stepen oksidacije atoma prstena. Zapravo, najuobičajeniji proces degradacije uključuje cijanurnu kiselinu, u kojoj je ugljenik još više okdsidovan, te prsten predstavlja izvor azota aerobne mikroorganizme.

U procesima u kojima atrazin učestvuje kao izvor azota za rast bakterija, degradacija može biti regulisana prisustvom alternativnih izvora azota. U čistim kulturama atrazin-degradirajućih bakterija, kao i u realnim aktivnim zemljišnim bakterijskim populacijama, azot atrazinskog prstena (za razliku od ugljenika) biva asimiliran u biomasu mikrorganizama. Niska koncentracija glukoze može smanjiti biodostupnost, dok veće koncentracije pojačavaju katabolizam atrazina [RALEBITSO *et al.* 2002]

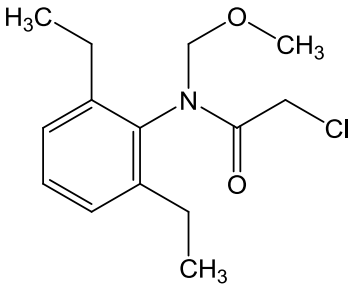
Slično herbicidima trifluralinu i alahloru, atrazin je podložan brzim transformacijama u matriksima glina sa značajnim udelom redukovanog gvožđa, na primer u *feruginoznim smektitima*. U prirodnim uslovima, određeni minerali nosioci gvožđa, mogu biti redukovani specifičnim bakterijama u odsustvu kiseonika, tako da se *abiotičke transformacije* ovako redukovanim mineralima mogu sagledavati kao "*mikrobiološki indukovane*" degradacije [XU *et al.* 2001].

Prema *Extension Toxicology Network* (USA) oralna srednja letalna doza atrazina (LD_{50}) za pacove iznosi 3090 mg/kg, 1750 mg/kg za miševe, 750 mg/kg kod zečeva, odnosno 1000 mg/kg kod hrčaka. Dermalna LD50 za zečeve je 7500 mg/kg, odnosno >3000 mg/kg za pacove; Prilikom inhalacije kod pacova, 1-časovna inhal. LC50 je veća od 0,7 mg/L dok je 4-časovna inhal. LC50 5,2 mg/L [PESTICIDE INFORMATION PROFILE, jun 1996]

Kod ljudi, zapaženi su efekti u smislu pojave prenatalnih defekata, smanjenja prosečne težine novorođene dece, pojave menstrualnih problema kod žena, poremećaja endokrinog sistema, mogućih kancerogenih efekata, kao i moguće smanjenje broja spermatozoida kod muškaraca, što pojačava pritisak na administraciju USA da bude stavljen na restriktivni režim, odnosno potpuno zabranjen, kao u Evropskoj Uniji [ACKERMAN 2007]. U svakom slučaju, zapažena dejstva i pri malim dozama upućuju na potrebu daljeg testiranja i monitoringa, odnosno preispitivanja EPA i drugih regulativa u pogledu sigurnosti primene atrazina.

U Srbiji, maksimalna dozvoljena koncentracija atrazina u vodi za piće, u redovnim prilikama, je 0,1 μg/L [*Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće*, Sl. list SRJ br. 42/98 i 44/99].

2.6.4 Ekološke karakterakteristike alahlora



Alahlor spada u herbicide iz grupe hloroacetanilida, čija je hemijska osnova dejstava inhibicija ciklizacionih enzima geranilgeranil-pirofosfata (GGPP). Uglavnom se primenjuje za suzbijanje jednogodišnjih travnatih korova i širokolisnih korova u kukuruzu, šećernoj repi, pamuku, uljanoj repici i soji, u obliku mikrogranula sa 15% aktivne materije ili emulzifirajućeg koncentrata sa 480 g/L aktivne materije, sa maksimalnom dozom od oko 2.400 g/ha [VENCILL, 2002]

Verovatna oralna letalna doza alahlora kod ljudi iznosi oko 0,5 – 5,0 g/kg telesne mase [*Toxicology Data Bank*, Bethesda]. Na bazi postojećih eksperimentalnih podataka, genotoksičnost alahlora nije sa sigurnošću utvrđena. Ipak, metaboliti alahlora pokazuju mutagene efekte. Kancerogenost alahlora je dokazana u studijama na životinjama koje pokazuju provociranje benignih i malignih tumora na različitim organima. Koncentracije od 200, 20 i 2 μg/L u pijaćoj vodi su korelisane sa rizikom pojave raka (engl. *excess lifetime cancer risk*) od 10^{-4}, 10^{-5} i 10^{-6}, respektivo.

Alahlor je detektovan u mnogim pijaćim vodama – na primer, istraživanje USA je pokazalo prisustvo alahlora u 38 od 1430 uzorkovanih bunara, a druge studije ukaziju na prisutne koncentracije 0,1 – 16,6 μg/L [FRANK *et al.*, 1987; RITTER 1990]. U Italiji, tokom 1987 – 1988, alahlor je detektovan u 3 od 322 bunara pijaće vode u koncentracijama do 1,6 μg/L [FUNARI *et al.,* 1989]. MDK alahlora u pijaćoj vodi iznosi 0,0002 mg/L (USA i EU). U Srbiji, maksimalna dozvoljena koncentracija lalhlora u vodi za piće u, redovnim prilikama, je 0,1 μg/L [*Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće*, Sl. list SRJ br. 42/98 i 44/99].

Za razliku od vode, hrana ne predstavlja značajnu opasnost u smislu unosa alahlora, jer se herbicid brzo metaboliše u žitaricama i ne pokazuje značajnu bioakumulaciju u žitima i poljoprivrednim kulturama – detoksifikuje se brzom konjugacijom sa glutationom [BREAUX *et al*., 1986].

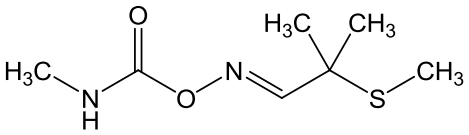
Alahlor pokazuje srednje izraženu sorpciju u tlu, 43 – 209 mg/kg, dok je mobilnost pesticida u zemljištu označena kao srednja do velika. Fotodegradacija daje mali doprinos procesu razgradnje, a degradacija u tlu je mahom biološki determinisana i daje veliki broj različitih metabolita. Period poluživota u aerobnim zemljištima varira od 6 – 15 dana, a znatno je kraći u anaerobnim uslovima [VENCILL, 2002]. Moguće objašnjenje kratkog anaerobnog poluživota je da se pod ovim uslovima alahlor brzo transformiše u 14 detektovanih degradacionih proizvoda u prisustvu gvožđevitih feruginoznih smektita (engl. *iron-bearing ferruginous smectites*). Gvožđe u ovim mineralima određene zemljišne bakterije koriste kao elektron acceptor (u prisustvu dovoljne količine vlage), tako da je transformacija herbicida u glinama pri redukcionim uslovima diktirana mikrobiološkom aktivnošću [XU *et al.*, 2001]. Slične pojave su zapažene i kod nekih drugih herbicida, na primer trifluralina i atrazina.

Disipacija alahlora iz zemljišta se, dakle, odvija volatilizacijom, fotodegradacijom [FANG, 1977], i biodegradacijom, a među brojnim metabolitima je identifikovan dietilanilin, koji dalje brzo interaguje sa huminskim kiselinama tla [LASKOWSKY, 1982].

Za kvantifikaciju alahlora je opisan metod pripreme uzorka na C-18 SPE, a zatim separacija na HPLC sa C-8 u acidifikovanoj mobilnoj fazi, pri čemu su metaboliti analizirani sa LC/MS/MS u negativnom modu ESI izvora, dok je za sam alahlor korišćen APCI pozitivni jonski mod [LEE i COOPER, 2001].

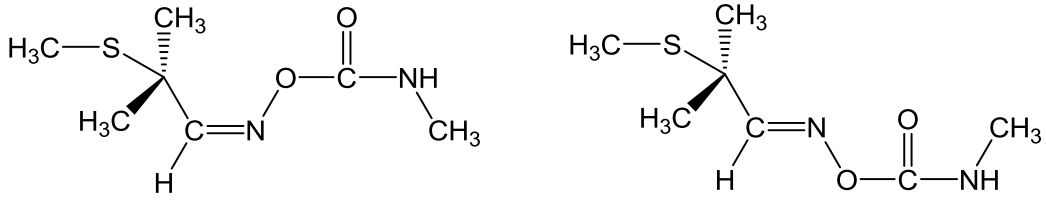
Od metoda koje ne uključuju MS, opisano je određivanje alahlora ekstrakcijom sa $CHCl_3$ iz vodenih uzoraka, sa primenom gas – tečne hromatografije i detektorom elektrolitičke provodljivosti u azotnom modu, kao i kapilarna GC sa azot-fosfornim detektorom, uz detekcione limite od oko 0,1 μg/L [LEE *et al.*, 2001].

2.6.5 Ekološke karakterakteristike aldikarba



Spada u grupu oksim-karbamatnih sistemičnih insekticida. Svojom hemijskom strukturom je srodan acetilholinu i predstavlja jak inhibitor enzima acetilholinesteraze, što čini hemijsku osnovu njegovog dejstva u nervnim sistemima eksponiranih organizama. Metabolički se transformiše u aldikarb-sulfoksid i aldikarb-sulfon. Aldikarb-sulfoksid ima sličnu toksičnost kao i sam aldikarb, dok je aldikarb-sulfon (poznat i kao *aldoksikarb*) toksičan u znatno manjoj meri (oko 4% u odnosu na aldikarb).

S obzirom da ugljenik – azot dvostruka veza sprečava kako rotaciju, tako i inverziju atomskih grupa vezanih za N-atom (koja se dešava, na primer, kod molekula amonijaka), moguća su dva *geometrijska izomera* aldikarba (slika 2.6-1.), a komercijalni proizvod je smesa oba izomera. Nije tačno poznato koji izomer predstavlja biološki aktivniju formu.



Anti-aldikarb *Syn*-aldikarb

Slika 2.6-1. Prikaz geometrijskih *anti*- i *syn*-izomera aldikarba

Aldikarb je stabilan u neutralnim, kiselim i slabo baznim sredinama, ali brzo hidrolizuje u koncentrovanim alkalnim rastvorima. Hidroliza karbamat-estarske grupe, što dovodi do inaktivacije pesticida, je proces zavisan od pH, tako da vodeni rastvor na pH > 12 ograničava poluživot aldikarba na ne više od nekoliko minuta, dok je na pH 6, period poluraspada prolongiran na 560 dana. U prisustvu oksidujućih agenasa, aldikarb se brzo konvertuje u sulfoksid, koji se zatim, sporijim procesom, oksiduje dalje u sulfon.

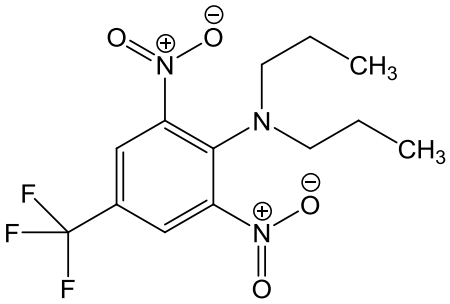
Aldikarb ispoljava negativne efekte u odnosu na životnu sredinu, odnosno zemljište, pozemene vode i žive organizme, a hemijske karakteristike aldikarba favorizuju njegovo prodiranje, odnosno izluživanje u vodene slojeve. Kao supstanca dobro rastvorna u vodi i mobilna u zemljišnim slojevima, aldikarb se ne degradira u podzemnim vodenim telima pod aerobnim uslovima osim pri većim pH vredostima (na primer pH 7,7), te spiranjem i infiltracijom može uticati na izvorišta pijaće vode i na mnogim mestima (bunarima) je detektovan u nedozvoljenim koncentracijama (MDK u vodi je 10 ppb).

Takođe pokazuje znatan stepen bioakumulacije, pre svega u nativnoj flori, dok akumulacija u akvatičnim organizmima nije dokazana. Od štetnih efekata je dokazan

negativan uticaj na ptice, kao i na pojedine korisne insekte (pčele) i nematode – gliste koje popravljaju fizičku strukturu zemljišta.

Analitička hemija aldikarba se pored masenih detektora, koriste i različite varijante *reverse-phase* HPLC sa UV i drugim detektorima [WHO, 1991], a primenom *post-column* derivatizacije u cilju formiranja fluorescentnih derivata, detekcioni limiti se kreću oko 1,3 μg/L za aldikarb, odnosno 0,8 i 0,5 μg/L za sulfoksid i sulfon, respektivno [FOEREST i MOYE, 1985]. Aldikarb i njegovi oksidacioni produkti se takođe mogu određivati kao nitrilni derivati kapilarnom GC sa N-P detektorom [ZHONG *et al.* 1984].

2.6.6 Ekološke karakterakteristike trifluralina

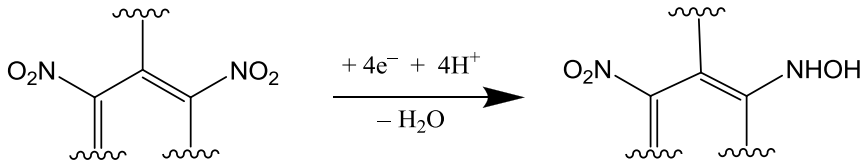


Trifluralin, organsko jedinjenje karakteristično po visokom sadržaju fluora, spada u grupu preventivnih herbicida, koji sprečavaju germinaciju semena korovskih biljaka, mehanizmom usporavanja rasta i deobe (mitoza) biljnih ćelija [GROVER *et al.*, 1997]. Registrovan je 1963 [*EPA*] za masovnu i veoma široku upotrebu (12.000.000 kg potrošnje u svetu, 2008) u prehrambenim kulturama, žitaricama (kukuruz, pšenica), soji, lisnatom zelenom povrću (kupus, paradajz, pasulj, grašak, crni luk), šećernoj repi, zasadima biljaka za ishranu stoke, pamuku, u vinogradima, kao i plantažama ukrasnih biljaka (dendrokulture, perene, puzavice), za održavanje golf-terena i rekreacionih travnjaka, itd. Efikasan je u suzbijanju jednogodišnjih travnih korova, kao i širokolisnih korova. Tehnički se primenjuje u obliku emulzifikujućeg koncentrata ili u obliku granula, uz nanošenje u obliku spreja ili tretiranjem tla sprašenim ili granulovanim preparatom.

U akutnim ekspozicijama, trifluralin je praktično netoksičan za sisare i ptice, ali jeste za ribe i akvatične organizme. Oralna LD_{50} iznosi preko 10.000 mg/kg telesne mase za pacove, preko 5.000 mg/kg za miševe i preko 2.000 mg/kg za pse i zečeve, ali su za mnoge ribe određene granice LC_{50} 41 – 75 ppb. Veoma sporo se resorbuje kroz kožu – samo 1% od aplicirane doze biva dermalno sorbovana. Dugoročno dejstvo (u toku 1 – 2 godine), naprotiv, nije potvrđeno kao bezazleno, imajući u vidu rezultate istraživanja na životinjama koji ukazuju na redukciju telesne mase, smanjenje broja eritrocita, uvećanje jetre i povećanja nivoa triglicerida i holestorola. Takođe je klasifikovan kao potencijalni kancerogen [*Illinois EPA*] i kao štetan po endokrini sistem životinja. U Srbiji, maksimalna dozvoljena koncentracija trifluralina u vodi za piće, u redovnim prilikama, je 0,1 μg/L [*Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće*, Sl. list SRJ br. 42/98 i 44/99].

Ponašanje trifluralina u prirodnoj sredini je složen proces, koji daje veliki broj degradacionih produkata, fiksiranih kao zemljišni reziduali, a jedan deo njih biva konvertovan do CO_2 (mineralizacija). Jedna od neobičnih karakteristika trifluralina je njegova inaktivacija u vlažnim zemljištima, koja se povezuje sa transformacijom herbicida redukovanim zemljišnim mineralima – abiotičkim reduktantima (to jest, koji su prethodno bili redukovani mikroorganizmima u odsustvu kiseonika), kao što su $Fe(II)_{aq}$, Fe(II) adsorbovan na površini minerala (na primer, hidratisani Fe(II)-oksid, getit), hidrogensulfidi, gvožđe-sulfidni minerali (na primer, FeS_2, pirit), hidrohinoni iz prirodne organske materije (NOM).

Redukcija nitro grupe sledi progresiju: nitro ($–NO_2$) → nitrozo (–NO) → hidroksil-amin (–NHOH) → amin ($–NH_2$). Nitrozo-jedinjenja su kratkog života i teška za detekciju, ali u nizu radova je konstatovano postojanje čak 28 vrsta, odnosno molekula sa različitim kombinacijama funkcionalnih grupa: nitro/hidroksilamin, *di*-hidroksiamin, nitro/amin, hidroksilamin/amin i diamin jedinjanja [FRANCIOSO *et al.*, 1992; KIM i FEAGLEY, 1998; KRIEGER *et al.*, 1998; TAVARES *et al.*, 1998; PARR *et al.*, 1973; WILLIS i SMITH, 1973]. Prvi stadijum redukcije se može predstaviti kao:



Slični složeni degradacioni putevi su potvrđeni za mnoge strukturalno srodne herbicide (dinitroaniline), a takođe i za druga jedinjenja visoke unutrašnje energije, na primer za pojedine ekspolozive, kao 2,4,6-trinitrotoluol, TNT [TOR *et al.*, 2000]. Degradacija u zemljištima se, dakle, odvija po opisanom anaerobnom mehanizmu, ali i po aerobnom, pri čemu se aerobna biodegradacija odvija preko dealkilovanja tercijarne amino grupe, iza koje sledi redukcija nitro grupe.

Elektrohemijske studije su pokazale da je redoks potencijal trifluralina – 0,19 V (prema SHE) na 5,1 odnosno – 0,3 V na pH 7,4 [SOUTHWICK *et al.*, 1976], što ga kvalifikuje za reakcije sa mnogim prirodnim abiotičkim reduktantima.

Studije sorpcije trifluralina u tlu su pokazale da ovo jedinjenje ima veliku K_{oc} vrednost i malu mobilnost [KIM i FEAGLEY, 1998], a vršena su istraživanja fotodegradacije i volatilizacije trifluralina iz zemljišta [JOLLEY i JOHNSTONE, 1994; MALTERRE *et al.*, 1998; JOHNSTONE *et al.*, 1998]. Međutim, njegovi degradacioni proizvodi, kao polarnija jedinjanja, imaju daleko veću mobilnost od samog trifluralina.

2.7 Metode ispitivanja sistema metal-ligand

Utvrđivanje strukture kompleksnih jedinjenja se vrši različitim fizičko-hemijskim tehnikama i metodama karakterizacije [NIKOLIĆ *et al.*, 2010]:

- klasična kvalitativna i kvantitativna određivanja (uočavanjem različite boje jedinjenja, identifikacijom anjona van unutrašnje koordinacione sfere, gravimetrija)
- kvantitativnim određivanjem pojedinačnih komponenti, liganada i jona
- merenjem provodljivosti rastvora (konduktometrija)
- snimanjem i analizom UV/VIS i NIR spektara
- snimanjem i analizom IR i *Raman*-ovih spektara
- snimanjem i analizom ESR spektara
- X-*ray* i elektronska spektrometrija
- hromatografske tehnike
- NMR spektrometrija
- MS spektrometrijska analiza (ESI i druge tehnike), samostalno ili u kombinaciji sa HPLC i drugim separacionim tehnikama
- potenciometrijska analiza (jon-selektivne elektrode)
- polarografska analiza u različitim varijantama, itd.

Za poslednjih 20 godina, koliko je prošlo od uvođenja elektrosprej-masene spektrometrije (ESI-MS) područje primene ove instrumentalne tehnike se značajno proširilo u različitim oblastima neorganske, organometalne, organske i analitičke hemije, tako da je ESI-MS našla primenu i u koordinacionoj hemiji, odnosno u proučavanju ravnotežnih interakcija nastajanja kompleksnih jedinjenja u rastvorima metala i liganada. Za potpuno poznavanje ravnoteža u rastvorima metala i liganada, potrebno je poznavati broj, stehiometriju i konstante stabilnosti kompleksnih vrsta koje nastaju u datom sistemu. Ove vrste informacija se obično dobijaju iz potenciomentrijskih, spektrofotometrijskih (UV/VIS) i ponekad iz kalorimetrijskih merenja. Potenciometrija je vrlo precizna i tačna tehnika za određivanje konstanti stabilnosti, ali daje samo indirektnu informaciju o broju i stehiometriji formiranih molekulskih i jonskih vrsta. Obično se potenciometrija u praksi realizuje tako što se pretpostavi nekoliko mogućih modela specijacije u konkretnom sistemu, a zatim se kao realan bira onaj kod koga su eksperimentalni podaci najpribližniji teorijskom proračunu. [SILLEN, 1964; ÖHMAN i SJÖBERG, 1996]. Slično se postupa i sa spektrofotometrijskim i kalorimetrijskim tehnikama.

U slučaju složenih sistema, koji uključuju više kompleksnih vrsta, ili koji sadrže polinuklearne komplekse, pomenute metode mogu biti neprecizne i nedovoljne za određivanje korektnog modela specijacije. U tim slučajevima, dodatne kvalitativne informacije se mogu dobiti primenom NMR [DI MARCO *et al.*, 1999], FT-IR [BOMBI *et al.*, 1990] ili EPR tehnika [DI MARCO *et al.*, 2006]. U manjem broju slučajeva, kada se mogu izolovati odgovarajući

kristali, X-ray difraktometrija može indirektno potvrditi stehiometrijski udeo jedne vrste u rastvoru. Takođe, hromatografske tehnike [PESAVENTO *et al.*, 2002], *flow-injection* analiza [PYRZYNSKA *et. al.*, 2000] i voltametrija [BECHTOLD *et al.*, 2002] su u našle primenu u praksi.

Ipak, sve ove tehnike su prihvatljive samo u određenim slučajevima i nijedna od njih ne daje definitivnu informaciju o hemijskim relacijama u sistemu, te je potrebno uvođenje i drugih kvalitativnih i kvantitativnih instrumentalnih metoda.

2.7.1 UV/VIS spektrofotometrija u ispitivanju koordinacionih interakcija

Spektrofotometrijska metoda se odavno koristi kao značajna metoda za karakterizaciju kompleksnih jedinjanja i proučavanja metal-ligand interakcija. Apsorpcija u ultraljubičastoj i vidiljivoj oblasti elektromagnetnog spektra po svojoj energiji, odnosno talasnoj dužini apsorbovanih fotona λ = 170 – 770 nm odgovara *elektronskim prelazima* u molekulu, uglavnom sa veznih na protivvezne molekulske orbitale, te se ova metoda zato zove i *molekulska* ili *elektronska spektroskopija*, za razliku od elektromagnetne apsorpcije u području nižih energija, a koje odgovaraju vibracionim i/ili rotacionim kvantnim stanjima u molekulu (IR, NIR, mikrotalasna i *Raman*-ova spektroskopija). Molekulska spektroskopija proučava spektralni sastav zračenja nastalog emisijom, apsorpcijom ili rasejanjem elektromegnetnog zračenja od strane ispitivane supstance, pa se primenom odgovarajućih tehnika i metoda dobijaju informacije o koordinaciji metal-ligand i njihovoj strukturi. Iz dobijenih UV/VIS spektara mogu se dobiti podaci o veličini jonskih radijusa metalnih jona, konstantama stabilnosti kompleksa, kao i o drugim termodinamičkim ili kinetičkim podacima, parametrima σ i π-veza, o karakteristikama strukture, stehiometrije i geometerije molekula kompleksa, može se izvršiti razvrstavanje liganada prema jačini polja koje obrazuju formiranjem kompleksa (*spektrohemijski niz*) itd.

Generalno, apsorpcija u UV/VIS oblasti korespondira sa ekscitacijom spoljnih elektrona, i mogu se definisati tri tipa elektronskih prelaza:

- prelazi koji uključuju π, σ i *n* elektrone
- prelazi elektrona *charge-transfer* tipa
- prelazi koji uključuju *d* i *f* elektrone.

Prelazi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ su velike energije, na primer u metanu (CH_4), λ_{max} = 125 nm, dok prelazi $n \rightarrow \sigma^*$ zahtevaju nešto manje energije i javljaju se kod zasićenih jedinjenja sa slobodnim elektronskim parovima (λ = 150 – 250 nm); $n \rightarrow \pi^*$ i $\pi \rightarrow \pi^*$ su još niže energije, javljaju se kod nezasićenih molekula. Molarna apsorptivnost, ε ($n \rightarrow \pi^*$) je relativno male vrednosti 10 – 100 $Lmol^{-1}cm^{-1}$, dok se ε ($\pi \rightarrow \pi^*$) normalno kreće u rasponu 1000 – 10.000 $Lmol^{-1}cm^{-1}$.

Uticaj rastvarača u kojima je rastvorena apsorbujuća vrsta takođe ima efekta na spektar, tako da pikovi $n \rightarrow \pi^*$ trpe pomeraj ka kraćim talasnim dužinama („plavi pomak“, engl. *blue shift*) sa porastom polariteta rastvarača. Ovo je posledica povećane solvatacije usamljenog elektronskog para, što snižava energiju *n*-orbitale. Često (ali ne uvek), obrnuti efekat („crveni pomak“, engl. *red shift*) se javlja kod $\pi \rightarrow \pi^*$ prelaza, što se objašnjava privlačnim polarnim silama između rastvarača i dotičnog molekula, što snižava energetske nivoe kako ekscitovanog, tako i neekscitovanog stanja.

Ovaj efekat je veći za ekscitovano stanje, tako da je energetska razlika malo smanjena i rezultuje batohromni, odnosno „crvenim“ pomerajem. Isti efekat takođe utiče i na $n \rightarrow \pi^*$ prelaze, ali je nadjačan „plavim“ – hipsohromnim – pomakom koji se javlja usled solvatacije usamljenog e^- para.

Charge-transfer (CT) apsorpcija (apsorpcija sa „prenosom naelektrisanja“) se javlja kod mnogih neorganskih i organskih molekulskih i jonskih vrsta, koji se nazivaju *charge--transfer kompleksi*.* Pri tome jedna od komponeti kompleksa mora da ima elektron-donorske osobine, a druga mora da ima akceptorske osobine, tako da apsorpcija fotona uključuje transfer elektrona od donora ka orbitali akceptora. Koeficijenti molarne apsorpcije (ε) su dosta veliki (>10.000 $Lmol^{-1}cm^{-1}$).

Nedostatak UV/VIS spektroskopije u proučavanju kompleksa je u tome što su spektri relativno jednostavni, to jest sadrže malo informacija. Zato se ova metoda koristi pre svega za proučavanje kompleksa koji su dokazani i određeni još nekim analitičkim postupcima i strukturnim analizama, kao što su polarografija, IR, NMR, MS, CT, konduktometrija i druge metode. Jedna od mogućnosti primene UV/VIS spektrofotometrije je u kvantitativnom određivanju analitičke koncentracije kompleksa, i u vezi s tim, konstante stabilnosti (K), u slučaju kada kompleks dovoljno dobro apsorbuje upadno zračenje. Za ovo je potrebno snimiti veći broj spektara pri različitim koncentracijama metala i liganda, a zatim se matematičkom obradom izračunava vrednost konstante stabilnosti. Neophodan uslov je da se spektri liganda i binarnog sistema metal-ligand kvalitativno i kvantitativno razlikuju (na primer CT kompleksi), jer je u suprotnom nemoguće, putem UV/VIS metode, razlikovati da li je u reakcionoj sredini došlo do stvaranja kompleksa ili se apsorpcija (A) ostvaruje samim prisustvom slobodnih (nekompleksiranih) komponenti – liganda i metala.

Kao najjednostavniji slučaj reakcije između metala (elektron akceptora) i liganda (elektron donora), koji formiraju *charge-transfer* (CT) kompleks ML jake apsorpcije, može se razmotriti određivanje konstante stabilnosti za reakciju:

$$M + L \rightleftharpoons ML \tag{2.7-1}$$

gde je konstanta ravnoteže (K) definisana koncentracijama komponenti u ravnoteži:

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \tag{2.7-2}$$

Ako se uzme da ovaj kompleks apsorbuje u UV/VIS oblasti, njegova se *apsorpcija* (A) [nekad se označava i kao *optička gustina* (D)] može instrumentalno meriti. Kada imamo inicijalne koncentracije M, L: $[M]_0$, $[L]_0$ i [ML]: [ML] = 0, dobija se:

$$[M] = [M]_0 - [ML] \tag{2.7-3}$$

$$[L] = [L]_0 - [ML] \tag{2.7-4}$$

Odavde se dobija da je:

$$K = \frac{[ML]}{([M]_0 - [ML])([L]_0 - [ML])} \tag{2.7-5}$$

Uzimajući da je $[L]_0 >> [ML]$, član ($[L]_0 - [ML]$) se može zameniti sa $[L]_0$. Realcija između koncentracije kompleksa i apsorpcije pri datoj talasnoj dužini (A_λ) je data preko *Lambert-Beer*-ovog zakona:

---

* *Charge-transfer* kompleksi, ili elektron-donor-akceptor kompleksi su asocijacije dva ili više molekula, ili različitih delova jednog istog velikog molekula, u kojima je deo elektronske šarže prenesen sa jednog na drugi konstitutivni molekul. Rezultujuća elektrostaska sila stvara stabilizirajući efekat u nastalom CT kompleksu. Bitna činjenica je da se ovde ne stvara stabilna kovalentna koordinaciona veza, već se interakcija može opisati kao *slaba elektronska rezonanca*. Energetski prelazi ovih elektrona imaju veliku kvantnomehaničku verovatnoću i nisku energiju, te se u UV/VIS spektrima javljaju njihove karakteristične jake apsorpcione trake, koje samostalni ligand ne poseduje. Najpoznatiji primer je CT kompleks joda sa skrobom, intenzivno plave boje.

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda d[ML] \qquad odnosno,\ [ML] = \frac{A_\lambda}{\varepsilon_\lambda d} \tag{2.7-6}$$

gde je ε_λ – molarni koeficijent apsorpcije, a d – dužina optičkog puta, pa se zamenom jednačine 2.7-6 u 2.7-5 dobija:

$$K = \frac{A_\lambda}{\varepsilon_\lambda d\left([M]_0 - \frac{A_\lambda}{\varepsilon_\lambda d}\right)[L]_0} \tag{2.7-7}$$

čijim se preuređivanjem dobija Benesi-Hildebrandt-ova jednačina:

$$[L]_0 = [M]_0 \varepsilon_\lambda d \frac{[L]_0}{A_\lambda} - K^{-1} \tag{2.7-8}$$

Merenjem apsorbanci (A_λ) za različite koncentracije liganda (L), dobija se grafik zavisnosti $[L]_0/A_\lambda$ prema $[L]_0$, koji predstavlja pravu liniju sa nagibom: $[M]_0\varepsilon d$ i odsečkom na *y*-osi: K^{-1}, što omogućava izračunavanje konstante ravnoteže za prikazani M:L = 1:1 stehiometrijski odnos kod nastalog CT kompleksa [ATKINS, 1987].

Ukoliko se apsorpcioni spektri liganda i nastalog kompleksa relativno malo razlikuju, i ako je stehiometrija kompleska složenija, ili ako nastaje više kompleknih vrsta i proizvoda reakcije, matematički aparat kojim se izračunavaju odgovarajuće konstante stabilnosti je znatno komplikovaniji, jer uključuje rešavanje složenog sistema nelinearnih jednačina. Ovaj proces se može zameniti drugim numeričkim postupkom koji je analitički jednostavniji, ali po broju operacija zahtevniji, a to je opisivanje koncentracije reakcionih komponenti i apsorpcije na različitim talasnim dužanama putem matrica sa $m \times n$ članova (za seriju koncentracija L i M, mereno pri različitim λ) [LEGGETT, 1985; GAMPP *et al.*, 1985a,b].

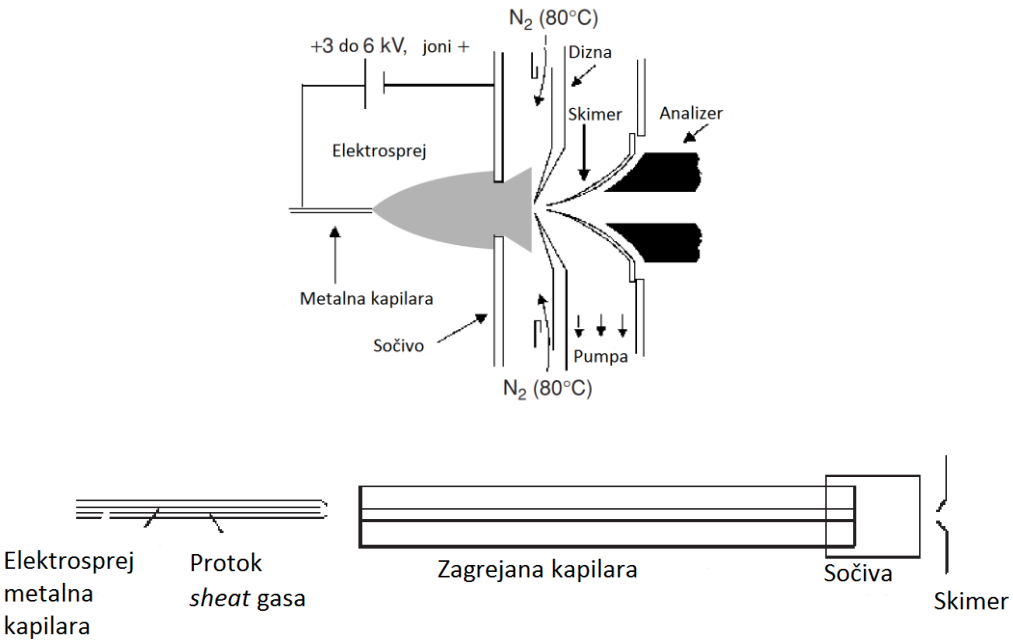
Ipak, ukoliko je interakcija slaba ili ako su razlike u apsorpciji premale, ni ovaj postupak ne može da UV/VIS spektrofotometriju kvalifikuje kao metodu za ispitivanje kvantitativnih relacija u metal-liganad sistemima.

2.7.2 ESI-MS tehnika

Elektrosprej-jonizacioni izvor u masenoj spektrometriji (engl. *Electrospray Ionization*) – ESI ili ES, kao bazični princip koristi stvaranje finog aerosola ispitivanog rastvora, sačinjenog od visoko naelektrisanih kapljica (engl. *droplets*) u jakom električnom polju. Ovaj princip je razvijen pre oko 90 godina, našavši primenu pri elektrostatičkom nanošenju boja, raspršivanju goriva, kod aplikacije lekovitih sredstava u medicini, u sistemima raketnih pogona itd. Elektrosprej kao jonizacionu tehniku za masenu spektrometriju su kasnih 1960-tih razvili DOLE *et al.* (1968), a sredinom osamdesetih godina značajna unapređenja su postigli YAMASHITA i FENN (1984a,b) kao i WHITEHAUSE *et al.* (1985), kombinacijom elektrosprej jonizacionog izvora sa kvadrupolnim masenim analizatorom. Sposobnost ESI da omogući maseno-spektralnu analizu velikih i termalno nestabilnih polarnih molekula – naročito proteina [FENN, MANN i MENG, 1989] – rezultovala je velikom ekspanzijom interesovanja za ovu tehniku. Za ova dostignuća FENN je 2002 godine dobio Nobelovu nagradu za hemiju. ESI tehnika pruža mogućnost karakterizacije vrsta u niskim koncentracijama i u kompleksnim matriksima, vrlo je pogodna za kuplovanje sa HPLC, a nalazi primenu i u organometalnoj i koordinacionoj hemiji, a vremenom je potpuno prilagođena i analizi manjih polarnih organskih molekula (>100 Da).

Princip rada se zasniva na korišćenju jakog električnog polja, u uslovima atmosferskog pritiska, na radni rastvor (analit) koja malim protokom prolazi kroz kapilarnu cev (obično 1 –

10, ali je moguć rad i do 200 μLmin^{-1}). Električno polje se dobija u razlici potencijala od 3 – 6 kV između same kapilare i spregnute elektrode, na distanci od 0,3 – 2,0 cm dajući električno polje reda veličine 10^6 Vm^{-1} (slika 2.7-1). Ovo polje indukuje akumulaciju nelektrisanja na površini tečnosti locirane na izlazu iz kapilare, koja usled toga pri napuštanju kapilare, formira visoko naelektrisane kapljice (engl. *droplets*). Inertni gas (obično azot) koji se injektuje koaksijalno pri niskom protoku, omogućava da disperzija nastalog spreja bude limitirana u granicama određenog prostora (to jest, da ne dolazi do prevelike disipacije kapljica). Ove kapljice zatim prolaze ili kroz zonu zagrejanog inertnog gasa (N_2), ili kroz zagrejanu kapilaru, kako bi se uklonili poslednji molekuli rastvarača.



Slika 2.7-1. Dijagram elektrosprej izvora koji koristi skimer (engl. *skimmer*) za fokalizaciju jona i gasnu struju zagrejanog azota za desolvataciju (gore), i izvora sa grejanom kapilarom (engl. *heated capillary*) u kojoj se vrši desolvatacija (donja slika).

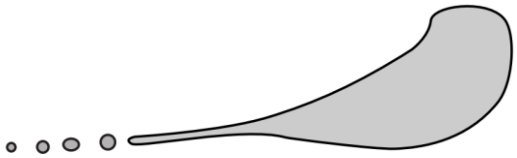
Sprej se raspršuje pri početnom potencijalu (engl. *onset voltage*) koji se može menjati prema potrebi, u zavisnosti od površinskog napona rastvarača. U jonskom izvoru koji ima *onset* potencijal 4,0 kV za vodu (površinski napon 0,073 Nm^{-1}), očekivani optimum za metanol (0,023 Nm^{-1}) je oko 2,2 kV, zatim 2,5 kV za acetonitril (0,030 Nm^{-1}) i 3,0 kV za dimetilsulfoksid (0,043 Nm^{-1}) [KABARLE i TANG, 1993].

Posmatrajući pod mikroskopom nascentne kapi koje se formiraju na vrhu kapilare pri povećanju potencijala, kako je šematski prikazano na slici 2.7-2 pri niskim naponima kapljica ima sferni oblik, zatim se deformiše i izdužuje usled pritiska akumuliranih naelektrisanja na površini usled sve jačeg električnog polja. Kada se savlada sila površinskog napona, kapljica poprima oblik tzv. Tejlorovog konusa (engl. *Taylor cone*) i nastaje sprej, odnosno dolazi do formiranja slobodnih kapljica u gasu.

Slika 2.7-2. Efekat povećanja elektrosprej potencijala na kap analita na izlazu iz kapilare:
levo – pri niskim naponima, kap je gotovo sfernog oblika.
centar – na 1 do 2 kV, ali ispod *onset*-potencijala, kap se izdužuje pod pritiskom naelektrsanja koja se akumuliraju na vrhu.
desno – pri *onset*-potencijalu pritisak nadjačava površinski napon, oblik kapi brzo poprima oblik *Taylor*-ovog konusa, što je praćeno oslobađanjem malih kapi, koje se eksplozivno dele produkujući sprej.

GOMEZ i TANG (1994) su uspeli da fotografišu proces nastajanja i podele kapljica u ESI izvoru (šematski prikazano na slici 2.7-3). Iz njihovih posmatranja se može zaključiti da se kidanje – podela kapljica može desiti pre dostizanja limita koji je definisan *Rayleigh*-ovom jednačinom, zato što su kapi mehanički deformisane, što donekle redukuje neophodnu repulziju.

Rastvarač sadržan u nastalim kapljicama brzo isparava, što uzrokuje smanjenje njihovih dimenzija i samim tim povećanje broja naelektrisanja po jedinici zapremine. Pod uticajem jakih elektrostatičkih polja odvija se deformacija slobodnih kapi (slično deformaciji na izlazu iz kapilare). One se izdužuju pod silom koja nastaje od akumuliranih naelektrisanja, poprimajući ponovo oblik *Taylor*-ovog konusa, iz koga se dalje oslobađa oko 20 manjih kapi.



Rayleigh-ova jednačina: $q^2 = 8\pi^2 \varepsilon_0 \gamma D^3$

Slika 2.7-3. Dekompozicija slobodne kapljice prve generacije u elektrosprej izvoru [GOMEZ i TANG, 1994]; q – naelektrisanje, ε_0 – električna permitivnost sredine, γ – površinski napon, D – dijametar sferne kapi (granična vrednost).

Tipično, prva generacija kapljica koje napuštaju kapilaru ima dijametar ~ 1,5 μm i sadrže oko 50.000 elemntarnih naelektrisanja (oko 10^{-14} C). Kapi druge generacije imaju prečnik od ~ 0,1 μm sa oko 300 – 400 elementarnih naelektrisanja – tako da je ukupna zapremina naknadno oslobođenih kapljica oko 2% od kapljice-prekursora, ali sadrže 15% prvobitnog naelektrisanja (približno sedmostruko povećanje q/V).

Ove male, visoko naelektrisane kapljice, nastavljaju da gube molekule rastvarača, i kada električno polje na njihovoj površini postane dovoljno jako, desorpcijom sa površine nastaju slobodni (desolvatisani) joni [KABARLE i TANG 1993]. Zbir svih fizičko-hemijskih procesa koji se odigravaju u kapima po napuštanju kapilare, određuju nešto veću osetljivost za molekula jedinjenja koja imaju veću koncentraciju na površini kapi (*lipofilni* molekuli). Kada se analizira istovremeno više jedinjenja, oni molekuli koji su prisutniji na površini imaju tendenciju da, čak u velikoj meri, prisustvo bolje rastvornih jedinjenja u matriksu. Kada kapljica sadrži vrlo velike molekule, na primer proteine, oni se ne desorbuju sa površine, već se oslobađaju evaporacijom molekula rastvarača – kao da se molekuli rastvarača „desorbuju" sa površine proteina. Ovakav mehanizam se uočava kad molekulske mase jedinjenja prelaze 5000 – 10000 Da. Najjednostavnije predstavljeno, ESI analiza pozitivnih jona (engl. *positive mode*) baznih molekula [B] u prisustvu rastvarača [SH] nastaju transferom protona na molekul:

$$[B] + [SH] \rightarrow [BH]^+ + [S]^- \qquad (2.7\text{-}9)$$

dok nastajanje negativnih jona kiselih analita [A] (engl. *negative mode*) u izvoru podrazumeva transfer obrnutog smera:

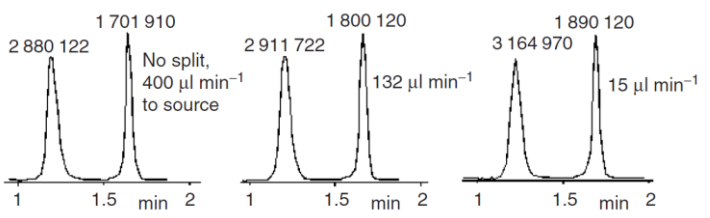
$$[AH] + [S] \rightarrow [A]^- + [SH]^+ \qquad (2.7\text{-}10)$$

Joni dobijeni od velikih molekula mogu da sadrže veći broj naelektrisanja, u slučaju da je prisutno više jonizabilnih mesta, a tipični proteini aproksimativno imaju jedno jonizabilno mesto na svakih 1000 Da. Takođe dvostruko ili trostruko naelektrisani joni se mogu javiti u spektru jedinjenja i manjih masa, koja su inače sklona građenju takvih jonskih vrsta, na primer kompleksna jedinjenja metala i različitih organskih i neorganskih liganada. Manji organski molekuli generalno daju mononaelektrisane jone. ESI se može primeniti i kod

molekula bez jonizabilnih mesta, putem građenja adukta sa jonima Na^+, K^+, NH_4^+, Cl^-, CH_3COO^- i drugim jonima.

Jedna od karakteristika ESI izvora je i *osetljivost prema koncentraciji*, a ne prema ukupnoj količini injektovanog analita, kao što je slučaj za većinu drugih izvora (slika 2.7-4) Kako se vidi, osetljivost donekle raste kada se ulazni protok redukuje (sa 400 na 132, odnosno 15 µL/min u datom primeru), što se ogleda u većoj površini očitanog pika [COVEY, 1996]. Ovakav trend se nastavlja sa smanjenjem protoka sve do desetak nanolitara u minuti. Mali ulazni protok je takođe pogodan zbog manje kontaminacije instrumenta, a upotrebom HPLC kolona manjeg dijametra i sa manjim protokom dobija se veća osetrljivost, jer se koncentracija analita u eluiranom rastvoru povećava u području posmatranog pika na hromatogramu.

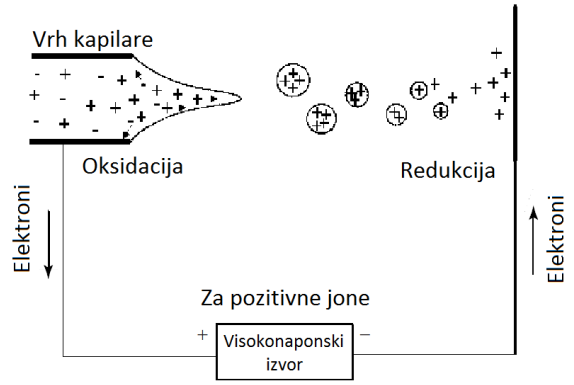
Na bazi ove zavisnosti od koncentracije analita, razvijene su modifikovane tehnike – *mikroelektrosprej* (µESI) ili *nanosprej* (nESI) – koje koriste modifikovane kapilare i protoke od ~ 10 nL/min, a detekcioni limiti su u rangu atomola (10^{-15} mol) [WILM *et al.*, 1996].



Slika 2.7-4. Intenzitet signala dva posmatrana jedinjenja dobijenih SIM metodom (engl. *Single Ion Monitoring*) pri različitom injektiranju u ESI izvor iz HPLC kolone d = 2,1 mm, sa ukupnim protokom eluenta (engl. *total flow*) 400 µL/min:
levo – celokupni protok 400 µL/min je injektiran;
centar – injektiran deo ukupnog HPLC protoka od 132 µL/min (*split mode*);
desno – injektiran deo ukupnog HPLC protoka od 15 µL/min.
Vrednosti površina pikova na hromatogramu pokazuju povećanje osetljivosti [COVEY, 1996].

Ograničenja jačine jonske struje iz ESI izvora definisana su, između ostalog, elektrohemijskim procesom. Kao što se može videti iz šeme električnog kola predstavljenoj na slici 2.7-5., u slučaju kada se pozitivni joni ekstrahuju za analizu, odgovarajuća količina elektrona u kapilari mora biti obezbeđena unutar strujnog kola. Ovo se odvija usled oksidacije molekulskih vrsta prisutnih na vrhu (izlazu) kapilare, te se, drugim rečima, isti broj negativnih šarži mora „izvlačiti“ iz rastvora, koliko pozitivnih šarži biva emitovano ka analizatoru instrumenta. Tako ESI predstavlja elektrohemijski proces, koji zavisi od koncentracije jona i njihove mobilnosti, kao i od polarizacionih efekata na vrhu kapilare. Suprotno, za negativne jone, elektroni bivaju prihvatani od prisutnih vrsta analita i redukovani na taj način. Ove elektrohemijske reakcije se odvijaju na poslednjih nekoliko mikrometara od izlaza metalne kapilare.

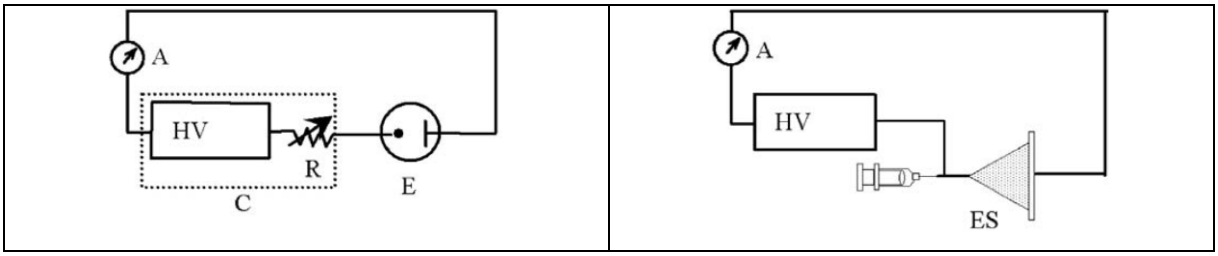
Glavna posledica ovoga je da ukupni broj jona po jedinici vremena koji može biti stvoren i ekstrahovan ka analizatoru spektrometra, limitiran jačinom struje proizvedene *redoks*-procesom pri kraju kapilare. Ova ograničavajuća jednosmerna struja nije zavisna od brzine protoka tečnosti u kapilari, osim kada protok padne na ekstremno niske vrednosti, i to objašnjava zbog čega je ESI metoda zavisna samo od koncentracije analita, kako je prethodno diskutovano. U praksi, ukupna jonska struja je limitirana na maksimalno ~ 1 µA.



Slika 2.7-5. Šematska predstava električnog kola i elektrohemijskog procesa u ESI izvoru.

Analogija između klasične elektrohemijske ćelije sa konstantnom strujom i ESI izvora je prikazana na slici 2.7-6.). Posledica ovoga je da postoji konstantna struja I_M koju održava protok jona. Ukoliko ima previše jona iz soli u analiziranom rastvoru, oni preuzimaju ulogu nosioca nelektrisanja, odnosno postaju dominantni u struji I_M, te se željeni joni analita mogu u velikoj meri ili čak potpuno potisnuti iz MS spektra.

Na drugoj strani, ako je rastvor previše razblažen, a primenjen protok je vrlo mali (< 1 μL/min), jonski tok iz kapilare može biti nedovoljan da obezbedi I_M. Elektrohemijski proces na vrhu kapilare, u tom slučaju, proizvodi dodatne jone putem oksidacije (ili redukcije, u negativnom modu), i to jonizacijom rastvarača ili drugih vrsta u uzorku, zavisno od njihovih *redoks*-potencijala, a što dovodi do pojave radikal-katjona ili radikal-anjona u MS spektru.



Slika 2.7-6. Levo: šema klasične elektrohemijske ćelije sa konstnatnom strujom, koja kombinuje visokonaponski izvor sa velikom omskom otpornošću. Desno: ESI izvor, kod koga je veliki omski otpor rezultat protoka jona kroz vazduh ili azot [VAN BERKEL i ZHOU, 1995].

FENN, ROSELL I NOHMI (1996) su izvršili kritičku komparaciju različitih teorija o ESI izvoru, sa aspekta relacije između koncentracije analita i intenziteta, to jest udela jona u MS spektru. Joni, bilo pozitivni ili negativni, analita (A) bivaju desorbovani iz kapljica, prozvodeći, teorijski, jonsku struju $I_A = k_A[A]$, gde je k_A – *desorpcioni odnos*, konstanta zavisna od prirode (A). Ako se pretpostavi da se drugi jon (B) takođe proizvodi iz matriksa uzorka, sa odnosom $I_B = k_B[B]$, i da nema drugih jonskih vrsta u spreju, onda je ukupna jonska struja ovih dvaju jona $I_T = I_A + I_B$. Međutim, ova ukupna struja je limitirana oksidacijom (pozitivni mod), odnosno redukcijom (negativni mod) koja se dešava na vrhu kapilare. Za ovu ograničenu struja (I_M) se može pretpostaviti $I_T = I_T$ ako nema drugih jona u sistemu.

Struja za svaki jon će biti proporcionalna njegovom relativnom desorpcionom odnosu, te su odgovarajuće jednačine:

$$I_A = I_M \frac{k_A[A]}{k_A[A] + k_B[B]} \qquad I_B = I_M \frac{k_B[B]}{k_A[A] + k_B[B]} \tag{2.7-11}$$

U slučaju da [B] ostaje konstantno, ali se menja koncentracija analita [A], mogu se razlikovati dva granična slučaja. Prvi, kada je $k_A[A] << k_B[B]$:

$$I_A \approx I_M \frac{k_A[A]}{k_B[B]} \qquad I_B \approx I_M \frac{k_B[B]}{k_B[B]} \approx I_M \tag{2.7-12}$$

Ovo znači da će intenzitet detektovan za (A) biti proporcionalan njegovoj koncentraciji, ali će osetljivost biti obrnuto proporcinalna [B]. U suprotnom graničnom slučaju je:

$$I_A \approx I_M \frac{k_A[A]}{k_A[A]} \approx I_M \qquad I_B \approx I_M \frac{k_B[B]}{k_A[A]} \tag{2.7-13}$$

u kome I_A ostaje konstantna, a kvantifikacija [A] nije više moguća. Intenzitet signala za (B) postaje slabiji što se više povećava [A].

Može se zaključiti da na ESI proces utiče veliki broj varijabli, uključujući prirodu rastvarača, protok, karakteristike i veličinu kapilare, razmak od *counter*-elektrode, primenjeni potencijali, zatim površinski napon, priroda analita i elektrolita, prisustvo ili odsustvo drugih analita, elektrohemijski procesi na izlazu iz kapilare itd.

Za dobijanje stabilnog ESI spreja neophodna je minimalna količina elektrolita, ali u tako malim koncentracijama, da komercijalni rastvarači sadže dovoljno jona za tu svrhu. Sa druge strane, maksimalna ukupna koncentracija elektrolita koja se može tolerisati, a da se ne ugrozi osetljivost, jeste oko 10^{-3} mol/L. Dalje, poželjno je koristiti isparljive (volatilne) elektrolite, na primer CH_3COONH_4, kako bi se izbeglo zaprljanje ESI izvora, te se stoga HPLC metode ponekad moraju modifikovati kako bi se izbegao unos veće količine pufera u ESI izvor.

2.7.3 Mogućnosti primene ESI-MS metode u ispitivanju kompleksa

Elektrosprej-jonizaciona masena spektrometrija, ESI-MS, se upotrebljava za detekciju i karakterizaciju jedne ili više jonskih vrsta u rastvoru, te se pokazala veoma korisnom u istraživanjima različitih kompleksnih sistema [YAMASHITA i FENN, 1984a,b; KEBARLE i TANG, 1993]. U slučaju koordinacionih metal-ligand interakcija, često se upotrebljava za potvrđivanje stehiometrije novosintetisanih kompleksa [COLTON *et al.*, 1995; GATLIN *et al.*, 1997; HENDERSON *et al.*, 1998] koji ne učestvuju u ravnotežama tečne faze, odnosno, koji posle rastvaranja ne proizvode druge molekulske vrtste (ukoliko je to ipak slučaj, nastala ravnoteža se obično zanemaruje).

Studije rastvora u ravnoteži, to jest simultana detekcija, prepoznavanje i kvantifikacija brojnih vrsta, čija distribucija zavisi od pH, stehiometrijskih koncentracija itd., je znatno manje uobičajena, iako veoma interesantna aplikacija ESI-MS.

U idealizovanim situacijama primene ESI-MS, kakve se u praksi retko nalaze, sve informacije potrebne za opis ravnotežnog stanja u rastvoru bivaju sakupljene lako i brzo.

ESI-MS dozvoljava akviziciju masenih spektara direktno iz tečnog uzorka, na taj način analizirajući sve ravotežne vrste u nativnoj fazi. Blagi uslovi jonizacije ESI izvora (engl. *soft ionization mode*) minimizuju fragmentaciju, ostavljajući prisutne molekulske i jonske vrste uglavnom u neizmenjenom obliku. U zavisnosti od naelektrisanja jona u rastvoru, odnosno potencijala stavranja jona određenog predznaka naelektrisanja, pozitivni ili negativni jonski mod može biti apliciran (ESI+ ili ESI–) u cilju dobijanja optimalnih rezultata.

Stehiometrija ovih jona može biti direktno određena preko njihovih *m/z* vrednosti. Ukoliko postoje nedoumice u tumačenju spektara, masena spektrometrija visoke rezolucije, zatim MS-MS analiza, i/ili analiza izotopske šeme pikova, dovodi do skoro nedvosmislenog

identifikovanja. Ova mogućnost je od posebnog značaja kada nijedna od nekih drugih tehnika nije primenjena u cilju dobijanja kvalitativnih informacija). Relativni udeo (%) pojedinih vrsta, i na osnovu toga, stehiometrijske konstante stabilnosti u rastvoru, mogu biti dobijene direktno preko intenziteta molekulskih pikova.

Druga pogodna karakteristika ESI-MS je njena niska granica detekcije, tako da su koncentracije do 10^{-6} mol/L pristupačne za ispitivanje. To omogućava analizu rastvora čije su koncentracije analita bliske onim uobičajenim u životnoj sredini ili biološkim uzorcima. Zatim, relativno mala količina (zapremina) uzorka potrebna za analizu takođe proširuje mogućnosti primene ove metode.

Druge prednosti ESI-MS u odnosu na npr. NMR, koja je često korišćena metoda u studijama hemijske ravnoteže, ogledaju se u tome da je ESI-MS sposobna da analizira jonske vrste u rastvoru nezavisno od nuklearnog spina konstituentnih atoma, zatim da posmatra individualne jone u rastvoru gde dolazi do brze izmene atoma (interakcije među vrstama), kao i da identifikuje i *paramagnetične* i *dijamagnetične* vrste.

2.7.4 Nedostaci ESI-MS metode u ispitivanju kompleksa

2.7.4.1 ESI-MS i promene sastava rastvora

Najozbiljnija poteškoća u primeni ESI-MS u ravnotežnim rastvorima leži u činjenici da rastvor (uzorak) koji dospe u ES komoru, podleže nizu fizičko-hemijskih procesa [KEBARLE i TANG 1993;] koji mogu promeniti sastav rastvora, to jest broj, stehiometriju i/ili relativni molski udeo prisutnih vrsta. Kao posledica toga, kvalitativni i kvantitativni podaci dobijeni ESI-MS-om ne moraju tačno da reprezentuju stanje ispitivanog rastvora pre same masene analize [HIRAOKA *et al.*, 1995; SUTRISNO *et al.*, 2001].

Promene sastava rastvora veoma zavise od kinetičkih karakteristika ispitivanog sistema, tako da ove promene mogu uslediti samo ako je vreme potrebno za njihovo odvijanje kraće od vremena zahtevanog za ESI-MS analizu. Kritična faza ESI-MS procesa, od formiranja spreja do evaporacije i formiranja slobodnih jona traje oko 0,01 sec [KEBARLE i TANG, 1993].

Ravnotežne perturbacije su uvek primetne u kiselo-baznim ravnotežama, čak i sa velikim biomolekulima, usled velike brzine protonske izmene ($k > 10^9$/sec). Razlike između očekivane koncentracije i one dobijene putem ESI-MS spektralne analize, zavise od pH, i kako su WANG i COLE (1994a,b) primetili, u ES uslovima visoko protonizovane vrste se češće javljaju na baznim pH nivoima, odnosno manje su verovatne pri kiselim pH vrednostima, rezultati nekih drugih autora [SUTRISNO *et al.*, 2001] ne mogu biti generalizovane na sličan način. U svakom slučaju, obe studije su pokazale da acido-bazne ravnoteže ne mogu biti analizirane ESI-MS metodom.

U slučaju metal-ligand kompleksa, mada je koordinacija metalnih jona malim ligandima znatno sporiji proces od transfera protona, ravnoteža se ipak postiže za dosta kraće vreme od 0,01 sec [COTTON *et al.*, 1999] i stoga se mogu očekivati poremećaji prethodno uspostavljenih ravnotežnih stanja. U zavisnosti od liganda i od eksperimentalnih uslova, ovi efekti mogu eventualno biti zanemarljivi, ali uglavnom, oni afektiraju koncentraciju i raspodelu jonskih vrsta. Sa druge strane, može se očekivati da ESI-MS pruži pouzdane podatke za relativno inertne metalne jone, npr. Cr(III), Al(III), Co(III) i verovatno Be(II) i V(II), kao i za mnoge druge metal-ligand sisteme kod kojih kinetički parametri kritičnih ravnotežnih reakcija daju potrebne preduslove za ovu vrstu analize.

U cilju rešavanja ovog problema, predložene su različite strategije koje uključuju primenu *internih standarda*: znajući koncntraciju internog standarda i mereći intenzitet odgovarajućeg pika, može se izračunati faktor odziva da dati jon, a on se može dalje koristiti

za izračunavanje koncentracija nepoznatih vrsta. Važno je da interni standard bude što je moguće sličniji hemijskoj vrsti koju treba kvantifikovati, odnosno treba obezbediti da faktor odziva oba jona bude idetinčan za obe vrste. Na primer, OLESIK *et al.* (1997) su upotrebili kao interni standard nekompleksirani katjon, K^+, koji su dodavali u višku i sa konstantnom koncentracijom. Na osnovu toga su izračunavali koncentracije Ni(II) – detektovanog kao Ni^+ – pri nekoliko koncentracija liganda. Slaganje između teoretskog odziva i eksperimentalno dobijenog pika je bilo odlično.

Ukoliko treba kvantifikovati koncentraciju kompleksa, a ne slobodnog metalnog jona, neki drugi kompleks se može upotrebiti kao interni standard, ukoliko on ne podleže ravnotežnim reakcijama u datim eksperimentalnim uslovima.

U svom istraživanju WANG i AGNES (1999a) su kvantifikovali koncentraciju Sr(II)-EDTA kompleksa, upotrebljavajući Ni(II)-EDTA kao interni standard, čija koncentracija je smatrana stabilnom u datom pH opsegu. Komparacija vrednosti koncentracija Sr(II)-EDTA kompleksa sa ukupnom koncentracijom Sr(II) pokazuje ispravnost primenjene procedure. SPASOJEVIC *et al.* (2001) su proširili aplikaciju ove metode na komplikovanije metal-ligand sisteme, uzimajući dva kompleksa istog metalnog jona (ali sa različitim ligandima) kao interne standarde – jedan neutralan u ispitivanom pH opsegu da bi se kvantifikovali neutralni kompleksi, i drugi sa naelektrisanjem +1 u istom pH rangu, da bi se određivali naelektrisani kompleksi.

Iako se tačni rezultati mogu postići primenom internih standarda, ipak ostaje problem nalaženja odgovarajućeg i dovoljno stabilnog jedinjenja koje se može koristiti u ovu svrhu.

Metod za određivanje faktora odziva bez upotrebe internog standarda su preložili BRODBELT *et al.* (1999). U ovom radu su istraživani sistemi sa ligandom koji je sličan krunskim etrima (engl. *crown ether*) i sa različitim metalnim katjonima, u cilju određivanja metal-vezujućih karakteristika, odnosno selektivnosti liganda. Posle izračunavanja konstanti formiranja kompleksa, izračunati su faktori odziva svih vrsta prisutnih u spektru binarnog sistema, poredeći očekivane koncentracije kompleksa sa intenzitetom pikova. Ovako dobijeni faktori su zatim korišćeni za proračun metal-vezujuće selektivnosti, iz spektara rastvora koji su istovremeno sadržali više komponenti.

Na sličan način, ovi autori [KEMPEN i BRODBELT, 2000] su izračunali konstante stabilnosti nepoznatih sistema putem monitoringa intenziteta referentnog kompleksa sa poznatom konstantom, pre i posle dodavanja kompetititivnog liganda. Ovaj pristup je potvrđen ispitivanjem nekoliko *host-guest* kompleksa krunskih etara sa katjonima alkalnih metala poznatih konstanti stabilnosti.

Predložene su i metode direktnog izračunavanja faktora odziva iz *energije solvatacije* jona [LEIZE *et al.*, 1996] ili iz *površinske aktivnosti* analita i konstante evaporacije posmatanog jona [TANG i KEBARLE, 1993], imajući u vidu da faktori odziva jona zavise od ovih parametara. Druge korelacije su takođe referencirane u literaturi, a koje uključuju acido-bazne i hidrofobicitetne karakteristike liganda sa konstantama stabilnosti kompleksa, kumulativno izraženim kao *Bull-Breese*-ov *indeks* [GATLIN i TURECEK, 2000].

Još jedan drugačiji metod za direktno izračunavanje faktora odziva jona, predložen od GABELICA *et al.*, (2003) primenjen je za nekovalentne komplekse velikih biomolekula.

U mnogim itraživanjima, problem odziva jona je praktično ignorisan. Nekoliko autora je usvojilo pretpostavku da su jonski odzivi gotovo isti za sve vrste u rastvoru [WANG i GOKE, 1996; GOOLSBY *et al.*, 1999; REANY *et al.*, 2000; KEMPEN i BRODBELT, 1999; MOULIN *et al.*, 2001; ROSS *et al.*, 2000a] ili za deo prisutnih vrsta [CHENG *et al.*, 1992].

Na kraju, u ispitivanom rastvoru se ne smeju primenjivati visoke koncentracije elektrolita visoke koncentracije, kako zbog oštećenja ESI izvora, tako i zbog smanjivanja,

odnosno potiskivanja signala analiziranog jona u ESI-MS spektru od strane drugih jonskih vrsta [TANG i KEBARLE, 1993; SMITH *et al.*, 1993]. Dalje, ESI-MS spektri se najbolje dobijaju pri korišćenju organskih rastvarača (metanol, acetonitril) ili u mešavini rastvarača i vode, zato što čista voda može prouzrokovati električna pražnjenja unutar ESI komore, što dovodi da nestabilnosti signala značajnog pogoršanja odnosa signal/šum [KEBARLE i TANG, 1993]. Ovo prouzrokuje dve poteškoće. Prvo, većina realnih bioloških uzoraka ili uzoraka iz sistema životne sredine, na primer vodeni uzorci sa znatnom jonskom jačinom, ne mogu biti analizirani kao takvi putem ESI-MS. Drugo, nastaju problemi u komparaciji ESI-MS podataka sa rezultatima dobijenim tradicionalnim tehnikama (što je često potrebno u cilju validacije i dokazivanja pouzdanosti samih ESI-MS rezultata, i obrnuto) jer se procesi odvijaju u različitim rastvaračima. Istraživanja stabilnosti kompleksa i mnoge druge studije ravnoteža se obično izvode u vodenim rastvorima, koji sadrže relativno veliku koncentraciju prisutnih elektrolita, kao deo samog matriksa, usled upotrebe pufera ili dodavanja elektrolita u višku kao bi se u kalkulaciji mogli zanemariti koeficijenti aktivnost.

Može se očekivati da pomenute razlike mogu prouzrokovati značajne modifikacije dobijenih vrednosti za konstante stabilnosti posmatranih vrsta. Ipak, smatra se su negativni efekti na kvalitativnu specijaciju relativno umereni i da se obično mogu zanemariti. Na kraju, treba naglasiti da se u novije vreme ravijaju i tehnike za analizu vodenih rastvora (bez organskih rastvarača), na primer pneumatski pojačan ES izvor [WANG i AGNES, 1999a] u kome se koriste tri nezavisne struje gasa: osim dve normalno primenjivane struje azota (engl. *nebulant* i *curtain*), treća struja kiseonika se usmerava direktno na izlaz kapilare u cilju eliminisanja električnih pražnjenja.

2.7.4.2 Reakcije u gasnoj fazi

Tačan mehanizam formiranja jona u ESI komori je još uvek praćen određenim nepoznanicama [KEBARLE, 2000; ROHNER *et al.*, 2004]. Svakako, finalni produkti jesu joni u gasnoj fazi, a koji pre dolaska do masenog analizatora i detektora, mogu učestvovati u različitim reakcijama i time menjati svoj broj ili hemijski sastav na često nepredvidljiv način. Obim tih gas-faznih reakcija zavisi od napona na konusu ESI izvora [LAVANANT *et al.*, 1999], pri čemu su gasne reakcije manje zastupljene pri niskim vrednostima napona (engl. *cone voltage*), a sve one u određenoj meri mogu dovesti do modifikacije distribucije prisutnih vrsta u samom analizatoru, u odnosu na uslove koji su prethodili injektiranju rastvora.

Gas-fazne reakcije se mogu predvideti sa manje sigurnosti nego perturbacije u rastvoru, s obzirom da se ponašanje datih vrsta u gasnoj fazi može potpuno razlikovati od onog u tečnoj fazi. Na primer, s obzirom da se rastvarač udaljava u gas-faznom procesu, može se dogoditi da se pojedina vrsta inače stabilna u rastvoru, usled nedostatka solvatacije destabiliše u gasnoj fazi (ili obrnuto). Iz ovog razloga, postoje slučajevi za koje ne važi rasprostranjena teza da ukoliko određena vrsta zahteva visoku energiju fragmentacije u MS/MS spektru, ona već egzistira u rastvoru kao stabilna (to jest, principijelno se ne pretpostavlja da je naknadno formirana u gasnoj fazi) [DALLAVALLE i TEGONI, 2001; MODER *et al.*, 2001; CARERI *et al.*, 2003b].

Do sada su dve različite pristupa primenjena za sagledavanje problema usled nastanka gas-faznih reakcija.

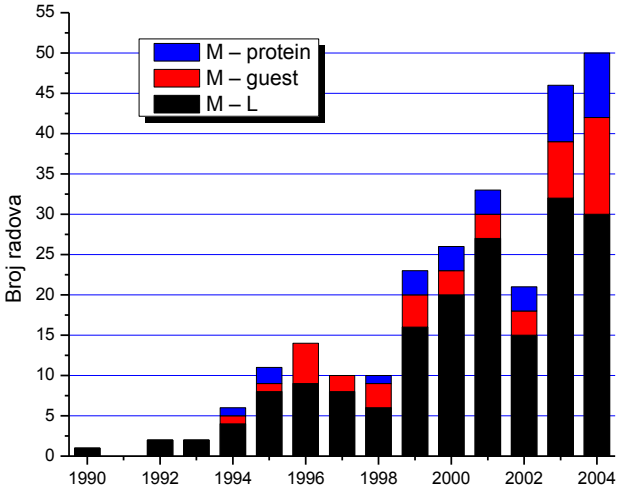
Prvi metod [MATSUMOTO *et al.*, 1999] uključuje poređenje dva slična metal-ligand sistema: pretpostavlja se da samo vrste koje su prisutne u oba sistema nisu produkt reakcija u gasnoj fazi. U radu MATSUMOTO *et al.* su detektovali ternarni bakar(II)-2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol-acetat, Cu_2L_2AcO, ali nisu registrovali analogni Ni(II) kompleks.

Drugi metod [MATSUMOTO *et al.*, 1999; DI MARCO *et al.*, 2003] primenjuje analizu intenziteta pikova pri smanjivanju koncentracije metala, ali na istom pH i pri istom odnosu

metal/ligand. U slučaju gas-faznih reakcija, očekuje se da intenziteti pikova budu u korelaciji sa koncentracijom metala i u skladu sa poznatim podacima o ravnoteži. Na žalost, ovaj pristup iziskuje prethodno poznavanje ravnotežnih odnosa u rastvoru koji se ispituje.

2.7.4.3 Aplikacija ESI-MS za metal-ligand sisteme

Prvi autori koji su upotrebili ESI-MS tehniku za proučavanje koordinacionih kompleksa formiranih u rastvorima koji sadrže metalne jone i ne-polimerne ligande su KATTA, CHOWDHURY i CHAIT (1990), koji su radili sa Ru(II)/2,2'-bipiridil komplekse. Iako oni nisu razrađivali sisteme u ravnoteži, oni su verovatno prvi predložili ovu tehniku za analizu jonskih kompleksa tranzicionih metala. Autori koji su prvi apostrofirali primenu ove tehnike za ispitivanje metal-ligand ravnoteža su bili CHENG *et al.* (1992), kao i GALL *et al.* (1992). Od tada stalno se povećava broj radova koji obrađuju ovu tematiku (slika 2.7-7.), kao posledica povećane dostupnosti instrumenata i usled prepoznavanja određenih prednosti koje ova tehnika nudi.



Slika 2.7-7. Broj objavljenih radova po godini, u kojima je korišćena ESI-MS tehnika za analize metal-ligand ravnoteža u rastvorima. Grupisanje radova je izvršeno prema tipu metal-ligand sistema koji su ispitivani.

Pri tome, su prethodno razmatrane inherentne poteškoće nekada uzimane u obzir, a nekad je njihov efekat zanemarivan. Mnogi radovi koji uključuju ESI-MS ne predstavljaju kompletne studije ravnoteže kompleksa, odnosno pH, koncentracije metala ili liganda, kao i relativni odnos metala i liganda i drugi parametri, nisu menjani, već su držani pri konstantnim vrednostima, a u nekim radovima nisu čak ni navedene njihove vrednosti. Ipak, i ovakvi radovi imaju vrednost, jer je ESI-MS korišćena da se odredi broj i stehiometrija metal-ligand kompleksa u rastvoru uglavnom u cilju potvrđivanja rezultata dobijenih drugim eksperimentalnim tehnikama. Drugim rečima, ESI-MS je često primenjivana kao alat za kvalitativnu determinaciju. Oko 50% radova ESI-MS koristi kao samostalnu tehniku, dok se u ostalima radi i komparacija sa drugim tehnikama – potenciometrijom, NMR, UV/VIS itd., što se može smatrati kao prednost u kompletnosti istraživačkog rada.

Kako je navedeno, pouzdanost ESI-MS studija ravnoteža kompleksa u rastvoru u ovom trenutku ne može biti potpuno garantovana, te je stoga dobrodošla dopuna eksperimentalnih rezultata putem tradicionalnih, dobro standardizovanih metoda.

2.7.4.4 Poređenje kvalitativne ESI-MS i drugih tehnika

Generalno, slaganje ESI-MS sa drugim tehnikama je sasvim dobro, ako se porede kvalitativni podaci – u većini slučajeva pikovi primećeni u ESI-MS spektrima korespondiraju, naravno, ako se uzmu u obzir redovno prisutne pojave građenja adukta sa rastvaračem ili sa Na^+. U vezi sa ovim, vredno je pomenuti rad BURNS *et al.* (1996) sa temom gas-faznih klastera nastalih u ESI izvoru, a koji sadrže *tris*-(2,2'-bipiridil)gvožđe(II) i rutenijum(II) koordinacione komplekse u metanolnom rastvoru. Vršena je foto-fragmentacija maseno-selektovanih pikova, i to svetlošću promenljive talasne dužine (monohromatski argonski laser), čime je pokazano da ovi kompleksi prelaznih metala, izolovani u klasterima u gas-faznom okruženju („*mikrorastvor*") pokazuju istu metal-ligand *charge-transfer* apsorpciju koja je primećena i u kondenzovanoj (tečnoj) fazi.

Određeni broj radova navodi i razlike u odnosu na izneta zapažanja, odnosno u njima se konstatuje da se vrste primećene u ESI-MS analizi ne podudaraju sa onima dokazanim tradicionalnim tehnikama. Koliko je poznato, ove kvalitativne razlike nikada nisu pripisane poremećajima ravnoteža, već drugim ESI-MS artefaktima. U nekim slučajevima je dokazana ili pretpostavljena, pojava gas-faznih reakcija.

JANKOVICS *et al.* (2003) su studirali koordinaciju $Me_2Sn(IV)^{2+}$ sa kaptoprilom*, na dve različite pH vrednosti i pri dva različita molskog odnosa metal-ligand, kako u pozitivnom, tako i u negativnom ESI modu. ESI-MS spektri su potvrdili potenciometrijske rezultate, osim za jedan kompleks koji je mogao biti primećen samo u ESI-MS, čak i pri niskim koncentracijama. Autori su ovu pojavu objasnili specifičnom gas-faznom reakcijom. Slično ovome, jedan jon specifičan za gasnu fazu je primećen i u radu MATSUMOTO *et al.* (1999).

XU *et al.* (1996) su analizirali vodene rastvore (na pH ~4,0) jona Cu^{2+} sa glicinom, glicilglicinom ili sa oba liganda istovremeno, i našli su određene razlike između vrsta u ESI-MS spektru i onih anticipiranih prema literaturnim podacima. Autori su dali kao zaključak da većina jona ima dobro poklapanje sa vrstama koje su identifikovane u tečnoj fazi, ali se za nekoliko jona pretpostavilo da su formirani kao posledica gas-faznih reakcija.

Razlike između ESI-MS metode i tradicionalnih tehnika su češće pripisivane drugim uzrocima, umesto gas-faznim reakcijama. U ispitivanju kompleksacije između Cu(II) jona i oligosaharida celuloze, hitina (polimer *N*-acetilglukozamina, engl. *chitin*) i hitozana (deacetilovani hitin, engl. *chitosan*), SHAHGHOLI *et al.* (1997) su našli značajne razlike između dve specijacione slike – dobijene putem potenciometrije i preko ESI-MS. Osim kvantitativnih razlika koje potiču usled različitog broja vezanih protona na metal-ligand vrste, glavna razlika se ogledala u pojavi određenih kompleksa u ESI-MS, koji nisu mogli primećeni u potenciometrijskoj titraciji. Vrste nađene u ESI-MS su protumačene kao artefakti nastali u procesu desorpcije iz visokonaelektrisanih kapljica elektrospereja.

Kvalitativne razlike nastale zbog sličnih uzroka su nađene u radu SHEN i BRODBELT-a (1999). Oni su u ESI-MS primetili formiranje metal-ligand polietar- i piridil-kompleksa sa jonima prelaznih metala, dok se velika razlika u ravnotežnim konstantama objašnjava formiranjem binarnih kompleksa sa drugim molekulom liganda.

U drugim slučajevima primećene su pojave polimerizacije i fragmentacije pri ESI uslovima, kao na primer, u radu DERRY *et al.* (1998) koji se bavi kompleksima nastalim u

* Kaptopril (engl. *captopril, N*-[(*S*)-3-merkapto-2-metilpropionil]-L-prolin) se kao angiotenzin-konvertujući enzimski inhibitor (ACE inhibitor) upotrebljava u medicinskom tretmanu hipertenzije i određenih srčanih smetnji, kao i dijabetske nefropatije. Kaptopril je bio prvi dobijeni ACE inhibitor i i predstavljao je značajan prodor, kako zbog novog mehanizma dejstva, tako i zbog revolucionarno novog razvojnog procesa. Otkriven je 1975. godine posle mnogobrojnih radova koji su ispitivali konverziju *angiotenzina I* u *angiotenzin II* i inaktivaciju *bradikinina*. Komercijalni naziv: CAPOTEN (Bristol-Myers Squibb), U.S. Patent 4,046,889.

vodenom rastvoru WO_4^{2-} ili MoO_4^{2-} sa galaktarnom ili galakturonskom kiselinom* na sličnim pH vrednostima (pH = 5,6 – 6,0) sa ekvimolarnim (1:1) odnosom metal/ligand. Ipak, autori su uspeli da potvrde i prošire kvalitativne rezultate koje su dobili radeći na ovim sistemima NMR metodom uzimajući za ispitivanje uobičajenu tečnu fazu analita.

Fragmentacioni pikovi su primećeni u studiji MURNER *et al.* (1998), koja se odnosi na formiranje kompleksa među članovima hiragenih liganada (stereselektivno vezani *bis*-[4,5]-pineno-2,2'-bipiridini] i Cd^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+} u rastvorima acetonitrila ili metanola, ali nađeni su i drugi pikovi koji odgovaraju stehiometriji vrsta nađenim u UV/VIS merenjima. JEZOWSKA BOJCZUK *et al.* (2001) su našli fragmentacione pikove prilikom koordinacije Cu(II) sa linkomicinom† i H_2O_2, gde su ESI-MS spektri dobijeni iz vodeno-metanolskog rastvora 50/50, na pH = 7,4. Primećeni su i pikovi koji mogu biti pripisani metal-ligand kompleksima, a čija stehiometrija nije mogla biti potvrđena bilo kojom drugom tradicionalnom tehnikom (potenciomentrija, UV/VIS, cirkularni dihroizam, EPR, NMR, ciklična voltametrija). Zato su oni objašnjeni kao artefakti jonizacionog procesa, bez ulaženja u mehanizam nastanka.

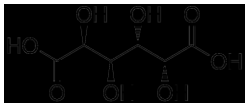
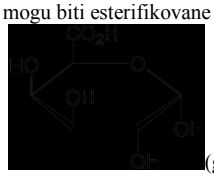
Slični rezultati su objavljeni u radu LESNIAK *et al.* (2003) koji se bavio ispitivanjem kompleksa Cu(II) sa histidinom i antibiotikom gentamicin C1a. ESI-MS spektri su snimani na pH = 7,4 u rastvoru voda-acetonitril 50/50 koji je sadržao jedan ili oba liganda, a kombinovani su različiti molski odnosi metala i liganda. U spektrima su primećeni određeni fragmentacioni produkti i novi kompleks, koji nije prethodno detektovan drugim tehnikama (potenciometrija, UV/VIS, CD, EPR), i koji je pripisan nedefinisanim jonizacionim artefaktima. U nekim slučajevima, nije bilo moguće odrediti mnoge pikove, kao u radu SHARP *et al.* (1997) koji su proučavali Ni(II)-EDTA i Al(III)-citrat sisteme u vodenim rastvorima.

Generalno, može se izvesti zaključak da su komplikovani ESI-MS spektri za metal-ligand sisteme češća pojava nego što bi se uočilo pregledom mnogih objavljenih literaturnih podataka. U nekim prethodno citiranim slučajevima podaci o specijaciji dobijeni iz ESI-MS spektara su diskvalifikovani ukoliko nisu u saglasnosti sa tradicionalnim tehnikama. U drugim slučajevima, ESI-MS podaci su ipak kvalifikovani kao pouzdani i „istiniti", naročito kada su rezultati klasičnih tehnika bili nedostupni, ili nekompletni.

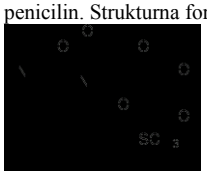
HENDERSON i TAYLOR (1996) su proučavali hidrolizu organo-kalajnih jedinjenja R_3SnCl (R = Ph, Me, ili Bu), Ph_3SnBr i Ph_2SnCl_2 metodama NMR i ESI-MS u pozitivnom i negativnom modu, kako bi dobili podatke o naelektrisanim vrstama koje se mogu dobiti u acetonitril-vodenom rastvoru. Kada je poređenje dve tehnike je bilo izvodljivo, ESI-MS i NMR specijacija se poklapala, ali uopšte, ESI-MS je pružao detaljniju sliku vrsta u rastvoru od NMR. Slično tome, bolji rezultati su dobijeni putem ESI-MS nego NMR u prethodno navedenoj studiji DEERY *et al.* (1998). U nekim slučajevima u kojima su tradicionalne tehnike

---

* Galaktarna kiselina (engl. *galactaric acid*, *mucic acid*) i galakturonska kiselina (engl. *galacturonic acid*) su oblici oksidovane D-galaktoze Galakturonska kiselina je sastavni deo – monomer – heterosaharida pektina, čiji glavni lanac polimera može biti kombinovan i sa ramnoznim grupama. Karboksilne grupe galakturonske kiseline mogu biti esterifikovane ili amidovane.

 (galaktarana kiselina)  (galakturonska kiselina)

† Linkomicin (engl. *lincomycin*) je linkozamidni antibiotik izolovan iz aktinomiceta *Streptomyces lincolnensis*. Obično se modifikuje tionil-hloridom u 7-hloro-7-deoksi derivat – klindamicin (engl. *clindamycin*). Danas se retko upotrebljava, uglavnom kod pacijenata alergičnih na penicilin. Strukturna formula linkomicina:



sugerisale više od jednog specijacionog modela, ESI-MS je korišćena za otklanjenje dileme, pružajući mogućnost biranja modela elaboriranog iz potenciometrijskih ili UV/VIS podataka. CAUDLE *et al.* (1994a,b) u ispitivanju gvožđe(III) kompleksa formiranih u voda-aceto-nitrilnom rastvoru na pH = 2,3 sa ligandima na bazi dihidroksaminske kiseline (L = $CH_3N(OH)C(O)(CH_2)_nC(O)N(OH)CH_3$; n = 2,8) i sa određenim drugim liganadima. Za ove komplekse su predložene dve alternativne stehiometrije: *monomer* $FeL(H_2O)^{2+}$ ili *dimer* $Fe_2L_2(H_2O)_4^{2+}$. ESI-MS je omogućila prepoznavanje tačne stehiometrije – prve ili druge, zavisno od upotrebljenog liganda. U radovima CAUDLE *et al.* (1994a,b) rađena su i kvantno-mehanička proračunavanja stabilnosti najverovatnijih struktura kompleksa. BLANC *et al.* (1997) su ispitivali komplekse Fe(III) sa tri tripodna liganda sa hidroksamatnim koordinacionim mestima, i to klasičnom spektrofotometrijskom titracijom, u kombinaciji sa ESI-MS merenjima koja su bila rađena sa različitim koncentracijama liganda i metala u metanolskim rastvorima, bez pH kontrole. Speciacioni model identifikovan putem ESI-MS je dao dobru dopunu i poklapanje sa UV/VIS podacima. FATIN ROUGE *et al.* (2000) su radili na koordinacionim karakteristikama Fe(II) i *bis*(2,2'-bipiridina) u metanolnim rastvorima, u funkciji pH i koncentracije metala. ESI-MS je korišćena, uz potenciometriju i spektrofotometriju, za određivanje broja i stehiometrije prisutnih vrtsta u rastvoru. DALLAVALLE i TEGONI (2001) su pratili ravnoteže kompleksa (*S*)-fenilalaninhidroksaminske i (*S*)-triptofanhidroksaminske kiseline sa Cu(II), metodama potenciomentrije, UV/VIS, CD i ESI-MS (pozitivni i negativni mod, metanol/voda = 90/10, sa dva molska odnosa metal/ligand i pri različitim pH). ESI-MS je omogućio prepoznavanje *pentanuklearnih* vrsta, umesto dinuklearnih, koji se u literaturi obično navodi za α-aminohidroksamate u vodenim rastvorima, dok su klasične tehnike dale rezultate kompatibilne sa oba modela. U svetlu ovih rezultata, isti autori su sa drugim saradnicima [CARIERI *et al.*, 2003b] preispitali komplekse (*S*)-α-alaninhidroksaminske kiseline i (*R*)-aspartat-β-hidroksaminske kiseline sa Cu(II) u vodenom matriksu, u cilju razjašnjavanja određenih kontradiktornih literaturnih navoda u vezi formiranja polinuklearnih kompleksa koji se formiraju. Merenja su rađena u ESI-MS pozitivnom i negativnom modu, rastvoru voda/metanol = 10/90, na nekoliko pH vrednosti i sa nekoliko molskih odnosa metal/ligand). Kao i u prethodnoj studiji, ESI-MS spektri su omogućili rekogniciju pentanuklearne Cu(II) vrste, umesto očekivanog dinuklearnog kompleksa. STOLWORTHY *et al.* (2001) su se bavili kompleksima Fe(III) i piridin-2,6-*bis*(monotiokarboksilne kiseline) potenciometrijom i UV/VIS spektrofotometrijom. ESI-MS spektar se potvrdio prisustvo kompleksa FeL_2 i odustvo pika za FeL, što je autorima omogućilo da ovu vrstu isključi iz daljeg eksperimentalnog elaboriranja. SCHMITT *et al.* (2002) su radili kompleksaciju Mn(III) sa 1,2-diaminoetanom, pri čemu je ESI-MS pokazala prisustvo kompleksa visoke nuklearnosti, na primer trimere i tetramere, koji ne mogu biti detektovani EPR ili elektrohemijskim tehnikama. FARKAS *et al.* (2002) u istraživanju Mo(VI) i dihidroksamatnog analoga siderofora* dihidroksamatnog tipa, odnosno piperazin-1,4-*bis*(*N*-metil-acetohidroksaminske kiseline). pH-Potenciometrijska i spektrofotometrijska merenja su se poklapala sa dva kompleksaciona modela bazirana na dinuklearnoj ili na mononuklearnoj vrsti. ESI-MS je pokazala da je *dimer* ima znatno veći udeo u odnosu na *monomer*, i ovaj nalaz je dalje potvrđen teorijskim simulacijama koje su dokazale da veću stabilnost *dimerne* vrste u odnosu na *monomer*. HARRIS *et al.* (2003) su proučavali vrlo komplikovani Al(III)-citratni sistem u cilju određivanja specijacije Al(III) u krvnom serumu. Ovaj sistem je bio predmet većeg broja radova, koji su dolazili do konfliktnih zaključaka (reference u BERTHON, 1996). Eksperimentalni podaci koje su dobili HARRIS *et al.* potenciometrijskom titracijom su izgledali konzistentni sa dva različita specijaciona modela, jedan sa Al_2L_2 i drugi sa Al_2L_3 kompleksom. ESI-MS spektar je bio ključan za potvrđivanje prvog jedinjenja kao najverovatnijeg. Spektri su dobijeni pri različitim pH vrednostima i na dva različita odnosa

* engl. *siderophore* (od grčkog „*nosač gvožđa*") su mali molekuli – helati, jakog afiniteta prema jonima gvožđa, koje proizvode mnogi mikroorganizmi, kao bakterije i gljivice, ili više biljke – *fitosiderofori*. Spadaju u najjače poznate agense za vezivanje Fe^{3+} jona.

metal/ligand. Vremensko-zavisni spektri su snimani, pri fiksnom pH, kako bi se pokazala spora kinetika metal-ligand ravnotežne reakcije.

NEUBERT *et al.* (2002) su istraživali kompleksna jedinjenja formirana između Fe(III), citrata i gvožđe-helatora (3-hidroksi-2-metil-1-propil-1H-piridin-4-on). ESI-MS nije dala potvrdu za mešovite citratne komplekse, ali je dokazala prisustvo jednog broja dimernih kompleksa sa gvožđem, koji do tada nisu bili navođeni u literaturi.

Vredno je naglasiti da postoje studije u kojima je ESI-MS omogućila otkrivanje prethodno nepoznatih metal-ligand vrsta, na primer u prethodno citiranim radovima: CAUDLE *et al.*, 1994a,b; DEERY *et al.*, 1998; DALLAVALLE i TEGONI, 2001; SCHMITT *et al.*, 2002; CARERI *et al.*, 2003b. Takođe, BOND *et al.* (1993) su detektovali neke nove Fe(III), Co(III), Ni(II) i Cu(II) ditiokarbamate u dihlorometan/metanol = 1/10 rastvoru, kao i novi katjonski Au(I)-fosfin derivat u dihlorometan/metanolu [COLTON *et al.*, 1995a]. BRINDLEY *et al.* (2000) otkrili nove vrste kompleksa iz acetonitrilnog rastvora lantanidnih jona La3+, Gd3+, Lu3+ sa ferocen-derivatizovanim kaliks[4]arenskim ligandima* sa estar-amidnim donorskim grupama. Ova nova jedinjenja su takođe mogla biti dokazana i u čvrstom stanju. BARTOK *et al.* (2001) su izolovali nove oksonijum-aluminijum vrste, dok su SAHUREKA *et al.* (2002) radili sa NH^+, Li^+, Na^+ i K^+ – dihromatinim sistemima, i dokazali veći broj do tada nepoznatih *polioksohromata* u vodenom rastvoru na pH = 4,5.

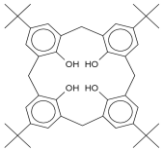
2.7.4.5 Komparacija kvantitativne ESI-MS i drugih tehnika

Poređenje kvantitativnih rezultata iz ESI-MS i drugih tehnika nije toliko zastupljeno u literaturi, a slaganje rezultata se može oceniti u opsegu od lošeg do relativno dobrog, zavisno od slučaja. GATLIN *et al.* (1995) su prilikom proučavanja ternarnih Cu(II) kompleksa sa amino-kiselinama i 2,2'-bipiridilom u voda/metanol rastvorima, primetili komplekse sa jednim ligandom i sa dva liganda. Kvantitativni ESI-MS rezultati su poređeni sa literaturnim podacima, i mada su poređeni samo trendovi u ravnotežama, zapažene su velike razlike, koje su pripisane različitim faktorima odziva pojedinih jona. Slična poređenja su vršena u radovima XU *et al.* (1996), BLANC *et al.* (1997), i DEERY *et al.* (1998), pri čemu su BLANC i DEERY dobili kvantitativne ESI-MS rezultate vrlo slične očekivanim, dok je XU našao loše slaganje. U istraživanju kompleksa La(III) sa EDTA i L-triptofanom [WANG *et al.*, 2000] u vodenim pH-puferovanim sredinama, rezultati ESI-MS distribucije su bili u skladu sa prethodno utvrđenim ravnotežnim odnosima.

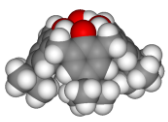
Drugi autori su temeljnije analizirali ESI-MS kvantitativne rezultate, što im je dalo osnovu za rigoroznije poređenje sa odgovarajućim podatacima iz tradicionalnih metoda. WANG i AGNES (1999a,b) su bili među prvima koji su intenzivnije istraživali poremećaje ravnoteža u kvantitativnoj primeni ESI-MS, konkretno, ponašanje ravnoteža u ES izvoru za zemnoalkalne metale u reakciji sa EDTA. Koncentracija kompleksa (ustanovljena upotrebom internog standarda, kako je ranije opisano) je bila povećana u odnosu na normalne ravnotežne uslove, usled ekstremno velike razlike između direktne i reversne reakcije kompleksiranja (tj. formiranje i razgradnja), a koje iznose 10^9 $mol^{-1}dm^3sec^{-1}$, odnosno 10^{-2} sec^{-1} respektivno za Sr^{2+} + EDTA = Sr-EDTA. Autori su našli samo kvantitativne razlike, odnosno, iste vrste su

---

* Kaliksaren (engl. *calixarene*) su *makrociklični* ili *ciklični oligomeri* dobijeni kao produkti hidroksialkilacije fenola i aldehida. Naziv je izveden iz lat. *calix* (vazna, pehar) zbog oblika molekula, i *-arene*, zbog aromatičnog prstena. Kaliksareni poseduju hidrofobnu „šupljinu" (engl. *cavity*) koja može vezati manje molekule ili jone, i zato spadaju u tzv. kavitande (engl. *cavitand*) poznatih u *host-guest* hemiji. Nomenklatura je bazirana na broju *ponavljajućih jedinica* u prstenu: kalix[4]areni imaju 4 jedinice, na primer, para-*tert*-butilkaliks-4-aren:



(strukturna formula)


(3D reprezentacija molekula)

nađene u rastvoru, ali sa različitim koncentracijama, s obzirom da stanje ravnoteže u ESI-MS biva afektirano promenom pH u odnosu na realnu ravnotežu stacionarnog rastvora.

DI MARCO *et al.* (2003), takođe i BERTANI *et al.* (1999) su radili na kompleksima između Al^{3+} i hidroksipiridinkarboksilne kiseline u 3:1 voda-metanol sistemima na različitim pH i molarnim odnosima, te su našli dobro slaganje kvantitativnih relacija – tj. broj i stehiometrija kompleksa sa potenciometrijskom titracijom, dok se kvantitativno slaganje, kao i u mnogim drugim radovima, kretalo u rasponu od relativno lošeg do sasvim prihvatljivog, a što je objašnjeno primenom različitih rastvarača u različitim metodama (metanol i mala jonska jačina u ESI-MS, čista voda i visoka jonska jačina u potenciometriji. Efekat pH promene je smatran za zanemarljiv, usled sporosti Al(III)-ligand ravnotežne preraspodele.

MOULIN *et al.* (2000) pri određivanju U(VI)-specijacije u vodenom rastvoru su našli nekoliko hidrokso-kompleksa, u zavisnosti od pH, i u funkciji različitih instrumentalnih parametara – napon konusa, temperatura i protok gasa, a podaci su se relativno dobro slagali sa ostalim tehnikama, pri čemu su razlike pripisivane malim promenama pH. Isti autori su u sledećem radu [MOULIN *et al.*, 2001] dali jednu od najinteresantnijih studija kvantitativnih metal-ligand ravnoteža određivanih u ESI-MS tehnici: sproveli su rigoroznija poređenja u smislu preispitivanja dotašnjih rezultata za hidrolizu torijuma(VI), imajući u vidu da su značajne razlike postojale u dotadašnjoj literaturi u vezi nastajanja – odnosno pojave, prvog Th-hidrokso kompleksa u spektru. ESI-MS spektri su dobijeni iz vodenih rastvora, pH = 1 – 3, pri fiksnoj koncentraciji metala. ESI-MS je pokazala sve torijum-hidrokso komplekse pri višim pH vrednostima, a kvantitativne odnose autori su izračunali usvajajući da su faktori odziva identični za sve jone, i uzimajući u obzir korekciju konstanti stabilnosti usled različite jonske jačine, koristeći *Davies*-ovu (Dejvis) jednačinu*. Iz različitih razloga je pretpostavljeno da nije bila prisutna promena pH. Prvo, preduzete su određene predostrožnosti u implementaciji intrumentalne tehnike: kapilara od *inox* čelika je upotrebljena umesto platinske kapilare, tako da je oksidacija vode barem delimično preusmerena ka oksidaciji materijala kapilare. Drugo, primenjivan je relativno viši protok (*flow rate* 10 μL/min), jer se generalno očekuje da je magnituda promene pH obrnuto srazmerna brzini protoka rastvora. Štaviše, kako je pH inače puferovan na dosta kisele pH vrednosti, promena pH usled elektrolitički generisanih protona može biti zanemarena. Distribucija Th-hidrolizovanih kompleksa sa ESI-MS je zatim poređena sa literaturnim podacima, i dobijene vrednosti su se nalazile između dva različita seta podataka koji su bili dostupni iz ranijih radova.

Ista grupa autora [JACOPIN *et al.*, 2003] su radili kompleksiranje 1-hidroksietan-1,1'-difosfonske kiseline i uranil jona, UO_2^{2+} (ESI-MS spektri vodenih rastvora, u pozitivnom i negativnom modu, različito pH i varijacija metal/ligand odnosa). Broj, stehiometrija i uslovne konstante stabilnosti vrsta su izračunate za nekoliko pH vrednosti, a pretpostavljen je konstantan faktor odziva. Posle konverzije dobijenih konstanti stabilnosti pri različitim jonskim jačinama, upotrebom *Davies*-ove jednačine, ESI-MS podaci su dali dobro slaganje sa drugum eksperimentalnim tehnikama.

2.7.4.6 Studije ternarnih sistema

Značajan broj radova je posvećen ispitivanju *ternarnih sistema*, odnosno sistema koji uključuju dva metalna jona i jedan ligand, ili obrnuto, jedan metal i dva liganda. Principijelno,

* *Davies*-ova jednačina je empirijska ekstenzija *Debye–Hückel* teorije koja se koristi za izračunavanje koefeicijanata aktivnosti rastvora elektrolita pri relativno visokim koncentracijama. Jednačina postavljena 1938. godine, kasnije je prilagođavana eksperimentalnim podacima. Finalna forma jednačine daje srednji molalni koeficijent aktivnosti, $f_{\pm}$, elektrolita koji disosuje na jone naelektrisanja z_1 i z_2, u funkciji jonske jačine, I:

$$-\log f_{\pm} = 0.5 z_1 z_2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + 1.5\sqrt{I}} - 0.30 I \right)$$

Drugi član (0,30I) teži nuli kada jonska jačina teži nuli, tako da se pri niskim koncntracijama odnos svodi na *Debye–Hückel* jednačinu.

uvođenje treće komponente u rastvor ne bi trebalo da značajno komplikuje ESI-MS analizu, s obzirom da se očekuje samo pojava većeg broja kompleksa (odnosno pikova u spektru). Ova pretpostavka ne važi za tradicionalne tehnike, kao što je potenciometrija, sa kojom istraživanje ternarnih sistema često predstavlja problematičan zadatak.

Lakoća interpretacije ESI-MS eksperimentalnih podataka za ternarne sisteme je opredelila SPASOJEVIC *et al.* (2001) da transformišu binarni sistem u ternarni u cilju određivanja specijacije. U studiji sistema koji se sastojao od Fe^{3+} i hidroksamatnih siderofora, ovi autori su dodavali drugi metalni jon sličnog naelektrisanja i afiniteta prema ligandu, ali sa različitom distribucijom izotopa (kao Al^{3+} i Ga^{3+}), kako bi postigli diskriminaciju u određivanju FeL i Fe_2L_2 tipova vrsta.

SATTERFIELD i BRODBELT (2000) u ispitivanju ternarnih kompleksa određenih prelaznih metala sa serijom flavonoida u metanolnim rastvorima, upotrebljavali su kao neutralni (pomoćni) ligand 2,2'-bipiridil. Pomoćni ligandi (engl. *auxiliary ligands*) mogu biti dodavani u metal-ligand sistem kako bi formirali metal-ligand-pomoćni ligand ternarne komplekse sa intenzitetom pika 10 – 100 puta jačim u odnosu na korespodentne pikove binarnih vrsta, odnosno sistema. Ovakva strategija je i pre toga upotrebljavana da bi se prevazišao detekcioni limit ESI-MS u kvantifikaciji metal-ligand vrsta. Identični pristup su primenili GATLIN i TURECEK (2000) sa ternarnim kompleksima Cu(II) sa 1,10-fenantrolinom (pomoćni ligand) i sa 20 esencijalnih aminokiselina, a sledeće godine su ovakvu metodologiju usvojili i VAISAR *et al.* (2001) za Cu^{2+}, 2,2'-bipiridil i jedan broj tripeptida.

HENDERSON *et al.* (2001) su istraživali dimere sa hloridnim mostovima $[LMCl(\mu\text{-}Cl)]_2$ (M = Rh(III), Ir(III), Ru(III); L = η^5-C_5Me_5, η^6-*p*-cimen)* u kombinaciji sa tiosalicilnom kiselinom u metanolu i voda/metanol rastvorima, a primećene su u ESI-MS spektru samo male koncentracije mešovitih kompleksa.

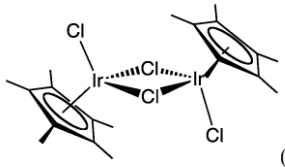
Ispitivane su takođe, stehiometrije mešovitih kompleksa Eu(III) sa nikotinskom kiselinom i 1,10-fenantrolinom u vodenim rastvorima [ZHENG *et al.*, 2001], zatim su obrađivani kompleksi dva kaliksarenska derivata sa nekoliko metalnih jona, u prisustvu i u odsustvu pikrinske kiseline [YE *et al.*, 2001], a nešto kasnije i mešoviti heteronuklearni kompleksi sa 1,3,5-triamno-1,3,5-trideoksi-*cis*-inozitolom i 4*f* katjonima u vodenim rastvorima (ESI-MS, NMR i delimično potenciometrijski), pri čemu su ESI-MS spektri vodenih rastvora i istog pH, pri različitim odnosima metal-ligand, pokazali priustvo i heteronuklearnih i homonuklearnih vrsta [CHAPON *et al.*, 2002] itd.

Cilj nekih drugih studija ternarnih (ili čak komplikovanijih) sistema je bio određivanje koordinacione selektivnosti serije metalnih jona u relaciji sa datim ligandom. Ovakva istraživanja su relativno lako izvodljiva sa ESI-MS poređenjem intenziteta pikova kompleksa u pojedinim rastvorima metalnih jona konstantne koncentracije i odgovarajućeg liganda. Pri tome se uglavnom postulira ekvivalencija faktora odziva, mada se povremeno u literaturi navodi da ovakva pretpostvka ne figuriše kao ispravna u svim slučajevima.

STONE i VUKOMANOVIC (2001), baveći se kompleksima formiranim između piocijanina (antibiotik) ili 2,2'-bipiridina, sa alkalnim, zemnoalkalnim metalima i Zn^{2+}, u

---

* 1,2,3,4,5-Pentametilciklopentadien je ciklični diolefin formule C_5Me_5H (Me = CH_3), prekursor liganda *1,2,3,4,5-pentametilciklopentadienil*-a, obično obeležavan oznakom Cp* (simbolički prikaz, u cilju naglašavanja pet metil-grupa koje su zvezdasto raspoređene prema periferiji liganda – odatle znak "*" koji podseća na zvezdu (engl. "*asterisk*"). Suprotno manje supstituisanim ciklopentadienima, Cp*H nije podložan dimerizaciji, što ga čini pogodnim za sinteze kompleksa.



(kompleks Cp* sa Ir(III)-hloridom)

vodenim rastvorima na pH ≈ 5,0 pri fiksnom odnosu metal-ligand, vršili su i kompetititivne eksprimente, menjajući alternativno metalni jon, odnosno ligand.

Ispitivani su [LAWRANCE *et al.*, 2002] i kompleksi formirani od tetra-alkohola i mono-alkohola butan-1,3-diola sa alkalnim i zemnoalkalnim metalima, Ga^{3+}, Ce^{4+} u vodenom rastvoru, na pH ≈ 7,0 sa variranjem metal-ligand odnosa. PRZYBYLSKI *et al.* (2003b) kao i PRZYBYLSKI, SCHROEDER i BRZEZINSKI (2003) su dobili ESI-MS spektre rastvora Ca^{2+}, Ba^{2+} i Pb^{2+} sa Schiff-ovim bazama u acetonitrilu, na konstantnom odnosu metal-ligand. JOACHIMIAK i PARYZEK (2004) su radili na selektivnosti steroidnih dimera prema katjonima alkalnih metala, dok su LAWRANCE *et al.* (2004) ispitivali selektivnost N_2O_2-donor liganda prema tranzicionim metalima, našavši dobro slaganje sa *Irving-Williams*-ovom serijom.

MODER *et al.* (2001) su istraživali tzv. sferna *azacage* jedinjenja* *bis*-tren(tris-piridin)amin i *bis*-tren(tris-piridin)fenilamid u pogledu afiniteta prema prelaznim metalima u čistoj vodi i voda/metilenhlord sredini, sa variranjem metal-ligand odnosa.

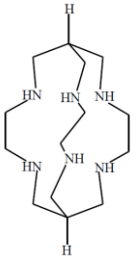
Drugi ternarni sistemi su analizirani u prethodno citiranim radovima: XU, ZHANG i YERGEY (1996); SHEN i BRODBELT (1999); JEZOWSKA BOJCZUK *et al.*, (2001); NEUBERT, HIDER i COWAN (2002).

2.7.4.7 Ostale studije metal-ligand sistema sa ESI-MS

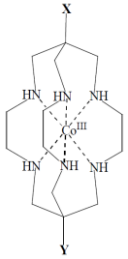
Osim prethodno navedenih studija, treba ukratko obratiti pažnju i na druge slične i srodne primene ESI-MS u oblasti metal-ligand ravnoteža. U poslednje vreme ESI-MS se sve više koristi za dobijanje strukturnih informacija o metal-ligand kompleksima iz fragmentacionig spektara: WANG, GUEVREMONT i SIU (1995); MADHUSUDANAN *et al.* (1999); ROGALEWICZ, HOPPILLIARD i OHANESSIAN (2000, 2001, 2003); ROSS, IKONOMOU i ORIANS (2000a); SPASOJEVIC *et al.* (2001); COMBARIZA i VACHET (2002, 2003); COLETTE *et al.* (2003); ROGALEWICZ *et al.* (2003); BAI *et al.* (2004); CERCHIARO *et al.* (2004); DAVIS i BRODBELT, (2004); GROENEWOLD *et al.* (2004); HARTMAN *et al.* (2004); HARTMAN, COMBARIZA i VACHET (2004); PANKIEWICZ *et al.* (2004a).

Glavna premisa u ovim studijama je da metalni jon indukuje disocijacije molekula liganda u blizini mesta vezivanja, kako je detaljno diskutovano u COMBARIZA i VACHET (2003). Druge manje uobičajene aplikacije su kinetičke studije reakcija kompleksiranja [BOUKHALFA i CRUMBLISS 2000; COMBARIZA i VACHET, 2002] i određivanje koncentracije metalnih jona u rastvoru putem kompleksiranja odgovarajućim ligandom, ili obrnuto [BARON i HERING, 1998; SATTERFIELD i BRODBELT, 2000).

*Jedinjenja iz grupe kriptanda (engl. *cryptands*) koja vezuju metalne katjone (i druge *guest*-vrste) unutar trodimenzionalne intramolekularne šupljine formirane – tzv. *makrobiciklična* jedinjenja. Ovakva enkapsulacija često daje metal-jon komplekse ili kriptate (engl. *cryptates*) velike stabilnosti. Varijante sa poli-aza grupama, npr. heksa-aza kriptand (na slici) su jaki kompleksirajući agensi sa prvom, drugom i trećom grupom prelaznih metala: Ti^{4+}, V^{4+}, $Mn^{3+/2+}$, Cr^{3+}, $Fe^{3+/2+}$, $Ni^{3+/2+}$, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Ag^{2+}, Ga^{3+}, In^{3+}, Mg^{2+}, $Ru^{3+/2+}$, $Co^{3+/2+}$, Pt^{4+}, Rh^{3+}, Ir^{3+}, čije su strukture određivane X-ray kristalografijom. U svakom kompleksu se metalni jon vezuje sa šest azot-donorskih atoma sekundarnih amina unutar "kaveza" (engl. *cage*):



(heksa-aza kriptand)



(kompleks sa Co^{3+}, X, Y – supst.)

2.7.5 Primene ESI-MS za makromolekulske sisteme Host-Guest i proteinske sisteme

U oblasti ispitivanja metal-ligand rastvora, ESI-MS je primenjivana i za studije *host-guest*[*] interakcija između metalnih jona (naročito alkalnih metala) i ligandima tipa krunskih etara (engl. *crown ethers*). *Host-guest* interakcije predstavljaju poseban slučaj metal-ligand ravnoteže, koje se, u principu, mogu ispitivati istim klasičnim tehnikama navedenim u prethodnim poglavljima. Ipak, ima smisla ove slučajeve posebno klasifikovati, iz dva razloga:

- Prvo, osnovni cilj ovih ispitivanja se donekle razlikuje u odnosu na klasične metal--ligand studije. U poslednjem slučaju, obično je glavni pravac određivanje stehiometrije vrsta formiranih u rastvoru. U *host-guest* interakcijama, obično se formira samo jedan kompleks poznate stehiometrije, te se osim potvrđivanja očekivane stehiometrije, cilj usmerava i ka kvantitativnom određivanju faktora selektivnosti liganda za seriju metalnih jona, odnosno ka određivanju konstanti stabilnosti kompleksa.
- Drugo, ESI-MS je po nekim aspektima pogodnija tehnika za ispitivanje *host-guest* nego metal-ligand interakcija. ESI-MS ovde nudi ne samo brojne prednosti u odnosu na konvencionalne potenciometrijske, spektrofotometrijske i NMR metode, kao što su lakoća interpretacije spektara rastvora koji sadrže više od jednog *host-guest* para, mala količina uzorka, tolerancija prema širokom opsegu rastvarača, redukovano vreme analize [WILLIAMS, BRODBELT i BARTSCH, 2003a], već se takođe i rezultujući spektri generalno dobro slažu sa ravnotežnom distribucijom kompleksa u rastvoru [KEMPEN i BRODBELT, 2000], omogućavajući određivanje korelacije između *host*-strukture i selektivnosti koja se konkretno ispituje.

Shodno navedenom, kvalitativne i kvantitativne informacije se relativno lako dobijaju putem ESI-MS spektara. LEIZE, JAFFREZIC i VANDORSSELAER (1996) su odredili ES faktore odziva jona u odnosu na njihovu solvatacionu energiju, i pokazali su da kompleksi koji sadrže *host*—molekule (npr. krunski etri), sa *guest*-jonima (npr. metalni joni) istog naelektrisanja, imaju slične faktore odziva kada se eksperimentalni uslovi održavaju konstantnim, što rezultuje da relativni intenzitet ESI-MS signala korespondira sa relativnim koncentracijama jona u rastvoru koji se analizira [BRODBELT, KEMPEN I REYZER, 1999].

Rad FYLES i ZENG-a (1998) je pokazao da u studijama *host-guest* sistema, ESI-MS rezultati ne moraju uvek biti u saglasju sa tradicionalnim tehnikama. Oni su posmatrali brojne mononuklearne i polinuklearne komplekse, kao mono-, di- i tri-katjone u smesi sa alkalnim metalima sa dva 18-*crown*-6-karboksilatna *crown*-etra, zatim sa *bis*-*crown*-etrom i *mono*-*crown*-etrom dikarboksilne kiseline. Intenziteti ESI-MS pikova su korišćeni u evaluaciji metal-ligand konstanti stabilnosti, čije vrednosti su u poređenju sa prethodno dostupnim literaturnim podacima, pokazale znatne razlike.

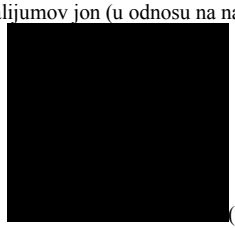
[*] U supramolekularnoj hemiji, termin *host-guest* (engl. *host* – domaćin, *guest* – gost) označava komplekse koji se sastoje od dva ili više molekula ili jona koji su udruženi u manje ili više stabilnu jedinstvenu strukturu, na način koje se ne može pripisati uobičajenom kovalentnom (ili koordinacionom) vezivanju. U ove veze spadaju interakcije – vodonična veza, jonska (elektrostatička) veza, van der Waals-ove sile i hidrofobne interakcije. Nekovalentno vezivanje podseća na specifično "prepoznavanje" između molekula određenih 3D-geometrija, i kao takvo igra važnu ulogu u biološkim procesima (npr. proteini). Najčešći host-molekuli su npr. *ciklodekstrini*, *kaliksareni*, *porfirini*, *krunski etri*, *zeoliti*, *kriptofani* itd. Na primer, poznata je primena p-*tert*-butikaliks[4]arena u fiksiranju radioaktivnog cezijum-137 jona za prečišćavanje nuklearnog otpada.

RALPH *et al.* (1996a) su radili karakterizaciju kompleksa alkalnih i zemnoalkalnih metala u metanolu, sa pojedinim sintetičkim kriptand-ligandima, kao i sa prirodnim jonoforom* valinomicinom†. U svakoj ispitivanoj kombinaciji, intenziteti pikova metalnih kompleksa su dobro korelirali sa očekivanim sastavom rastvora, tj. sastavom koji je utvrđen drugim eksperimentalnim tehnikama. CAIAZZA, LINCOLN i WARD (2004) su radili na kompleksima između većeg broja katjona sa koronandima, koristeći ESI-MS za preliminarnu procenu formiranih kompleksa. Na bazi dobijenih rezultata, izabrali su da metal-ligand sisteme analiziraju potenciometrijskom titracijom.

U literaturi su opisane i relativno malobrojne, studije karakterizacije sistema metala sa protienima, kao i sa drugim makromolekulima [BECK *et al.*, 2001]. Ove aplikacije se imaju određene specifičnosti u odnosu na sve prethodno diskutovane primere, a razlike se ogledaju u načinu korišćenja instrumentalne tehnike, ali i u ciljevima koji se postavljaju. Određivanje stehiometrije, tipova vezivanja i konformacija vrsta formiranih u rastvoru su dominatni pravci istraživanja, a potrebni rezultati se dobijaju samo specijalnim tehnikama kao CD (cirkularni dihroizam), multidimenzionalnom NMR i matematičkim proračunima procesa molekularne dinamike. Izračunavanje konstanti disocijacije (stabilnosti) metal-proteina je takođe od značaja, ali obično nije u fokusu istraživanja. ESI-MS pruža nekoliko prednosti u odnosu na klasične metode. Najpre, blagi karakter jonizacije obično dozvoljava detekciju celog (nefragmentisanog) peptida. Informacije o distribuciji izoformi (nekoliko formi istog proteina) ili subizoformi su takođe dostupne putem ESI-MS [STILLMAN *et al.*, 2000; WHITTAL *et al.*, 2000; SHIELDS i FRANKLIN, 2004].

* Jonofore (engl. *ionophore*) su molekuli rastvorljivi u lipidima, koje sintetišu mikroorganizmi u cilju transporta jona kroz lipidni dvosloj ćelijske membrane. Postoje dve osnovne grupe jonofora: A) hemijska jedinjenja (tzv. *mobile ion carriers*) koja se vezuju za specifičan jon, zaklanjajući njegovo naelektrisanje od hidrofobne unutrašnjosti lipidne membrane; B) tzv. *channel formers*, koje čine hidrofilnu poru u membrani, kroz koju joni prolaze bez kontakta sa hidrofobnom sredinom membrane.

† Valinomicin (engl. *valinomycin*) je dodekadepsipeptidni antibiotik izolovan iz ćelija *Streptomyces tsusimaensis* i *S. fulvissimus* iz grupe prirodnih jonofora. Sastoji se od enantiomera D- i L-valina (Val), D-hidroksivalerijanske kiseline i L-mlečne kiseline. Visoko je selektivan za kalijumov jon (u odnosu na natrijumov) – konstanta stabilnosti kompleksa sa K^+ je 106, a s Na^+ samo 10.


(valinomicin)

3 EKSPERIMENTALNI DEO

3.1 Program i metodika eksperimentalnog rada

Rezultati dosadašnjih istraživanja, koji su razmotreni u teorijskom delu, ukazuju da stanje, pokretljivost, sorpcija i biodostupnost jona hroma u terestričnim sistemima zavise od karakteristika zemljišta ali i od prisustva organskih jedinjenja antropogenog porekla, kao što su npr. pesticidi. Karaktersitike zemljišta, u prvom redu pH, sadržaj glinenih minerala i prisustvo prirodne organske materije – huminskih supstanci, bitno definišu proces vezivanja, transporta i mobilnosti jona hroma.

Kao model sistem za proučavanje interakcija hroma sa huminskim supstacama, korišćena je benzoeva, salicilnu, limunska i ftalna kiselina, kao i bipiridin, čime su obuhvaćeni svi bitni donor atomi heterogenog i polidisperznog liganda, kakve su huminske ili fulvo kiseline. Korišćenje model jedinjenja huminskih supstanci je opravdano imajući u vidu njihovu multifunkcionalnost kao i heterogenost funkcionalnih grupa. U strukturi su najviše prisutna "tvrda" vezivna mesta koja poseduju kiseonik kao donor-atom, a to su uglavnom karboksilna i fenolna vezujuća mesta, ali se javljaju i „meka" vezivna mesta, koja poseduju N- ili S- kao donor atome. Stoga je proučavanje mogućnosti interakcije hroma sa svakim pojedinačnim donor-atomom liganda, a zatim i proučavanje u složenoj smeši donor atoma O-, N- i S- u samoj huminskoj kiselini, dobar pristup u definisanju interakcije hroma sa polifunkcionalnim, polidisperznim i polielektrolitnim ligandom, kakav je humatni makromolekul.

Kao ligandi antropogenog porekla ispitivani su pesticidi koji sadrže O-, N- ili S-donorske atome: acetampirid, trifluralin, atrazin, alahlor, dikamba i aldikarb.

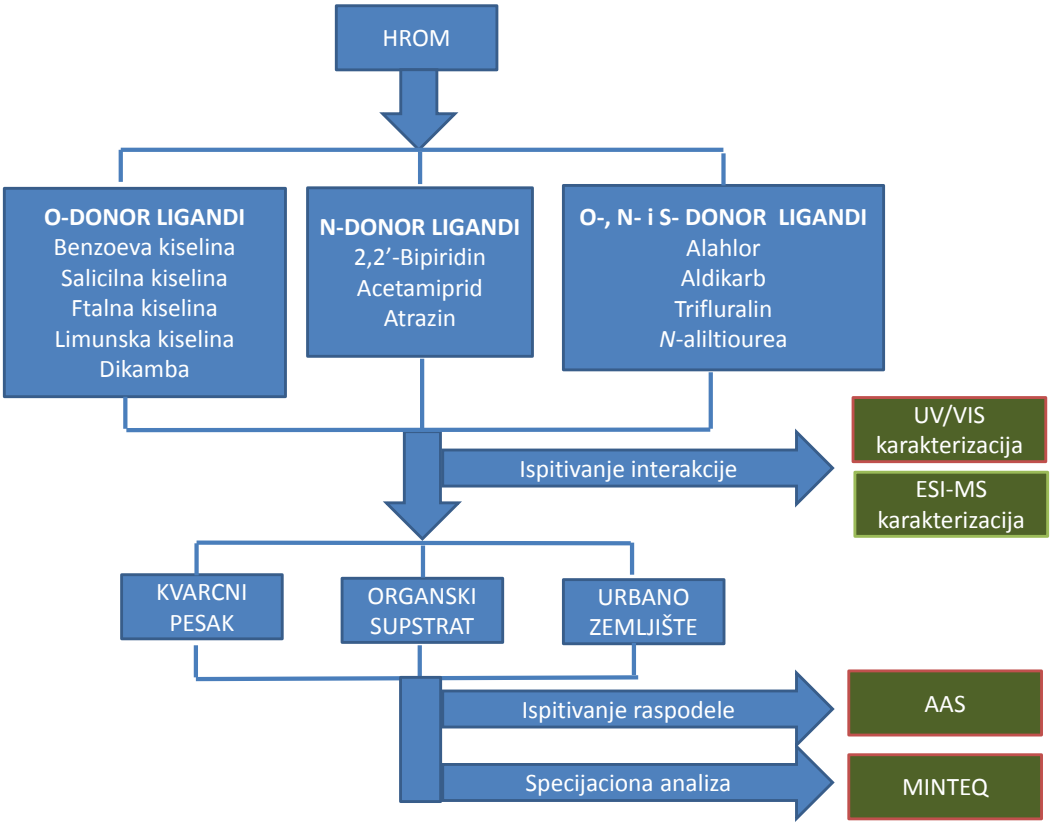
Proučavanje interakcija hroma sa ligndima prirodnog i antropogenog porekla vršeno je elektrosprej jonizacionom masenom spektrometrijom (ESI-MS) i uljtraljubičastom/vidljivom (UV/VIS) spektrofotometrijom. Primena ESI masene spektrometrije predstavlja novinu u ispitivanju interakcija hroma i liganada prisutnih u zemljištu. ESI je meka jonizaciona tehnika sa limitiranom fragmentacijom hemijskih vrsta. U literaturi nema dovoljno podataka o primeni ove metode u proučavanju interakcija metala sa organskim ligandima, pogotovu onih koji su prisutni u zemljištu. Glavna prednost ESI-MS metode za analizu metalnih organskih kompleksa leži u blagim uslovima jonizacije usled koje kompleks kao i nekompleksirani organski molekuli ostaju celoviti, pri čemu daje spektar sa zadovoljavajućom osetljivošću i mikromolarnom do nanomolarnom detekcionom granicom. Mnoge jonske vrste se mogu odrediti simultano, što predstavlja važnu prednost u pogledu jednostavnosti i brzine analize, kao i mogućnost poređenja intenziteta signala različitih jonskih vrsta. Prednost je i što se ESI-MS može vršiti bez prethodne pripreme uzorka, čime se izbegavaju potencijalni artefakti koji se mogu uneti kroz interakciju sa stacionarnom fazom. ESI-MS daje mogućnost akvizicije masenog spektra direktno iz rastvora, tako da se analiziraju ravnotežne vrste u njihovoj primarnoj sredini.

U cilju definisanja uticaja prirodne organske materije na raspodelu hroma između čvrste i tečne faze, u radu će se ispitivati zemljišta različitog sadržaja organske materije: kvarcni pesak, urbano zemljište niskog sadržaja organske materije i supstrat za hortikulturu sa visokim sadržajem organske materije.

U cilju dobijanja proračuna ravnoteže između rastvorene, adsorbovane, čvrste, tečne i gasovite faze u sredini zemljište-zemljišni rastvor primenjen je geohemijski ravnotežni model Minteq. Minteq koristi podatke hemijske analize uzorka koji se modeluje, što znači da proračun vrši na osnovu unete ukupne koncentracije rastvorenih komponenti od interesa i drugih podataka, kao što su pH, redoks status, kao i parcijalni pritisak jednog ili više gasova. Pomoću Minteq ekstenzivne termodinamičke baze podataka moguće je izvršiti geohemijsku specijaciju sistema.

Program eksperimentalnog rada sastojao se iz tri faze (slika 3.1-1.):

- u prvoj fazi je vršeno **ispitivanje interakcije** hroma sa antropogenim ligandima i sa model supstancama prirodnih liganada. Vrsta i stepen interakcije su praćeni UV/VIS spektrofotometrijom i ESI-MS tehnikom;
- u drugoj fazi je vršeno **ispitivanje raspodele** hroma između čvrste i tečne faze. Čvrsta faza različitog sadržaja organske materije: kvarcni pesak, urbano zemljište niskog sadržaja organske materije i supstrat za hortikulturu sa visokim sadržajem organske materije su korišćeni u definisanju uticaja organske materije na raspodelu hroma;
- u trećoj fazi je vršena **specijaciona analiza** hroma geohemijskim ravnotežnim modelom MINTEQ u cilju dobijanja proračuna ravnoteže između rastvorene, adsorbovane, čvrste, tečne i gasovite faze u sredini zemljište-zemljišni rastvor.



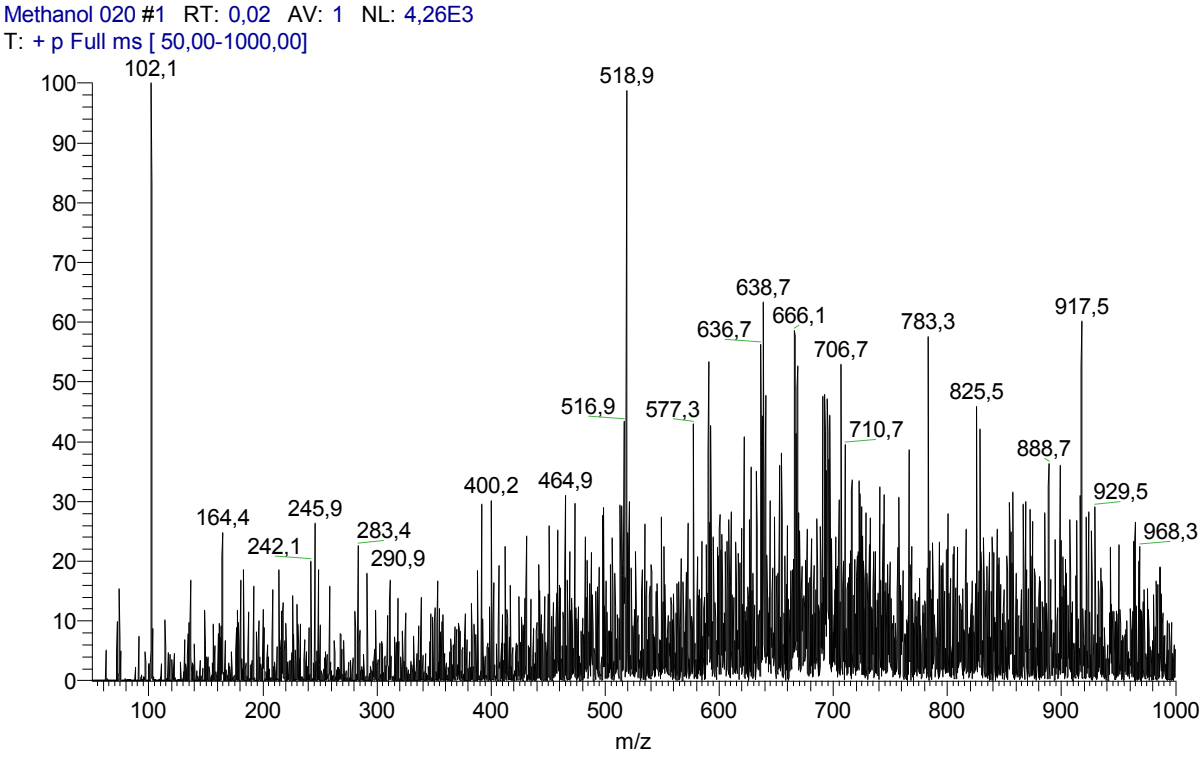
Slika 3.1-1. Šematski prikaz programa eksperimentalnog rada

Realizacijom programa disertacije kroz navedene faze, moguće je u praksi, definisati procese u životnoj sredini u kojima učestvuju joni hroma, njihovu raspodelu između različitih faza, odnosno mobilnost u životnoj sredini.

3.2 Eksperimentalni postupak

3.2.1 Hemikalije korišćene u eksperimentalnom radu

Svi korišćeni reagensi su *pro analysi* ili *HPLC grade* stepena čistoće. Salicilna, benzoeva ftalna i limunska kiselina su nabavljeni od proizvođača Aldrich Chemical Co. (USA), dok su 2,2'-bipiridin i *N*-aliltiourea nabavljeni od Sigma Chemical Co. (USA). Metanol koji je korišćen u radu bio je *HPLC grade* stepena čistoće, a nabavljen je od *Baker* Bio-Analyzed Reagent. ESI MS spektar čistog metanola je pokazao dovoljno nizak nivo signala prisutnih nečistoća (slika 3.2.-1.), za potrebe ovog rada.



Slika 3.2-1. ESI MS spektar korišćenog metanola, HPLC grade (Baker Bio-Analyzed).

Aktivne komponente pesticida acetampirida, trifluralina, atrazina, alahlora, dikambe i aldikarba su nabavljene od *Supelco* (Bellefonte, USA), p.a. čistoće.

Kao izvor hroma(III) je korišćen kristalni hrom(III)-hlorid heksahidrat, (Merck, Germany, p.a.), a kao izvor hroma(VI), kalijum-dihromat (Fluka, Switzerland, p.a.).

Za rad ESI MS sistema korišćen je komprimovani azot (N_2) čistoće 99,99% proizvođača Messer, Srbija, kao i komprimovani helijum (He) kao kolizioni gas, čistoće 99,9999% istog proizvođača.

Korišćeno stakleno i plastično laboratorijsko posuđe je ispirano sa 4,0 mol/L hlorovodoničnom kiselinom (Baker Analyzed), zatim 0,6 mol/L azotonom kiselinom (Anachemia Environmental Grade) i na kraju dejonizovanom vodom (< 0,1 μScm^{-1}) radi uklanjanja tragova metala i drugih nečistoća.

Špricevi (Hamilton, USA) su ispirani 0,1 mol/L hlorovodoničnom kiselinom, a zatim dejonizovanom vodom i metanolom. Pre svake upotrebe, unutrašnjost šprica je ispirana malom količinom radnog rastvora koji se ispitivao.

Standardni rastvori (*stock solution*) pesticida su pravljeni odmeravanjem pesticida na analitičkoj vagi (KERN, Germany), sa tačnošću od ±0,0001 g i rastvaranjem u metanolu, a čuvani su u frižideru na 4°C. Radni rastvori su pravljeni odgovarajućim razblaživanjem standardnog rastvora pesticida u smeši metanol/voda (v/v, 50:50).

Radni rastvori liganada i hroma su pripremani u plastičnim polietilenskim ependorfima od 5, 2 i 1,5 ml (Eppendorf, Germany) koji su prethodno isprani sa 0,1 mol/l HCl, dejonizovanom vodom i metanolom, u cilju uklanjanja adosrbovanih površinskih nečistoća i smanjenja desorpcije aditiva iz plastike (ftalati itd.) u radne rastvore. Zatim je pravljena serija rastvora odgovarajućih koncentracija liganada i Cr(III) u različitim zapreminskim odnosima, korišćenjem automatskih pipeta Eppendorf, Germany i Gilson, France, kapaciteta 20, 100 i 1000 μL, sa izmenjivim polietilenskim nastavcima – konusima.

3.2.2 UV/VIS karakterizacija interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama

Spektrofotometrijska karakterizacija u UV/VIS području je vršena na instrumentu SHIMADZU UV-1650PC sa dvostrukim zrakom (engl. *double beam*), sa sledećim parametrima snimanja spektara:

- interval uzorkovanja: 0,5 nm
- brzina skeniranja: 2,0 nm/s
- način snimanja: *single mode* (bez ponavljanja sekvence snimanja)
- kivete: quartz QS (HELMA GmbH), dužina optičkog puta l = 1,0 cm
- promena izvora svetlosti: 341 nm (UV deuterijumska lampa / VIS halogena lampa)
- opseg snimanja: 190 – 800 nm

Kao slepa proba je korišćena smesa metanola (HPLC grade, Merck GmbH) i dejonizovane vode (elektr. prov. <0,1 μScm^{-1}) u odnosu 50:50. U istoj smesi rastvarača su snimani spektri uzoraka.

Instrument sa dvostrukim zrakom je odabran za ovu vrstu ispitivanja, jer daje dobru kompenzaciju svih (osim veoma krakotrajnih) fluktuacija jačine izvora svetlosti ili malih promena u stepenu pojačanja (engl. *gain*) operacionog pojačavača (engl. *amplifier*), što ga u ovoj primeni čini superiornim u odnosu na jednozračne (engl. *single-beam*) spektrofotometre, koji daju nešto manje reproduktivne i tačne spektre.

Spektri uzoraka samih liganada u rastvaraču metanol/voda su snimani na aparatu neposredno posle pripreme – rastvaranja.

Spektri korespodentnih uzoraka, sa odgovarajućim ligandom i Cr(III) u rastvaraču, su snimani 30 minuta posle mešanja komponenti, kako bi se dozvolilo građenje kompleksa u rastvoru relativno niskih koncentracija.

Prilikom pripreme uzoraka je primenjen nativni pH rastvora liganda, kao i liganda i hroma(III), odnosno izbegnuto je bilo kakvo korigovanje pH (puferisanje), kako se ne bi poremetili ravnotežni odnosi u reakcionoj smesi usled neizbežnog nastanka sporednih hemijskih reakcija i građenja različitih koordinacionih jedinjenja sa komponentama pufera.

Spektri su snimani i obrađivani na originalnom PC *software*-u aparata (SHIMADZU UV/Probe, MS Windows XP).

U proračunu molarnog koeficijenta aposrpcije (ε) korišćena je poznata formulacija *Lambert-Beer*-ovog zakona:

$$\mathrm{A} = \varepsilon \times l \times c \qquad \text{odnosno:} \qquad \varepsilon = \frac{\mathrm{A}}{l \times c} \tag{3.2-1}$$

gde je: A – apsorbanca [bez dimenzija], l – dužina optičkog puta apsorpcionog sloja [cm], c – koncentracija apsorbujuće supstance [moldm^{-3}]. Molarni koeficijent apsorpcije (ε) se u literaturi obično izražava u [cm^{-1}×mol^{-1}dm^3], i tako je dat u prikazima eksperimentalnih rezultata, a prilikom kalkulacije (ε) uzimana je ukupna analitička koncentracija liganda u rastvoru, koja je usvojena i za ligand i za rastvore binarnog sistema liganda i hroma(III), jer nije bilo moguće definisati koncentracije i sastav nastalih kompleksih vrsta i njihove molske odnose.

U primenjenom opsegu koncentracija korišćenih komponeti ne očekuje se odstupanje od *Lambert-Beer*-ovog zakona u smislu linearnosti, a dobijene apsorbance su u okvirima uobičajenih vrednosti u spektrofotometrijskim ispitivanjima i dovoljno iznad detekcionih limita samog instrumenta.

Zbog preglednosti, na slikama spektara nisu prikazani opsezi talasnih dužina (λ >300 ili 350 nm) na kojima praktično nije registrovana apsorpcija (A ≈ 0), iako su spektri snimani u punom opsegu do 190 – 800 nm.

Analogno graficima, tabelarno su date vrednosti spektrofotometrijskih karakteristika (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora, i to:

1. spektar liganda
2. spektar liganda sa hrom(III)-hloridom;
3. spektar hroma(III), odnosno rastvora $CrCl_3$, bez liganda
4. aritmetički zbir spektara (1.) i (3.), odnosno aritmetički zbir svih parova koresподentnih apsorbancija iz zasebnih spektara liganda i hroma(III), dat je na kraju kao komparativni prikaz.

Podaci u tabelama (λ, A, ε) su dati za karakteristične talasne dužine (λmax) ukoliko spektar ima definisane pikove, odnosno za 2 – 3 talasne dužine (λ) u apsorbujućem opsegu, kod spektara bez izraženih maksimuma apsorbance, u cilju kvantitativnog opisa spektralne krive. Poređenje sa literaturnim podacima je izvršeno u slučajevima kada je bilo moguće, uz napomenu da su i referencirani podaci različitih autora ponekad u nesaglasju.

Takođe, u cilju definisanja kvantitativnih relacija između dobijenih spektara, za svaki ispitivani sistem ligand – hrom(III) primenjene su određene statističke kalkulacije, odnosno izračunati su sledeći parametri:

A. Za dobijene spektralne krive linije je izračunata odgovarajuća *podintegralna površina* (P_{1-4}), a zatim je izvršeno poređenje u smislu izračunavanja relativne razlike ($\Delta P_{\%}$) površina, odnosno podfunkcijskih integrala empirijske zavisnosti $\mathrm{A} = f(\lambda)$ za realni spektar binarnog sistema liganda i Cr^{3+} (spektar 2., odnosno površina P_2), i aritmetičkog zbira spektara dva monokomponentna rastvora ispitivanog liganda, odnosno Cr^{3+} (spektar 4., odnosno površina P_4):

$$\Delta P_{\%} = \frac{P_2 - P_4}{P_2} \times 100 \tag{3.2-2}$$

Površine ($P_{1\ -\ 4}$) su izračunate primenom *trapeznog pravila* za izračunavanje određenih integrala:

$$P = \int_{x_1}^{x_n} f(x)\,dx \approx \sum_{i-1}^{n-1} (x_{i+1} - x_i)\frac{1}{2}\left[f(x_{i+1}) + f(x_i)\right] \tag{3.2-3}$$

Sve površine su formalnih dimenzija [A×λ, odnosno A×nm] koje nemaju fizički smisao, te se prikazuju kao bezdimenzionalni numerički parametri. Kao gornja i donja granica integrala je uzet merodavni opseg talasnih dužina u kome je primetna apsorpcija, tj. A > 0,005.

B. Izračunat je *koeficijent korelacije* (*r*) između spektara (2.) i (4.), odnosno između korespodentnih serija tačaka [$A_\lambda(2.) \rightarrow x$; $A_\lambda(4.) \rightarrow y$], prema zavisnosti[*]:

$$r = \frac{n\sum xy - \left(\sum x\right)\left(\sum y\right)}{\sqrt{n\left(\sum x^2\right) - \left(\sum x\right)^2}\sqrt{n\left(\sum y^2\right) - \left(\sum y\right)^2}} \tag{3.2-4}$$

Korelacija je izračunata za opseg serija tačaka, odnosno za deo spektralnih kriva u kojima se javlja apsorpcija, od λ(MIN) = 190 nm do λ(MAX) = 280 – 550 nm, u zavisnosti od lignada.

C. Izračunata je, kao bezdimenzonalna veličina, apsolutna razlika poređenih spektara (2.) i (4.) za svaki binarni sistem ligand-hrom(III), definisana kao *suma apsolutnih vrednosti razlika apsorbance* ($S_{\Delta A}$) za odgovarajuće talasne dužine (λ_i), između dve serije tačaka spektralnih krivih:

$$S_{\Delta A} = \sum_{\lambda(MIN)}^{\lambda(MAX)} abs\left(x_i - y_i\right) \tag{3.2-5}$$

pri čemu je $A_i(2.) \rightarrow x_i$, $A_i(4.) \rightarrow y_i$; za merodavni opseg talasnih dužina uzeto područje u kome se javlja apsorpcija, 190 ≤ λ ≤ 245-550 nm, odnosno do granice optičke transparentnosti sistema (A ≈ 0,005 ili manje). Parametar $S_{\Delta A}$ se može izračunati na ovaj način, jer je zadovoljen uslov da svi parovi tačaka poređenih serija budu ekvidistantni po apscisi, odnosno po talasnoj dužini (λ), s obzirom da su svi spektri snimani sa identičnim intervalom uzorkovanja (engl. *sampling interval*) Δλ = 0,5 nm.

D. Određena je razlika spektara (2.) i (4.) – takođe bezdimenzionalna veličina – koja je reprezentovana kao *suma kvadrata razlika apsorbance* ($S^2_{\Delta A}$) za odgovarajuće talasne dužine (λ_i), između dve serije tačaka spektralnih krivih:

$$S^2{}_{\Delta A} = \sum_{\lambda(MIN)}^{\lambda(MAX)} \left(x_i - y_i\right)^2 \tag{3.2-6}$$

[*] Linearni koeficijent korelacije (*r*) je bezdimenzionalna veličina i reprezentuje meru i smer linearnog odnosa između dve varijable, odnosno dve serije podataka. U statistici se navodi i kao *Pearson*-ov korelacioni koeficijent. Vrednost koeficijenta se kreće u granicama $-1 \le r \le +1$, gde + i – predznaci predstavljaju pozitivnu i negativnu linearnu korelaciju, respektivno. Pozitivna korelacija pokazuje da se pri porastu *x*, povećava *y*, a negativna da se kod povećanja *x* smanjuje *y*. Vrednost $r \approx 0$ označava slabu ili nikakvu (slučajnu) korelaciju između varijabli.

pri čemu je, kao i u prethodnom slučaju, $A_i(2.) \rightarrow x_i$, $A_i(4.) \rightarrow y_i$ a za relevantan opseg talasnih dužina usvojeno je područje u kome se javlja merljiva apsorpcija. Uslov ekvidistantnosti po *x*-osi je takođe zadovoljen.

Zatim je izvršena komparativna analiza između svih ispitivanih sistema Cr(III)-ligand. Za svaku novodobijenu seriju vrednosti parametra: relativna razlika površina ($\Delta P_{\%}$), linearni koeficijent korelacije (*r*), suma apsolutnih vrednosti razlika apsorbance ($S_{\Delta A}$) i suma kvadrata razlika apsorbance ($S^2_{\Delta A}$) prethodno izračunatih prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6 za svaki ispitivani sistem ligand-Cr(III), izvedene su sledeće uporedne statističke karakteristike:

- Srednja vrednost (aritmetička sredina) serije podataka:

$$\mathrm{AVG}(x) = \bar{x} = \sum_{i=1}^{i=n}\left(\frac{x_i}{n}\right) \tag{3.2-7}$$

- Srednja apsolutna razlika između pojedinih podataka i aritmetičke sredine serije podataka, (kao mera varijabilnosti serije podataka):

$$\mathrm{AVGDEV}(x) = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{i=n}\left|x_i - \bar{x}\right| \tag{3.2-8}$$

- Relativna varijabilnost za posmatranu seriju podataka (tj. seriju veličina $\Delta P_{\%}$, *r*, $S_{\Delta A}$ ili $S^2_{\Delta A}$), i koja predstavlja matematičku procenu relativne diskriminacione vrednosti (upotrebljivosti) posmatrane serije u odnosu na posmatranu primarnu pojavu (tj. UV/VIS spektre za ispitivane sisteme Cr(III)-ligand):

$$\mathrm{RELVAR}(x) = \frac{\mathrm{AVGDEV}(x)}{\mathrm{ABS}[\mathrm{MAX}(x) - \mathrm{MIN}(x)]} \tag{3.2-9}$$

- Standardna devijacija, kao mera širine disperzije serije podataka od srednje vrednosti:

$$\mathrm{STDEV}(x) = S_N = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n}\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{n}} \tag{3.2-10}$$

3.2.3 ESI MS karakterizacija interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama

Monokomponetni rastvori liganada su pravljeni u prethodno ispranim polietilenskim eppendorf kapsulama od 1,5 – 5 mL, u rastvaraču metanol/voda = v/v50:50. Binarni sistemi hrom(III)-hlorida i odgovarajućeg liganda su dobijani na isti način, u istom rastvaraču, dvostepenim razblaživanjem koncentrovanijih *stock*-rastvora automatskim pipetama pogodnih zapremina. Svi dobijeni rastvori su čuvani u hladnim uslovima (+4°C) i bez prisutva svetla. Prisustvo 50% dejonizovane vode u rastvaraču ima za cilj da olakša desolvatacioni proces u elektrospreju i obezbedi bolji jonski prinos.

Rastvori čistih liganada su analizirani na ESI MS instrumentu neposredno posle pripreme, a dvokomponentni sistemi hroma(III) i liganada posle maturacije od najmanje 30 minuta posle razblaživanja odnosno mešanja komponenti, kako bi se dozvolilo da bude obezbeđeno dovoljno vremena za hemijsku interakciju. Imajući u vidu da je, za razliku od UV/VIS spektrofotometrijske analize, ESI MS ispitivanje vremenski znatno zahtevnije, vodilo se računa da pripremljeni radni rastvori ne budu stariji od nekoliko časova, kako bi se izbegli produkti sporednih reakcija. S obzirom na hemijsku prirodu svih dvanaest ispitivanih

liganada i njihovu relativnu hemijsku stabilnost u korišćenom rastvaraču i pri datom pH, usvojeno je da nastajanje sporednih produkata usled fotolize ili katalitičke degradacije nije prisutno u meri u kojoj bi ugrozilo relevantnost dobijenih rezultata.

Uzorci rastvora nisu filtrirani od mehaničkih nečistoća (npr. 45 μm stakleni filter), kako bi se izbegla adsorpcija analita na površini filtra ili desorpcija nečistoća sa površine filtarskih pora u ispitivani rastvor (naročito površinski adsorbovanog NH_3 iz atmosfere i Na^+ iz materijala filtra). Pri ispitivanim koncentracijama analita, reda veličine 10^{-5} mol/L, interference sa filterom mogu značajno da promene ravnotežne uslove u posmatranom sistemu. Sa druge strane, vođeno je strogo računa da rastvori budu potpuno slobodni od mehaničkih nečistoća, kao i neisparljivih komponenti (soli Mg^{2+}, Ca^{2+}, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}, SiO_2, prašina itd.), kako bi se obezbedio nesmetan rad ESI MS aparata, odnosno sprečila kolmacija (zapušavanje) kapilare ESI izvora i jonske optike.

Kao i kod UV/VIS spektrofotometrisjkih ispitivanja, pH rastvora nije podešavan, niti je vršeno bilo kakvo drugo kondicioniranje rastvora (puferisanje, dodavanje elektrolita zbog ujednačavanja jonske jačine rastvora ili dodavanje drugih reagenasa u cilju eliminacije adukata, itd.). Cilj primenjenog ESI MS ispitivanja je bio da se kvalitativne i kvantitativne karakteristike rastvora i interakcija u njima, sagledaju u nativnom stanju koliko je to moguće, a da pri tom odabrane koncentracije i uslovi približno korespondiraju sa uslovima koji vladaju u zemljištu i prirodi (u smislu pojednostavljenog model-sistema). To je jedan od razloga zbog koga su pH i koncentracioni ekstremi izbegnuti.

Posle završenog rada sa jednim rastvorom ili jednom vrstom liganda, obavezno je vršeno ispiranje od ESI MS instrumenta u trajanju od 5 – 20 minuta, metanolom ili metanol/vodom, do stabilizacije instrumenta, to jest do potpunog gubitka signala koji potiču od prethodno ispitivanog analita ili drugih nečistoća.

Za ESI MS ispitivanja korišćen je instrument *LCQ Deca*, sa *quadrupole ion trap* masenim analizatorom, proizvođača *Thermo Finnigan* (USA) i pratećom opremom.

Ispitivanja interakcija Cr(III) i liganda ESI MS tehnikom je vršeno na sledeći način:

A. *Preliminarno ispitivanje* svakog od dvanaest sistema je započinjano analizom čistog rastvora liganda (bez hroma) c = 5 – 10 μmol/l , u cilju utvrđivanja opštih jonizacionih karakteristika jedinjenja, prisustva pojednih jonskih vrsta u ESI MS spektru, ravnomernosti odziva signala itd. Prvo snimanje je vršeno pri podrazumevanim vrednostima parametara instrumenta (engl. *default factory tunning*), u polaritetu ESI izvora koji je odabran prema prirodi ispitivanog jedinjenja – u negativnom modu (ESI–) za kisela jedinjenja podložna deprotonizaciji, odnosno u pozitivnom modu izvora (ESI+) za bazna jedinjenja izražene nuklefilnosti. Zatim je, u odabranom modu, uočen signal *m/z* molekulskog jona $[M+H]^+$, ili $[M–H]^-$, odnosno jona koji će biti određen kao karakterističan za dalja ispitivanja (tzv. monitoring-jon). Preko HAMILTON šprica V = 500 μL, *id* = 3,26 mm i *silica* kapilare d = 100 μm, održavan je u *flow injection* režimu protok od 5 μL/min, a vršene su probe i sa manjim i većim proticajima.

U narednoj fazi su vršena podešavanja instrumenta u smislu optimizacije radnih uslova instrumenta (*manual tunning*), koja su uključivala *sheath – aux gas* (N_2) *flow rate*, temperaturu i napon kapilare, *tube lens offset*, temeraturu vaporizatora, dok su podešavanja pojedinih parametara jonske optike vršena automatskom optimizacionim procedurama *Tune Plus ver. 1.3 Thermo Finnigan software*-a. Optimizacijom je postignuta stabilnost odziva, kao i pojačanje relativnog intenziteta signala odabranog monitoring-jona, a set vrednosti optimizovanih parametara je dalje korišćen u radu sa datim jedinjenjem (*LCQ Tune Instrumental Method*). Automatska varijacija parametara u toku snimanja ili procedure izmene parametara snimanja u dinamičkim uslovima (*events*) nisu primenjivane.

Pre snimanja ESI MS spektara definisan je opseg skeniranja (*scan range, m/z*), obično od m/z 50 do gornje granice *m/z* 400 ili 600, s tim da su vršene i probe sa gornjom granicom do *m/z* 800 ili 1000. Opseg skeniranja je biran tako da sa sigurnošću obuhvati molekulski jon, kao i aduktne jone veće mase koji su eventualno prisutni u ispitivanom rastvoru. Izabran je *Acquire Time*: Scans 20, kao i *Scan Time – Number of Microscans*: 3. Ovi i drugi spektri su dobijeni i prikazani u normalizovanom modu (*Y-axis normalization mode*) koji daje najjači *m/z* signal prikazan sa 100% relativnog intenziteta.

B. *Snimanje ESI MS spektra suprotnog polariteta*. Posle dobijenog spektra u ESI+ ili ESI– modu, pod odgovarajućim optimizovanim uslovima, za svali ispitivani ligand izvršeno je i snimanje ESI MS spektra u suprotnom polaritetu. Pri tome su korišćeni prethodno podešeni parametri aparata, ali sa suprotnim polaritetima kapilare i jonske optike. Naknadna optimizacija najčešće nije vršena, osim podešavanja osnovnih parametara, u onim slučajevima kada je spektar sadržavao prepoznatljive signale analita. Zbog preglednosti, dobijeni ESI MS spektri u suprotnom polaritetu su dati u *Prilogu* rada, odvojeno od ostalih rezultata ESI MS analize.

C. *Snimanje ESI MS/MS spektara.* Zatim je vršeno ESI MS/MS (ili MS^2) ispitivanje u cilju dobijanja informacija o strukturi posmatranog početnog „roditeljskog" jona (engl. *parent ion*), za koji je biran prvenstveno molekulski jon, a u određenom broju slučajeva ispitivani su i drugi *parent*-joni, odnosno signali iz primarnog ESI MS spektra. MS/MS spektar je sniman u onom polaritetu ESI izvora koji više odgovara jedinjenju, takođe u *flow injection* režimu sa proticajem 5 – 20 μmol/L. Zatim je biran molekulski za MS/MS fragmentaciju, sa *isolation width*: *m/z* ±1,0. Vrednost kolizione energije je povećavana na 18 – 30% sve dok se nije dobila uočljiva fragmentacija na manjim vrednostima *m/z*, a da se *parent*-jon još uvek primećuje u spektru. Na kraju podešavanja, koliziona energija E_{coll} je obično iznosila 18 – 31% zavisno od jedinjenja (LCQ program izražava E_{coll} u relativnim jedinicama, %). Kao kolizioni gas u masenom analizatoru je korišćen helijum (He). Neki od dobijenih ESI MS/MS spektara CID (*Collision Induced Dissociation*) fragmenata, odnosno nastalih *daughter*-jona su prikazani u *Prilogu* rada. Ovi spektri nisu korišćeni za kvantifikaciju, niti su sa njima vršena LOOP ispitivanja.

D. *Kvantitativna LOOP analiza monokomponentnog sistema.* Rastvori pojednih liganada u mešavini metanol/voda tačno odmerenih koncentracija su analizirani LOOP metodom. Uzorak je unošen preko šprica HAMILTON *V* = 250 μL, *id* = 2,30 mm, pomoću *multiport* rotacionog ventila zapremine 20 μL, koji je vezan za ESI sistem preko *silica* kapilare d = 100 μm. Rastvori liganada su analizirani *flow-injection* ESI-MS metodom korišćenjem MeOH/voda v/v50:50 kao noseće faze. Noseći rastvarač metanol/voda je unošen pri protoku od 100 μl/min, a vreme trajanja analize (LOOP hromatogram) je najčešće 60, a ređe 90 ili 120 sekundi kod pojedinih jedinjenja, pri čemu je od značaja da hromatogramski pik bude potpuno obuhvaćen zadatim vremenom analize.

Region hromatografskog pika je ograničen vremenskom X-osom (*time baseline*) i relativnim intenzitetom signala (*relative abundance*). Površina ESI MS LOOP-hromatogram pikova je izražavana u apsolutnim jedinicama *LCQ Tune Plus ver. 1.3* programa (*count–second units*). Geometrija pika se može definisati preko više matematičkih algoritama, a odabran je ICIS® algoritam (*Interactive Chemical Information System*) preko *Finnigan Xcalibur™ 1.3 XSQ software*-a.

Kao metod skeniranja kod snimanja LOOP-hromatograma odabran je *Full Scann mode* u rangu *m/z* 50 – 600, umesto SIM moda (*Single Ion Monitoring*), jer SIM metod u prethodnim ispitivanjima nije pokazao uočljive prednosti u pogledu osetljivosti i stabilnosti signala, u okvirima eksperimentalnih zahteva ovog rada.

Kod dobijenih LOOP-hromatograma najpre je proverena konzistentnost TIC (*Total Ion Current*) pika, a zatim su izvedeni LOOP-hromatogrami u MRC modu (*Mass Range Chromatogram*) kod kojih je *ion current* relativni intenzitet signala filtriran prema traženom opegu *m/z*. Zahtevani opseg je biran sa tolerancijom *m/z* ±1,0 u odnosu na nominalnu masu odabranog monitoring jona (najčešće monoizotopski molekulski jon, uz par izuzetaka kod određenih liganada).

Preko ICIS© modula *Xcalibur*^{TM} *1.3* programa je zatim izračunata površina svakog ESI MS LOOP-hromatogram pika za traženi maseni opseg, za svaki rastvor liganda određene koncentracije (ukupno 5 rastvora različitih koncentracija, u rangu od oko $1 - 13\times10^{-6}$ mol/L).

U cilju dobijanja relevantnih eksperimentalnih rezultata, ceo postupak je ponavljan tri puta (tri serije merenja), a na kraju je od dobijene tri vrednosti LOOP-hromatogram površine izračunata i usvojena za dalji rad srednja vrednost površine LOOP-hromatograma za rastvor liganda određene koncentracije.

E. *Matematička evaluacija monokomponentnog sistema.* Posle snimanja rastvora za 5 različitih koncentracija (5×3 = 15 merenja, po 20 μL uzorka) na osnovu izračunatih srednjih vrednosti, u koordinatnom sistemu je prikazan skup od 5 tačaka, sa koordinatama: *x* – koncentracija liganda vs. *y* – srednja površina LOOP pika za ligand određene koncentracije.

Zatim je u statističkom programu *OriginPro 8.0* (*OriginLab Corporation*, 2007) linearnom regresijom (fitovanje polinomom prvog stepena, metodom najmanjih kvadrata u odnosu na *y*-osu) određena najpribližnija aproksimirajuća prava za dati set tačaka, $y = a + bx$, (a – odsečak na y-osi, b – nagib prave, $\mathrm{tg}\alpha$), prema relacijama:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right)\left(y_i - \bar{y}\right)}{\sum_{i=1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right)^2} \qquad a = \bar{y} - b\bar{x} \tag{3.2-11}$$

Koeficijent determinacije, R^2 (ili COD, *Coefficient of Determination*) kao mera kvaliteta linearne regresije, izračunat je kao:

$$R^2 = \frac{SXY}{SXX * TSS} = 1 - \frac{RSS}{TSS} \tag{3.2-12}$$

$$SXY = \sum_{i=1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right)\left(y_i - \bar{y}\right) \qquad SXX = \sum_{i=1}^{n}\left(x_i - \bar{x}\right) \qquad TSS = \sum_{i=1}^{n}\left(y_i - \bar{y}\right)$$
$$RSS = \sum_{i=1}^{n} w_i\left[y_i - \left(\beta_0 - \beta_1 x_i\right)\right]^2 \qquad \beta_1 = \frac{SXY}{SXX} \quad \beta_0 = \bar{y} - \beta_0\bar{x} \tag{3.2-13}$$

gde je w_i = vrednosti *i*-tog reda *yErr* kolone. Vrednosti R^2 se kreću od 0 do 1, pri čemu je bolja linearnost posmatrane serije tačaka kada je R^2 bliži jedinici. Procenjeno je da za uslove snimanja ESI MS LOOP-hromatograma i u opsegu datih koncentracija, nema smisla primenjivati algoritme nelinearnog fitovanja, iako su površine LOOP pikova (y-osa) sigurno nelinarno zavisne od koncentracije, budući da predstavljaju zbir brojnih parametarskih zavisnosti, definisanih složenim matematičkim relacijama koje opisuju brojne fizičko-hemijske procese u rastvoru i u ESI procesu, te superponirani nelinearni efekti ne mogu rezultovati matematički idealnom linearnom modelu. Ipak je usvojeno da je u ispitivanom opsegu koncentracija linearnost zavisnosti površine LOOP-hromatogramskih pikova u odnsou na koncentraciju, zadovoljavajuća ili čak vrlo dobra za pojedine ligande. Ovo je u skladu i sa uobičajenom praksom u ESI MS i drugim varijantama masene spektrometrije primenjenih u

kvantitavne analitičke svrhe različitih jedinjenja, gde se najčešće koriste linearne ili eventualno, parabolične aproksimacije za veće opsege koncentracija.

Ispod serije tačaka *x*, *y* (*x* – koncentracija liganda, *y* – srednja površina LOOP pika za datu koncentraciju) je izračunata *podinegralna površina*, primenom *trapeznog pravila* za izračunavanje određenih integrala:

$$P = \int_{x_1}^{x_n} f(x)\,dx \approx \sum_{i-1}^{n-1} (x_{i+1} - x_i)\frac{1}{2}\left[f(x_{i+1}) + f(x_i)\right] \qquad (3.2\text{-}14)$$

Površina dobijena obradom eksperimentalnih rezultata za monokomponentni sistem (rastvor ispitivanog liganda, bez hroma) je označavana sa P_1. Ove površine su formalnih dimenzija [counts×second×10^{-6}mol/l] koje nemaju fizički smisao, te se prikazuju kao bezdimenzionalni numerički parametri.

F. *Kvantitativna LOOP analiza i matematička evaluacija binarnog sistema*. Ukupno 5 radnih rastvora načinjenih u smeši metanol/voda = v/v50:50, sadržalo je različite, tačno odmerene koncentracije ispitivanog liganda, kao i tačne koncentracije hroma(III). Ispitivani rastvori su sadržali koncentracije hroma(III) od 1, 3, 5, 7 i 9 μmol/L, koncentracije liganada su bile reda veličine 10^{-5} mol/L i kretale su se u rasponu od oko 0,9 do 13,0 μmol/L. Tačne vrednosti koncentracija hroma i liganada u analiziranim rastvorima su navedene u pripadajućim tabelama sa prikazom eksperimentalnih rezultata za binarne sisteme.

Aplicirane koncentracije liganda su korespondirale, to jest bile identične sa koncentracijama liganda u prethodno ispitivanim rastvorima monokomponetnog sistema (ligand bez hroma), dok su koncentracije hroma(III) određivane tako da je najmanja koncentracija hroma sadržana u rastvoru sa najvećom koncentracijom liganda, i obrnuto, kako bi se postigla varijacija molskog odnosa hroma i liganda u ispitivanim binarnim sistemima. Primenjivani su isti ESI uslovi kao kod monokomponentnog sistema, da bi se sačuvao što približniji relativni odnos intenziteta signala i omogućilo kasnije poređenje. Metodologija rada i matematička obrada rezultata za binarni sistem je analogna postupcima koji su primenjeni za monokomponentni sistem bez hroma(III), kako je navedeno u tačkama D. i E. ovog poglavlja, s tim da je na kraju dobijena površina ispod eksperimentalnih tačaka označena sa P_2.

G. *Poređenje mono- i bi-komponentnog sistema*. U cilju kvantitativnog sagledavanja jačine interakcije između liganda i hroma(III) izvršeno je poređenje dobijenih površina P_1 i P_2 tako što je izračunata relativna razlika površina:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100\ \% \qquad (3.2\text{-}15)$$

Imajući u vidu da su primenjivane identične koncracije hroma u svim međusobno poređenim binarnim sistemima, ali da su koncentracije liganada međusobno delimično različite (iako istog reda veličine), izvršeno je normalizovanje svih prethodno izračunatih vrednosti $\Delta P_{(1-2)\%}$ tako da je za svaki ligand, odnosni binarni sistem, izračunata korigovana vrednost relativne razlike površene $\Delta P_{(1-2)\%}$ izražena kao:

$$\Delta P_{\mathrm{ESI}\%} = \Delta P_{(1-2)\%} \frac{c_{\max}(\mathrm{ligand})_m}{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left[c_{\max}(\mathrm{ligand})_i\right]}\ \% \qquad \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left[c_{\max}(\mathrm{ligand})_i\right] = 11{,}696\,\mu\mathrm{mol/L} \qquad (3.2\text{-}16)$$

gde je $c_{\max}(\mathrm{ligand})_m$ – maksimalna koncentracija liganda u ispitivanom sistemu liganda i hroma, a donji član predstavlja prosečnu maksimalnu koncentraciju svih dvanaest ispitivanih liganada, koji su međusobno poređeni. S obzirom da je u rastvoru manje koncentracije

liganda, u odnosu na korespodentan rastvor nekog drugog liganda, manja količina liganda izložena interakciji sa hromom, dobila bi se proporcionalno veća razlika $\Delta P_{(1-2)\%}$ nego kada bi koncentracije oba liganda bile identične u korespodentnim rastvorima. Iako razlike nisu velike, u cilju izbegavanja ove nerealne komparacije, izvršeno je ujednačavanje unutar serije ispitivanih sistema, kako bi međusobno poređenje analiziranih liganda bilo relevantnije.

Prosečna maksimalna koncentracija liganada u rastvorima za celu seriju od dvanaest liganda iznosi 11,696 μmol/L. Ovakvo normalizovanje primarno dobijenih relativnih razlika površina $\Delta P_{(1-2)\%}$ je moguće primeniti, jer su koncentracije svih liganada u radnim rastvorima br. 1 – 5, uniformno određivane po obrascu:

$$c_1 = \frac{1}{10} c_{\max} \quad c_2 = \frac{3}{10} c_{\max} \quad c_3 = \frac{5}{10} c_{\max} \quad c_4 = \frac{7}{10} c_{\max} \quad c_5 = \frac{10}{10} c_{\max} \qquad (3.2\text{-}17)$$

što znači da su koncentracije za svaki ligand međusobno ekvidistantne. Takođe treba istaći da je korekcija primenjena samo pri malim međusobim razlikama u koncentraciji liganada, a da se ovakav algoritam ne može koristiti kod velikih razlika (npr. 2 – 3, ili više puta), jer u takvim slučajevima nelinearni fizičko-hemijski efekti dolaze do izražaja.

Na kraju su, posle koncentracione korekcije, dobijene vrednosti $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ su korišćene kao merodavne za poređenje stepena interakcija hroma(III) i pojedinih liganda, s tim da numerički veća vrednost $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ ukazuje na proporcionalno veću interakciju u ispitivanom binarnom sistemu.

Za seriju $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ vrednosti, izračunati su statistički parametri AVG(x), AVGDEV(x), MAX(x), MIN(x), RELVAR(x), STDEV(x) prema jednačinama 3.2-7, 3.2-8, 3.2-9 i 3.2-10.

3.2.4 Ispitivanje distribucije hroma u ternarnim sistemima zemljište – voda – antropogena/prirodna organska materija

Za ispitivanje interakcije zemljišna organska materija – pesticid – metalni jon vršeni su sorpcioni eksperimenti.

Sorpcioni eksperimenti su vršeni u erlenmajerima zapremine 150 cm^3 sa 10.00 g (ili 5.00 g) čvrste faze i 50 cm^3 rastvora hroma c(Cr) = 5,2 mg/L prilikom ispitivanja interakcije sa aldikarbom, odnosno c(Cr) = 2,6 mg/L prilikom ispitivanja interakcije sa acetamipridom, alahlorom, atrazinom, dikambom i trifluralinom. Kao čvrsta faza korišćeni su: kvarcni pesak, urbano zemljište niskog sadržaja organske materije i supstrat za hortikulturu sa visokim sadržajem organske materije. Koncentracija liganda se kretala u rasponu 0, 1, 5 i 10 μM.

Vreme sorpcije je u svim ispitivanim slučajevima bilo 4h, pri čemu je povremeno vršeno mešanje sistema. Nakon sorpcije, supernatant sistema u zapremini od 5 cm^3 je oddekantovan, propušten kroz 0,45 μm filter i određivana je koncentracija hroma(III) i njemu metodom atomske apsorpcije na atomskom apsorpcionom spektrofotometru PERKIN ELMER *Analyst* 300. Količina sorbovanog hroma je izračunata poređenjem koncentracije hroma u rastvoru i koncentracije koja je uzeta kao početna, pre sorpcije.

Svi sorpcioni eksperimenti su izvršeni tri puta.

Zakiseljavanje sistema je vršeno dodatkom rastvora azotne kiseline. Merenje pH je vršeno pomoću Hach *Sension 3* pH-metra (preciznost 0,1 mV ili 0,001 pH jedinica) korišćenjem HACH *gel-filled* kombinovane staklene elektrode (51935-00). Svi eksperimenti su vršeni pri temperaturi 25±1 °C.

3.2.5 Geohemijsko modelovanje hemijskih vrsta hroma u ispitivanim model sistemima

Visual MINTEQ uključuje tri različita modela za proračun vezivanja katjona za humatni ligand: (a) Gausov Modela Rastvorene organske materije [PERDUE *et al.*, 1984], (b) Stokholm humatni model (SHM) [GUSTAFSSON, 2001] koji se može koristiti i za rastvorene hemijske vrste u vodi i za raspodelu između čvrste i tečne faze i (c) Non-Ideal Competitive Adsorption-Donnan (NICA-Donnan) model [KINNIBURGH *et al.*, 1999] koji omogućava proračune samo za hemijske vrste u vodenoj sredini. Svaki od ovih modela pokazuje znatnu složenost, koja je prouzrokovana ekstremnom heterogenošću vezivnih mesta huminskih supstanci, promenljivom stehiometrijom metal-humatnih reakcija i prisustvom elektrostatičkih interakcija.

U ovom radu je korišćen Stockholm humatni model (SHM), koji je uveden da bi se obezbedila realističnija ocena kompleksiranja metal-humat, nego što je to moguće pomoću Gausovog modela.

Uzorkovanje zemljišta, svojstva zemljišta i priprema kolone sa zemljištem

U eksperimentalnom radu korišćeno je urbano zemljište i komercijalni organski supstrat za cveće. Urbano zemljište malog sadržaja organske materije (površinski sloj) uzorkovano je u gradskom parku sa dubine od 5 do 10 cm. Zemljište je očišćeno od primesa i sušeno na vazduhu tri dana. Nakon sušenja uzorak je usitnjen, homogenizovan i prosejan kroz sito sa otvorima 2,0 mm. Zatim je uzorak izmeren na tehničkoj vagi, sa tačnošću od 0,5 g. Prosejana zemlja čuvana je do upotrebe u staklenoj reagens boci sa šlifovanim zapušačem.

Zemljištu su određeni karakteristični parametri: pH, elektroprovodljivost i sadržaj organske materije. Elektroprovodljivost i pH su mereni u zemljišnoj suspenziji, dok je sadržaj organske materije određen dihromatnom redukcijom [WALKLEY i BLACK, 1934].

Staklena kolona ∅ = 2,0 cm i dužine 20 cm, je punjena sa po 30 g zemlje, odnosno organskog supstrata, tako što je na dno kolone stavljen sloj vate, a zatim je sipana zemlja, pri čemu se vodilo računa da kolona zemlje bude kompaktna, bez većih vazdušnih šupljina.

Izluživanje hroma

Ispitivana su četri različita seta parametara. Tokom rada korišćen je model kišnice koji po hemijskom sastavu odgovara prosečnom sastavu kišnice u urbanim sredinama (SO_4-S 0,8 mg/L, Cl 0,5 mg/L, NO_3-N 0,4 mg/L, NH_4-N 0,3 mg/L, Na 0,2 mg/L, K 0,03 mg/L, Mg 0,03 mg/L, pH 5,0). Model rastvor kisele kišnice je napravljen tako što je kišnica acidifikovana sa H_2SO_4 do pH 3,5.

Aplicirana količina model rastvora kišnice je određena na osnovu statističkih podataka dobijenih prilikom praćenja godišnje količine padavina za teritoriju Srbije. Tako, normalna, prosečna, količina godišnjih suma padavina (atmosferski talog), za teritoriju Republike Srbije, po podacima iz perioda 1961 – 1990 god. iznosi 734 mm. Ova količina odgovara zapremini kišnice od 40 ml za prečnik korišćene kolone od 2 cm prečnika.

Zagađivanje uzoraka urbanog zemljišta i komercijalnog supstrata – treseta, vršeno je kalijum-dihromatom. Imajući u vidu da se u zagađenom urbanom zemljištu, koje nije izloženo nekom značajnijem izvoru hromnog zagađenja, hrom javlja u koncentraciji od 40 do 80 mg Cr/kg zemljišta [LINDE, 2005], za ispitivanu količinu zemljišta u ovom radu (30 g), zagađenje je vršeno sa 1,2 mg Cr odnosno 2,4 mg Cr.

Izluživanje hroma iz zemljišta i organskog supstrata je praćeno nakon tretmana urbanog zemljišta i organskog supstrata kišnicom i kiselom kišnicom. Svi tretmani su ponovljeni tri puta. Pregled kolona korišćenih u ispitivanju je dat u tabeli 3.2-1.

Tabela 3.2-1. Pregled tretmana, tipa zemljišta i broja kolona u eksperimentalnom postupku.

Materijal	**Tretman**	
	Kišnica	**Kisela kišnica**
Zemljište (Z)	3 kolone	3 kolone
Zagađeno zemljište (ZZ)	3 kolone	3 kolone
Organski supstrat (OS)	3 kolone	3 kolone
Zagađen organski supstrat (ZOS)	3 kolone	3 kolone

Eluati sa kolona su ispitivani u pogledu pH, elektroprovodljivosti i koncentracije hroma (III) i hroma (VI). Eluat je skupljan sa kolone u frakcijama od po 10 ml. pH je određen pomoću HACH *SensiIon* 3 pH-metra, a elektroprovodljivost pomoću HACH *SensIon* 5 konduktometra. Hrom je određivan u filtriranim uzorcima (0,2 μm *washed membrane filter*).

Hromati i dihromati su određeni kolorimetrijski na LOVIBOND *Multidirect* kolorimetru, u kiseloj sredini sa difenilkarbazidom pri pH = 1,0 ± 0,3. [TUNCELI i TURKER, 2002; GOMEZ i CALLAO, 2006; GUSTAFSSON i SCHAIK, 2003]. Šestovalentni hrom je određivan neposredno, a ukupan sadržaj hroma je određivan posle oksidacije persulfatom u kiseloj sredini. Sadržaj trovalentnog hroma je određivan iz razlike rezultata ova dva postupka.

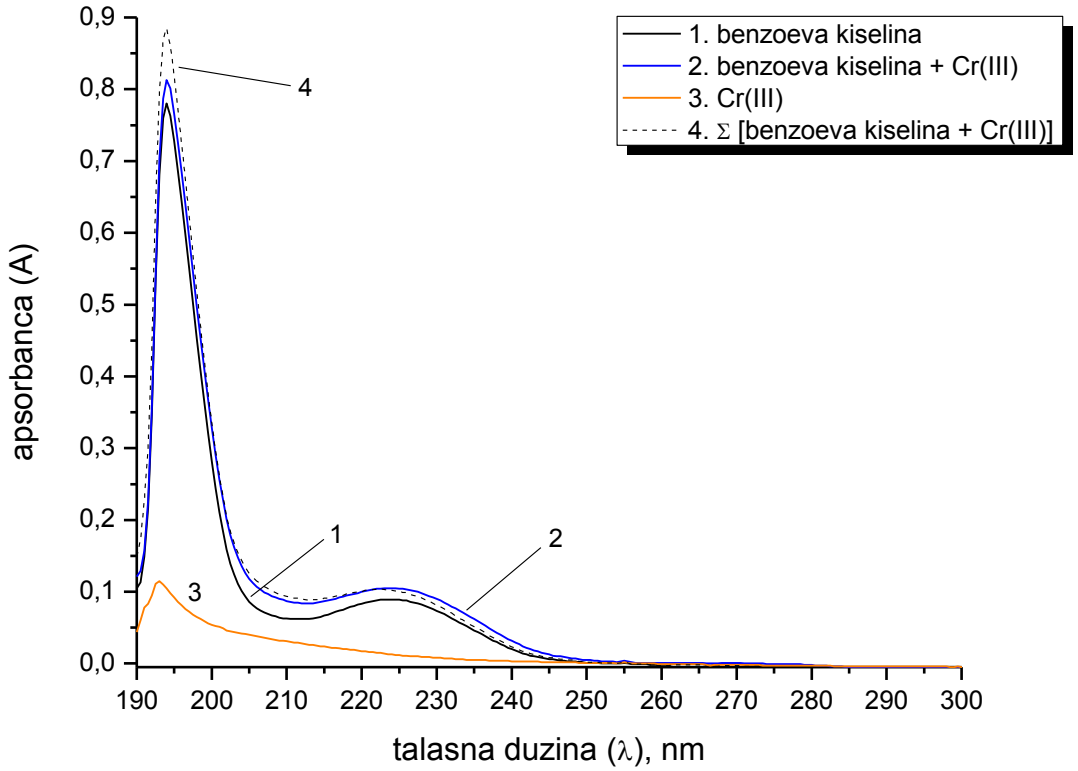
4 REZULTATI I DISKUSIJA

4.1 Rezultati UV/VIS analize interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama

4.1.1 Ligandi sa O-donor atomima

4.1.1.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – benzoeva kiselina

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa benzoevom kiselinom su prikazani na slici 4.1-1. U tabeli 4.1-1. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-2. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-1. UV/VIS spektri rastvora benzoeve kiseline, c = 10,0 µmol/L (*crna linija*); rastvora benzoeve kiseline, c = 10,0 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara benzoeve kiseline i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-1. Vrednosti integrala (površine $P_{1\ -\ 4}$) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju benzoeve kiseline i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	benzoeva kiselina	UV/VIS spektar	$P_1 = 7{,}1451$
2.	benzoeva kiselina + Cr(III)	UV/VIS spektar	$P_2 = 8{,}5242$
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	$P_3 = 1{,}0697$
4.	benzoeva kiselina + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	$P_4 = 8{,}2148$

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
3,629%	0,997565	1,549000	0,069643	$190 \leq \lambda \leq 255$

Tabela 4.1-1. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. benzoeva kiselina; 2. benzoeva kiselina sa hromom(III); 3. hrom(III) bez benzoeve kiseline; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara benzoeve kiseline i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$).

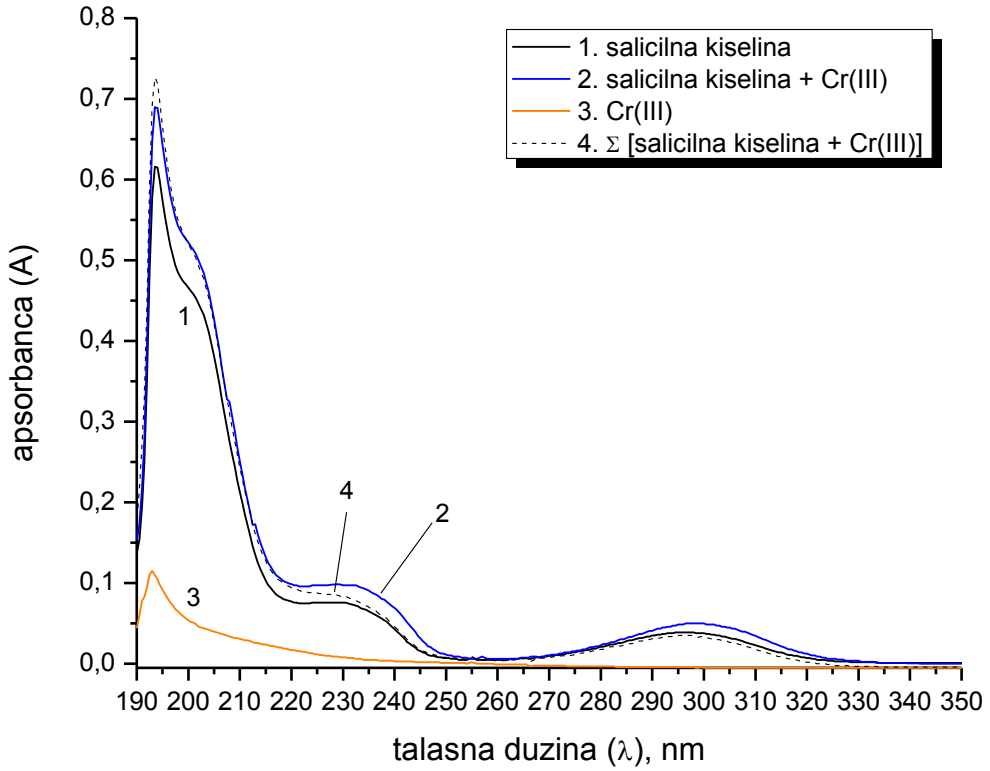
1. BENZOEVA KISELINA, c = 10,0 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 194,0 nm	0,780	$\varepsilon_{194,0} = 7{,}80\times10^4$
λ_{min} = 212,0 nm	0,062	$\varepsilon_{212,0} = 6{,}20\times10^3$
λ_{max} = 224,0 nm	0,089	$\varepsilon_{224,0} = 8{,}90\times10^3$
2. BENZOEVA KISELINA, c = 10,0 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 194,0 nm	0,813	$\varepsilon_{194,0} = 8{,}13\times10^4$
λ_{min} = 213,0 nm	0,084	$\varepsilon_{213,0} = 8{,}40\times10^3$
λ_{max} = 224,0 nm	0,105	$\varepsilon_{224,0} = 1{,}05\times10^4$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7{,}67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3{,}60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2{,}07\times10^3$
4. Σ (1. spektar BENZOEVA KISELINA, c = 10,0 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 194,0 nm	0,885	
λ_{min} = 214,0 nm	0,089	
λ_{max} = 222,5 nm	0,104	

Spektri benzoeve kiseline i binarnog sistema benzoeva kiselina – hrom(III) imaju vrlo slične profile apsorpcionih traka, sa malom pozitivnom (λ > 225 nm) ili negativnom razlikom (λ = 204 – 225; 193 – 202 nm) između spektra binarnog sistema i matematičke sume spektara separatnih komponenti. Pomeraji apsorpcionih maksimuma i minimuma ne postoje, kao ni

značajne promene asporbance (A), što ukazuje ili na malu koordinacionu interakciju između liganda i metalnog jona, ili na sličnost elektronskih konfiguracija slobodnog i vezanog liganda u pogledu energije orbitala i verovatnoće elektronskih prelaza. Nađena traka na λ_{max} = 224 nm ima dobro slaganje sa literaturnim podacima, dok trake niskog intenziteta (ε) referencirane u literaturi na λ_{max} = 272 i 282 nm, nisu vidljive u spektru usled niske koncentracije benzoeve kiseline.

4.1.1.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – salicilna kiselina

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa salicilnom kiselinom su prikazani na slici 4.1-2. U tabeli 4.1-3. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-4. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-2. UV/VIS spektri rastvora salicilne kiseline, c = 10,0 μmol/L (*crna linija*); rastvora salicilne kiseline, c = 10,0 μmol/L i Cr(III), c = 15,00 μmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 μmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara salicilne kiseline i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-2. Vrednosti integrala (površine $P_{1\ -\ 4}$) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju salicilne kiseline i hroma(III).

Br.	**Sistem**		**Površina**
1.	salicilna kiselina	UV/VIS spektar	P_1 = 12,474
2.	salicilna kiselina + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 14,809
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	salicilna kiselina + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 13,544

$\Delta P_{\%}$	***r***	**$S_{\Delta A}$**	**$S^2_{\Delta A}$**	**Opseg λ [nm]**
8,542%	0,998087	2,965520	0,052980	$190 \leq \lambda \leq 330$

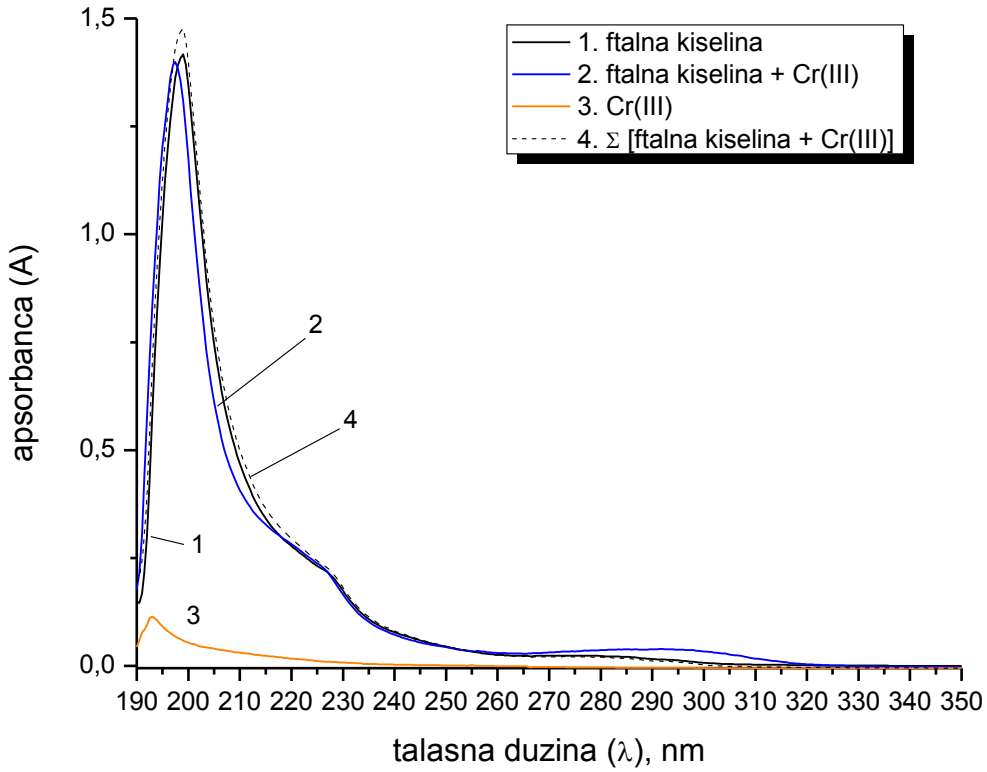
Tabela 4.1-3. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. salicilna kiselina; 2. salicilna kiselina sa hromom(III); 3. hrom(III) bez salicilne kiseline; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara salicilne kiseline i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$).

1. SALICILNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,616	$\varepsilon_{193,5} = 6,16\times10^4$
λ_{max} = 230,0 nm	0,076	$\varepsilon_{230,0} = 7,60\times10^3$
λ_{min} = 260,0 nm	0,005	$\varepsilon_{260,0} = 5,00\times10^2$
λ_{max} = 298,0 nm	0,039	$\varepsilon_{298,0} = 3,90\times10^3$
2. SALICILNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,690	$\varepsilon_{193,5} = 6,90\times10^4$
λ_{max} = 230,0 nm	0,097	$\varepsilon_{230,0} = 9,70\times10^3$
λ_{min} = 260,0 nm	0,006	$\varepsilon_{260,0} = 6,00\times10^2$
λ_{max} = 300,0 nm	0,050	$\varepsilon_{300,0} = 5,00\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar SALICILNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 193,5 nm	0,726	
λ_{max} = 229,5 nm	0,034	

Razlika spektara slobodne salicilne kiseline i binarnog sistema salicilne kiseline sa hromom(III) dolazi do izražaja u pojasima λ = 220 – 250 nm, kao i λ = 275 – 325 nm, u smislu uvećanja apsorpcije (A). Batohromni pomeraj Δλ = 2 nm je prisutan kod kompleksirane salicilne kiseline pri λ = 298 nm, dok ostale trake ne menjaju položaj. Dobijeni UV/VIS spektar salicilne kiseline dobro korespondira sa literaturnim podacima.

4.1.1.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – ftalna kiselina

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa ftalnom kiselinom su prikazani na slici 4.1-3.. U tabeli 4.1-5. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-6. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-3. UV/VIS spektri rastvora ftalne kiseline, c = 10,0 µmol/L (*crna linija*); rastvora ftalne kiseline, c = 10,0 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara ftalne kiseline i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-4. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju ftalne kiseline i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	ftalna kiselina	UV/VIS spektar	P_1 = 25,901
2.	ftalna kiselina + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 26,176
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	ftalna kiselina + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 26,976

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
–3,056%	0, 987825	9,053440	1,016925	190 ≤ λ ≤ 320

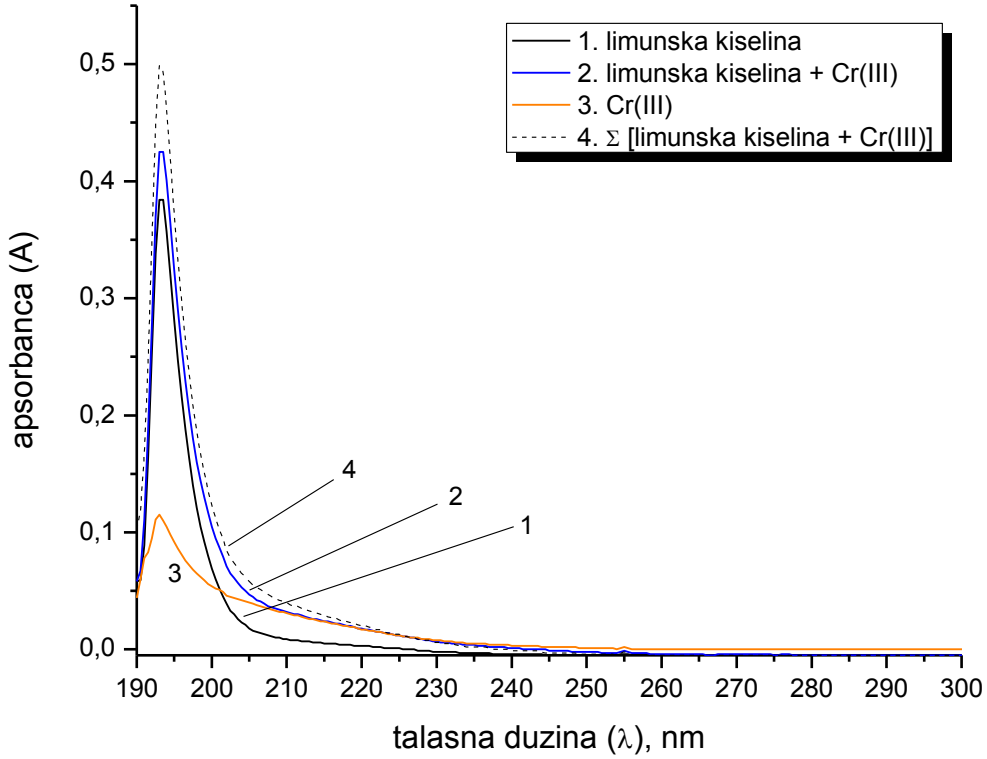
Tabela 4.1-5. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. ftalna kiselina; 2. ftalna kiselina sa hromom(III); 3. hrom(III) bez ftalne kiseline; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara ftalne kiseline i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ i λ_{max}).

1. FTALNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 199,0 nm	1,417	$\varepsilon_{199,0} = 1,42\times10^5$
λ = 210,0 nm	0,469	$\varepsilon_{210,0} = 4,69\times10^4$
λ = 280,0 nm	0,023	$\varepsilon_{280,0} = 2,30\times10^3$
λ = 293,0 nm	0,014	$\varepsilon_{293,0} = 1,40\times10^3$
2. FTALNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 197,5 nm	1,399	$\varepsilon_{199,0} = 1,40\times10^5$
λ = 210,0 nm	0,407	$\varepsilon_{210,0} = 4,07\times10^4$
λ = 280,0 nm	0,037	$\varepsilon_{280,0} = 3,70\times10^3$
λ_{max} = 293,0 nm	0,039	$\varepsilon_{293,0} = 3,90\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar FTALNA KISELINA, c = 10,0 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 199,0 nm	1,476	
λ = 210,0 nm	0,500	
λ = 280,0 nm	0,020	
λ = 293,5 nm	0,010	

U opsegu se uočava supresija apsorbance binarnog sistema, odnosno kompleksa Cr(III) – ftalat, dok se, obrnuto pri λ = 266 – 317 nm apsorbanca pojačava, uz pojavu slabo definisanog pika na λ_{max} = 293 nm. Naizraženiji pik ispod 200 nm je u odnosu na druge ispitivane ligande, batohromno pomeren za oko Δλ = 6 nm, a takođe molarni koeficijent apsorpcije (ε) pokazuje najveću vrednost u odnosu na druge ligande. Literaturni podaci za apsorpcione karakteristike se međusobno donekle razlikuju, a ovde dobijeni UV/VIS spektar pokazuje sličnost sa njima u pogledu pojave makimuma u oblasti oko 280 – 290 nm, kao i u smislu jake apsorpcije (A) u kratkotalasnom opsegu.

4.1.1.4 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – limunska kiselina

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa limunskom kiselinom su prikazani na slici 4.1-4. U tabeli 4.1-7. su prikazane izračunate površine $P_{1\ -\ 4}$ ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-8. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-4. UV/VIS spektri rastvora limunske kiseline, c = 10,0 µmol/L (*crna linija*); rastvora limunske kiseline, c = 10,0 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara limunske kiseline i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-6. Vrednosti integrala (površine $P_{1\ -\ 4}$) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju limunske kiseline i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	limunska kiselina	UV/VIS spektar	P_1 = 2,0058
2.	limunska kiselina + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 2,9011
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	limunska kiselina + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 3,0755

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
–6,011%	0,997909	1,335000	0,054001	190 ≤ λ ≤ 245

Tabela 4.1-7. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. limunska kiselina; 2. limunska kiselina sa hromom(III); 3. hrom(III) bez limunske kiseline; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara limunske kiseline i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ_{max}), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

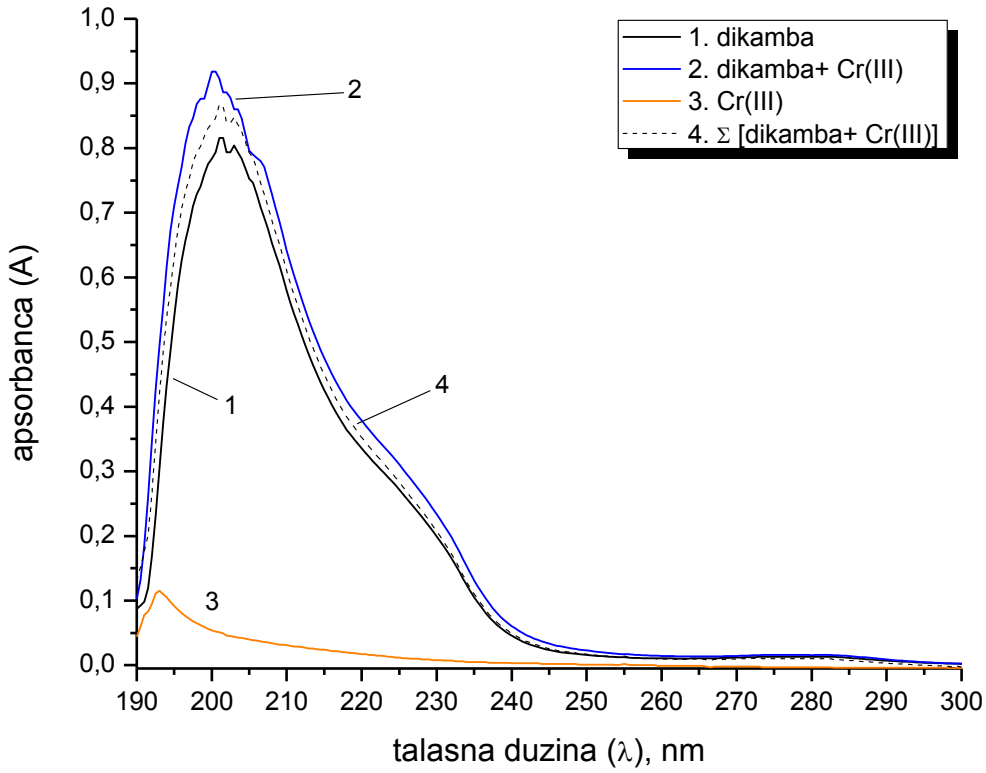
1. LIMUNSKA KISELINA, c = 10,0 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,384	$\varepsilon_{193,0} = 3,84\times10^4$
λ = 205,0 nm	0,018	$\varepsilon_{205,0} = 1,80\times10^3$
λ = 215,0 nm	0,005	$\varepsilon_{215,0} = 5,00\times10^3$
2. LIMUNSKA KISELINA, c = 10,0 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,425	$\varepsilon_{193,0} = 4,25\times10^4$
λ = 205,0 nm	0,047	$\varepsilon_{205,0} = 4,70\times10^3$
λ = 215,0 nm	0,024	$\varepsilon_{215,0} = 2,40\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar LIMUNSKA KISELINA, c = 10,0 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 193,0 nm	0,499	
λ = 205,0 nm	0,058	
λ = 215,0 nm	0,029	

Spektri limunske kiseline i limunske kiseline kompleksirane hromom(III) pokazuju upadljivu sličnost oblika spektralnih kriva, kao i odsustvo batohromnog efekta – jedini izraženi pik je lociran na λ_{max} = 193 nm.

Zapaža se nešto manji intenzitet apsorpcije (A) rastvora kompleksa u odnosu na matematički zbir zasebnih spektara komponenti (hipohromni efekat), što ukazuje na manju verovatnoću ekscitacije elektrona u nastalom kompleksu, a apsorpcija se gubi preko λ > 240 nm, usled nepostojanja konjugovanih π-elektrona, odnosno hromofora niske energije ekscitacije. Spektralne trake helata $[Cr(C_6H_4O_7)(C_6H_5O_7)]^{4-}$ na većim talasnim dužinama i niskog intenziteta, referencirane u literaturi, nisu mogle biti detektovane u ispitivanom binarnom rastvoru usled male koncentracije citrata.

4.1.1.5 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – dikamba

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa dikambom su prikazani na slici 4.1-5. U tabeli 4.1-9. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-10. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-5. UV/VIS spektri rastvora dikambe, c = 11,31 μmol/L (*crna linija*); rastvora dikambe, c = 11,31 μmol/L i Cr(III), c = 15,00 μmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 μmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara dikambe i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-8. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju dikambe i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	dikamba	UV/VIS spektar	P_1 = 21,129
2.	dikamba + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 24,594
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	dikamba + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 22,191

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
9,771%	0,998870	4,122380	0,164412	$190 \leq \lambda \leq 300$

Tabela 4.1-9. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. dikamba; 2. dikamba sa hromom(III); 3. hrom(III) bez dikambe; 4. matematički zbir koespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara dikambe i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ_{max}), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

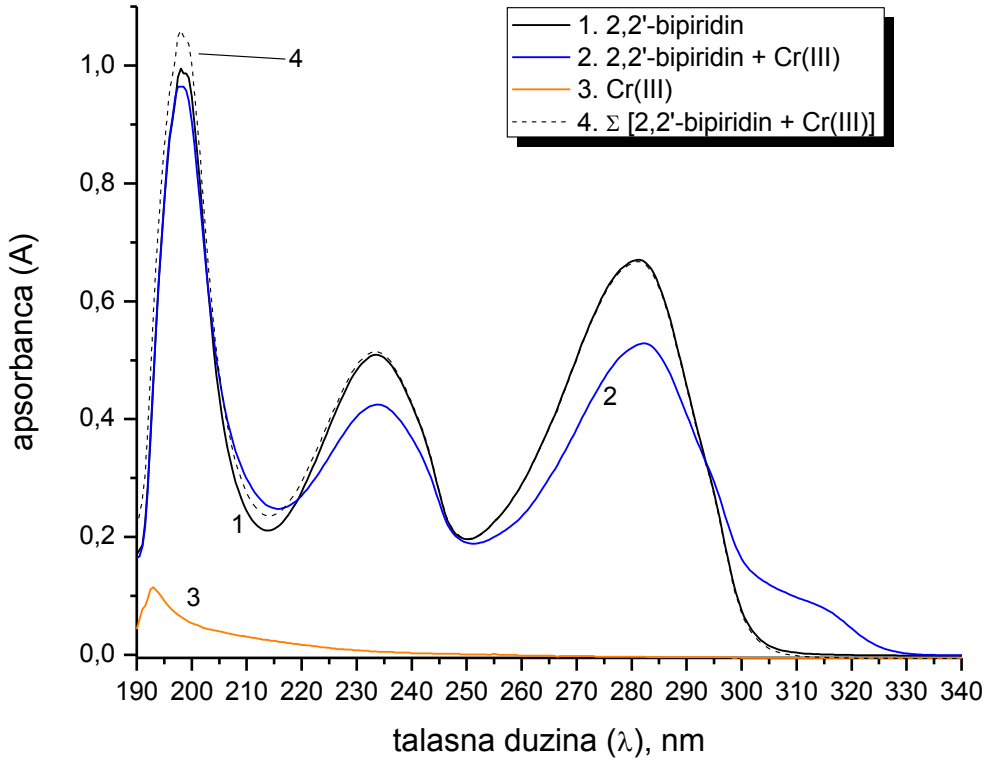
1. DIKAMBA, c = 11,31 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 201,0 nm	0,816	$\varepsilon_{201,0} = 7{,}21\times10^4$
λ_{max} = 203,0 nm	0,803	$\varepsilon_{203,0} = 7{,}09\times10^4$
λ = 230,0 nm	0,199	$\varepsilon_{230,0} = 1{,}76\times10^4$
λ_{max} = 282,0 nm	0,013	$\varepsilon_{282,0} = 1{,}15\times10^3$
2. DIKAMBA, c = 11,31 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 200,0 nm	0,919	$\varepsilon_{200,0} = 8{,}13\times10^4$
λ_{max} = 202,0 nm	0,886	$\varepsilon_{202,0} = 7{,}83\times10^4$
λ = 230,0 nm	0,233	$\varepsilon_{230,0} = 2{,}06\times10^4$
λ_{max} = 275,0 nm	0,016	$\varepsilon_{275,0} = 1{,}41\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7{,}67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3{,}60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2{,}07\times10^3$
4. Σ (1. spektar DIKAMBA, c = 11,31 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 201,0 nm	0,867	
λ_{max} = 203,0 nm	0,848	
λ = 230,0 nm	0,207	
λ = 282,0 nm	0,010	

UV/VIS spektar dikambe pokazuje manje apsorpcione vrednosti u odnosu na binarni sistem dikambe i hroma(III). Registrovan hipsohromni pomeraj pikova λ_{max} = 201 nm i λ_{max} = 203 nm od oko Δλ = 1,0 nm nije veliki, ali je oblik same trake donekle izmenjen, a sama apsorpcija u UV području je relativno intenzivna do λ < 240 nm, a zatim se, uz niske vrednosti (A), proteže do oko 295 nm, uz pojavu slabo izraženih lokalnih maksimuma na λ_{max} = 282 nm kod rastvora dikambe, odnosno λ_{max} = 275 nm kod binarnog sistema. U odnosu na literaturne podatke, izmereni intenziteti na λ = 228 – 230 i 280 nm se donekle razlikuju, verovatno usled različitih matriksa (metanol/voda) i drugačijeg pH, koji utiče na disocijaciju – COOH grupe dikambe.

4.1.2 Ligandi sa N-donor atomima

4.1.2.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – 2,2'-bipiridin

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa 2,2'-bipiridinom su prikazani na slici 4.1-6. U tabeli 4.1-11. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-12. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-6. UV/VIS spektri rastvora 2,2'-bipiridina, c = 11,43 µmol/L (*crna linija*); rastvora 2,2'-bipiridina, c = 11,43 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara 2,2'-bipiridina i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-10. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju 2,2'-bipiridina i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	2,2'-bipiridin	UV/VIS spektar	P_1 = 45,977
2.	2,2'-bipiridin + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 44,241
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	2,2'-bipiridin + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 47,047

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
–6,342%	0,979377	18,187813	1,647901	190 ≤ λ ≤ 330

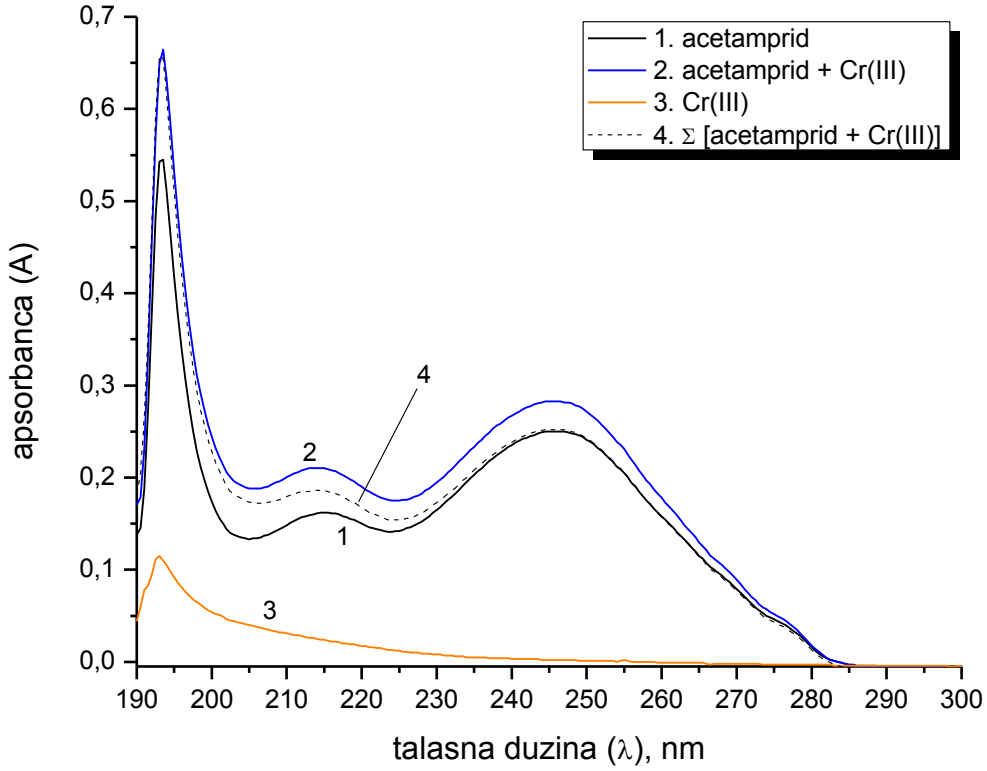
Tabela 4.1-11. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. 2,2'-bipiridin; 2. 2,2'-bipiridin sa hromom(III); 3. hrom(III) bez 2,2'-bipiridina; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara 2,2'-bipiridina i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$).

1. 2,2'-BIPIRIDIN, c = 11,43 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 199,0 nm	0,987	$\varepsilon_{199,0} = 8,64\times10^4$
λ_{min} = 214,0 nm	0,211	$\varepsilon_{214,0} = 1,85\times10^4$
λ_{max} = 233,5 nm	0,509	$\varepsilon_{233,5} = 4,45\times10^4$
λ_{min} = 250,0 nm	0,196	$\varepsilon_{250,0} = 1,71\times10^4$
λ_{max} = 281,5 nm	0,670	$\varepsilon_{281,5} = 5,86\times10^4$
2. 2,2'-BIPIRIDIN, c = 11,43 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 198,0 nm	0,964	$\varepsilon_{198,0} = 8,43\times10^4$
λ_{min} = 216,0 nm	0,248	$\varepsilon_{216,0} = 2,19\times10^4$
λ_{max} = 233,0 nm	0,424	$\varepsilon_{233,0} = 3,74\times10^4$
λ_{min} = 251,0 nm	0,189	$\varepsilon_{251,0} = 1,65\times10^4$
λ_{max} = 282,5 nm	0,529	$\varepsilon_{282,5} = 4,63\times10^4$
λ = 316,0 nm	0,074	$\varepsilon_{316,0} = 6,47\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar 2,2'-BIPIRIDIN, c = 11,43 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 198,0 nm	1,060	
λ_{max} = 233,5 nm	0,515	
λ_{max} = 283,0 nm	0,657	

Hipohromni efekat u binarnom sistemu Cr(III) i 2,2'-bipiridina se zapaža na λ_{max} = 199 nm, kod trake koja je, inače, nešto šira i pomerena ka većim talasnim dužinama u odnosu na druge ispitivane ligande. Dod druga dva pika na oko λ_{max} = 233 i 282 nm hipohromni efekat je još izraženiji, dok je batohromni pomeraj neznatan. Bitnu razliku u području talasnih dužina (oko 300 – 330) daje interakcija hroma(III) i bipridina, dajući apsorpciju sa neizraženim maksimumom (engl. *shoulder*). Postojanje ovih traka se slaže sa literaturnim podacima, ali položaj maksimuma nije identičan.

4.1.2.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – acetamiprid

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa acetampridom su prikazani na slici 4.1-7. U tabeli 4.1-13. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-14. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-7. UV/VIS spektri rastvora acetamprida, c = 11,68 µmol/L (*crna linija*); rastvora acetamprida, c = 11,68 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara acetamprida i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-12. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju acetamiprida i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	acetamiprid	UV/VIS spektar	P_1 = 15,274
2.	acetamiprid + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 18,561
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	acetamiprid + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 16,344

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
11,94%	0,995811	3,752300	0,084111	190 ≤ λ ≤ 285

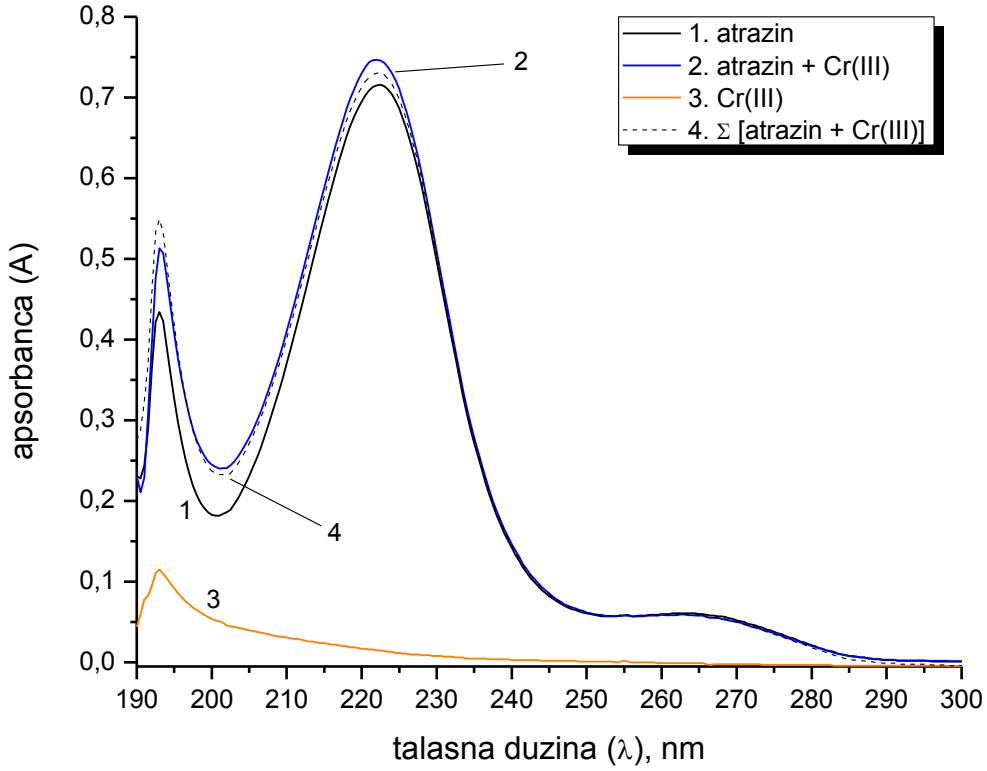
Tabela 4.1-13. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. acetamiprid; 2. acetamprid sa hromom(III); 3. hrom(III) bez acetamiprida; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara acetamprida i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ_{max}), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

1. ACETAMIPRID, c = 11,68 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,545	$\varepsilon_{193,5} = 4,67\times10^4$
λ_{max} = 215,0 nm	0,162	$\varepsilon_{215,0} = 1,39\times10^4$
λ_{max} = 246,5 nm	0,250	$\varepsilon_{246,5} = 2,14\times10^4$
2. ACETAMIPRID, c = 11,68 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,545	$\varepsilon_{193,5} = 4,67\times10^4$
λ_{max} = 215,0 nm	0,162	$\varepsilon_{215,0} = 1,39\times10^4$
λ_{max} = 244,0 nm	0,282	$\varepsilon_{246,5} = 2,14\times10^4$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar ACETAMIPRID, c = 11,68 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ = 193,5 nm	0,655	
λ = 214,0 nm	0,186	
λ = 246,0 nm	0,252	

Poređenjem spektara za λ = 200 – 275 nm, uočava se relativno veliki porast intenziteta apsorpcije acetamprida i Cr(III) u odnosu na čisti ligand, odnosno na simulirani zbirni spektar odvojenih komponenti. Na λ < 200 nm, naznačena razlika je minimalna.

4.1.2.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – atrazin

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa atrazinom su prikazani na slici 4.1-8. U tabeli 4.1-15. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-16. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-8. UV/VIS spektri rastvora atrazin, c = 12,09 µmol/L (*crna linija*); rastvora atrazina, c = 12,09 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara atrazina i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-14. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju atrazina i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	atrazin	UV/VIS spektar	P_1 = 23,542
2.	atrazin + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 25,497
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	atrazin + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 24,612

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
3,471%	0,998362	1,419109	0,039126	190 ≤ λ ≤ 295

Tabela 4.1-15. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. atrazin; 2. atrazin sa hromom(III); 3. hrom(III) bez atrazina; 4. matematički zbir koespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara atrazina i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

1. ATRAZIN, c = 12,09 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,434	$\varepsilon_{193,0} = 3,59\times10^4$
λ_{min} = 201,0 nm	0,182	$\varepsilon_{201,0} = 1,51\times10^4$
λ_{max} = 222,5 nm	0,716	$\varepsilon_{222,5} = 5,92\times10^4$
λ_{max} = 263,0 nm	0,061	$\varepsilon_{263,5} = 5,05\times10^3$
2. ATRAZIN, c = 12,09 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,513	$\varepsilon_{193,0} = 4,24\times10^4$
λ_{min} = 201,5 nm	0,241	$\varepsilon_{201,5} = 1,99\times10^4$
λ_{max} = 222,0 nm	0,747	$\varepsilon_{222,0} = 6,18\times10^4$
λ_{max} = 262,5 nm	0,059	$\varepsilon_{262,5} = 4,88\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar ATRAZIN, c = 12,09 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 193,0 nm	0,549	
λ_{min} = 210,0 nm	0,232	
λ_{max} = 222,5 nm	0,731	
λ_{max} = 262,0 nm	0,059	

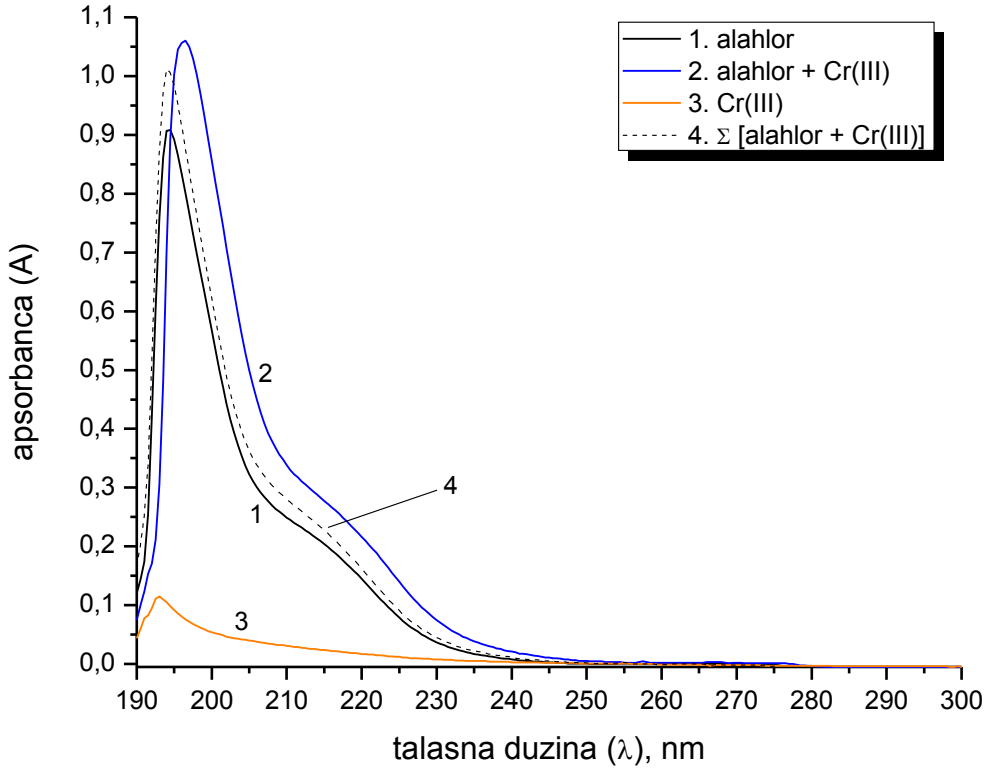
Spektar atrazina i hroma u poređenju sa simuliranim zbirom spektara pokazuje relativno malu razliku, kako u pogledu oblika pikova, tako i u smislu intenziteta apsorpcije. Male razlike apsorbance (A) se uočavaju za λ_{max} = 193 nm, u kome je traka nešto niže apsorbance u odnosu na zbir spektara separatnih komponenti (negativna razlika), dok na λ_{max} = 222 nm, suprotno tome, postoji pozitivna razlika.

Za talasne dužene λ > 230 nm, poređeni spektri se praktično poklapaju. Razlika u položaju pikova (Δλ) je takođe neznatna.

4.1.3 Ligandi sa O, N ili S-donor atomima

4.1.3.1 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – alahlor

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa alahlorom su prikazani na slici 4.1-9. U tabeli 4.1-17. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-18. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-9. UV/VIS spektri rastvora alahlora, c = 13,55 µmol/L (*crna linija*); rastvora alahlora, c = 13,55 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara alahlora i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-16. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju alahlora i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	alahlor	UV/VIS spektar	P_1 = 12,331
2.	alahlor + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 16,263
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	alahlor + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 13,402

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
17,59%	0,911918	10,121600	2,128779	190 ≤ λ ≤ 255

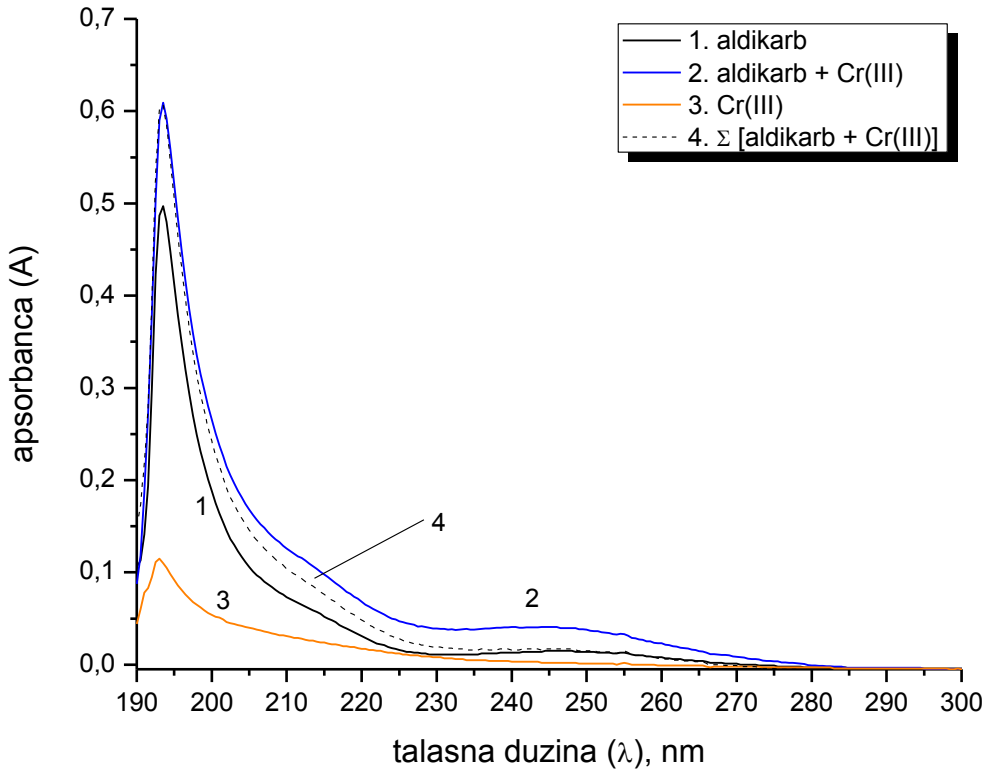
Tabela 4.1-17. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. alahlor; 2. alahlor sa hromom(III); 3. hrom(III) bez alahlora; 4. matematički zbir koespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara alahlora i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ_{max}), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

1. ALAHLOR, c = 13,55 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 194,5 nm	0,908	$\varepsilon_{194,5} = 6,70\times10^4$
λ = 210,0 nm	0,249	$\varepsilon_{210,0} = 1,84\times10^4$
λ = 225,0 nm	0,079	$\varepsilon_{225,0} = 5,83\times10^3$
2. ALAHLOR, c = 13,55 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 196,5 nm	1,060	$\varepsilon_{196,5} = 7,82\times10^4$
λ = 210,0 nm	0,338	$\varepsilon_{210,0} = 2,49\times10^4$
λ = 225,0 nm	0,139	$\varepsilon_{225,0} = 1,03\times10^4$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar ALAHLOR, c = 13,55 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ = 194,0 nm	1,012	
λ = 210,0 nm	0,280	
λ = 225,0 nm	0,091	

Poređenjem spektara za λ = 200 – 255 nm, uočava se primetan porast intenziteta apsorpcije kompleksa alahlora i hroma(III) u odnosu na čisti ligand, odnosno na simulirani zbirni spektar odvojenih komponenti. Ispod 198 nm dolazi do inverzije, odnosno apsorpcija je manja u prisustvu Cr(III). Spektri su u celini sličnog oblika, s tim da je maksimum na oko 194,5 nm pomeren za Δλ = 2 nm u prisustvu Cr(III).

4.1.3.2 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – aldikarb

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa aldikarbom su prikazani na slici 4.1-10. U tabeli 4.1-19. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-20. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-10. UV/VIS spektri rastvora aldikarba, c = 11,57 µmol/L (*crna linija*); rastvora aldikarba, c = 11,57 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara aldikarba i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-18. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju aldikarba i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	aldikarb	UV/VIS spektar	P_1 = 4,8040
2.	aldikarb + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 7,9112
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	aldikarb + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 5,8731

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
25,76%	0,996097	3,419009	0,073512	190 ≤ λ ≤ 280

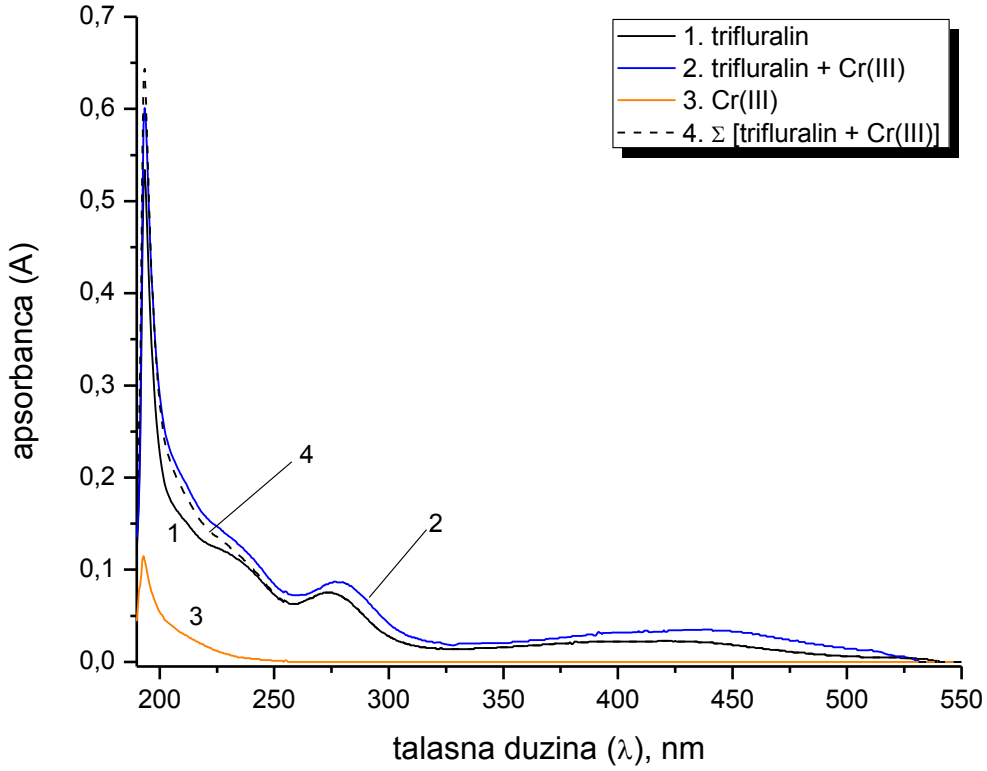
Tabela 4.1-19. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. aldikarb; 2. aldikarb sa hromom(III); 3. hrom(III) bez aldikarba; 4. matematički zbir koespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara aldikarba i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine (λ_{max}), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

1. ALDIKARB, c = 11,57 µmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,497	$\varepsilon_{193,5} = 4,29\times10^4$
λ = 210,0 nm	0,073	$\varepsilon_{210,0} = 6,31\times10^3$
λ_{max} = 247,5 nm	0,015	$\varepsilon_{247,5} = 1,29\times10^3$
2. ALDIKARB, c = 11,57 µmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 µmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,609	$\varepsilon_{193,5} = 5,26\times10^4$
λ = 210,0 nm	0,126	$\varepsilon_{210,0} = 1,09\times10^4$
λ_{max} = 243,0 nm	0,041	$\varepsilon_{243,0} = 3,54\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 µmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar ALDIKARB, c = 11,57 µmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 µmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 193,5 nm	0,607	
λ = 210,0 nm	0,104	
λ = 245,0 nm	0,017	

Opseg spektra za λ = 203 – 275 nm ima naglašenu razliku, odnosno porast intenziteta apsorpcije kompleksa aldikarba i hroma(III) u odnosu na čisti ligand, odnosno na simulirani zbirni spektar odvojenih komponenti. Na 190 – 200 nm dolazi do nestajanja ove razlike, te su o ovom opsegu spektri gotovo identični. Kod spektra liganda u prisustvu Cr(III) donekle se menja oblik krive počev od λ > 220 nm, pri čemu dolazi do pojave slabo naglašenog pika na oko 243 nm, što predstavlja Δλ = 4,5 nm u odnosu na analogni pik kod aldikarba bez Cr(III). Pikovi na 193,5 nm ne trpe pomeraj talasnih dužina.

4.1.3.3 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – trifluralin

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa trifluralinom su prikazani na slici 4.1-11.U tabeli 4.1-21. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-22. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-11. UV/VIS spektri rastvora trifluralina, c = 7,76 µmol/L (*crna linija*); rastvora trifluralina, c = 7,76 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara trifluralina i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-20. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju trifluralina i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	trifluralin	UV/VIS spektar	P_1 = 16,631
2.	trifluralin + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 21,315
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	trifluralin + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 17,700

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
16,96%	0,995253	2,425800	0,049385	190 ≤ λ ≤ 550

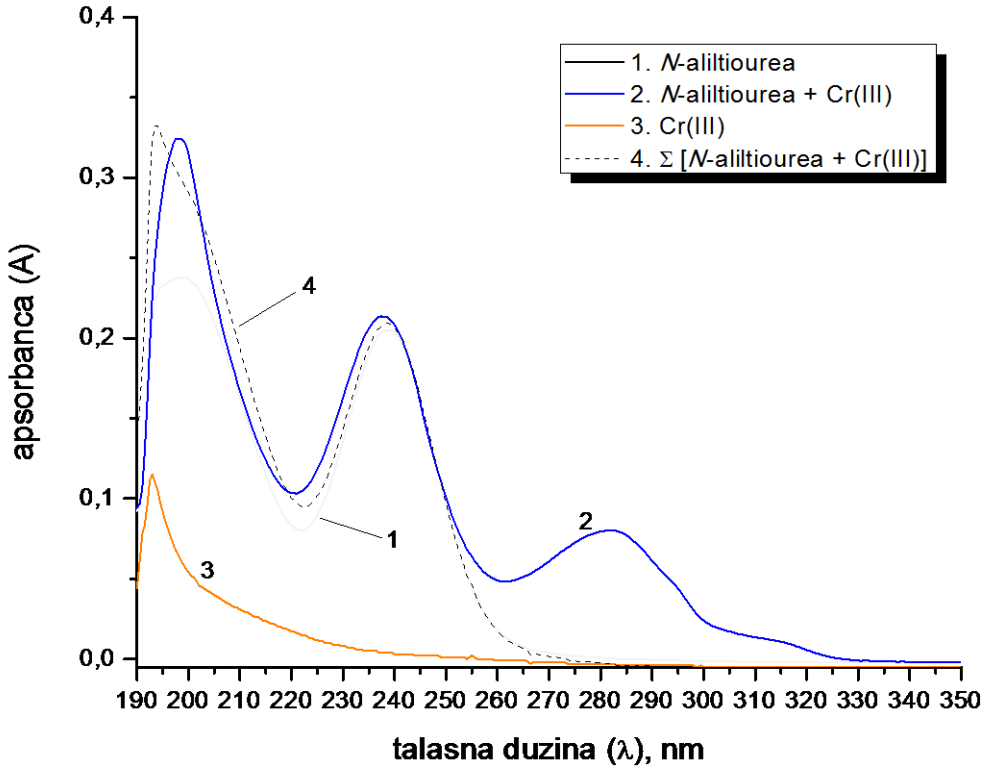
Tabela 4.1-21. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. trifluralin; 2. trifluralin sa hromom(III); 3. hrom(III) bez trifluralina; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara trifluralina i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$), ili za (λ) u oblastima spektara bez izraženih maksimuma apsorbance.

1. TRIFLURALIN, c = 7,76 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,534	$\varepsilon_{193,5} = 6,88\times10^4$
λ_{min} = 258,0 nm	0,063	$\varepsilon_{258,0} = 8,12\times10^3$
λ_{max} = 273,0 nm	0,075	$\varepsilon_{273,0} = 9,66\times10^3$
λ_{min} = 325,0 nm	0,014	$\varepsilon_{325,0} = 1,80\times10^3$
λ_{max} = 421,0 nm	0,023	$\varepsilon_{421,0} = 2,96\times10^3$
2. TRIFLURALIN, c = 7,76 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,5 nm	0,601	$\varepsilon_{193,5} = 7,74\times10^4$
λ_{min} = 259,0 nm	0,072	$\varepsilon_{259,0} = 9,28\times10^3$
λ_{max} = 277,0 nm	0,087	$\varepsilon_{277,0} = 1,12\times10^4$
λ_{min} = 328,0 nm	0,018	$\varepsilon_{328,0} = 2,32\times10^3$
λ_{max} = 441,0 nm	0,035	$\varepsilon_{441,0} = 4,51\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar TRIFLURALIN, c = 7,76 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 193,5 nm	0,644	
λ_{min} = 258,0 nm	0,063	
λ_{max} = 274,0 nm	0,075	
λ_{min} = 328,0 nm	0,014	
λ_{max} = 423,0 nm	0,023	

Batohromni efekat je ovde izraženiji u odnosu na druge ispitivane ligande, te pik sa λ_{max} = 421 nm kod rastvora čistog trifluralina, u prisustvu Cr(III) ima pomeraj na oko 441 nm. Pomeraj izraženijeg pika λ_{max} = 273 nm takođe pokazuje „crveni pomak“ prilikom kompleksiranja sa Cr(III) za $\Delta\lambda$ = 4 nm. Na svim talasnim dužinama λ > 200 nm primetan je hiperhromni efekat različitog intenziteta u pojedinim delovima spektra.

4.1.3.4 Analiza UV/VIS spektara sistema Cr(III) – *N*-aliltiourea

Rezultati UV/VIS spektrofotometrijskog ispitivanja interakcije hroma(III) sa *N*-aliltioureom su prikazani na slici 4.1-12. U tabeli 4.1-23. su prikazane izračunate površine P_{1-4} ispod spektralnih kriva, prema jednačini 3.2-3, kao i vrednosti statističkih parametara ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$, $S^2_{\Delta A}$, prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6, respektivno). U tabeli 4.1-24. je dat prikaz kvantitativnih karakteristika (A, ε, λ_{max}) dobijenih spektara ispitivanog sistema.



Slika 4.1-12. UV/VIS spektri rastvora *N*-aliltiouree, c = 12,87 µmol/L (*crna linija*); rastvora *N*-aliltiouree, c = 12,87 µmol/L i Cr(III), c = 15,00 µmol/L (*plava linija*); rastvora hroma(III), c = 15,00 µmol/L (*narandžasta linija*) i prikaz matematičkog zbira nezavisnih spektara *N*-aliltiouree i hroma(III) navedenih koncentracija (*crna isprekidana linija*); l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50 (nativni pH).

Tabela 4.1-22. Vrednosti integrala (površine P_{1-4}) ispod spektralnih kriva i vrednosti statističkih parametara za ispitivanu interakciju *N*-aliltiouree i hroma(III).

Br.	Sistem		Površina
1.	*N*-aliltiourea	UV/VIS spektar	P_1 = 10,130
2.	*N*-aliltiourea + Cr(III)	UV/VIS spektar	P_2 = 14,301
3.	Cr(III)	UV/VIS spektar	P_3 = 1,0697
4.	*N*-aliltiourea + Cr(III)	Σ (spektar 1. + 3.)	P_4 = 11,199

$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
13,52%	0,953837	8,391933	0,432621	190 ≤ λ ≤ 330

Tabela 4.1-23. Spektrofotometrijske karakteristike (A, ε, λ) UV/VIS spektara rastvora: 1. *N*-aliltiourea; 2. *N*-aliltiourea sa hromom(III); 3. hrom(III) bez *N*-aliltiourea; 4. matematički zbir korespodentnih apsorbancija iz zasebnih spektara *N*-aliltiouree i hroma(III) – komparativni prikaz. Podaci su dati za karakteristične talasne dužine ($\lambda_{max/min}$).

1. N-ALILTIOUREA, c = 12,87 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 199,0 nm	0,238	$\varepsilon_{199,0} = 1,85\times10^4$
λ_{min} = 222,0 nm	0,080	$\varepsilon_{222,0} = 6,22\times10^3$
λ_{max} = 238,5 nm	0,205	$\varepsilon_{238,5} = 1,59\times10^4$
2. N-ALILTIOUREA, c = 12,87 μmol/L; **HROM(III)**, c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ_{max} [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 198,5 nm	0,324	$\varepsilon_{198,5} = 2,52\times10^4$
λ_{min} = 221,0 nm	0,103	$\varepsilon_{221,0} = 8,00\times10^3$
λ_{max} = 237,5 nm	0,214	$\varepsilon_{237,5} = 1,66\times10^4$
λ_{min} = 261,0 nm	0,048	$\varepsilon_{261,0} = 3,73\times10^3$
λ_{max} = 282,0 nm	0,080	$\varepsilon_{282,0} = 6,22\times10^3$
3. HROM(III), c = 15,00 μmol/L (l = 1 cm, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, nativni pH)		
Talasna dužina, λ [nm]	Apsorbanca, A	Molarni koef. apsorpcije, ε [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
λ_{max} = 193,0 nm	0,115	$\varepsilon_{193,0} = 7,67\times10^3$
λ = 200,0 nm	0,054	$\varepsilon_{200,0} = 3,60\times10^3$
λ = 210,0 nm	0,031	$\varepsilon_{210,0} = 2,07\times10^3$
4. Σ (1. spektar N-ALILTIOUREA, c = 12,87 μmol/L) + (3. spektar HROM(III), c = 15,00 μmol/L)		
Talasna dužina, λ [nm]	Zbir apsorbanci ($A_1 + A_2$) na datom λ iz spektara liganda i Cr(III)	
λ_{max} = 194,5 nm	0,329	
λ_{max} = 222,0 nm	0,095	
λ_{max} = 239,0 nm	0,209	

Mali batohromni efekat u binarnom sistemu Cr(III) i *N*-aliltiouree se zapaža na λ_{max} = 199 nm, kod trake koja je nešto izmenjenog oblika u odnosu na monokomponentni sistem, a za nekoliko nm je pomerena ka većim talasnim dužinama u odnosu na druge ispitivane ligande. Razlika apsorpcije je primetna u opsegu $190 < \lambda < 240$ nm, ali sa promenljivim predznakom razlike, u opsegu $240 < \lambda < 250$ nm spektralne krive se praktično poklapaju, a na $\lambda > 250$ nm, binarni sistem ima izraženu apsorpciju na λ_{max} = 282 nm, suprotno rastvoru *N*-aliltiouree bez hroma, koji je u tom opsegu optički transparentan. Razlika u tom opsegu jeste posledica određene koordinacione interakcije u ispitivanom binarnom sistemu

4.1.4 Uporedni pregled eksperimentalnih rezultata UV/VIS ispitivanja

U tabeli 4.1-25. prikazani su integrali (površine) ispod odgovarajućih UV/VIS spektralnih kriva, kao i merodavni opseg talasnih dužina (λ), koji predstavlja granice integraljenja u svakom pojednom slučaju. Oznake kolona u tabeli su definisane kao:

P_1 površina ispod UV/VIS spektra liganda
P_2 površina ispod UV/VIS spektra liganda + Cr(III)
P_4 Σ (površina spektara 1. + 3.) liganda + Cr(III)

s tim da površina P_3 ispod UV/VIS spektra Cr(III) kod svih ispitivanih sistema ima konstantnu vrednost 1,0697, jer se odnosi na konstantnu koncentraciju Cr(III) od c = 15,00 μmol/L, te je u tabeli izostavljena. Sve površine su formalnih dimenzija [A×λ, odnosno A×nm] koje nemaju fizički smisao, i matematički su prikazane su kao bezdimenzionalni numerički parametri.

U tabeli 4.1-26. su prikazani izračunati parametri, relativna razlika površina ($\Delta P_{\%}$), linearni koeficijent korelacije (r), suma apsolutnih vrednosti razlika apsorbance ($S_{\Delta A}$) i suma kvadrata razlika apsorbance ($S^2_{\Delta A}$), prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6. Prema njima su, u donjem delu tabele, statistički parametri AVG(x), AVGDEV(x), MAX(x), MIN(x), RELVAR(x), STDEV(x) izračunati prema jednačinama 3.2-7, 3.2-8, 3.2-9 i 3.2-10.

Tabela 4.1-24. Vrednosti integrala (površine $P_{1,2,4}$) dobijenih UV/VIS spektralnih kriva za ispitivane interakcije hroma(III) i O, N i S-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla; površina ispod komparativnog spektra Cr(III) c = 15,00 μmol/L iznosi P_3 = 1,0697.

Ligand		P_1	P_2	P_4	Opseg λ [nm]
O-donor	Benzoeva kis.	7,1451	8,5242	8,2148	190 ≤ λ ≤ 255
	Salicilna kis.	12,474	14,809	13,544	190 ≤ λ ≤ 330
	Ftalna kis.	25,901	26,176	26,976	190 ≤ λ ≤ 320
	Limunska kis.	2,0058	2,9011	3,0755	190 ≤ λ ≤ 245
	Dikamba	21,129	24,594	22,191	190 ≤ λ ≤ 300
N-donor	2,2'-Bipiridin	45,977	44,241	47,047	190 ≤ λ ≤ 330
	Acetamiprid	15,274	18,561	16,344	190 ≤ λ ≤ 285
	Atrazin	23,542	25,497	24,612	190 ≤ λ ≤ 295
O, N ili S-don.	Alahlor	12,331	16,263	13,402	190 ≤ λ ≤ 255
	Aldikarb	4,8040	7,9112	5,8731	190 ≤ λ ≤ 280
	Trifluralin	16,631	21,315	17,700	190 ≤ λ ≤ 550
	N-aliltiourea	10,130	14,301	11,199	190 ≤ λ ≤ 330

Parametri izračunati prema jednačinama 3.2-2, 3.2-4, 3.2-5 i 3.2-6: relativna razlika površina ($\Delta P_{\%}$), linearni koeficijent korelacije (r), suma apsolutnih vrednosti razlika apsorbance ($S_{\Delta A}$) i suma kvadrata razlika apsorbance ($S^2_{\Delta A}$) – mogu se posmatrati samo kao kvalitativni indikator ili, najviše, kao semikvanitativni pokazatelj interakcije liganda i hroma(III), imajući u vidu da razlike u spektrima i pomeraji intenziteta A i položaja λ_{max} zavise od prirode liganada, karakteristika molekulskih orbitala, promene energije veza i elektronske konfiguracije kompleksa u odnosu na individualne vrste liganda i metalnog jona, konstante stabilnosti kompleksa pri datim uslovima itd.

Tabela 4.1-25. Uporedni pregled numeričkih kvantifikatora razlika UV/VIS spektara monokoponentnih sistema (rastvor liganda) i binarnih sistema (rastvor ligand – Cr^{3+}).

Ligand		$\Delta P_{\%}$	r	$S_{\Delta A}$	$S^2_{\Delta A}$	Opseg λ [nm]
O-donor	Benzoeva kis.	3,629%	0,99756	1,5490	0,06964	$190 \leq \lambda \leq 255$
	Salicilna kis.	8,542%	0,99808	2,9655	0,05298	$190 \leq \lambda \leq 330$
	Ftalna kis.	–3,056%	0,98782	9,0534	1,01692	$190 \leq \lambda \leq 320$
	Limunska kis.	–6,011%	0,99790	1,3350	0,05400	$190 \leq \lambda \leq 245$
	Dikamba	9,771%	0,99887	4,1223	0,16441	$190 \leq \lambda \leq 300$
N-donor	2,2'-Bipiridin	–6,342%	0,97937	18,187	1,64790	$190 \leq \lambda \leq 330$
	Acetamiprid	11,94%	0,99581	3,7523	0,08411	$190 \leq \lambda \leq 285$
	Atrazin	3,471%	0,99836	1,4191	0,03912	$190 \leq \lambda \leq 295$
O, N ili S-don.	Alahlor	17,59%	0,91191	10,121	2,12877	$190 \leq \lambda \leq 255$
	Aldikarb	25,76%	0,99609	3,4190	0,07351	$190 \leq \lambda \leq 280$
	Trifluralin	16,96%	0,99525	2,4258	0,04938	$190 \leq \lambda \leq 550$
	N-aliltiourea	13,52%	0,95383	8,3919	0,43262	$190 \leq \lambda \leq 330$
	AVG(x)	7,981	0,9842	5,5619	0,48444	
	AVGDEV(x)	8,036	0,0179	3,9178	0,55670	
	MAX(x)	25,76	0,99887	18,187	2,1287	
	MIN(x)	–6,342	0,91191	1,335	0,03912	
	RELVAR(x)	0,2503	0,2062	0,2324	0,2664	
	STDEV(x)	9,5783	0,02509	4,8136	0,6895	

Generalno uzevši, veće ($\Delta P_{\%}$), manji (r), veće ($S_{\Delta A}$) i veće ($S^2_{\Delta A}$) ukazuju na izraženiju interakciju liganda i hroma(III), u onoj meri u kojoj se fizičko-hemijska priroda procesa u posmatranom binarnom sistemu može reflektovati na UV/VIS apsorpcione karakteistike.

Vrednost RELVAR(x) za sve posmatrane serije podataka ($\Delta P_{\%}$, r, $S_{\Delta A}$ $S^2_{\Delta A}$) je slična (0,206 do 0,266), tako da sa matematičkog aspekta sva četiri načina komparacije (kvantifikatora razlika) mogu biti formalno uzeta u obzir. Ovo znači da nema kumulacije tačaka oko jedne vrednosti, a vrednosti dobijenih tačaka su relativno dobro disipirane unutar opsega serije definisanog kao ABS[MAX(x) – MIN(x)].

Međutim, poređenjem razlika UV/VIS spektara ispitivanih sistema po različitim načinima komparacije, kako je prikazano u tabeli 4.1-27. daje međusobno bitno različite redoslede liganada po različitim kvantifikatorima, tako da se ne može jednoznačno opredeliti najpogodniji poredbeni parametar.

Relativna razlika površina ($\Delta P_{\%}$) nije pogodna za komparaciju, jer razlika površina P_2 [spektar binarnog sistema ligand + Cr(III)] i P_4 [Σ (spektar 1.(ligand) + spektar 3.(CrIII)] može biti i negativna i pozitivna, te se ni po svom predznaku, niti po apsolutnoj veličini ne može dovesti u vezu sa interakcijom između hroma(III) i odgovarajućeg liganda.

Takođe se može konstatovati, kod pojedinih ispitivanih sistema, da u jednom opsegu talasnih dužina (λ) apsorpcija binarnog sistema ima manju (ili veću) vrednost od zbira apsorpcija dva monokompontena sistema, a u drugom pojasu se dešava pojava suprotnog predznaka – postoji jača (odnosno slabija) apsorpcija, dok je kod nekih sistema apsorpcija gotovo identična (benzoeva kiselina, salicilna kiselina, ftalna kiselina, a naročito 2,2'-

bipiridin i *N*-aliltiourea). Zbog toga ovaj parametar može da samo kvalitativno ukaže na eventualnu interakciju, odnosno razliku u apsorpciji između binarnog sistema i zbirne apsorpcije dva monokompontna sistema. Svrstavanjem ispitivanih sistema po $\Delta P_{\%}$ proizilizi da na primer, 2,2'-bipiridin ima najslabiju interakciju sa hromom(III) što ne odgovara realnom stanju, odnosno literaturnim podacima, a slično se može zaključiti i za limunsku kiselinu, koja je poznata kao dobar helatni agens različite dentatnosti itd.

Tabela 4.1-26. Redosledi liganada, odnosno ispitivanih sistema Cr(III)-ligand, prema rastućoj vrednosti različitih numeričkih kvantifikatora razlika UV/VIS spektara monokoponentnih sistema (rastvor ligand) i binarnih sistema (rastvor ligand – Cr^{3+}).

Br.	Redosled prema $\Delta P_{\%}$		Redosled prema *r*		Redosled prema $S_{\Delta A}$		Redosled prema $S^2_{\Delta A}$	
1.	2,2'-Bipiridin	-6,342%	Alahlor	0,91191	Limunska kis.	1,3350	Atrazin	0,03912
2.	Limunska kis.	-6,011%	*N*-aliltiourea	0,95383	Atrazin	1,4191	Trifluralin	0,04938
3.	Ftalna kis.	-3,056%	2,2'-Bipiridin	0,97937	Benzoeva kis.	1,5490	Salicilna kis.	0,05298
4.	Atrazin	3,471%	Ftalna kis.	0,98782	Trifluralin	2,4258	Limunska kis.	0,05400
5.	Benzoeva kis.	3,629%	Trifluralin	0,99525	Salicilna kis.	2,9655	Benzoeva kis.	0,06964
6.	Salicilna kis.	8,542%	Acetamiprid	0,99581	Aldikarb	3,4190	Aldikarb	0,07351
7.	Dikamba	9,771%	Aldikarb	0,99609	Acetamiprid	3,7523	Acetamiprid	0,08411
8.	Acetamiprid	11,94%	Benzoeva kis.	0,99756	Dikamba	4,1223	Dikamba	0,16441
9.	*N*-aliltiourea	13,52%	Limunska kis.	0,99790	*N*-aliltiourea	8,3919	*N*-aliltiourea	0,43262
10.	Trifluralin	16,96%	Salicilna kis.	0,99808	Ftalna kis.	9,0534	Ftalna kis.	1,01692
11.	Alahlor	17,59%	Atrazin	0,99836	Alahlor	10,121	2,2'-Bipiridin	1,64790
12.	Aldikarb	25,76%	Dikamba	0,99887	2,2'-Bipiridin	18,187	Alahlor	2,12877

Linearni koeficijent korelacije (*r*) predstavlja meru koliko jedna serija podataka (tačke spektra) prate u porastu ili u smanjenju drugu nezavisnu seriju podataka. Iako u širokoj statističkoj upotrebi, ni ovaj parametrar ne reprezentuje na smislen način ono što se vizuelnim putem može uočiti kao razlika dobijenih spektara za pojedine ispitivane sisteme.

Suma apsolutnih vrednosti razlika apsorbance za spektre 2. i 4. ($S_{\Delta A}$), kao i *suma kvadrata razlike apsorbance* za spektre 2. i 4. ($S^2_{\Delta A}$) imaju nešto bolji poredbeni fizički smisao jer bolje reprezentuju ono što se vizuelnom opservacijom uočava kao razlika dve spektralne linije, s tim što redosled prema komparativnom parametru $S^2_{\Delta A}$ unekoliko bolje odgovara uočljivim razlikama koje nastaju u binarnim sistemima alahlora, *N*-aliltiourea i 2,2'-bipiridina, a malu UV/VIS detektovanu interakciju između hroma(III) i trifluralina, odnosno atrazina, ispravno svrstava u kategoriju malo primetnih spektrofotometrijskih razlika.

Ukupno posmatrano, UV/VIS spektralna karakterizacija u pogledu praćenja interakcija u različitim sistemima, može da ima samo kvalitativni ili semikvantitativni karakter, jer bez obzira na statističku obradu međusobnih sistema, ne mogu se izvući pravilni zaključci o jačini interakcije hroma(III) i posmatrane serije liganada. Na primer, ni jedan način poređenja ne ukazuje dovoljno dobro na redosled interakcija u seriji ispitivanih O-donor liganada koji pripadaju ispitivanim aromatičnim kiselinama, dakle predstavljaju homologi niz jedinjenja bliske strukture.

Ukoliko je razlika u spektrima liganda i analognog spektra liganda sa Cr(III) mala ili nepostojeća, ne može se time sa sigurnošću isključiti koordinaciona interakcija, jer UV/VIS apsorpcija novonastalog sistema sa novom elektronskom konfiguracijom može biti slična sa apsorpcijom nevezanog liganda, i stoga je razlika teško uočljiva UV/VIS spektrofotometrijskom analizom.

Sa druge strane, može se konstantovati da određena komparativna razlika u spektrima ukazuje na postojanje interakcija, i to najverovatnije koordinacione interakcije u binarnom sistemu ligand-Cr(III), jer nema osnova za pretpostavku da neki drugi uzrok može dovesti do merljivih *hipohromnih*, *hipsohromnih*, *batohromnih* ili *hiperhromnih* pomeranja u rastvorima u datim uslovima merenja. Hipoteza da usled prisustva Cr(III) dolazi do katalitičke degradacije liganda ili *redoks*-reakcija sa ligandom je malo verovatna, s obzirom na kratko vreme pripreme i maturacije uzoraka (oko 30 min), zatim na relativno slabe *redoks*-potencijale (pozitivne ili negativne) liganada i hroma(III) (tabela 2.1-1. i slika 2.4-10.), sve to pri niskim koncentracijama rastvora i u neagresivnoj pH sredini i bez hemijski aktivnih rastvarača. Takođe, u slučaju strukturne degradacije molekula liganda u prisustvu hrom(III)-hlorida, može se očekivati da bi superponirani elektronski spektri nastalih produkata bili bitno drugačijeg oblika i intenziteta i ne bi pokazivali, na primer, hiperhromni efekat uz zadržavanje približno istog oblika spektra samog liganda.

Na osnovu prethodne diskusije, može se reći da UV/VIS spektrofotometrijska karakterizacija ne može da pruži lako uočljivu i logičnu diferencijaciju fizičko-hemijske prirode procesa apsorpcije svetlosti u UV/VIS području, kod različitih liganada, odnosno njihovih kompleksa, što predstavlja fundamentalno ograničenje. Zato se UV/VIS spektrofotometrija u diskutovanom smislu, može koristiti za brza, lako izvodljiva i dostupna preliminarna, ili probna ispitivanja interakcija, usled jednostavnosti pripreme rastvora, niske cene instrumenta i nezahtevne interpretacije dobijenih spektara.

Suprotno tome, kako je poznato, u okviru praćenja samo jednog sistema metal-ligand, UV/VIS tehnikom se mogu dobiti vrlo dobri i upotrebljivi rezultati (npr. za određivanje konstante stabilnosti kompleksa), ali samo ako se ispitivanje vrši u opsegu koncentracija koje relevantne apsorpcione trake čini detektibilnim na instrumentu (obično 10^{-3} do 10^{-2} mol/L).

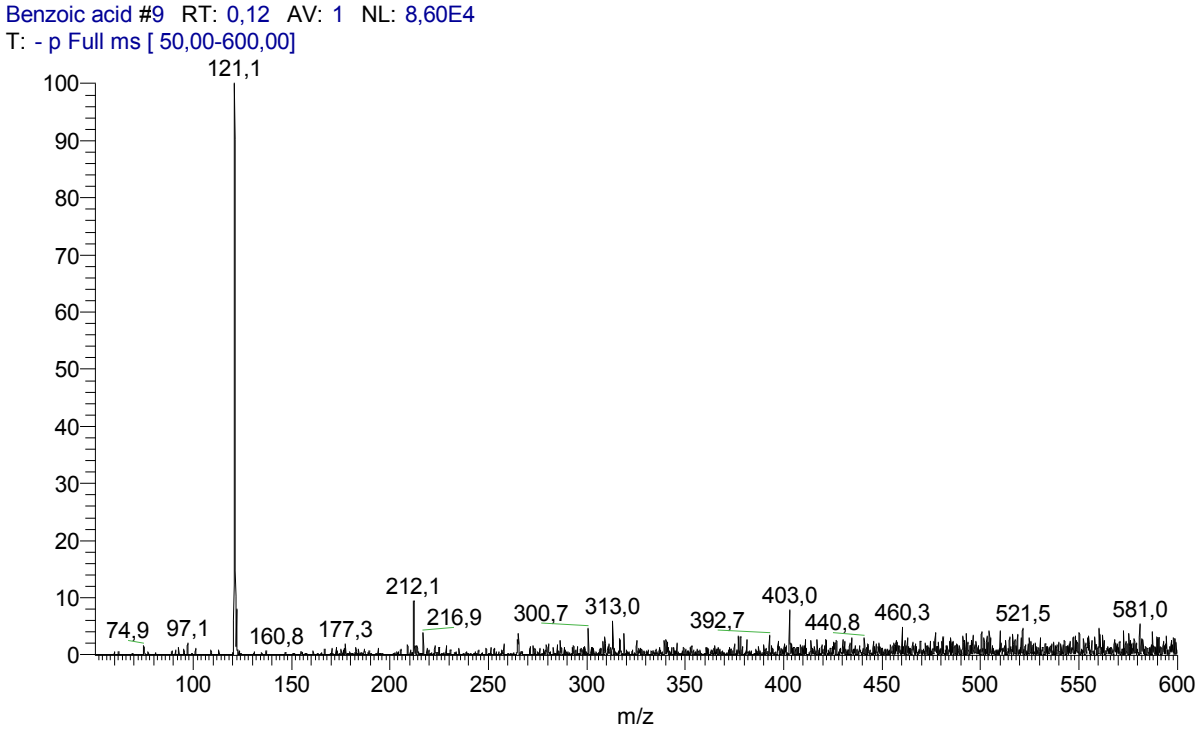
U opsegu koncentracija liganda i hroma(III) koje su ispitivane u ovom radu (oko 10^{-5} mol/L), a koje su odabrane jer po redu veličine približno odgovaraju onima u prirodnoj sredini, apsorpcija može biti suviša mala, to jest ispod granice osetljivosti VIS spektro-fotometra. Na primer, u binarnom sistemu 2,2-bipiridina i hroma se mogu detektovati trake u vidljivoj oblasti od $[Cr(bipy)_3]^{3+}$, $[Cr(bipy)_3]^{3-}$ i drugih heteroleptičkih kompleksa, ali u uslovima većih koncentracija. U rangu koncentracija oko 10^{-5} mol/l dovoljno intenzivnu apsorpciju mogu da daju uglavnom samo CT (*charge-transfer*) kompleksi vrlo velike molarne apsorptivnosti (ε), što najčešće nije slučaj. Od ispitivanih liganada samo 2,2-bipiridin pri interakciji sa metalima daje komplekse sa CT karakteristikama koje se reflektuju u UV/VIS spektru (slika 2.1-9.), sa rezultujućim apsorpcionim trakama na nižim talasnim dužinama ($\lambda <$ 350 nm).

4.2 Rezultati ispitivanja interakcije hroma sa antropogenim ligandima i model huminskim supstancama ESI-MS tehnikom

4.2.1 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – O-donor ligandi

4.2.1.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – benzoeva kiselina

Svojom molekulskom strukturom benzoeva kiselina u uslovima ESI izvora dozvoljava nastanak isključivo deprotonizovanog molekulskog jona, odnosno anjona, tako da je odabran negativni polaritet instrumenta. Osnovni jon *m/z* 121 (rel. int. 100%) je dominatan (osnovni) jon, a ostale jonske vrste imaju mali intenzitet signala (rel. int. < 15%). Spektar pozitivnog ESI polariteta je dat u *Prilogu*.



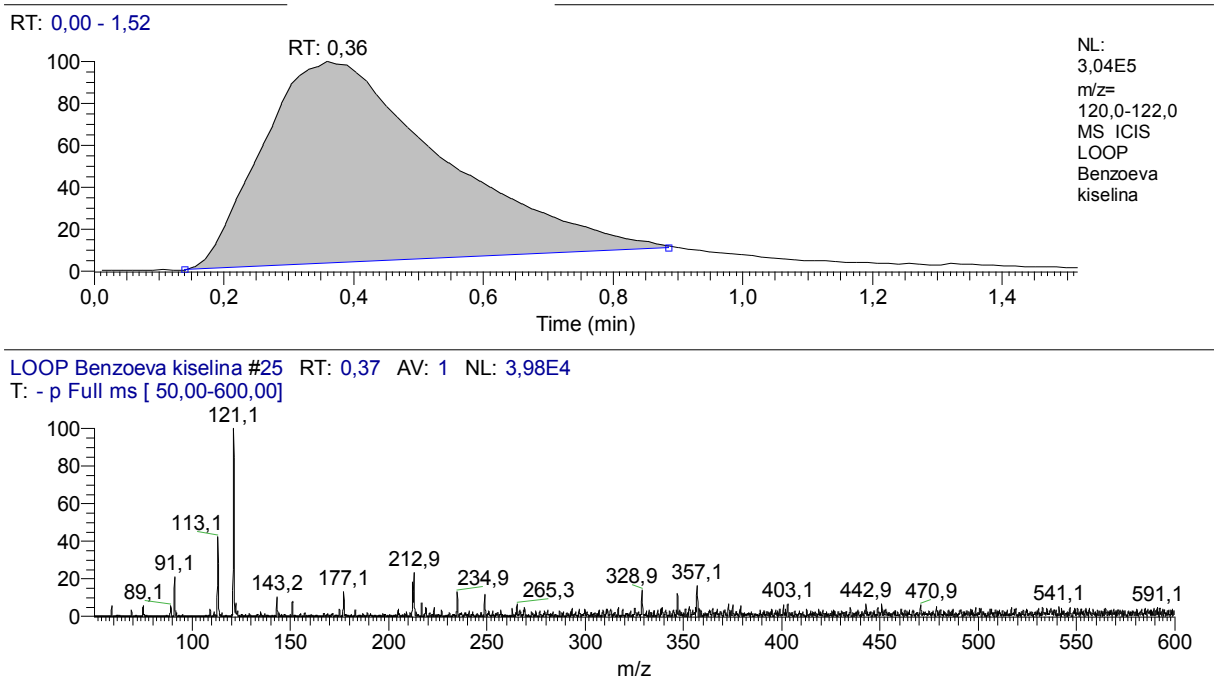
INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,94
Aux Gas Flow Rate():	1,60
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	24,37
Capillary Temp (C):	200,10
Tube Lens Voltage (V, set po	15,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-5,05
Lens Voltage (V):	-22,40
Multipole 2 Offset (V):	-9,22
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-46,92
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,10
Fine Trap DC Offset (V):	-10,04
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	58,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-1. ESI MS spektar benzoeve kiseline; c = 10,00 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Optimizacija radnih uslova instrumenta – ESI izvora i jonske optike – je izvršena prema benzoatnom jonu *m/z* 121, koji je odabran kao monitoring-jon. ESI MS/MS spektar benzoeve kiseline sa *parent*-jonom *m/z* 121 pri E_{coll} = 31% je dao fragment dekarboksilovanog (gubitak ugljen-dioksida) molekulskog jona $[M–CO_2]^-$ na *m/z* 77, a prisutne su i

produkti sekundarnih reakcija sa neutralnim vrstama, i to sa signalima *m/z* 139 (adukt benzoatnog jona sa vodom $[M+H_2O]^-$) i *m/z* 185 (adukt sa metanolom $[M+2CH_3OH]^-$). Slika 4.2-1. prikazuje ESI MS spektar benzoeve kiseline, kao i radne uslove u jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije, kako je prikazano u pratećoj tabeli.

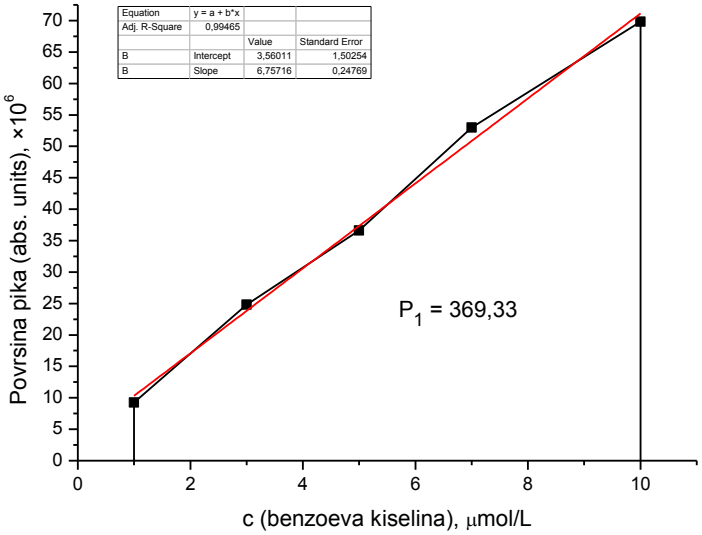


Slika 4.2-2. ESI MS LOOP-hromatogram benzoeve kiseline (bez prisustva hroma); *c* = 7,00 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min.

Kvantitativna analiza benzoeve kiseline, odnosno anjona $[M–H]^-$ je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora određene koncentracije benzoeve kiseline (20 µL po merenju) primenom LOOP-a aparata. ESI MS LOOP-hromatogram je pokazao dobar oblik i integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 120 – 122 (slika 4.2-2.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 120 – 122 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-1. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-3.) koja aproksimira posmatranu zavisnost. U spektru LOOP-hromatograma se uočava jasan $[M–H]^-$ *m/z* 121.

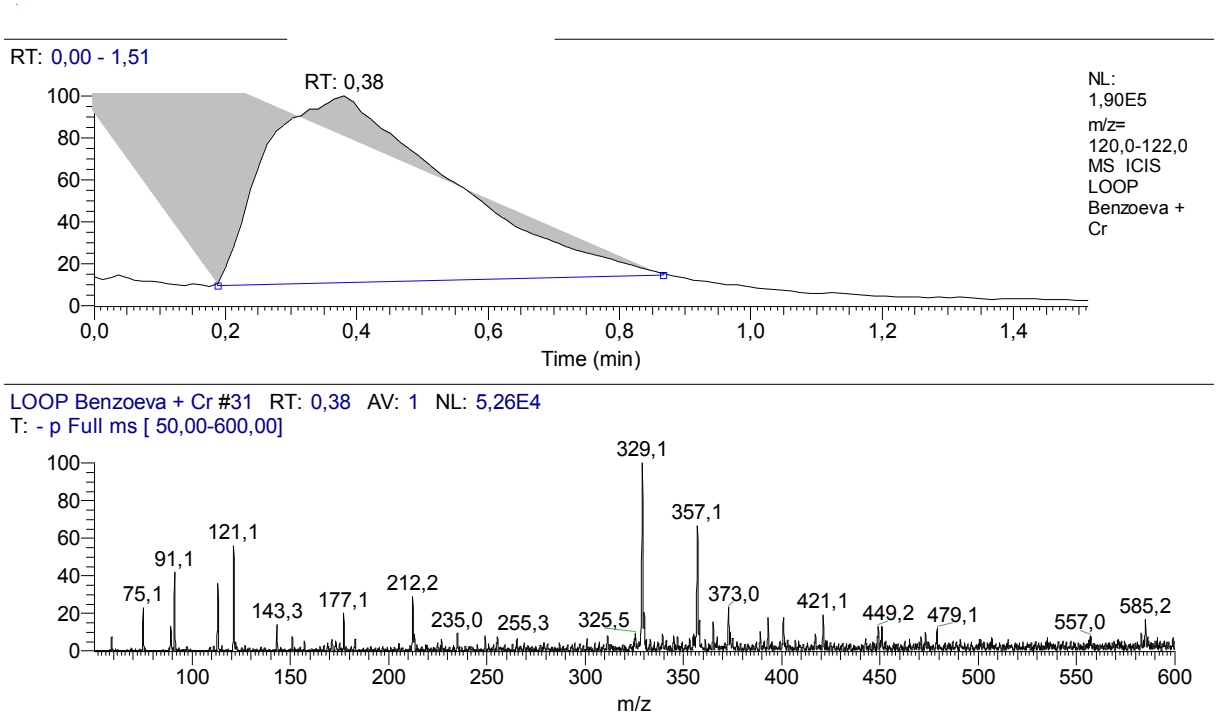
Tabela 4.2-1. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 120 – 122, u zavisnosti od koncentracije benzoeve kiseline (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija benzoeve kiseline, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10⁶**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,00	9,54	8,11	10,08	9,24
3,00	26,18	24,21	24,04	24,81
5,00	38,64	35,96	35,27	36,62
7,00	56,59	51,10	51,32	53,00
10,0	71,57	69,02	68,83	69,81



Slika 4.2-3. Odnos koncentracije benzoeve kiseline i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 120– 122 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 369,33. Dobijena prava $y = 3{,}560 + 6{,}757x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija benzoeve kiseline od oko 1 – 10 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9946. Interakcija hroma sa benzoevom kiselinom je dalje ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.

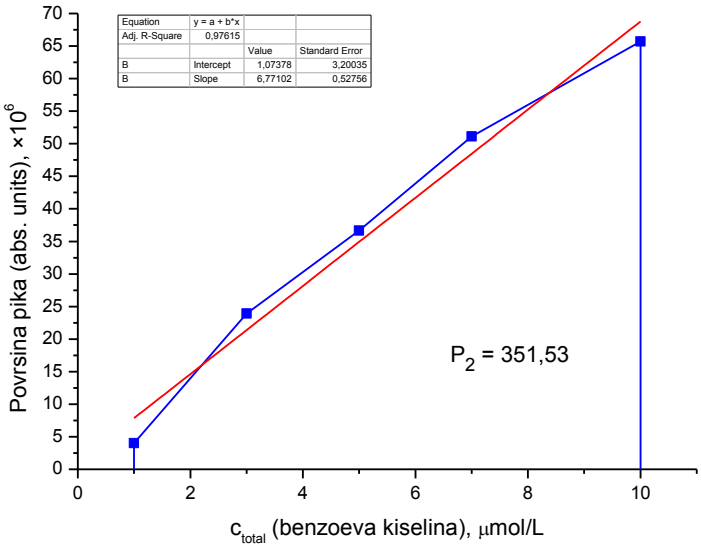


Slika 4.2-4. ESI MS LOOP-hromatogram benzoeve kiseline (*c* = 1,00 μmol/L) i hroma (*c* = 9,0 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

Analogni ESI MS LOOP-hromatogrami benzoata sa hromom (slika 4.2-4.) su dobijani pri istim instrumentalnim uslovima kao kod hromatograma monokomponentnog sistema benzoeve kiseline u metanol/vodenom rastvoru. U binarnom sistemu je primetno slabljenje signala na *m/z* 121 i pojačanje relativnih intenziteta pikova na *m/z* 327, 329, 373, 421, 449 itd. što može biti posledica interakcije sa Cr(III). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 120 – 122 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti date u tabeli 4.2-2. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem benzoeva kiselina – hrom(III), prikazana grafički na slici 4.2-5.

Tabela 4.2-2. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 120– 122, u zavisnosti od koncentracije benzoeve kiseline i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Benzoeva kis.	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,00	9,00	3,92	3,32	4,82	4,02
3,00	7,00	20,00	25,66	26,14	23,93
5,00	5,00	37,89	36,83	35,27	36,66
7,00	3,00	51,20	52,11	50,04	51,12
10,0	1,00	68,54	62,30	66,21	65,68



Slika 4.2-5. Odnos koncentracije benzoeve kiseline u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 120 – 122; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 351,53. Dobijena prava $y = 1{,}074 + 6{,}771x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija benzoeve kiseline od oko 1 do 10 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije $R^2 = 0{,}9762$. Relativna razlika površina izražena je kao:

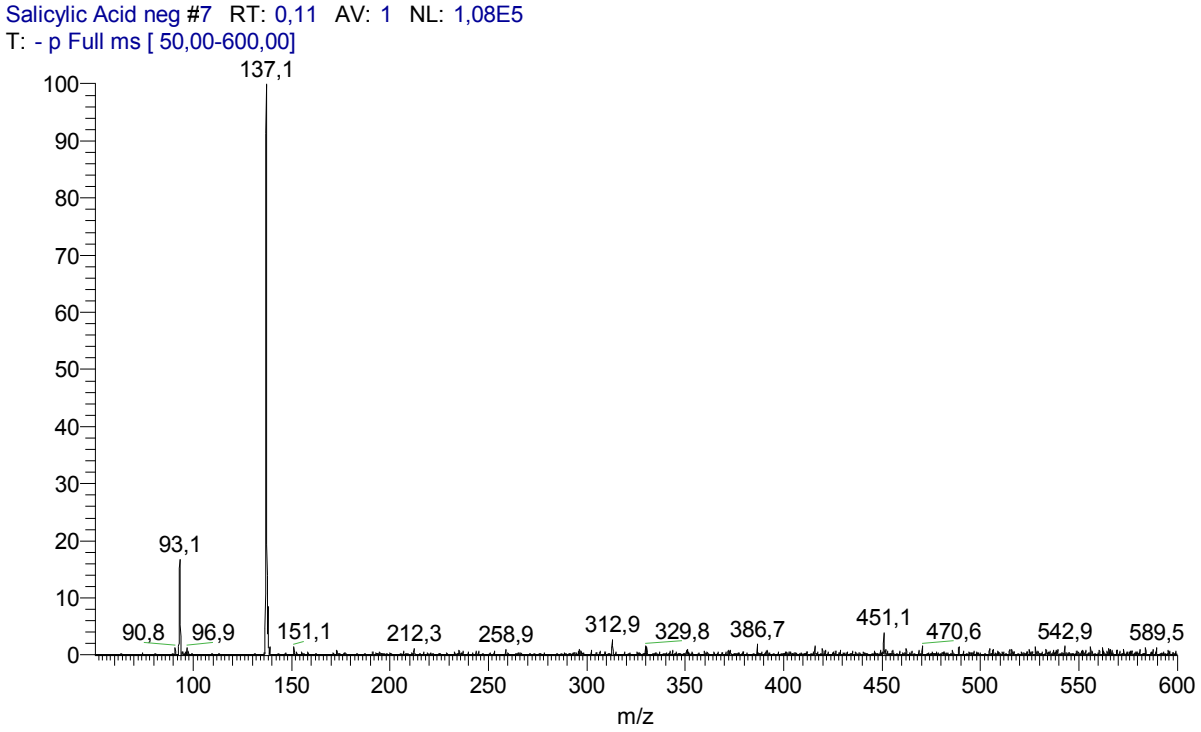
$$\Delta P_{(1-2)\%} = 4{,}819\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{ESI\%} = 4{,}120\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 4,819% manja od analogne površine za benzoevu kiselinu bez prisustva hroma, a korigovana relativna razlika površina, dobijena primenom korekcionog faktora, ima vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 4,120% što ukazuje na malu koordinacionu interakciju benzoeve kiseline i hroma(III) u intervalu ispitivanih koncentracija.

4.2.1.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – salicilna kiselina

Odabran je negativan mod ESI izvora u skladu sa preliminarnim eksperimentalnim probama, što potvrđuje dominantan proces deprotonizacije salicilne kiseline u analizaranom rastvoru i ESI izvoru. Salicilatni jon na *m/z* 137 (rel. int 100%) jeste bazni jon ESI spektra. Aduktni i dimerni joni nisu primetni u okvirima osetljivosti i rezolucije instrumenta, a struktura spektra je relativno jednostavna, sa malim brojem signala.

Optimizacija radnih uslova ESI izvora, i MS analizatora je izvšena za jon m/z 137, a parametri snimanja kao i spektar salicilne kiseline u negativnom modu su prikazani na slici 4.2-6. Spektar salicilne kiseline u pozitivnom modu je dat u *Prilogu* rada.



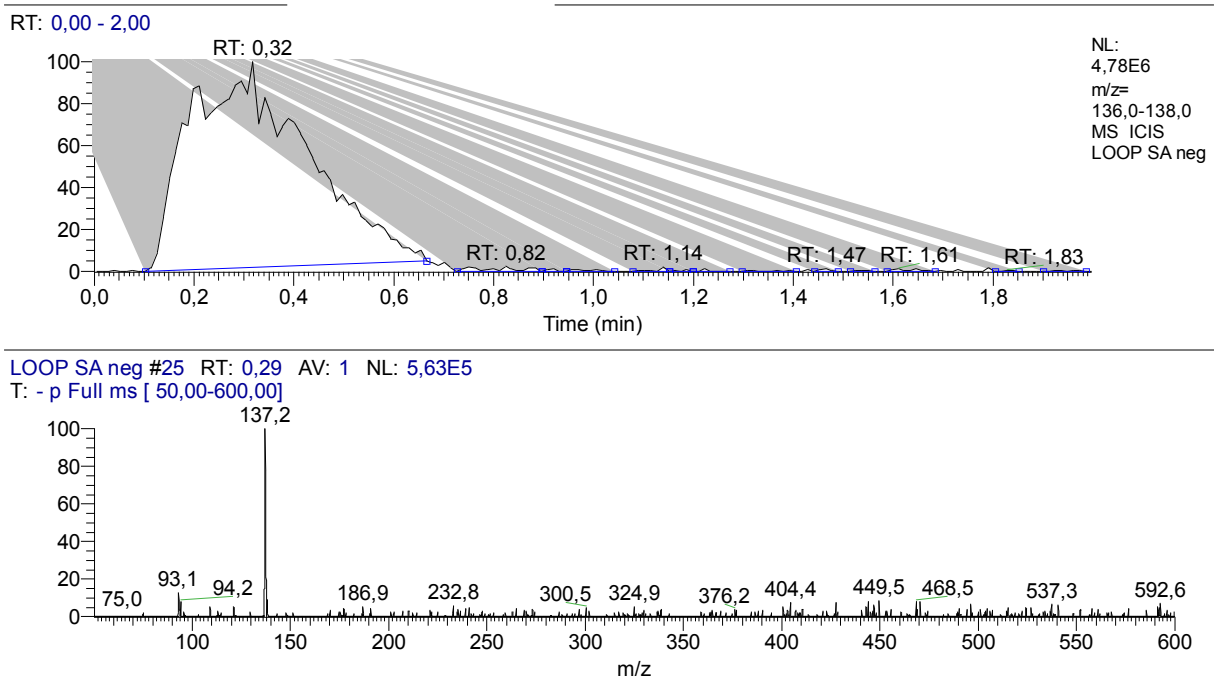
INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /NEGATIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,94
Aux Gas Flow Rate():	1,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-3,95
Capillary Temp (C):	201,50
Tube Lens Voltage (V):	5,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	8,63
Lens Voltage (V):	34,47
Multipole 2 Offset (V):	10,24
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	32,27
Coarse Trap DC Offset (V):	10,17
Fine Trap DC Offset (V):	10,27
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	159,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-6. ESI MS spektar salicilne kiseline *c* = 11,75 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Za razliku od benzoeve kiseline, salicilna kiselina, čak i pri *soft ionization* uslovima ESI izvora, pokazuje primetnu MS^1 fragmentaciju uz gubitak CO_2 (dekarboksilacija), sa signalom *m/z* 93 (rel. int. 16,74%) od $[M–H–CO_2]^-$, odnosno $(C_6H_5O)^-$.

MS/MS (MS^2) spektar *parent*-jona *m/z* 137 (→ *Prilog*) na E_{coll} = 30% pokazuje samo intenziviranje dekarboksilacionog procesa, bez produkcije novih fragmenata i bez primetnih sekundarnih reakcija sa neutralnim vrstama.



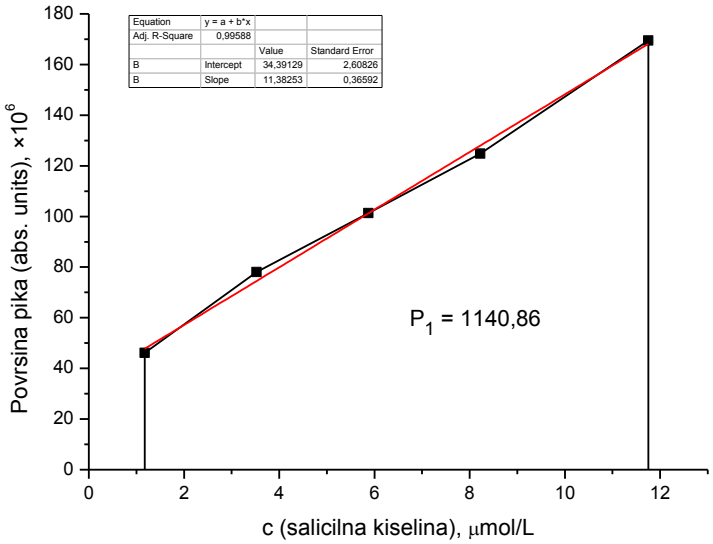
Slika 4.2-7. ESI MS LOOP-hromatogram salicilne kiseline (bez prisustva hroma); *c* = 3,525 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

ESI MS LOOP kvantitativna analiza salicilne kiseline je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora (20 μL) odgovarajućih koncentracija. LOOP-hromatogram (sa uslovima ESI i jonskom optikom optimizovanom na *m/z* 137) je pokazao slabiji integritet pika (nazubljen oblik, slika 4.2-7.), kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 136 – 138, ali potpuno zadovoljavajući u pogledu konzistentnosti i dužine retencionog vremena.

. Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova u ovom opsegu algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-3. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-8.). U spektru ESI MS LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M–H]^-$ *m/z* 137, sa nizom drugih signala malog intenziteta.

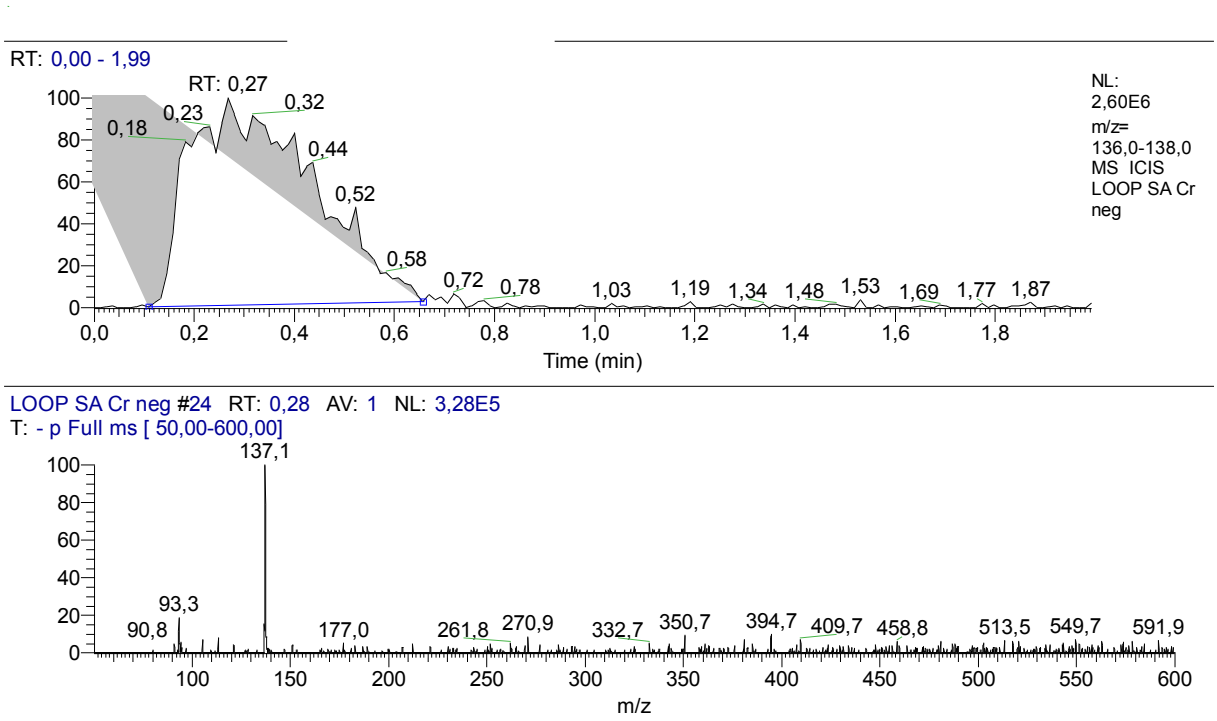
Tabela 4.2-3. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 136 – 138, u zavisnosti od koncentracije salicilne kiseline (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 120 sekundi.

Koncentracija salicilne kiseline, μmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10⁶**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,175	43,14	47,05	48,10	46,10
3,525	76,46	75,23	82,31	78,00
5,875	98,06	101,91	103,98	101,32
8,225	128,52	120,08	125,80	124,80
11,75	169,77	166,13	172,54	169,48



Slika 4.2-8. Odnos koncentracije salicilne kiseline i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 136 – 138 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 1140,86. Dobijena prava $y = 34{,}39 + 11{,}38x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija salicilne kiseline od oko 1 – 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9959. Interakcija hroma sa salicilnom kiselinom je zatim ispitivana okviru ovog linearnog opsega, na analogan način, pod istim radnim uslovima intrumenta.



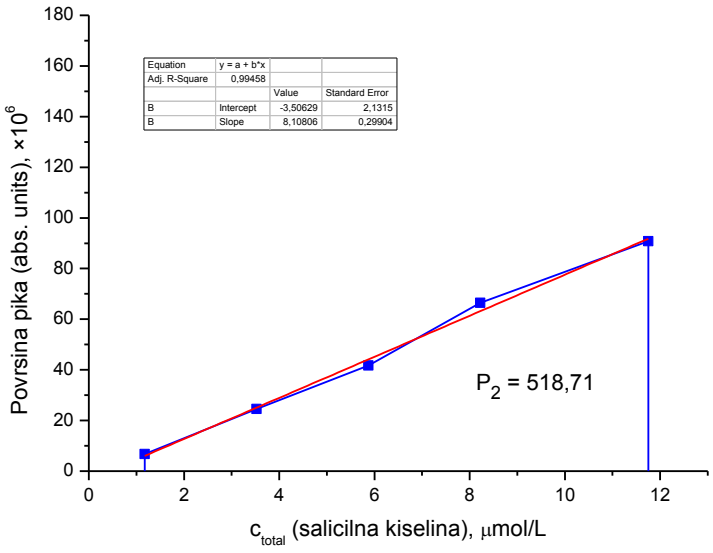
Slika 4.2-9. ESI MS LOOP-hromatogram salicilne kiseline (c = 5,875 μmol/L) i hroma (c = 5,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

U tom cilju, unošenjem serije rastvora binarnog sistema salicilna kiselina – hrom(III) odgovarajućih koncentracija, dobijeni su analogni ESI MS LOOP-hromatogrami (slika 4.2-9.) iz kojih su izračunate površine pikova za opseg *m/z* 136 – 138 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), a dobijene vrednosti su prikazane u tabeli 4.2-4. Na osnovu njih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za sistem salicilna kiselina – hrom (slika 4.2-10.).

Za binarni sistem salicilna kiselina – hrom(III) je, nezavisno od ove kvantifikacije, urađeno sinimanje ESI MS spektra u suprotnom, pozitivnom modu izvora. Radni uslovi pri tome nisu posebno optimizovani, odnosno primenjeni su uslovi *flow injection* analize u negativnom modu, ali sa obrnutim polaritetima napona kapilare i jonske optike analizatora (→ *Prilog*). Dobijeni spektar pokazuje pojavu novih signala znatnog intenziteta, m/z 346, 377, 426, 444, 471, 498, 503, 509 itd. što ukazuje na pojavu novih kompleksnih jona pozitivnog naelektrisanja, nastalih koordinacionom interakcijom liganda i metalnog jona. Uopšte, koordinacija trovalentnim hromom pretpostavlja (ali generalno ne garantuje) veću mogućnost nastanka pozitivnih jona, čiji su konstituenti jednostruko negativno naelektrisani ligandi kao što je salicilatni jon. Drugim rečima, signifikantnost MS spektra salicilne kiseline je dodatkom hroma(III) prenesena u opseg pozitivnog polariteta ESI izvora.

Tabela 4.2-4. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 136 – 138, u zavisnosti od koncentracije salicilne kiseline i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 120 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Salicilna kiselina	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,175	9,00	5,96	7,15	6,96	6,69
3,525	7,00	25,24	22,32	26,20	24,59
5,875	5,00	40,04	41,00	43,97	41,67
8,225	3,00	64,25	66,76	68,22	66,41
11,75	1,00	87,36	93,84	91,23	90,81



Slika 4.2-10. Odnos koncentracije salicilne kiseline u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 136 – 138; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

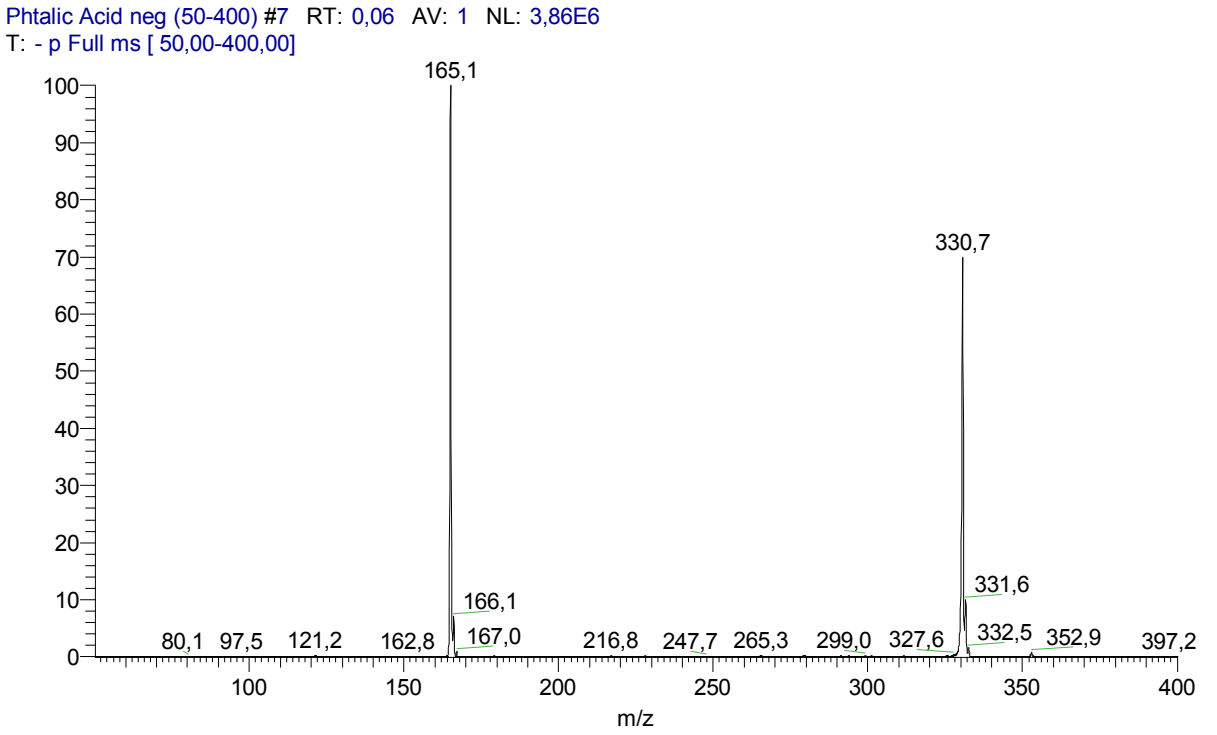
Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 518,71. Dobijena prava $y = -3{,}506 + 8{,}108x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija salicilne kiseline od oko 1 do 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9946. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 54{,}53\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{ESI\%} = 54{,}78\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 54,53% manja od analogne površine za salicilnu kiselinu bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ je 54,78% što pokazuje značajnu koordinacionu interakciju salicilne kiseline i hroma(III), koja je znatno veća u odnosu na benzoevu kiselinu.

4.2.1.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – ftalna kiselina

Snimanje ESI MS spektara ftalne kiseline je vršeno u negativnom modu instrumenta, imajući u vidu kiseli karakter molekula, sa dva karboksilna H-atoma. *Tunning* ESI izvora i jonske optike je izvršen prema karakteričnom signalu hidrogenftalata, $[M–H]^-$ *m/z* 165 (rel. int. 100%), a dobijeni spektar i parametri radnih uslova su prikazani na slici 4.2-11.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /NEGATIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,94
Aux Gas Flow Rate():	1,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-19,18
Capillary Temp (C):	201,50
Tube Lens Voltage (V):	55,00

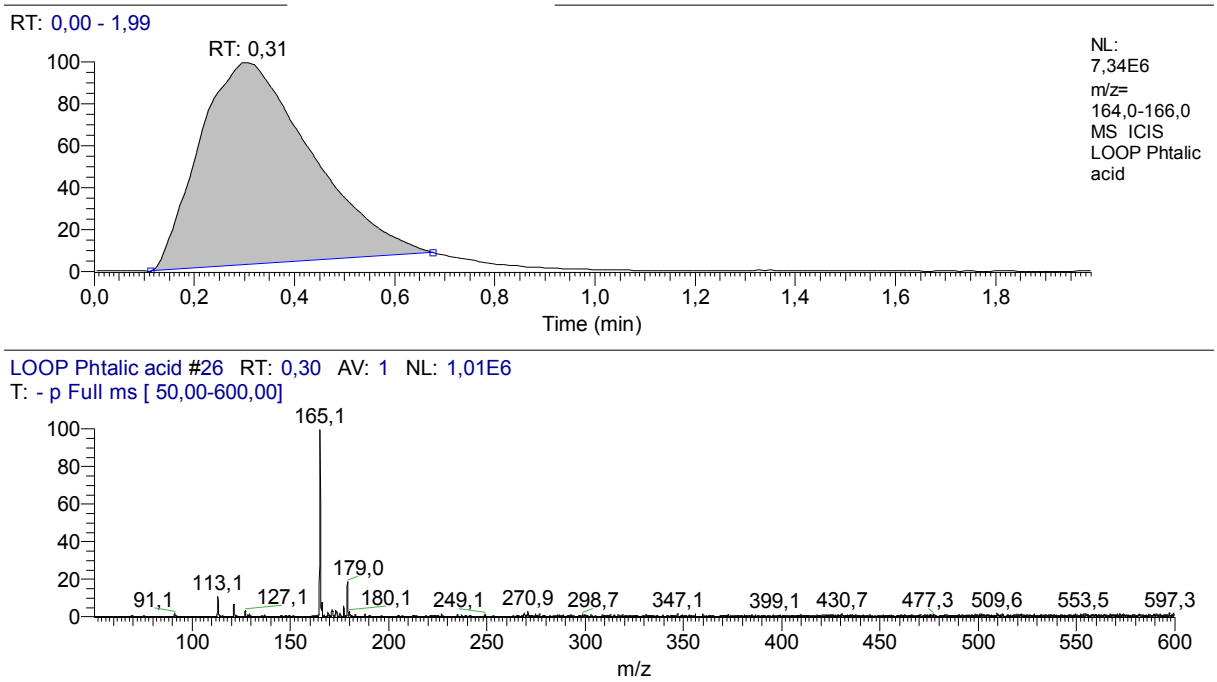
ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	4,61
Lens Voltage (V):	20,27
Multipole 2 Offset (V):	9,22
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	54,52
Coarse Trap DC Offset (V):	10,17
Fine Trap DC Offset (V):	10,27
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	611,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-11. ESI MS spektar ftalne kiseline *c* = 13,85 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Za razliku od salicilne kiseline, ftalna kiselina pod datim uslovima jonizacije ne pokazuje dekarboksilaciju (gubitak CO_2), niti tendenciju za građenje anjonskih adukta s prisutnim jonskim i neutralnim vrstama matriksa, ali je karakteristično građenje jednostruko deprotonovanog mononaelektrisanog dimera $[2M–H]^-$ na *m/z* 331 (rel. int. 70,98) što predstavlja jedinu anjonsku vrstu koja se može uočiti u ESI MS spektru, osim pika molekulskog jona.

Sa druge strane, preliminarno ispitivanje, odnosno opredeljivanje pogodnog ESI moda je ukazalo da i pozitivan mod daje signifikantan spektar, suprotno očekivanjima za jako kiseli molekul ftalne kiseline. Pokazalo se da je nejonizovana ftalna kiselina dovoljno dobar nukleofil koji može da pri uslovima ESI jonizacije nagradi različite katjonske forme. ESI MS spektar u pozitivnom modu (→ *Prilog*) sadrži signale *m/z* 149 (protonovani anhidrid ftalne kiseline $[M–H_2O+H]^+$), *m/z* 167 (protonovana ftalna kiselina $[M+H]^+$), *m/z* 189 (adukt ftalne kiseline i natrijuma $[M+Na]^+$), *m/z* 269 (adukt ftalne kiseline, kalijuma i metanola $[M+2CH_3OH+K]^+$), *m/z* 355 (adukt dimera ftalne kiseline sa natrijumom $[2M+Na]^+$) itd.

MS/MS spektar *parent*-jona $[M–H]^-$ *m/z* 165 na E_{coll} = 27% pokazuje da ESI izvor u negativnom modu fragmentiše hidrogenftalat do benzoata (dekarboksilacija) dajući osnovni *daughter*-jon *m/z* 121, a daljim gubitkom CO_2 nastaje daleko manje zastupljen karbanjon $[C_6H_5]^-$ *m/z* 77, energetski stabilizovan delokalizacijom π-elektrona.

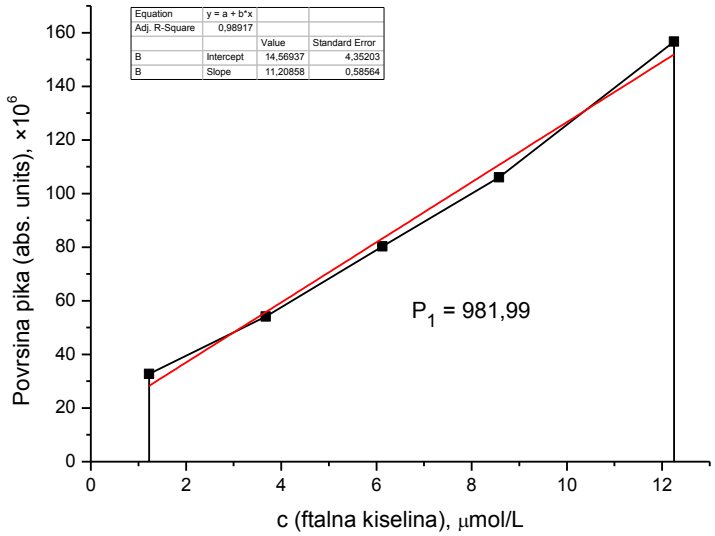


Slika 4.2-12. ESI MS LOOP-hromatogram ftalne kiseline (bez prisustva hroma); *c* = 8,575 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

Kvantifikacija ftalne kiseline je izvršena u negativnom ESI modu injektiranjem tačnih zapremina (20 μL) rastvora odgovarajućih koncentracija, primenom LOOP-a aparata. LOOP-hromatogram je pokazao vrlo dobar integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 164 – 166 (slika 4.2-12). U spektru LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M–H]^-$ *m/z* 165, dok su pri uslovima snimanja, potpuno potisnut signal jona $[2M–H]^-$ *m/z* 331. Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 164 – 166 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-5. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-13.).

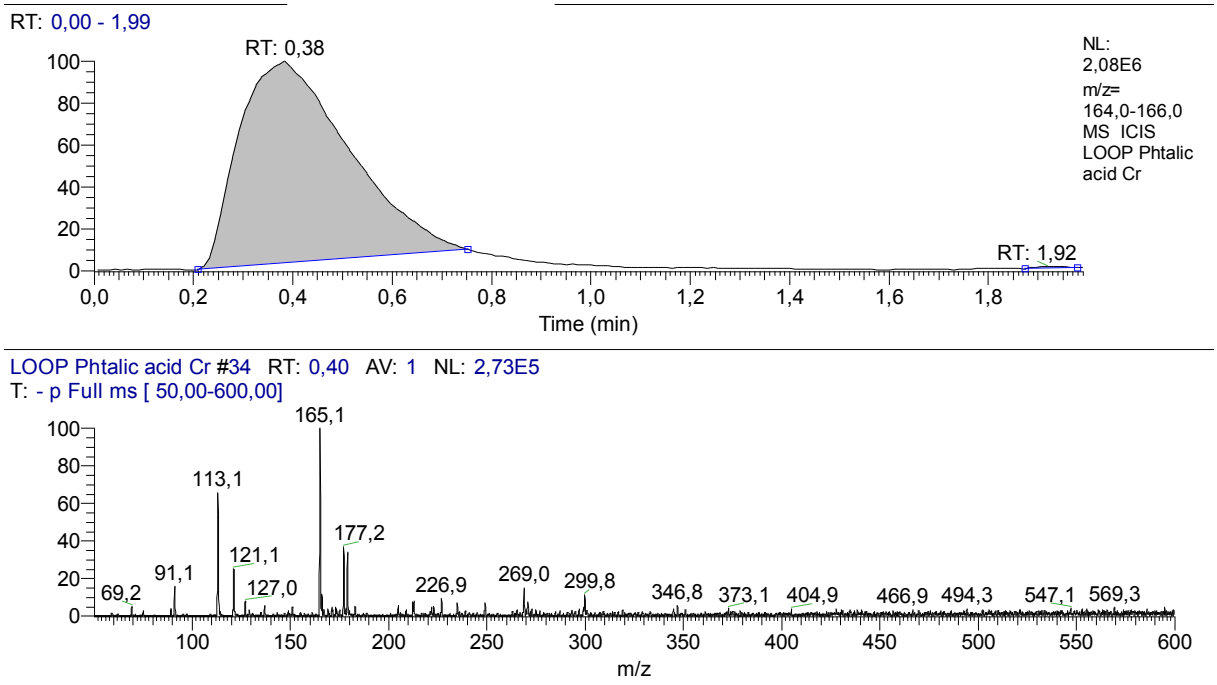
Tabela 4.2-5. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 164 – 166, u zavisnosti od koncentracije ftalne kiseline (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 120 sekundi.

Koncentracija ftalne kiseline, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,225	35,20	32,00	31,06	32,75
3,675	52,23	53,28	56,84	54,12
6,125	80,64	81,71	78,53	80,29
8,575	103,27	109,56	105,29	106,04
12,25	153,52	155,28	161,11	156,64



Slika 4.2-13. Odnos koncentracije ftalne kiseline i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 164 – 166 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 981,99. Dobijena prava $y = 14{,}57 + 11{,}21x$ pokazuje, za uslove ESI MS, relativno dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija ftalne kiseline od oko 1 – 12 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9892. Koordinaciona interakcija hroma sa ftalnom kiselinom, odnosno slabljenje signala *m/z* 165 u LOOP hromatogramu je zatim određivano u okviru ovog linearnog opsega.

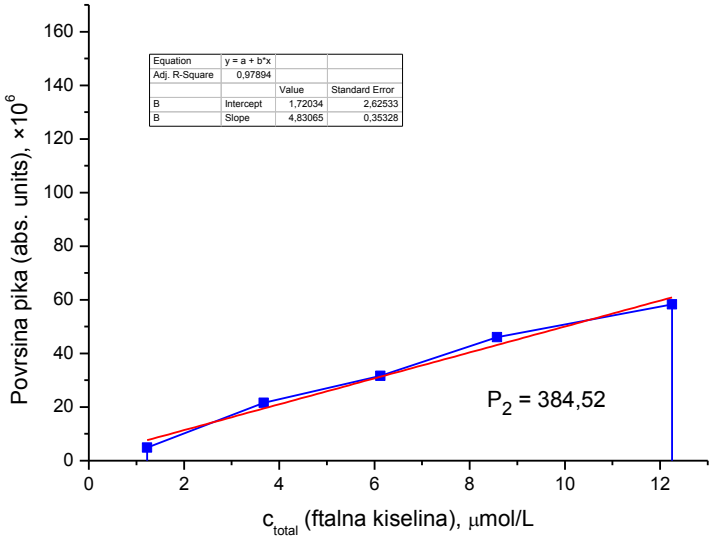


Slika 4.2-14. ESI MS LOOP-hromatogram ftalne kiseline (c = 6,125 µmol/L) i hroma (c = 5,00 µmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 µL/min.

Kao u procesu kvantitativnog ispitivanja monokomponentnog sistema, izračunavanje površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 164 – 166 je vršeno algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), pri čemu je postignuta vrlo dobra pravilnost signala (slika 4.2-14.). Dobijene numeričke vrednosti su date u tabeli 4.2-6. Na osnovu njih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem ftalna kiselina – hrom, što je grafički prikazano na slici 4.2-15.

Tabela 4.2-6. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 164 – 166, u zavisnosti od koncentracije ftalne kiseline i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 120 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Ftalna kiselina	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,225	9,00	4,54	4,87	5,12	4,84
3,675	7,00	22,36	20,48	21,88	21,57
6,125	5,00	32,15	30,67	32,11	31,64
8,575	3,00	44,47	47,11	46,61	46,06
12,25	1,00	57,86	59,06	58,08	58,33



Slika 4.2-15. Odnos koncentracije ftalne kiseline u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 162 – 164; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 384,52. Dobijena prava $y = 1{,}720 + 4{,}831x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija ftalne kiseline od oko 1 do 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9789. Relativna razlika površina izražena je kao:

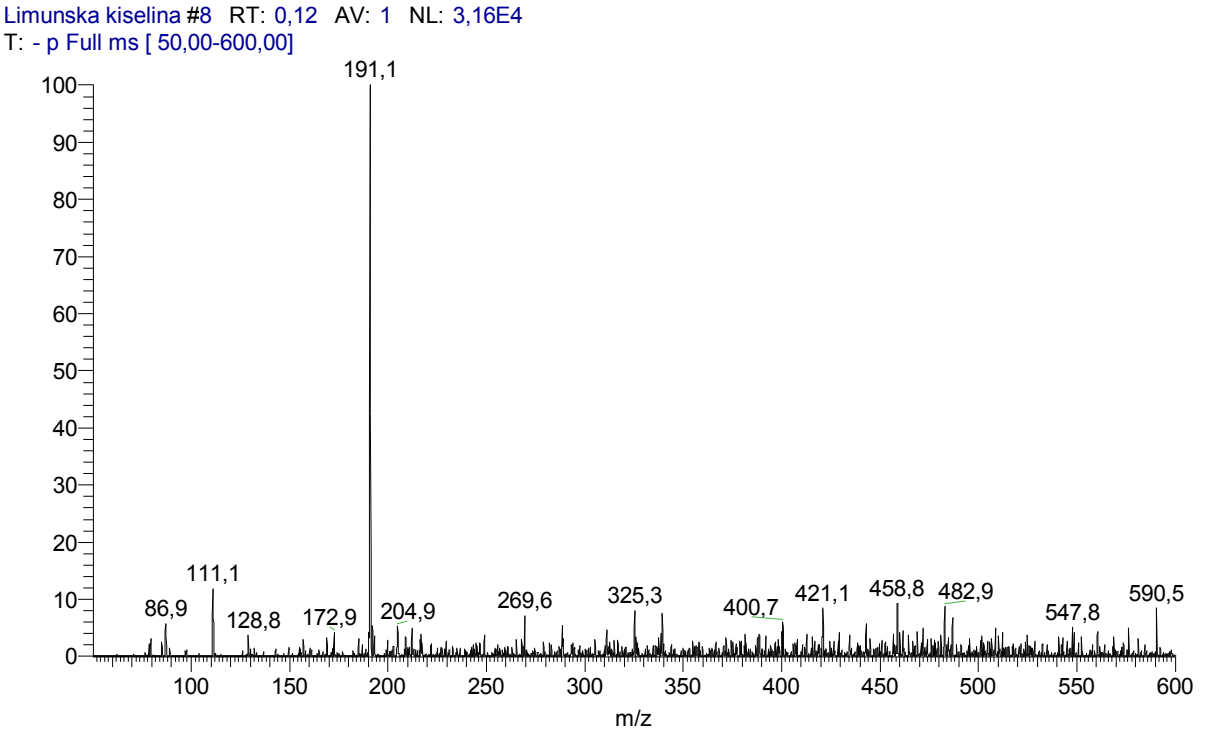
$$\Delta P_{(1-2)\%} = 60{,}84\ \% \qquad \text{odnosno} \qquad \Delta P_{\text{ESI}\%} = 63{,}72\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 60,84% manja od analogne površine za ftalnu kiselinu bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\text{ESI}\%}$ je 63,72% što pokazuje značajnu koordinacionu interakciju ftalne kiseline i hroma(III), koja je među najvećim u grupi ispitivanih sistema.

4.2.1.4 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – limunska kiselina

Peliminarna ispitivanja su pokazala da pozitivan mod ESI izvora ne daje upotrebljiv MS spektar (→ *Prilog*), za razliku od negativnog moda u kome mononaelektrisani citratni anjon daje karakterističan bazni pik na *m/z* 191 (rel. int. 100%), dok su signali ostalih jona daleko slabiji. Zato je optimizacija radnih uslova instrumenta izvršena prema ovom signalu, a dobijeni ESI MS spektar i parametri izvora i analizatora su prikazani na slici 4.2-16.

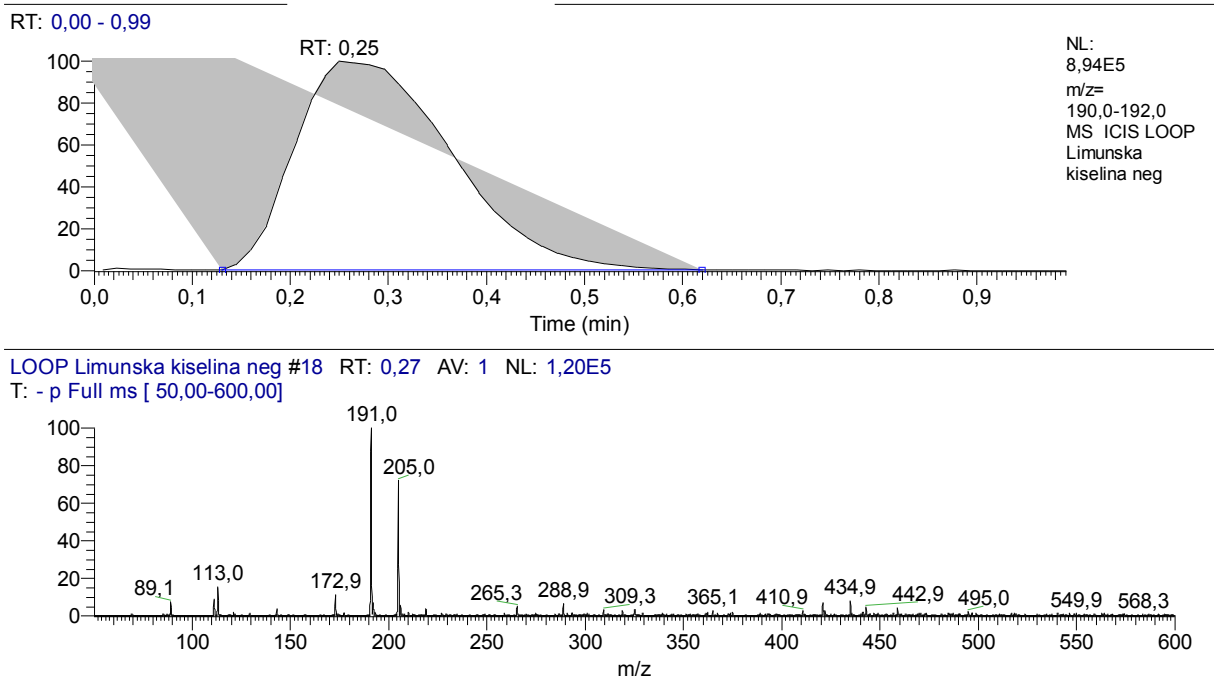
U negativnom modu prisutan je i slabo izražen dehidratisani citratni jon $[M–H–H_2O]^-$ *m/z* 173 (rel. int. 4,19%) i nešto jači, dvostruko negativno naelektrisani adukt limunske kiseline sa metanolom (tj. sekundarni citrat sa metanolom), $[M–2H+CH_3OH]^{2-}$ *m/z* 111 (rel. int. 11,88%), što je omogućeno relativno lakom drugostepenom deprotonizacijom. Ova dva jona (*m/z* 111 i 173) su takođe glavni *daughter*-joni u MS/MS fragmentaciji citratnog *parent*-jona m/z 191 na E_{coll} = 23% (→ *Prilog*). Svi navedeni joni imaju *isotopic pattern* približan teorijski izračunatim izotopskim odnosima. Dakle, limunska kiselina ne pokazuje tendenciju dekarboksilacije (gubitak CO_2) kao benzoeva i salicilna kiselina, a mali bazicitet, odnosno niska nukleofilnost isključuje korišćenje pozitivnog ESI moda, za razliku od ftalne kiseline. Dimeri limunske kiseline nisu uočeni, niti adukti monomera i dimera sa prisutnim vrstama matriksa.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /NEGATIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,99
Aux Gas Flow Rate():	1,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-19,18
Capillary Temp (C):	201,50
Tube Lens Voltage (V):	-20,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	8,41
Lens Voltage (V):	36,52
Multipole 2 Offset (V):	11,34
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	44,42
Coarse Trap DC Offset (V):	10,17
Fine Trap DC Offset (V):	10,27
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	381,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-16. ESI MS spektar limunske kiseline; *c* = 12,34 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

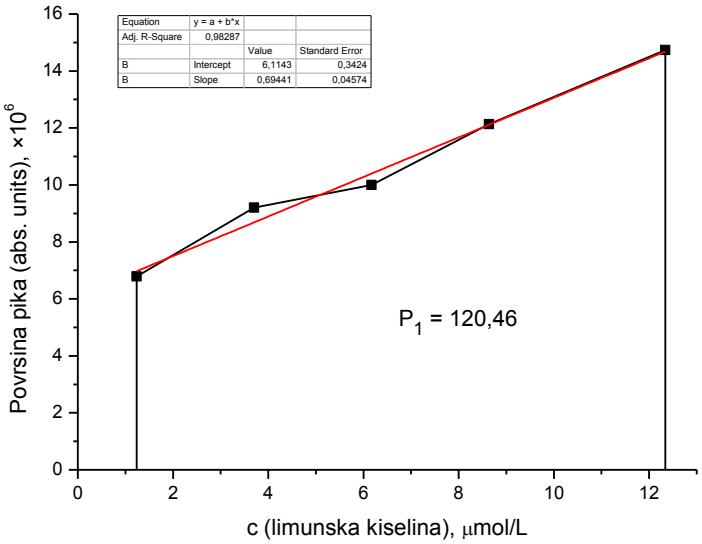


Slika 4.2-17. ESI MS LOOP-hromatogram limunske kiseline (bez prisustva hroma); c = 3,702 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min.

ESI MS LOOP kvantifikacija limunske kiseline, odnosno citrata $[M–H]^-$, je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora (20 µL) odgovarajućih koncentracija. LOOP-hromatogram (sa uslovima ESI i jonskom optikom optimizovanom na *m/z* 191) je pokazao vrlo dobar integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 190 – 192, u pogledu konzistentnosti signala i dužine retencionog vremena (slika 4.2-17.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova u ovom opsegu masa, algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-7. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-18.). U spektru ESI MS LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M–H]^-$ *m/z* 191, sa nizom drugih signala malog intenziteta (*m/z* 173, 113 itd.). i sa znatno pojačanim signalom *m/z* 205 čija asignacija nije mogla biti određena.

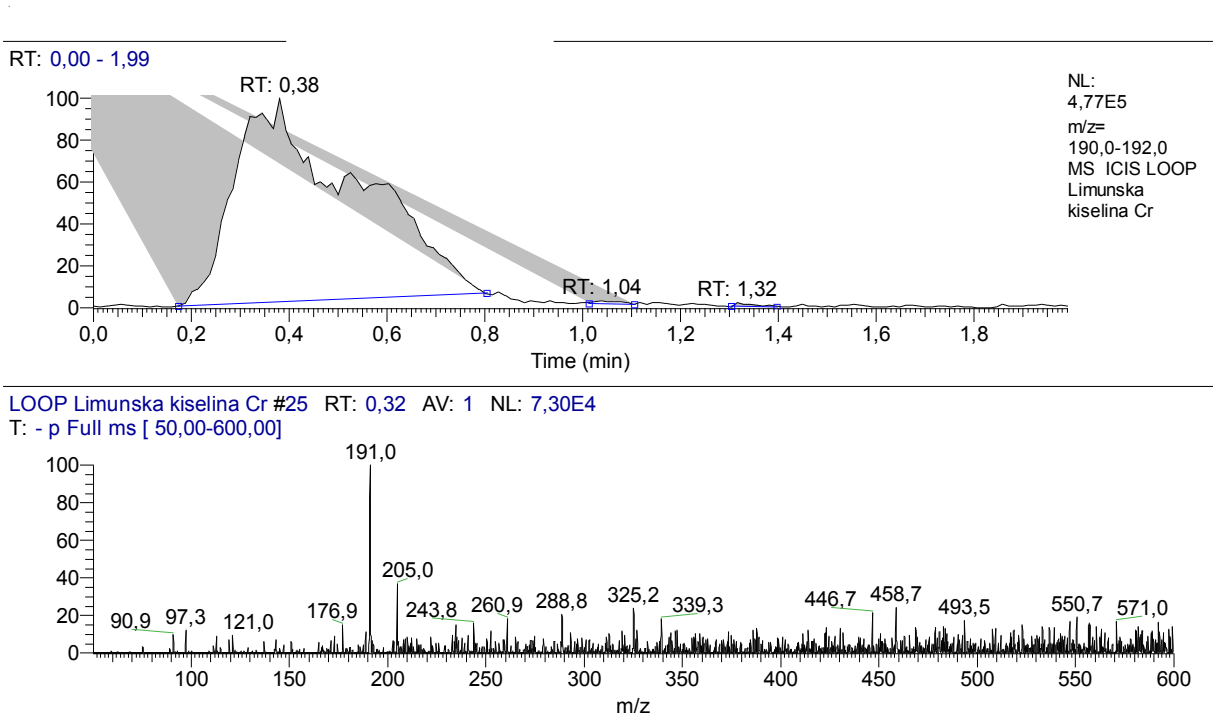
Tabela 4.2-7. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 190 – 192, u zavisnosti od koncentracije limunske kiseline (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija limunske kiseline, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,234	6,62	7,00	6,73	6,78
3,702	9,86	9,20	8,55	9,20
6,170	11,01	8,97	10,02	10,00
8,638	12,74	11,57	12,08	12,13
12,34	14,57	14,30	15,33	14,73



Slika 4.2-18. Odnos koncentracije limunske kiseline i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 190 – 192 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 120,46. Dobijena prava $y = 6{,}114 + 0{,}6944x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija limunske kiseline od oko 1 – 13 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9829. Interakcija hroma(III) sa limunskom kiselinom je ispitivana okviru ovog linearnog opsega.



Slika 4.2-19. ESI MS LOOP-hromatogram limunske kiseline (*c* = 11,11 μmol/L) i hroma (*c* = 1,0 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

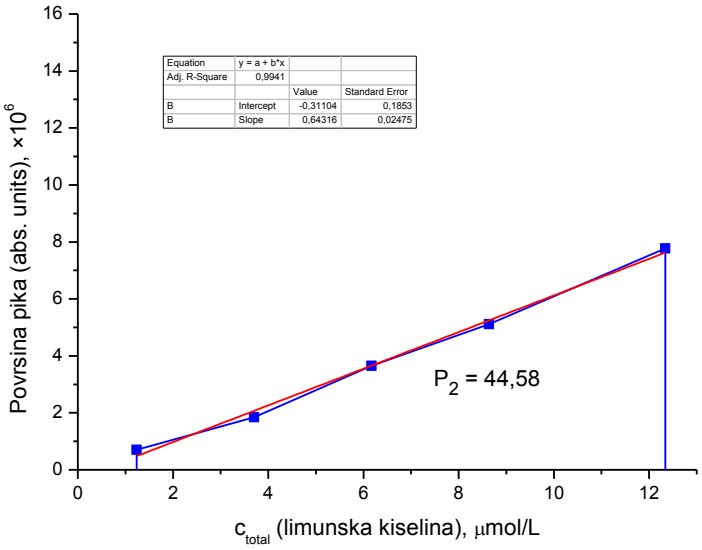
Za određivanje mere interakcije u binarnom sistemu, praćeno je smanjenje apsolutnog intenziteta signala citrata m/z 191 u prusutvu Cr(III). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova (slika 4.2-19.) za opseg *m/z* 190 – 192 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti date u tabeli 4.2-8. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za sistem limunska kiselina – hrom (slika 4.2-20.). Integritet dobijenih pikova je slabiji nego kod analognih pikova monokomponetnog sistema, ali je rentenciono vreme u hromatogaramu podjednako dobro definisano.

Za binarni sistem limunska kiselina – hrom(III) je, nezavisno od ove kvantifikacije, urađeno sinimanje ESI MS spektra u suprotnom, pozitivnom modu izvora (→ *Prilog*). Aplicirani radni uslovi nisu optimizovani prema karakterističnom jonu, odnosno primenjeni su uslovi *flow injection* analize monokomponentnog sistema limunske kiseline u negativnom modu, ali sa obrnutim polaritetima napona kapilare i jonske optike analizatora.

Dobijeni ESI MS spektar citrat – hrom(III) sistema u pozitivnom modu, slično kao kod salicilne kiseline, pokazuje pokazuje određenu separaciju signala koja pozitivni mod može činiti signifikantnim u MS-specijacione svrhe. Pojava novih signala znatnog intenziteta, m/z 181, 231 (rel. int. 100%), 233, 348, 376, 415 itd. ukazuje na moguće građenje novih kompleksnih jona pozitivnog naelektrisanja, nastalih koordinacionom interakcijom liganda i metalnog jona.

Tabela 4.2-8. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 190 – 192, u zavisnosti od koncentracije limunske kiseline i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 120 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Limunska kis.	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,234	9,00	0,81	0,69	0,61	0,70
3,702	7,00	1,90	1,82	1,82	1,85
6,170	5,00	3,60	3,72	3,64	3,65
8,638	3,00	5,02	5,09	5,22	5,11
12,34	1,00	7,66	7,57	8,07	7,77



Slika 4.2-20. Odnos koncentracije limunske kiseline u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 190 – 192; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

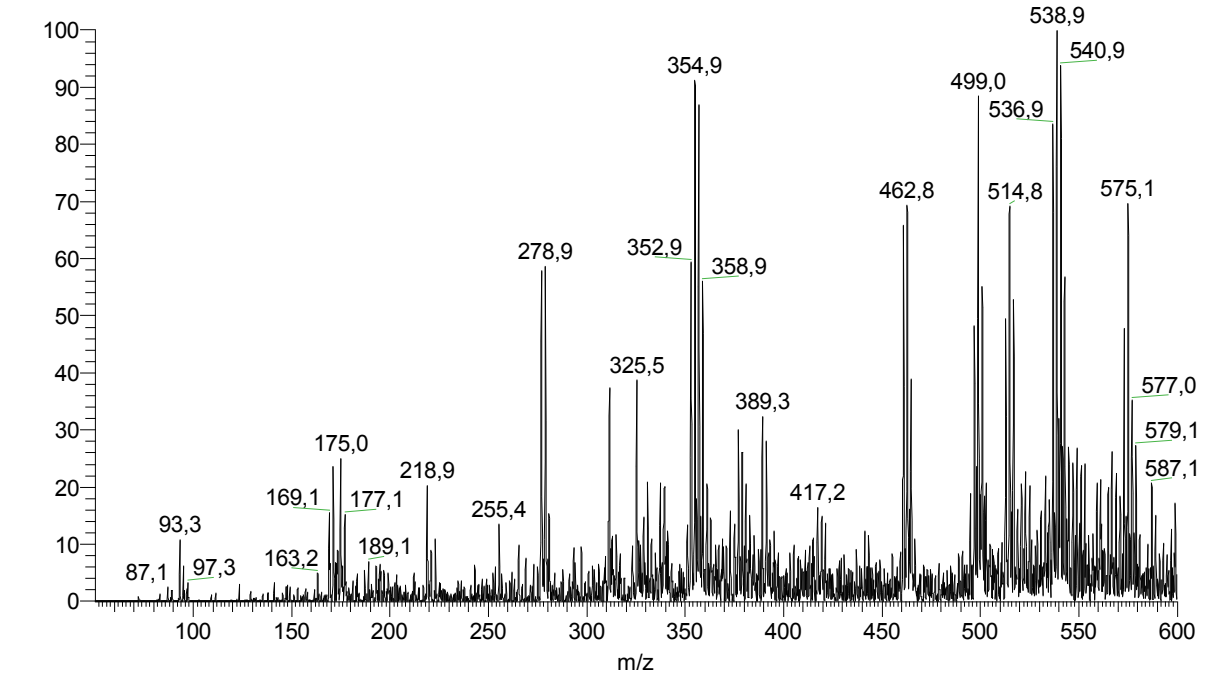
Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 44,58. Dobijena prava $y = –0{,}3110 + 0{,}6432x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija limunske kiseline od oko 1 do 13 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9870. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 62{,}99\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\mathrm{ESI}\%} = 66{,}46\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 62,99% manja od analogne površine za limunsku kiselinu bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ je 66,46% što pokazuje značajnu koordinacionu interakciju limunske kiseline i hroma(III), koja je najveća u grupi ispitivanih sistema sa O-donor ligandima.

4.2.1.5 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – dikamba

Eksperimentalni rezultati potvrđuju negativni mod ESI izvora kao izbor u masenoj spektrometriji dikambe, u skladu sa postojanjem jednog izrazito kiselog karboksilnog protona i nedostatkom centara jače nukleofilnosti. MS spektar pokazuje prisutvo deprotonovanog monoizotopskog anjona dikambe $[M–H]^-$ na *m/z* 219, koji nije dominantan (rel. int. 20,28%), ali je dovoljno dobro definisan da može da služi u kvantifikacione svrhe.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /NEGATIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	5,02
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	34,23
Aux Gas Flow Rate():	3,01
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-15,15
Capillary Temp (C):	275,10
Tube Lens Voltage (V, set po	-30,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	5,12
Lens Voltage (V):	16,25
Multipole 2 Offset (V):	7,17
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	60,67
Coarse Trap DC Offset (V):	10,17
Fine Trap DC Offset (V):	10,27
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	10,00
Infused Volume (uL):	137,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-21. ESI MS spektar dikambe; *c* = 13,22 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

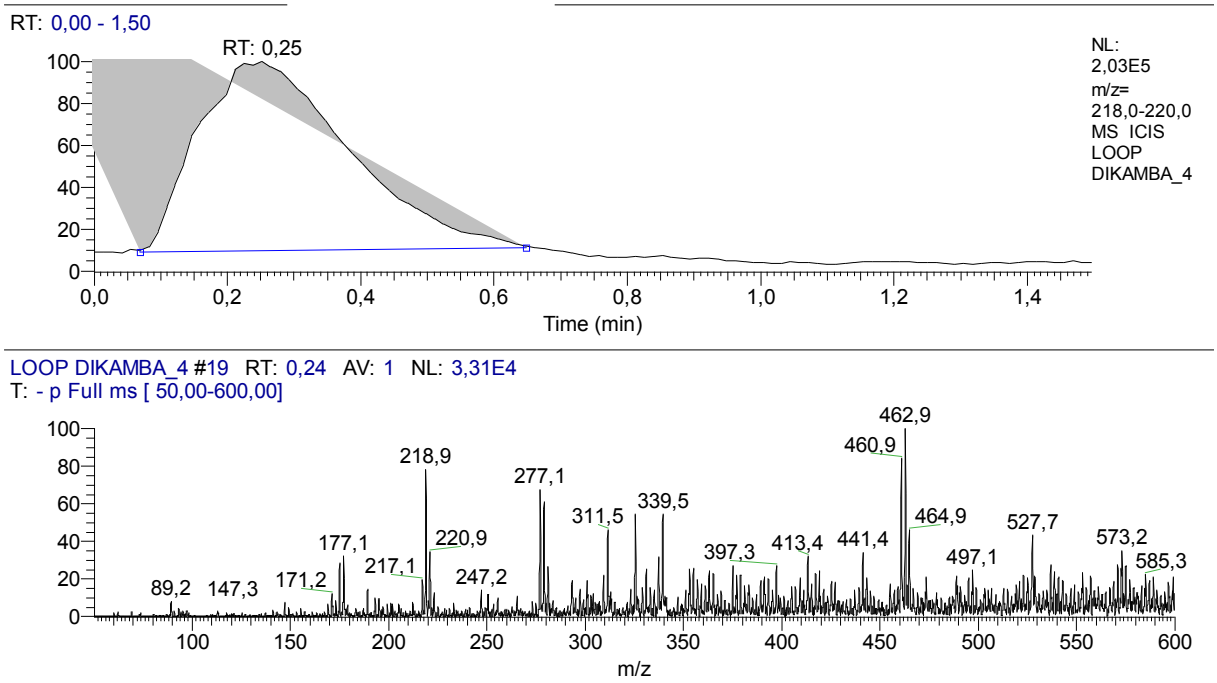
Dikamba, pri *soft ionization* uslovima ESI izvora, pokazuje u primarnom MS^1 spektru primetnu fragmentaciju uz gubitak CO_2 (dekarboksilacija), sa signalom *m/z* 175 (rel. int. 26,33%) od $[M–H–CO_2]^-$.

Pik sa *m/z* 355 je signal adukta deprotonovanog molekulskog jona, natrijuma hidroksidnog jona i metanola, $[M–H+Na+OH+3CH_3OH]^-$, a signal na *m/z* 463 potiče od adukta dvostruko deprotonovanog dimera dikambe sa natrijumom $[2M–2H+Na]^-$, na šta ukazuje i međusobni relativni intenzitet susednih pikova, koji imaju približan *isotopic pattern* molekula sa četriri atoma hlora. Grupa *m/z* 537 – 543 (539 – rel. int. 100%) potiče od mononaelektrisanih izotopskih jona deprotonovanog dimera sa vezanim metanolom $[2M–H+3CH_3OH]^-$. Iz ovog razmatranja se vidi da dikamba ima tendenciju građenja dimernih i aduktnih jonskih vrsta, intenzivnijih signala od molekulskog anjona. Slika 4.2-21. prikazuje

spektar dikambe, kao i radne uslove u ESI jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije koja izvršena za *m/z* 219.

Poređenja radi, analize ESI MS LOOP-hromatograma su izvršene najpre za *m/z* 219 manjeg intenziteta, a zatim i za dominantan aduktni jon na *m/z* 539, pri odgovarjućim radnim uslovima (*tunning*) za svaki jon posebno. Ostali spektri dikambe, u pozitivnom modu i MS/MS spektri su prikazani u *Prilogu*. U negativnom MS/MS modu *parent*-jona *m/z* 219 pri E_{coll} = 28% dobija se najizraženiji *daughter*-jon *m/z* 175 nastao dekarboksilacijom dikambe (gubitak CO_2). Analogni MS/MS spektar *m/z* 539 na E_{coll} = 27% daje dominantan jednostruko dekarboksilovani *daughter*-jon *m/z* 495 $[X–CO_2]^-$, a simultanom fragmentacijom i *daughter*-jon *m/z* 355 koji nastaje daljom dekarboksilacijom, uz gubitak metanola $[X–2CO_2–3CH_3OH]$. Prisutan je i slabi signal deprotonovanog molekulskog jona dikambe (*m/z* 219) nastao fragmentacijom dimera, što sa prethodno navedenim, dokazuje aduktno-dimerni karakter jona *m/z* 539.

A) Analiza ESI MS LOOP hromatograma jona *m/z* 219

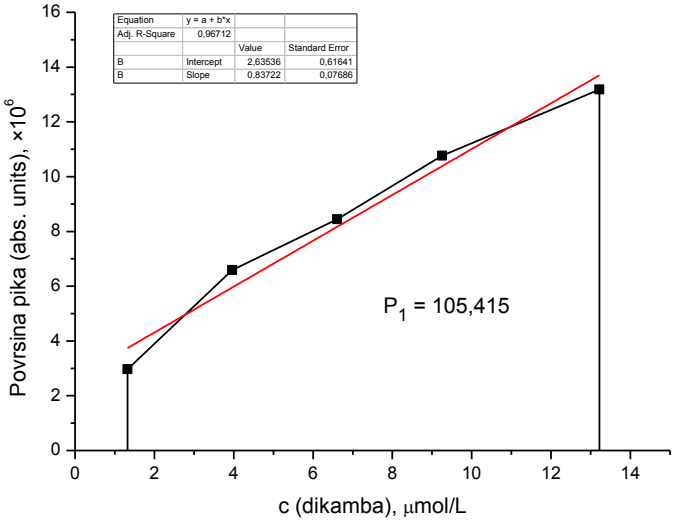


Slika 4.2-22. ESI MS LOOP-hromatogram dikambe (bez prisustva hroma); *c* = 1,322 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min; opseg *m/z* 218 – 220.

ESI MS LOOP kvantitativna analiza dikambe je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora (20 µL) odgovarajućih koncentracija. LOOP-hromatogram (sa uslovima ESI i jonskom optikom optimizovanom na *m/z* 219) je pokazao vrlo dobar integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 218 – 220 (slika 4.2-22.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova u ovom opsegu algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-9. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-23.). U spektru ESI MS LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M–H]^-$ *m/z* 219, dok su pri uslovima snimanja spektra, donekle potisnuti joni *m/z* 537 – 543.

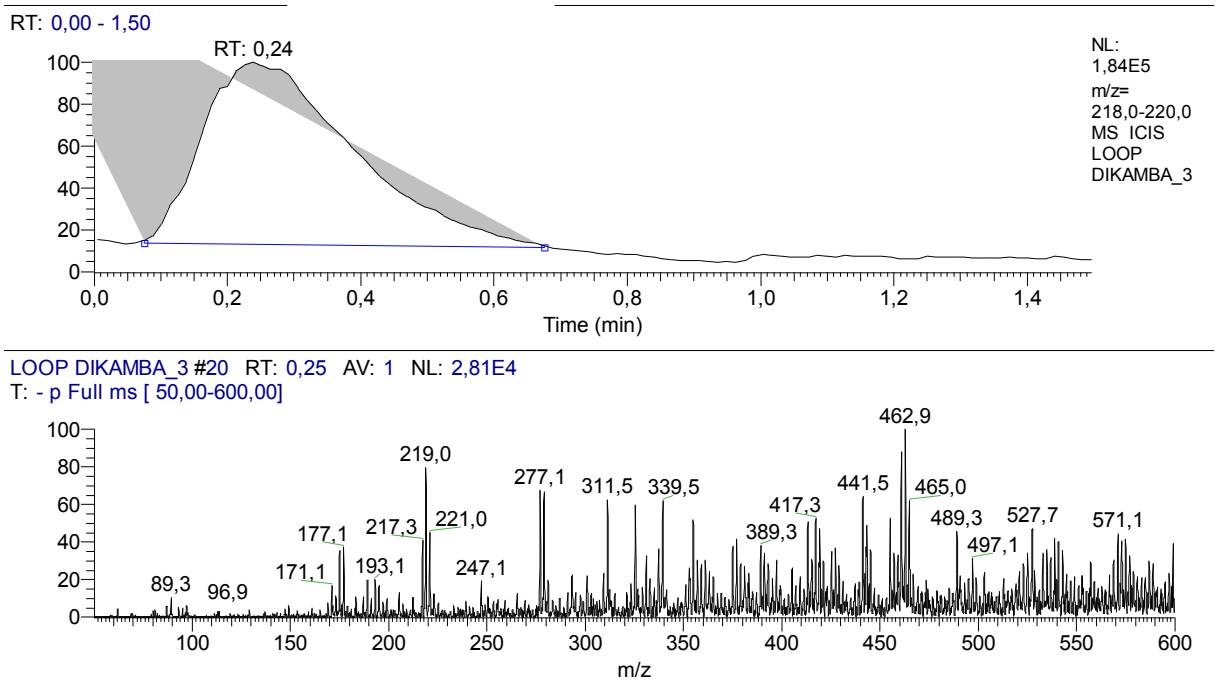
Tabela 4.2-9. Površine LOOP ESI MS hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 218 – 220, u zavisnosti od koncentracije dikambe. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija dikambe, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,322	3,011	2,889	2,992	2,964
3,966	6,520	6,520	6,733	6,591
6,610	8,551	8,522	8,271	8,448
9,254	10,29	10,99	11,03	10,77
13,22	12,95	13,41	13,17	13,18



Slika 4.2-23. Odnos koncentracije dikambe i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 218 – 220 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 105,415. Dobijena prava $y = 2{,}635 + 0{,}8372x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija dikambe od oko 1 – 13 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9671. Interakcija hroma sa dikambom je ispitivana okviru ovog linearnog opsega. Korespodentan ESI MS LOOP-hromatogram dikambe sa hromom, (slika 4.2-24.) sniman je pod istim instrumentalnim uslovima kao i hromatogram dikambe bez hroma. LOOP-hromatogram pokazuje identično dobar integritet pika kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 218 – 220.

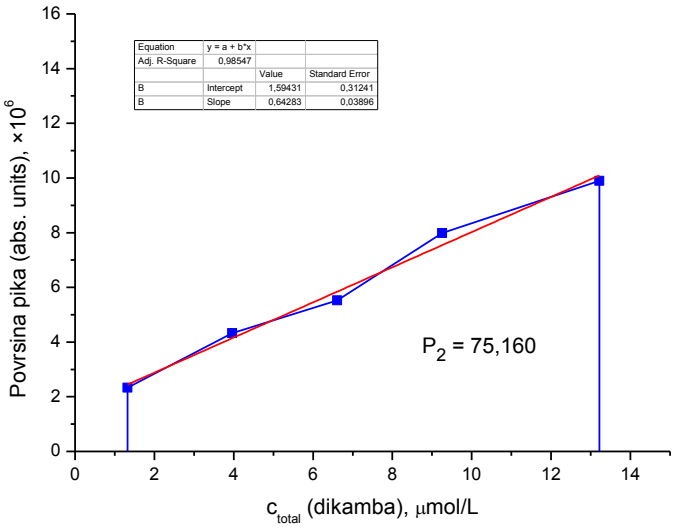


Slika 4.2-24. ESI MS LOOP-hromatogram dikambe (c = 1,322 µmol/L) i hroma (c = 9,00 µmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min; opseg *m/z* 218 – 220

Tabela 4.2-10. Površine LOOP ESI MS htomatogramskih pikova za opseg *m/z* 218 – 220, u zavisnosti od koncentracije dikambe i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Dikamba	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,322	9,00	2,234	2,529	2,220	2,328
3,966	7,00	4,257	4,222	4,511	4,330
6,610	5,00	5,373	5,492	5,708	5,524
9,254	3,00	7,637	8,151	8,181	7,990
13,22	1,00	9,992	9,923	9,771	9,895

Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 218 – 220 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti (tabela 4.2-10.), na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem dikamba – hrom (slika 4.2-25.).



Slika 4.2-25. Odnos koncentracije dikambe u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 218 – 220; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

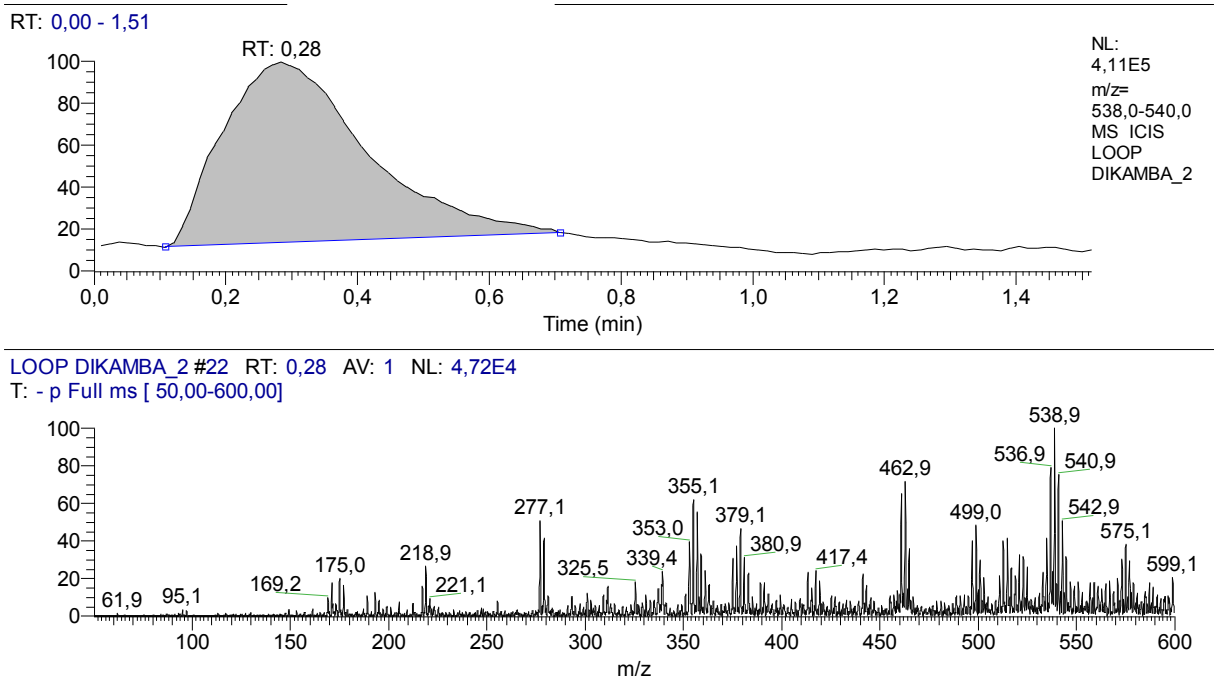
Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 75,160. Dobijena prava $y = 1{,}5943 + 0{,}6128x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija dikambe od oko 1 do 13 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9855. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 28{,}70\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\text{ESI}\%} = 31{,}31\ \%\qquad (\text{za } m/z\ 219)$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 28,70% manja od analogne površine za dikambu bez prisustva hroma, a korigovana vrednost $\Delta P_{\text{ESI}\%}$ je 31,31% (prema kvantifikaciji jona *m/z* 219), što ukazuje na dosta slabiju koordinacionu interakciju dikambe i hroma(III) u poređenju sa prethodno ispitanim interakcijama sa salicilnom, ftalnom i limunskom kiselinom kao O-donor liganadima.

B) Analiza ESI MS LOOP hromatograma jona *m/z* 539

Analogno prethodnoj analizi sa $[M–H]^-$ jonom dikambe, izvršeno je merenje sa drugim karakterističnim jonom *m/z* 539, u cilju poređenja rezultata, odnosno u cilju utvrđivanja mogućnosti da li se opisana metodologija može primeniti i sa drugim MS evidentiranim jonima, osim molekulskog jona, to jest u vezanim aduktno-dimernim oblicima dikambe. Jon *m/z* 539 je odabran kao dominatan (osnovni) jon u spektru, oko 5× intenzivniji od molekulskog jona dikambe.

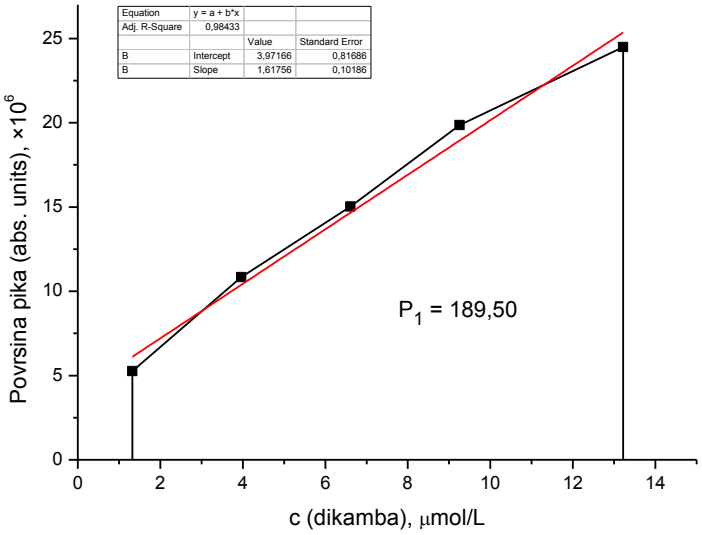


Slika 4.2-26. ESI MS LOOP-hromatogram dikambe (bez prisustva hroma); *c* = 1,322 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min; opseg *m/z* 538 – 540.

ESI MS LOOP kvantitativna analiza aduktnog oblika dikambe je izvršena na identičan način (LOOP *V* = 20 µL), uz prethodni *tunning* instrumenta prema jonu *m/z* 539, što je dalo spektar drugačijih relativnih intetenziteta signala. LOOP-hromatogram ponovo dao vrlo dobar integritet pikova TIC-a i zadatog opsega *m/z* 538 – 540 (slika 4.2-26.). Izračunavanjem površine ESI MS LOOP-hromatogram pikova u ovom opsegu algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-11. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-27.).

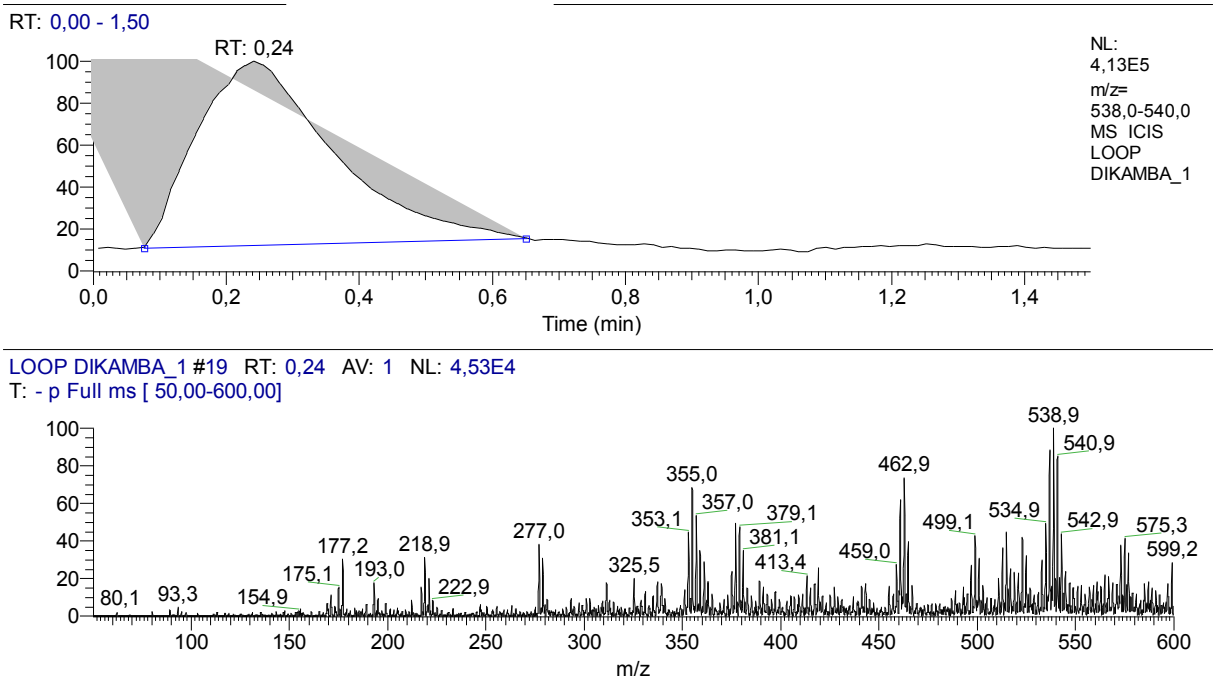
Tabela 4.2-11. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 538 – 540, u zavisnosti od koncentracije dikambe (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija dikambe, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,322	5,287	5,357	5,128	5,257
3,966	10,84	10,92	10,74	10,83
6,610	15,11	14,95	15,01	15,02
9,254	19,06	20,37	20,14	19,86
13,22	24,18	24,82	24,46	24,48



Slika 4.2-27. Odnos koncentracije dikambe i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 538 – 540 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 189,50. Dobijena prava $y = 3{,}972 + 1{,}618x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija dikambe od oko 1 – 13 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9843. Interakcija hroma sa dikambom, preko aduktno-dimerne vrste *m/z* 539 kao monitoring jona, je zatim ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.

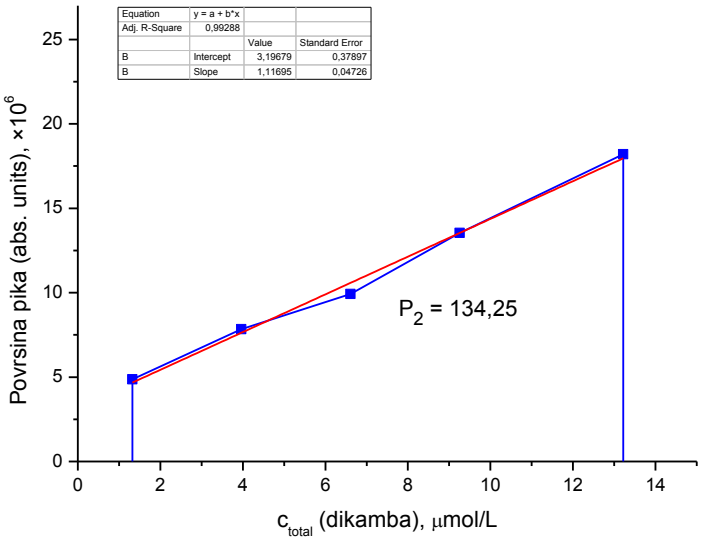


Slika 4.2-28. ESI MS LOOP-hromatogram dikambe (c = 1,322 μmol/L) i hroma (c = 9,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 μL/min; opseg *m/z* 538 – 540.

Kao prilikom rada sa monokomponentnim sistemom, izračunavanje površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 538 – 540 je vršeno algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), pri čemu je postignuta vrlo dobra pravilnost signala (slika 4.2-28.). Dobijene numeričke vrednosti za binarni sistem dikambe i hroma(III), kvantifikacijom monitoring jona *m/z* 539 su date u tabeli 4.2-12. Na osnovu njih je linearnim fitovanjem, metodom najmanjih kvadrata, izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem dikamba – hrom, što je grafički prikazano na slici 4.2-29.

Tabela 4.2-12. Površine LOOP ESI MS pikova za opseg *m/z* 538 – 540, u zavisnosti od koncentracije dikambe i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Dikamba	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,322	9,00	4,695	4,717	5,202	4,871
3,966	7,00	7,960	7,874	7,681	7,838
6,610	5,00	10,01	9,91	9,85	9,925
9,254	3,00	13,57	13,62	13,42	13,54
13,22	1,00	18,35	18,04	18,22	18,20



Slika 4.2-29. Odnos koncentracije dikambe u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 538 – 540; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 134,25. Dobijena prava $y = 3{,}197 + 1{,}117x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija dikambe od oko 1 – 13 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9929. Interakcija hroma sa dikambom je ispitivana okviru ovog linearnog opsega. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 29{,}16\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{ESI\%} = 32{,}96\ \%\qquad (\text{za } m/z\ 539)$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 29,16% manja od analogne površine za adukt-dimerni jon dikambe bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\mathrm{ESI\%}}$ je 4,120% (prema kvantifikaciji jona *m/z* 593) što pokazuje srednje jaku koordinacionu interakciju ove jonske vrste i hroma(III) u poređenju sa drugim interakcijama.

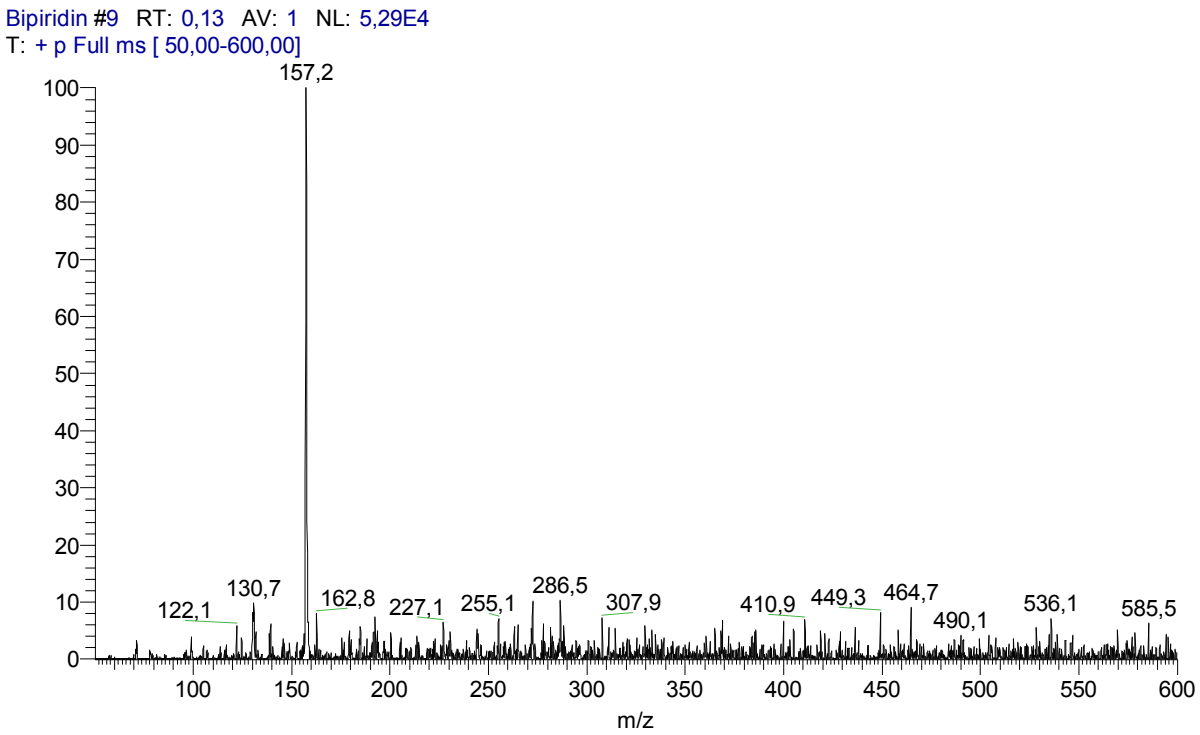
Rezultati dobijeni putem kvantifikacije molekulskog jona dikambe *m/z* 219 ($\Delta P_{(1-2)\%}$ = 28,70%) i aduktno-dimerne forme *m/z* 539 ($\Delta P_{(1-2)\%}$ = 32,96%) pokazuju dobru podudarnost, što je posledica brze dinamičke ravnoteže između jonskih vrsta u rastvoru, odnosno ESI izvoru, u pogledu slobodne dikambe i u binarnom sistemu dikamba – Cr(III). Afinitet Cr(III) prema formama dikambe se dakle podjednako reflektuje u pogledu smanjenja intenziteta signala oba posmatrana jona ponaosob, u obuhvaćenom opsegu koncentracija i za date uslove snimanja.

Na osnovu ovih merenja ne može se utvrditi mehanizam vezivanja Cr(III) na različite brojne oblike slobodne i vezane dikambe, to jest da li Cr(III) kao elektron akceptor koordinira istovremeno više različitih formi liganda i u kojoj meri to čini, ili favorizuje samo određene forme, pomerajući pritom dinamičku ravnotežu ostalih nevezanih (neligandnih) formi ka koncentracijama koje su ravnoteži sa novouspostavljenim stanjem u binarnom sistemu dikamba – Cr(III), u analiziranom rastvoru, odnosno ESI izvoru.

Posle izvršene dve nezavisne kvantifikacije karakterističnih jona *m/z* 219 i 539, za potrebe poređenja interakcija dikambe i hroma(III) sa drugim ispitivanim sistemima, usvojena je vrednost dobijena kvantifikacijom molekulskog anjona dikambe $[M-H]^-$ *m/z* 219, sa vrednošću $\Delta P_{\mathrm{ESI\%}}$ = 31,31%.

4.2.2 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – N-donor ligandi

4.2.2.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – 2,2'-bipiridin



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,90
Aux Gas Flow Rate():	1,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-7,03
Capillary Temp (C):	201,50
Tube Lens Voltage (V, set po	20,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-8,19
Lens Voltage (V):	-14,20
Multipole 2 Offset (V):	-9,73
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-36,30
Coarse Trap DC Offset (V):	10,17
Fine Trap DC Offset (V):	10,27
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	285,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

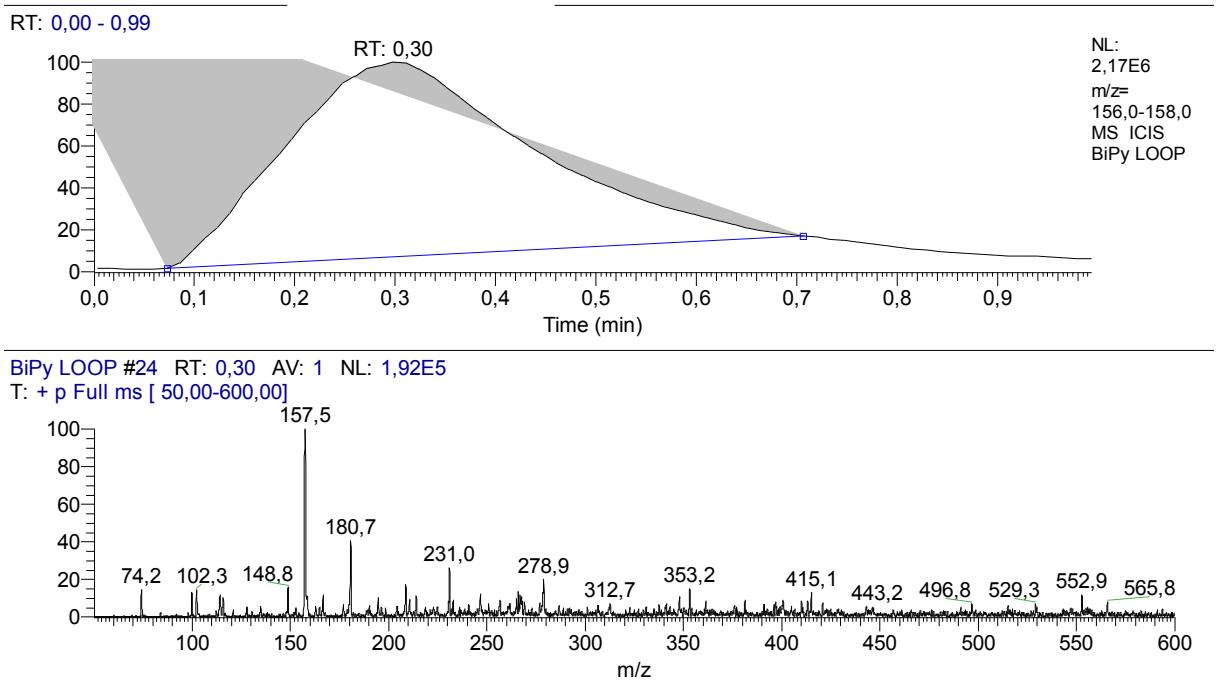
Slika 4.2-30. ESI MS spektar 2,2'bipiridina; c = 10,57 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Molekulska struktura nukleofilnog 2,2'-bipiridina u uslovima ESI izvora dozvoljava nastanak isključivo protonizovanog molekulskog jona, odnosno katjona $[M+H]^+$ *m/z* 157, tako da je odabran pozitivan radni polaritet instrumenta.

Osnovni jon *m/z* 157 (rel. int. 100%) je dominatan (osnovni) jon, a ostale jonske vrste imaju mali intenzitet signala (rel. int. < 13%). *Isotopic pattern*, odnosno izgled signala ovog jona približno odgovara teorijski izračunatom. Optimizacija radnih uslova instrumenta – ESI izvora i jonske optike – je izvršena prema 2,2'-bipiridinijum jonu *m/z* 157. Spektar negativnog ESI polariteta je dat u *Prilogu*.

ESI MS/MS spektar (→ *Prilog*) stabilnog molekula 2,2'-bipiridina sa *parent*-jonom *m/z* 157 pri relativno visokoj E_{coll} = 37% sadrži *daughter*-jon *m/z* 130 nastao gubitkom neutralnog cijanovodonika iz jednog aromatičnog prstena $[M–HCN]^+$, kao i signal fragmenta na *m/z* 99 $[C_5H_{11}N_2]^+$, a nisu prisutni produkti sekundarnih reakcija sa neutralnim vrstama.

Slika 4.2-30. prikazuje ESI MS spektar 2,2'-bipiridina, kao i radne uslove u jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije, kako je prikazano u pratećoj tabeli.

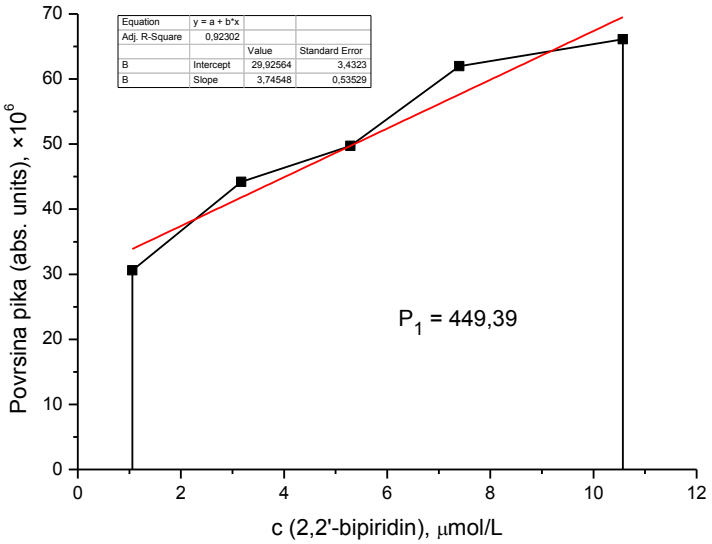


Slika 4.2-31. ESI MS LOOP-hromatogram 2,2'-bipiridina (bez prisustva hroma); *c* = 1,057 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min.

Kvantitativna analiza monokmponentnosg sistema 2,2'-bipiridina, odnosno katjona $[M+H]^+$ je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora određene koncentracije (20 µL po merenju) primenom LOOP-a aparata. ESI MS LOOP-hromatogram je pokazao dobar oblik i integritet signala (slika 4.2-31.), ali sa proširenom bazom pika za TIC i za posmatrani opseg *m/z* 156 – 158. Izračunavanjem površine ESI MS LOOP-hromatogram pikova za navedeni opseg masa algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-13. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-32.) koja aproksimira posmatranu zavisnost povšine pika od koncentracije. U spektru LOOP-hromatograma se uočava jasan $[M+H]^+$ *m/z* 157, dok niz signala nižeg intenziteta može poticati od prisutnih vrsta matrikasa.

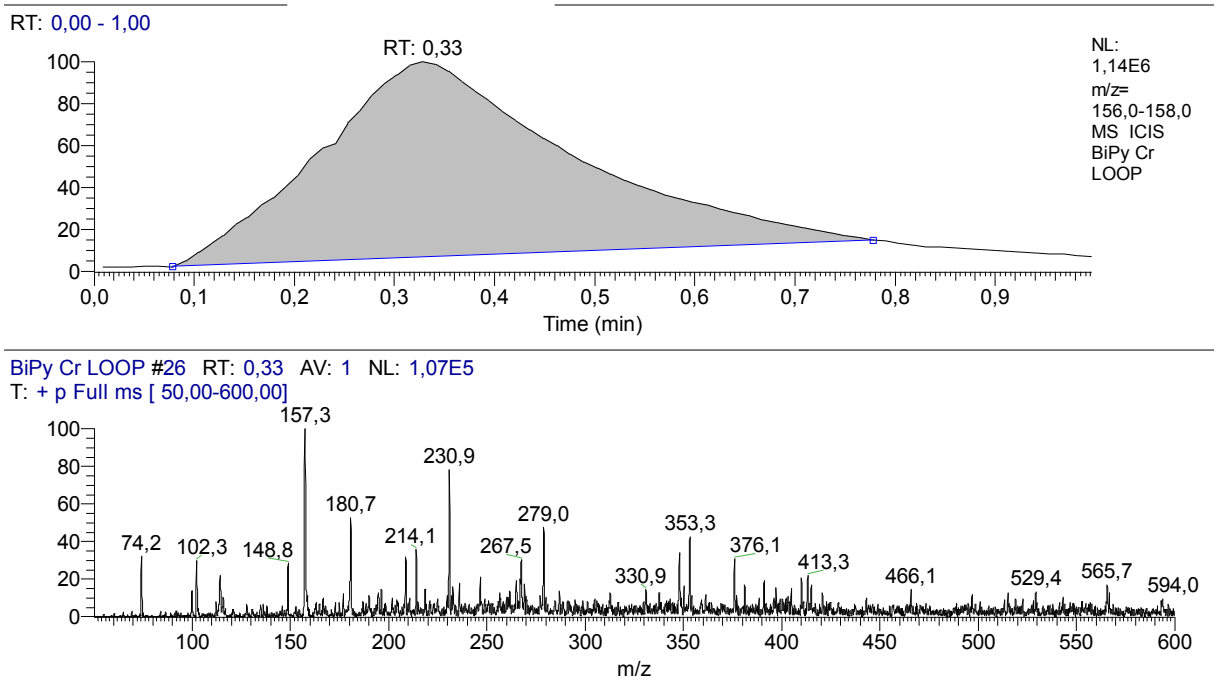
Tabela 4.2-13. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 156 – 158, u zavisnosti od koncentracije bipiridina (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija 2,2'-bipiridina, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,057	25,66	34,78	31,31	30,58
3,171	46,76	44,63	41,22	44,20
5,285	52,03	48,11	49,00	49,71
7,399	60,23	58,20	67,43	61,95
10,57	68,89	67,60	61,84	66,11



Slika 4.2-32. Odnos koncentracije 2,2'-bipiridina i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 156 – 158 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 449,39. Dobijena prava $y = 29{,}93 + 3{,}745x$ pokazuje, za uslove ESI MS, prihvatljivu linearnost u primenjenom opsegu koncentracija 2,2'-bipiridina od oko 1 – 11 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9230. Interakcija hroma(III) sa 2,2'-bipiridinom u binarnom sistemu je zatim ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.



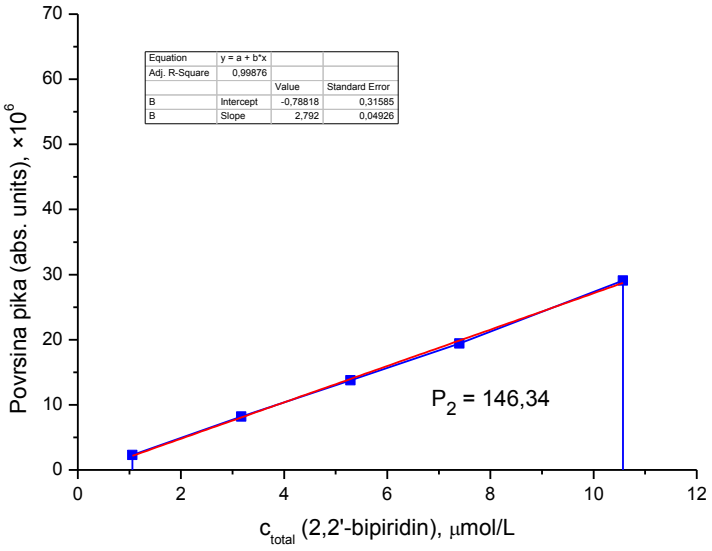
Slika 4.2-33. ESI MS LOOP-hromatogram 2,2'-bipiridina (c = 7,40 μmol/L) i hroma (c = 3,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

Analognim eksperimentalnim postupkom, i kalkulacijom površine ESI MS LOOP-hromatogram pikova (slika 4.2-33.) za opseg *m/z* 156 – 158 algoritmom ICIS

(EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti date u tabeli 4.2-14. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za sistem 2,2'-bipiridin – hrom(III), prikazana na slici 4.2-34. Pri uslovima snimanja spektra binarnog sistema dobijaju se signali *m/z* 268, 376, 413, 466 itd. koji mogu poticati od koordinacione interakcije sa hromom(III) i pristnim vrstama matriksa.

Tabela 4.2-14. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 156 – 158, u zavisnosti od koncentracije 2,2'-bipiridina i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
2,2'-Bipiridin	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,057	9,00	2,06	2,47	2,40	2,31
3,171	7,00	8,10	8,12	8,41	8,21
5,285	5,00	14,01	14,11	13,17	13,76
7,399	3,00	19,53	18,67	20,10	19,43
10,57	1,00	28,19	29,21	29,82	29,07



Slika 4.2-34. Odnos koncentracije 2,2'-bipiridina u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 156 – 158; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 146,34. Dobijena prava $y = -0{,}7882 + 2{,}792x$ pokazuje, za uslove ESI MS, veoma dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija 2,2'-bipiridina od oko 1 do 10 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9988. Relativna razlika površina izražena je kao:

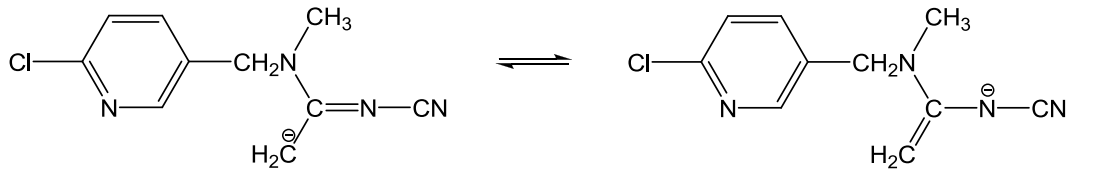
$$\Delta P_{(1-2)\%} = 67{,}44\ \% \qquad \text{odnosno} \qquad \Delta P_{ESI\%} = 60{,}95\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 67,44% manja od analogne površine za 2,2'-bipiridin bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ je 60,95% što pokazuje znatnu koordinacionu interakciju 2,2'-bipiridina i hroma(III), koja je druga u nizu po intenzitetu, posle limunske kiseline.

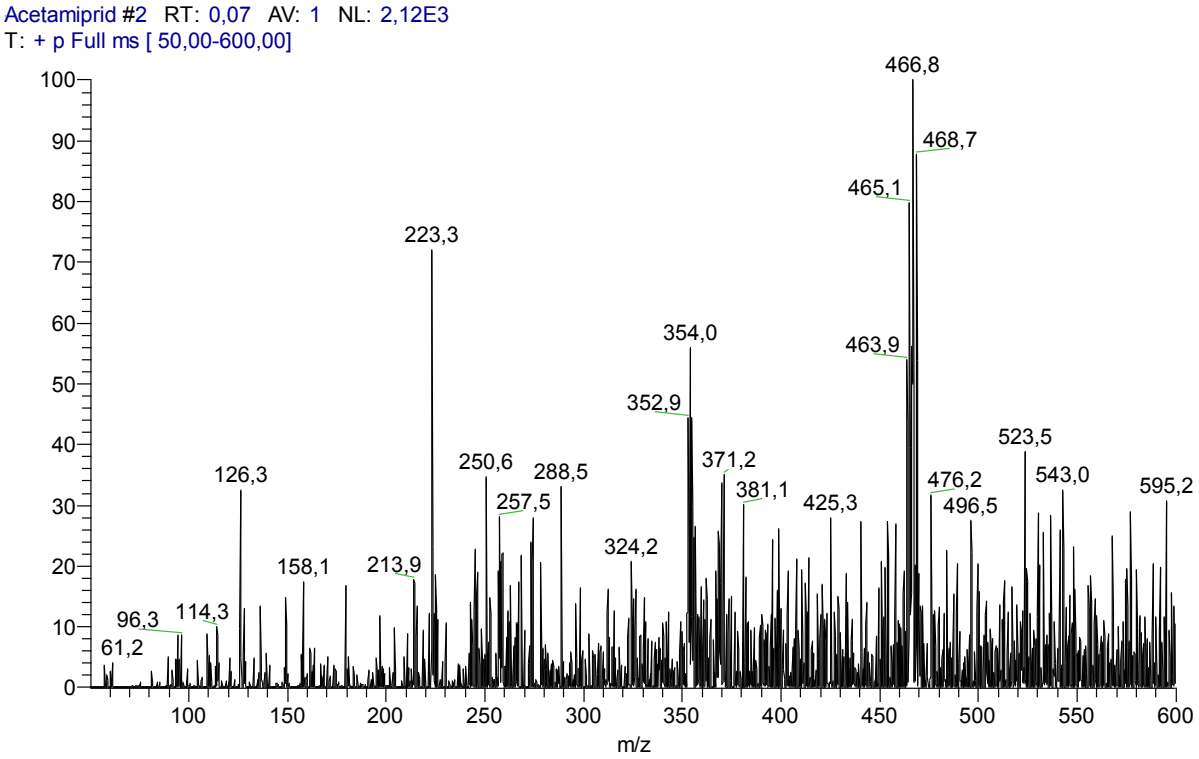
4.2.2.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – acetamiprid

Snimanje ESI MS je vršeno u pozitivnom modu instrumenta, imajući u vidu afinitet azotovih atoma prema protonu, pre svega u piridinskom jezgru, ali i kod azota *terc*-amino grupe. Odgovarajući pik protonovanog molekulskog jona za $[MH]^+$ je izražen (72,14%) na *m/z* 223, sa pratećim izotopskim pikom odgovarajućeg intenziteta (oko 18,5%) na *m/z* 225 usled prisustva ^{37}Cl. Nije uočeno postojanje dvostruko naelektisanog jona na *m/z* 112.

U negativnom jonizacionom modu (→ *Prilog*) se dobija dobro definisan $[M–H]^-$ na *m/z* 221 (54,98%) i jasan izotopski pik na *m/z* 223 (~1/3 intenziteta) tako da je acetamiprid jedno od retkih jedinjenja koje je moguće pratiti u oba ESI moda. Deprotonacija metil grupe je stabilizovana susednim π-elektronima, što daje aciditet H-atomu:



(4.2-1)

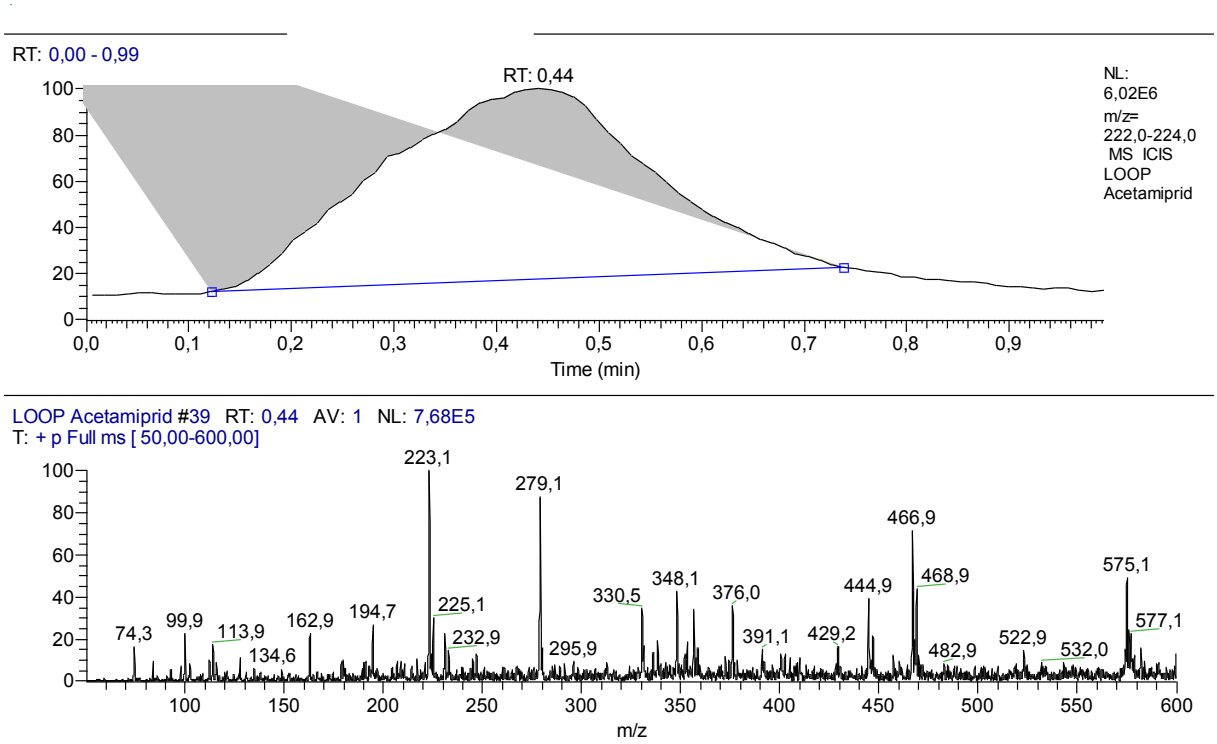


INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,65
Aux Gas Flow Rate():	3,60
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	5,12
Capillary Temp (C):	220,20
Tube Lens Voltage (V, set po	-25,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-7,32
Lens Voltage (V):	-58,99
Multipole 2 Offset (V):	-15,37
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-34,69
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,10
Fine Trap DC Offset (V):	-10,05
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	277,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-35. ESI MS spektar acetamiprida; *c* = 11,68 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Tunning instrumenta je izvršen za *m/z* 223 u pozitivnom modu, a odgovarajući spektar pri odabranim uslovima je prikazan na slici 4.2-35. Signali na *m/z* 467 i 469 potiču od dimera acetamiprida sa natrijumom $[M_2Na]^+$. U MS/MS spektru *parent*-jona *m/z* 223 ± 1,0 *daughter*-jon *m/z* 206 potiče od gubitaka neutralnog amonijaka $[M+H–NH_3]^+$.

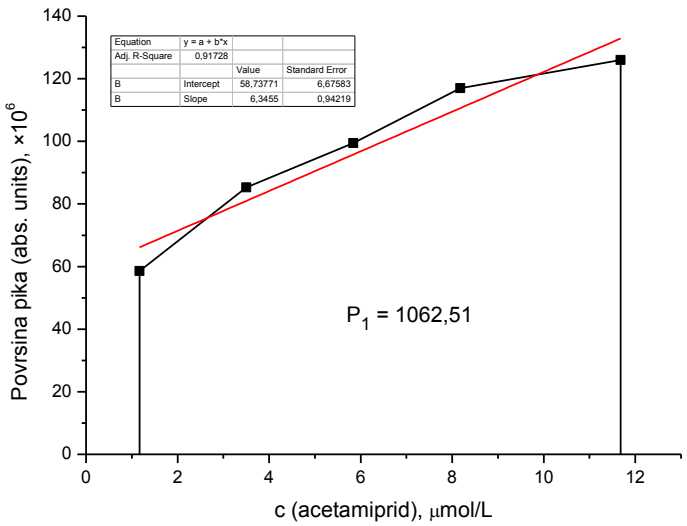


Slika 4.2-36. ESI MS LOOP-hromatogramski pik acetamprida; *c* = 5,840 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Kvantifikacija acetamiprida je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora odgovarajućih koncentracija, od 20 µL primenom LOOP-a aparata. LOOP-hromatogram je pokazao vrlo dobar integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 222 – 224 (slika 4.2-36.). U spektru LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M+H]^+$ *m/z* 223, dok su pri uslovima snimanja spektra, potisnuti signali jona *m/z* 463 – 469. Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 222 – 224 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-15. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-37.).

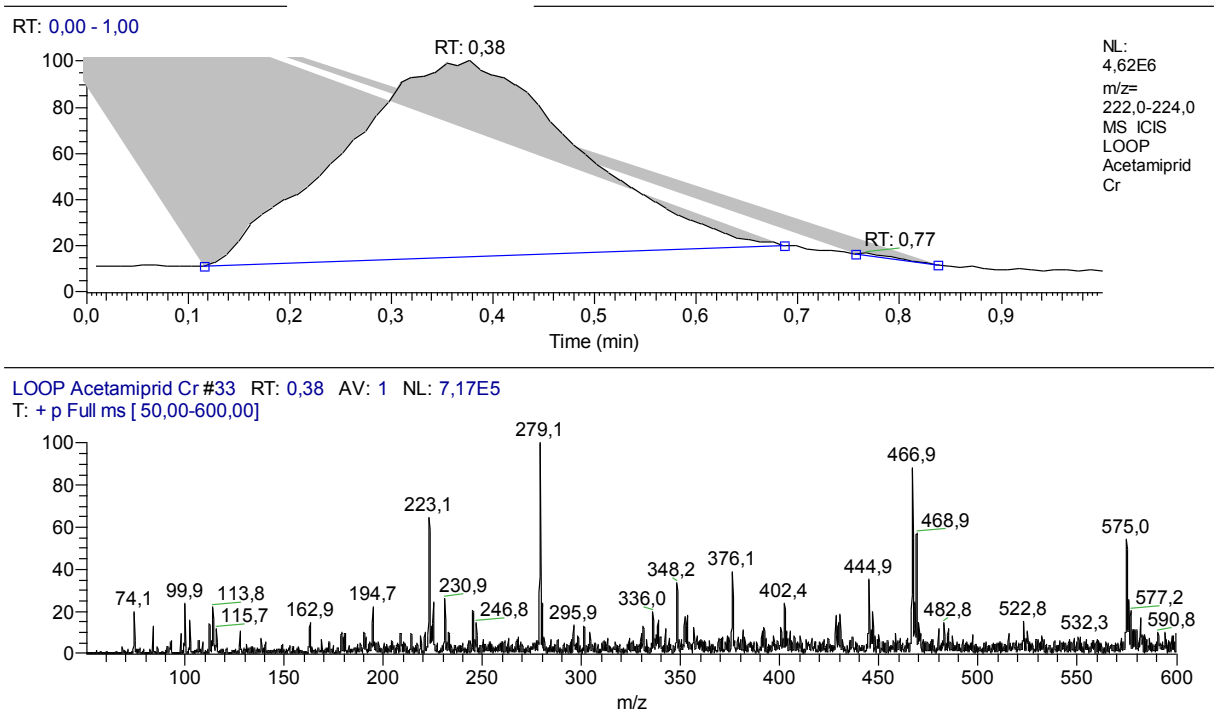
Tabela 4.2-15. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 222 – 224, u zavisnosti od koncentracije acetamiprida (bez prisustva hroma). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a.Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija acetamiprida, µmol/L	**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,168	57,21	60,44	58,13	58,59
3,504	85,43	81,53	88,99	85,32
5,840	96,38	98,55	103,54	99,49
8,176	110,03	116,40	124,55	116,99
11,68	125,86	123,50	128,63	126,00



Slika 4.2-37. Odnos koncentracije acetamiprida i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 222 – 224 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 1062,51. Dobijena prava $y = 58{,}73 + 6{,}346x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija acetamprida od oko 1 – 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9173. Interakcija hroma sa acetamipridom je ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.



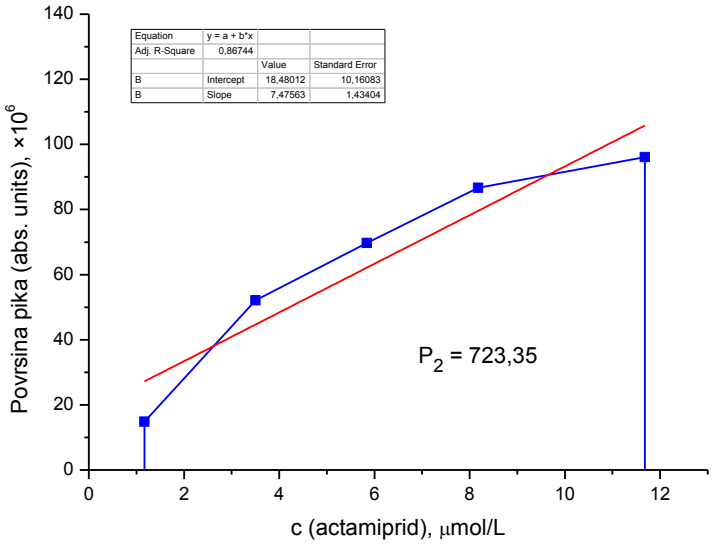
Slika 4.2-38. ESI MS LOOP-hromatogram acetamiprida (*c* = 5,840 μmol/L) i hroma (*c* = 5,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

Korespodentan ESI MS LOOP-hromatogram binarnog sistema rastvora acetamprida sa hromom (slika 4.2-38.) sniman je pod identičnim uslovima kao i hromatogram acetamprida

bez hroma. LOOP-hromatogram je takođe pokazao dobar integritet pika kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 222 – 223. ESI MS spektar binarnog sistema acetamprid – hrom(III) je sličnog izgleda kao spektar monokomponentnog sistema, sa donekle izmenjenim relativnim intenzitetima signala, a na *m/z* 336 je pik novonastalog jona koji je moguća posledica koordinacione interakcije hroma(III) sa acetampridom i prisutnim molekulima metanola, vode, ili drugih jona i neutralnih vrsta iz matriksa. Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 222 – 224 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti date u tabeli 4.2-16. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata, izračunata aproksimirajuća prava (linerarna regresija) za binarni sistem acetamiprid – hrom(III), prikazana grafički na slici 4.2-39.

Tabela 4.2-16. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 222 – 224, u zavisnosti od koncentracije acetamiprida i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Acetamiprid	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,168	9,00	15,38	18,33	10,83	14,85
3,504	7,00	47,56	53,30	55,56	52,14
5,840	5,00	64,03	71,85	73,20	69,69
8,176	3,00	88,69	85,76	85,60	86,68
11,68	1,00	97,22	91,84	99,11	96,06



Slika 4.2-39. Odnos koncentracije acetamiprida u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 222 – 224; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

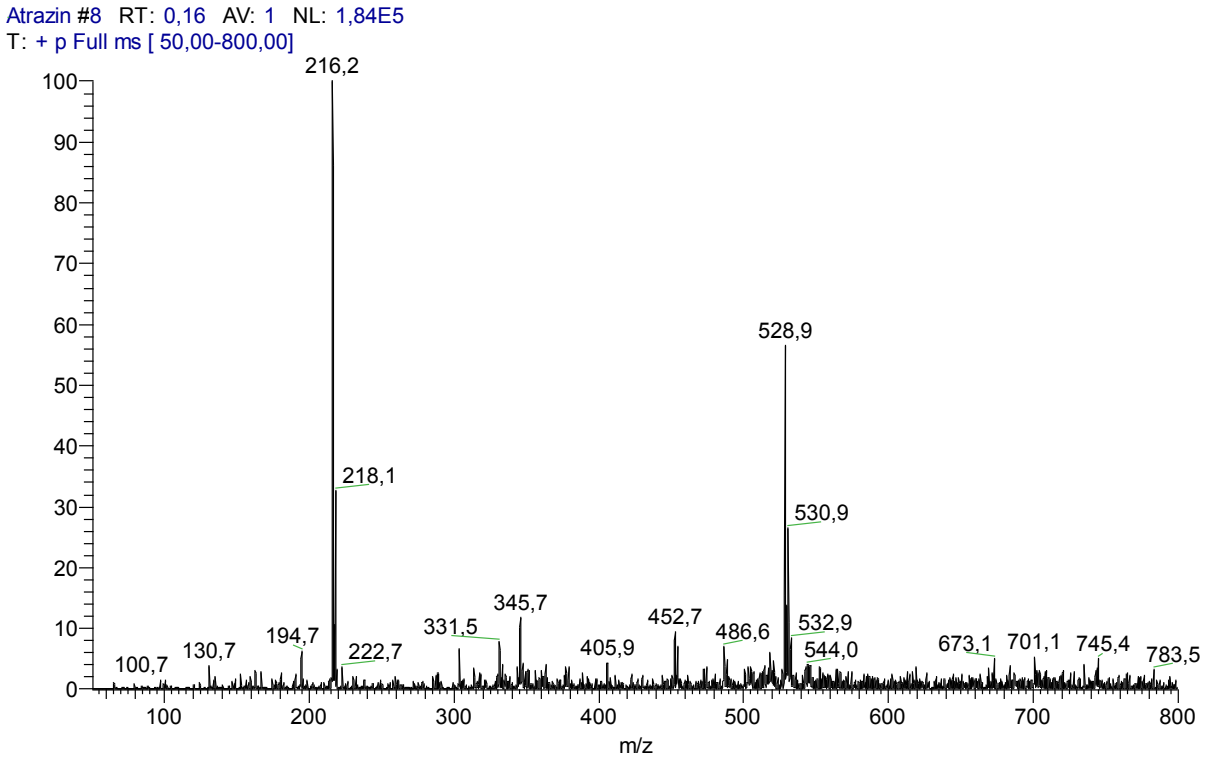
Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 723,35. Dobijena prava $y = 18{,}48 + 7{,}476x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija acetamiprida od oko 1 do 12 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije $R^2 = 0{,}8674$. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 31{,}92\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\text{ESI}\%} = 31{,}88\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 31,92% manja od analogne površine za acetamiprid bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 31,88% što pokazuje znatno slabiju koordinacionu interakciju acetamiprida i hroma(III) u odnosu na prethodno ispitivanu interakciju N-donor liganda 2,2'-bipiridina i hroma(III).

4.2.2.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – atrazin

U cilju optimizacije osetljivosti i detekcije ciljanih hemijskih vrsta, određen je polaritet instrumenta tako da odgovara polaritetu jona analita. Preliminarna istraživanja su pokazala da ligandi i kompleksi koji poseduju bazne funkcionalne grupe, lakše podležu protonovanju i favorizuju stvaranje pozitivnih jona, tako da su spektri atrazina i kompleksa atrazina sa hromom snimani u pozitivnom modu). Kao relevantan je odabran pik *m/z* 216 i prema njemu je izvršena optimizacija parametara instrumenta (*tunning*). Slika 4.2-40. prikazuje spektar atrazina, kao i radne uslove u jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	5,21
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	19,04
Aux Gas Flow Rate():	1,61
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	14,27
Capillary Temp (C):	200,50
Tube Lens Voltage (V, set po	-45,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-3,22
Lens Voltage (V):	-47,74
Multipole 2 Offset (V):	-9,74
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-52,99
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,10
Fine Trap DC Offset (V):	-10,05
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	112,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

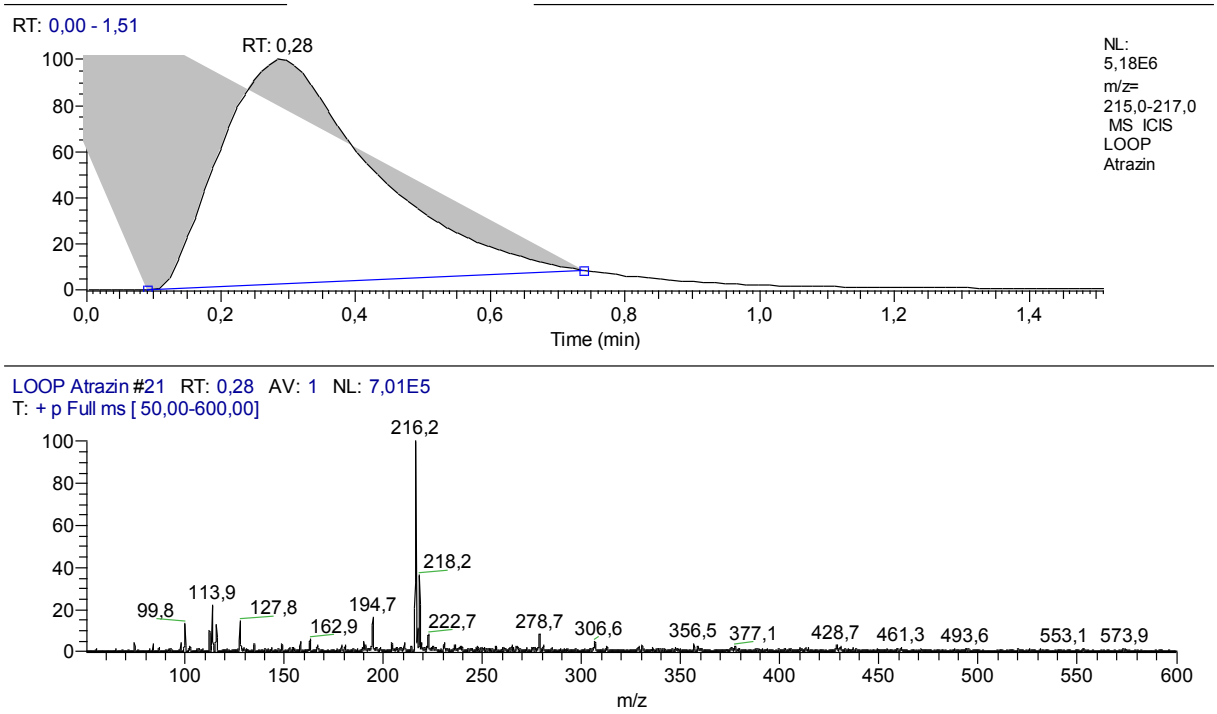
Slika 4.2-40. ESI MS spektar atrazina; *c* = 12,09 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Dominantan pik *m/z* 216,2 (rel. int. 100%) potiče od protonovanog mono-naelektrisanog molekulskog jona atrazina $[M+H]^+$, dok je *m/z* 218,1 (rel. int. 32,76%) asigniran kao izotopski pik atrazina, usled prisustva izotopa hlora. Međusobni odnos

intenziteta ovih pikova približno korespondira odnosu izotopskih pikova elementarnog hlora od 100:32 (→ *Prilog*), što ukazuje na prisustvo jednog atoma hlora u jonu.

Grupa pikova *m/z* 528 – 533 prema relativnim intenzitetima ukazuje na prisustvo mononaelektrisanog jona – adukta dimera atrazina sa molekulskim vrstama prisutnim u matriksu: 528,9 – 56,55% 529,9 – 13,72% 530,9 – 26,64% 531,9 – 6,67%, a međusobni odnosi prema izotopskoj distribuciji ukazuju na jonsku vrstu sa dva atoma hlora (→ *Prilog*).

MS-MS spektar *parent*-jona *m/z* 216 ± 1,0 u pozitivnom modu je dao seriju fragmentnih vrsta, sa dominantnim *daughter*-jonom na *m/z* = 174,1 dok je fragmentacija *parent*-jona m/z 519 dala različit MS-MS spektar sa osnovim *daughter*-jonom *m/z* 331,5 i manje izraženim jonima *m/z* 345 i 314 (spektri su dati u *Prilogu*). Ovo ukazuje da prepostavljeni adukt dimera atrazina sa drugim vrstama ima drugačiju fragmentaciju u datim uslovima kolizije.

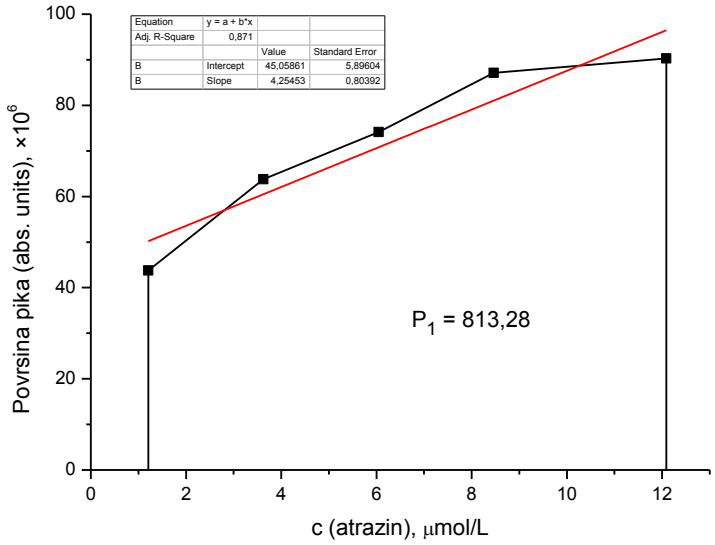


Slika 4.2-41. ESI MS LOOP-hromatogram atrazina (bez prisustva hroma); *c* = 7,161 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 µL/min.

Kvantifikacija atrazina je izvršena injektiranjem tačne zapremine rastvora atrazina od 20 µL primenom LOOP-a aparata. LOOP-hromatogram je pokazao dobar integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 215 – 217 (slika 4.2-41.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 215 – 217 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-17. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-42.). U spektru LOOP-hromatograma se uočava jasan $[M+H]^+$ *m/z* 216, dok pri uslovima snimanja spektra, nisu primećeni signali *m/z* = 528 – 533.

Tabela 4.2-17. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 215 – 217, u zavisnosti od koncentracije atrazina (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija atrazina, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,209	42,76	45,17	43,44	43,79
3,627	63,85	60,93	66,51	63,76
6,045	71,04	73,83	77,50	74,12
8,463	82,23	87,00	92,07	87,10
12,09	94,06	92,30	84,43	90,26

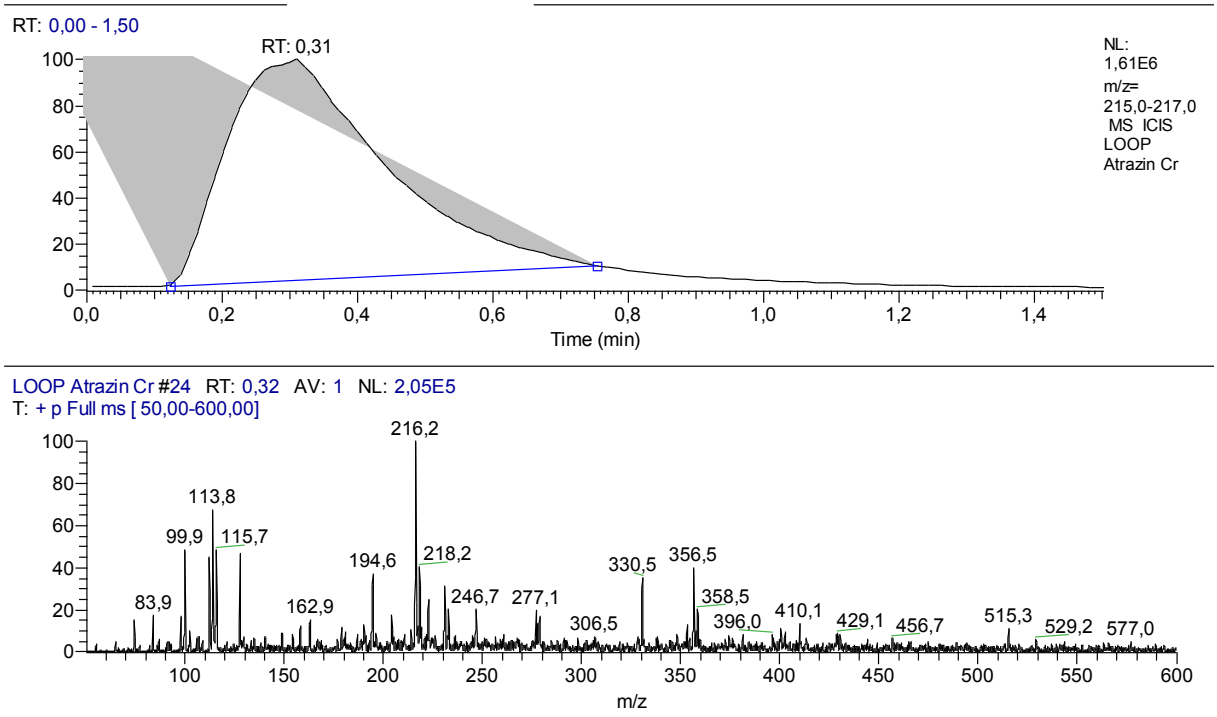


Slika 4.2-42. Odnos koncentracije atrazina i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 215 – 217 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 813,28. Dobijena prava $y = 45{,}06 + 4{,}255x$ pokazuje, za uslove ESI MS, još uvek zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija atrazina od oko 1 – 12 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,871. Interakcija hroma sa atrazinom je ispitivana okviru ovog linearnog opsega.

Korespodentan ESI MS LOOP-hromatogram atrazina sa hromom, (slika 4.2-43.) sniman je pod istim uslovima kao i hromatogram atrazina bez hroma. LOOP-hromatogram pokazuje dobar integritet pika kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 215 – 217.

U delu spektra iznad *m/z* = 230 uočava se pojava novih pikova (*m/z* 277, 306, 331, 366, 359, 396, 410, 429, 457) kao moguća posledica koordinacione interakcije hroma(III) sa atrazinom i drugim prisutnim molekulima rastvarača, vode, ili drugih jona i neutralnih vrsta iz matriksa. U delu spektra sa nižim *m/z* vrednostima se primećuje pojava mononaelektisanog jona *m/z* 116.

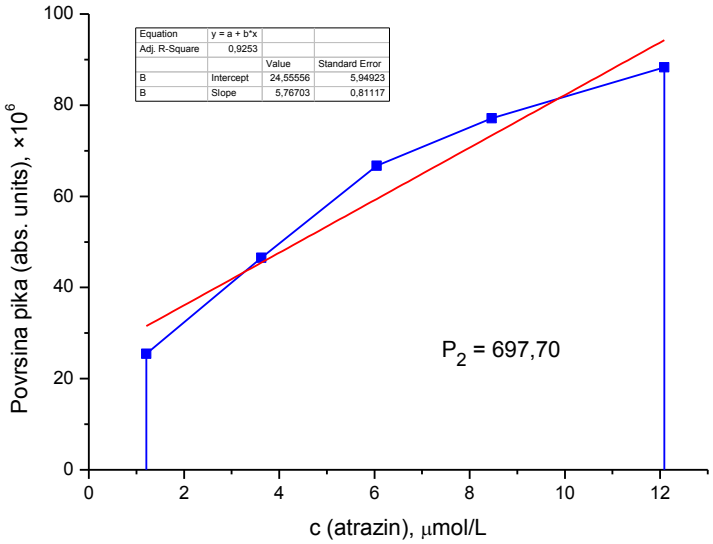


Slika 4.2-43. ESI MS LOOP-hromatogram atrazina (c = 2,056 µmol/L) i hroma (c = 3,00 µmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 µL/min

Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 215 – 217 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarjuće vrednosti date u tabeli 4.2-18. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za sistem atrazin – hrom, prikazana na slici 4.2-44.

Tabela 4.2-18. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 215 – 217, u zavisnosti od koncentracije atrazina i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Atrazin	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,209	9,00	29,55	22,87	23,87	25,43
3,627	7,00	47,44	47,87	44,22	46,51
6,045	5,00	63,80	69,31	66,95	66,69
8,463	3,00	75,83	79,99	75,53	77,12
12,09	1,00	88,45	85,21	91,28	88,31



Slika 4.2-44. Odnos koncentracije atrazina u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 215 – 217; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 697,70. Dobijena prava $y = 24{,}56 + 5{,}767x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija atrazina od oko 1 do 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9253. Relativna razlika površina izražena je kao:

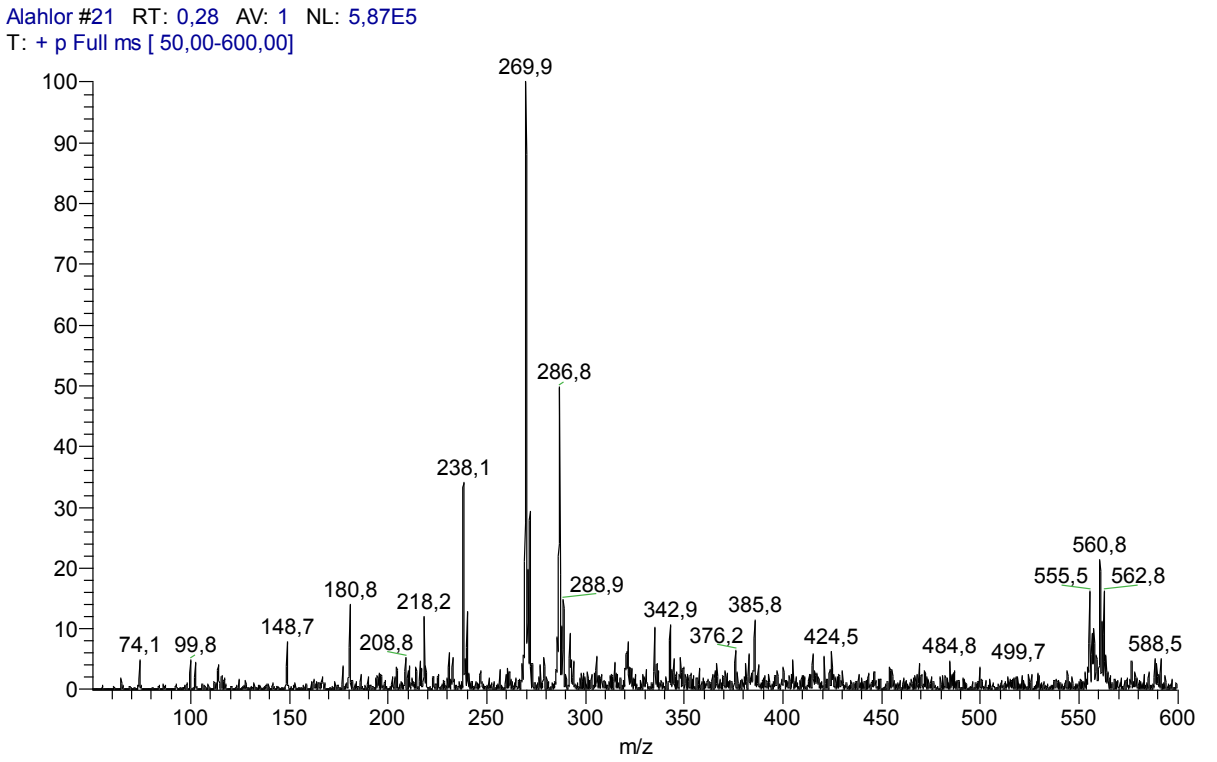
$$\Delta P_{(1-2)\%} = 16{,}55\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\mathrm{ESI}\%} = 17{,}11\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 16,55% manja od analogne površine za atrazin bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ = 17,11% što pokazuje relativno slabiju koordinacionu interakciju atrazina i hroma(III). Na ovaj način kvantifikovana interakcija je manje izražena u odnosu na većinu drugih interakcija praćenih u ovom radu, i najmanja je u grupi ispitivanih N-donor liganda.

4.2.3 Rezultati ispitivanja interakcija Cr(III) – O, N ili S-donor ligandi

4.2.3.1 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – alahlor

Opredeljen je pozitivan polaritet ESI izvora instrumenta u skladu sa hemijskom prirodom alahlora koji pokazuje nukleofilni karakter. Nukleofilnost tercijarnog N-atoma je donekle umanjena prisutvom kiseonikovih atoma u susedstvu, koji negativnim induktivnim efektom umanjuju baznost N-atoma. Sa druge strane, *R*+ efekat aromatičnog jezgra doprinosi porastu elektronske gustine na N-atomu. Takođe, kiseonikovi atome se mogu javiti kao nukleofilni centri u uslovima ESI jonizacije. Nijedan H-atom ne pokazuje kiseli karakter. Spektri alahlora i kompleksa alahlora sa hromom su zato snimani u pozitivnom modu (ESI MS spektar alahlora u negativnom modu je dat u *Prilogu*). Kao relevantan je odabran pik *m/z* 270 i prema njemu je izvršena optimizacija parametara instrumenta (*tunning*). Slika 4.2-45. prikazuje spektar alahlora, kao i radne uslove u jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	5,21
Source Current (uA):	0,10
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	19,14
Aux Gas Flow Rate():	3,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	8,19
Capillary Temp (C):	250,50
Tube Lens Voltage (V, set po	-30,00

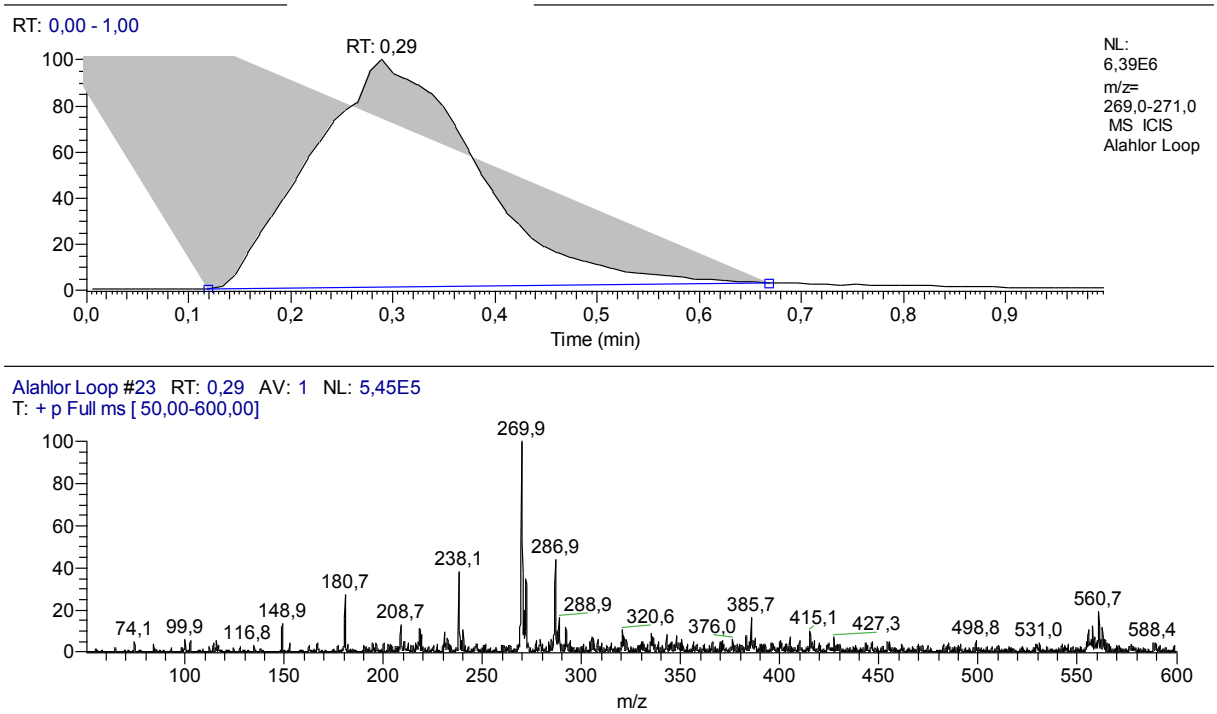
ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-5,05
Lens Voltage (V):	-34,62
Multipole 2 Offset (V):	-17,93
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-59,07
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,10
Fine Trap DC Offset (V):	-10,04
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	100,00
Infused Volume (uL):	1360,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-45. ESI MS spektar alahlora; c = 13,55 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Bazni pik *m/z* 270 potiče od protonovanog mononaelektrisanog molekulskog jona alahlora (rel. int. 100%), dok je *m/z* 271,8 (rel. int. 29,4%) pripisan izotopskom piku alahlora, usled prisustva ^{37}Cl, s obzorom da je međusobni odnos ovih pikova približno analogan odnosu izotopskih pikova elementarnog hlora od 100:32 (→ *Prilog*), a što ukazuje na prisustvo jednog atoma Cl u baznom jonu.

Signal na *m/z* 238 je nastao fragmentacijom uz gubitak metanola $[M–CH_3OH–H]^-$ (rel. int. 35,84). Pikovi na *m/z* 561 (rel. int. 21,35%) i na *m/z* 563 (rel. int. 16,19%) pokazuju sličnost sa distribucijom izotopskih masa dvoatomskog hlora, što ukazuje na pretpostavku da je u pitanju adukt dimera alahlora sa prisutnim jonskim i neutralnim vrstama.

MS/MS spektar alahlora, odnosno *parent*-jona *m/z* 270 ± 1,0 u pozitivnom modu sa E_{coll} = 21% je dao mali broj fragmentnih vrsta, sa dominantnim *daughter*-jonom na *m/z* = 238 (gubitak CH_3OH), što pokazuje da CID proces favorizuje fragmentaciju koja se javlja i u MS^1 spektru.

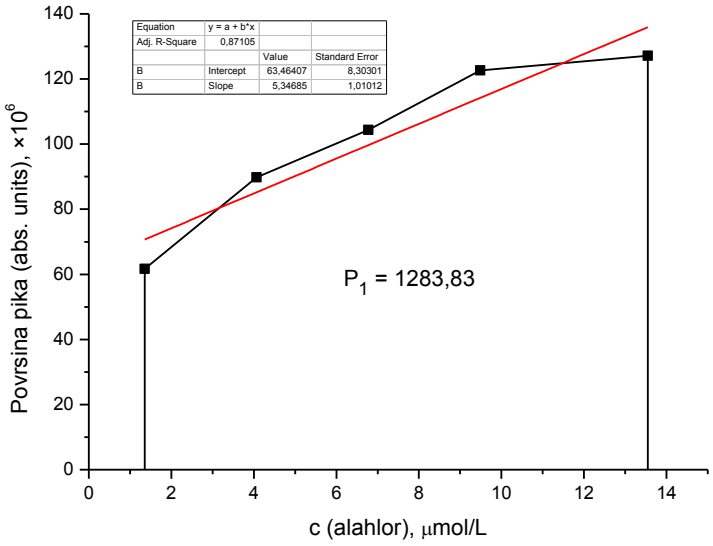


Slika 4.2-46. ESI MS LOOP-hromatogramski pik alahlora (bez prisustva hroma); c = 9,485 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Kvantifikacija alahlora je izvršena injektiranjem tačne zapremine rastvora alahlora od 20 µL primenom LOOP-a aparata. LOOP-hromatogram je pokazao zadovoljavajući integritet pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 269 – 271 (slika 4.2-46.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 269 – 271 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-19. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-47.). U spektru LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M+H]^+$ *m/z* 270, dok su pri uslovima snimanja spektra, donekle potisnuti joni *m/z* 560 – 562.

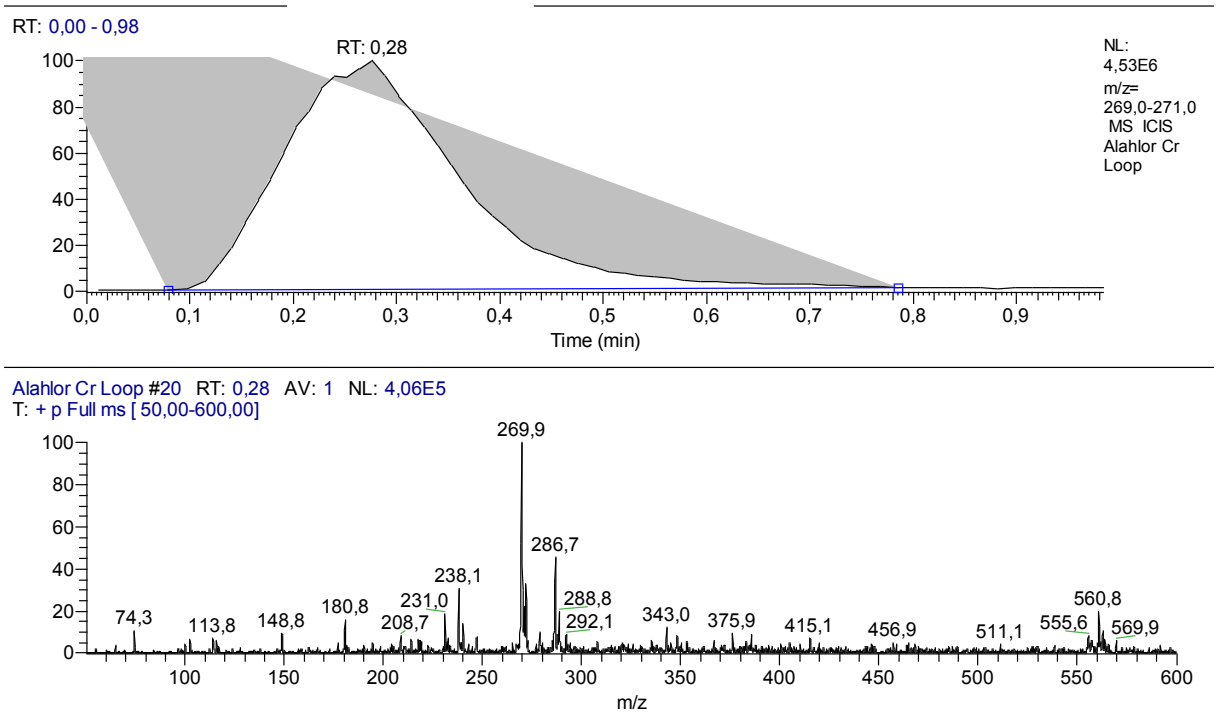
Tabela 4.2-19. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 269 – 271, u zavisnosti od koncentracije alahlora (bez prisustva hroma). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija alahlora, µmol/L	**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,355	60,22	63,62	61,19	61,68
4,065	89,93	85,82	93,67	89,81
6,775	100,06	103,99	109,15	104,40
9,485	115,82	122,53	129,67	122,67
13,55	132,48	130,00	118,92	127,13



Slika 4.2-47. Odnos koncentracije alahlora i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 269 – 271 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 1283,83. Dobijena prava $y = 63{,}46 + 5{,}347x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija alahlora od oko 1 – 14 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,8711. Interakcija hroma sa alahlorom je ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.



Slika 4.2-48. ESI MS LOOP-hromatogram alahlora (*c* = 6,775 μmol/L) i hroma (*c* = 5,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min.

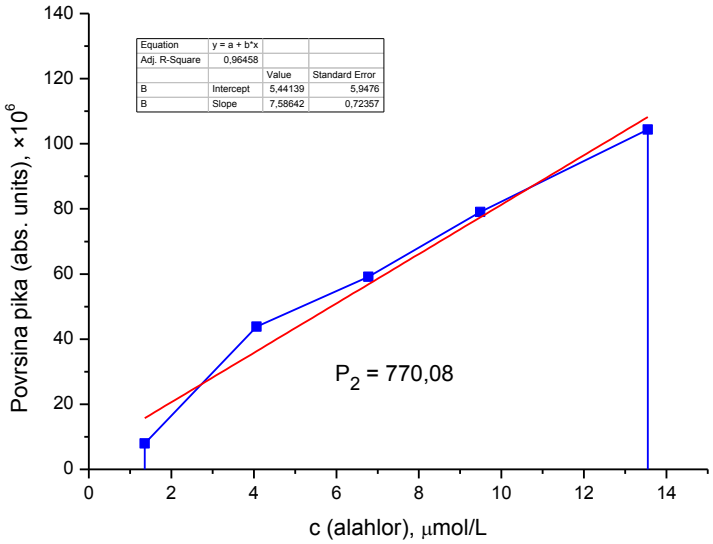
Korespodentan ESI MS LOOP-hromatogram alahlora sa hromom (slika 4.2-48.) sniman je pod istim uslovima kao i hromatogram alahlora bez hroma. LOOP-hromatogram pokazuje dobar integritet pika kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 269 – 271.

U delu spektra iznad *m/z* = 270 uočava se pojava novih pikova (*m/z* 343, 457) kao moguća posledica koordinacione interakcije hroma(III) sa alahlorom i drugim prisutnim molekulima rastvarača, vode, ili drugih jona i neutralnih vrsta iz matriksa. U delu spektra sa nižim *m/z* vrednostima se primećuje pojava jona *m/z* 114 i 231.

Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 269 – 271 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su odgovarajuće vrednosti date u tabeli 4.2-20. na osnovu kojih je linearnim fitovanjem, metodom najmanjih kvadrata, izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem alahlor – hrom(III), prikazana grafički na slici 4.2-49. Zadržani su identični radni uslovi instrumenta kao i kod kvantifikacije monokomponentnog sistema alahlora.

Tabela 4.2-20. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 269 – 271, u zavisnosti od koncentracije alahlora i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Alahlor	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,355	9,00	7,10	8,51	8,28	7,96
4,065	7,00	39,63	44,42	47,55	43,87
6,775	5,00	53,36	63,19	61,00	59,18
9,485	3,00	76,49	79,48	81,22	79,06
13,55	1,00	104,00	100,72	108,61	104,44



Slika 4.2-49. Odnos koncentracije alahlora u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 269 – 271; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 770,08. Dobijena prava $y = 5{,}441 + 7{,}586x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom

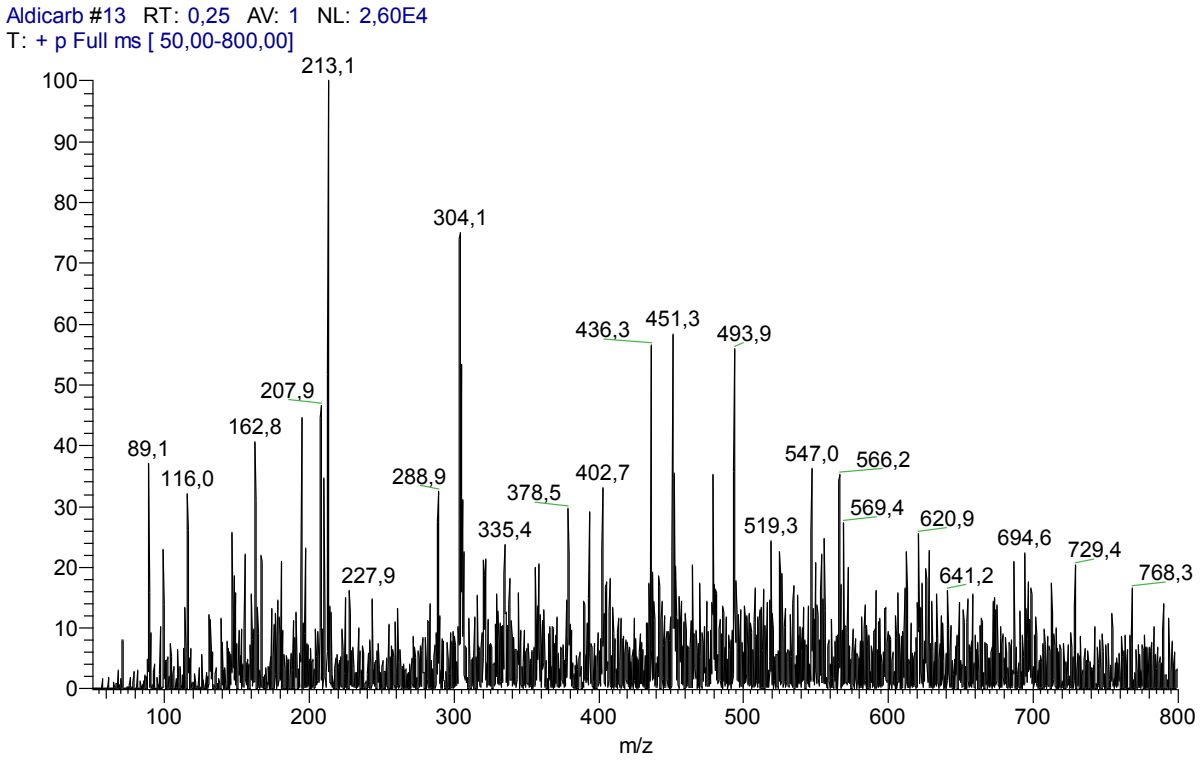
opsegu koncentracija alahlora od oko 1 do 14 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9646. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 39{,}99\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\mathrm{ESI}\%} = 46{,}33\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 39,99% manja od analogne površine za alahlor bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\mathrm{ESI}\%}$ iznosi 46,33%, što pokazuje dosta izraženu koordinacionu interakciju alahlora i hroma(III) u odnosu na većinu drugih metal – ligandnih binarnih sistema praćenih u ovom radu.

4.2.3.2 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – aldikarb

Odabran je pozitivan polaritet ESI izvora instrumenta u skladu sa hemijskom prirodom aldikarba koji pokazuje slabo bazni karakter, kao molekul sa više potencijalnih nukleofilnih centara (–N, –O i –S). Nukleofilnost N-atoma je donekle umanjena prisutvom kiseonikovih atoma u susedstvu, koji negativnim induktivnim efektom umanjuju baznost N-atoma. Sa druge strane, 6-atomska podstruktura pruža rezonantni efekat koji pogoduje prijemu H^+ jona u procesu desolvatacije analita.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,94
Aux Gas Flow Rate():	1,82
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	37,62
Capillary Temp (C):	219,10
Tube Lens Voltage (V, set po	-40,00

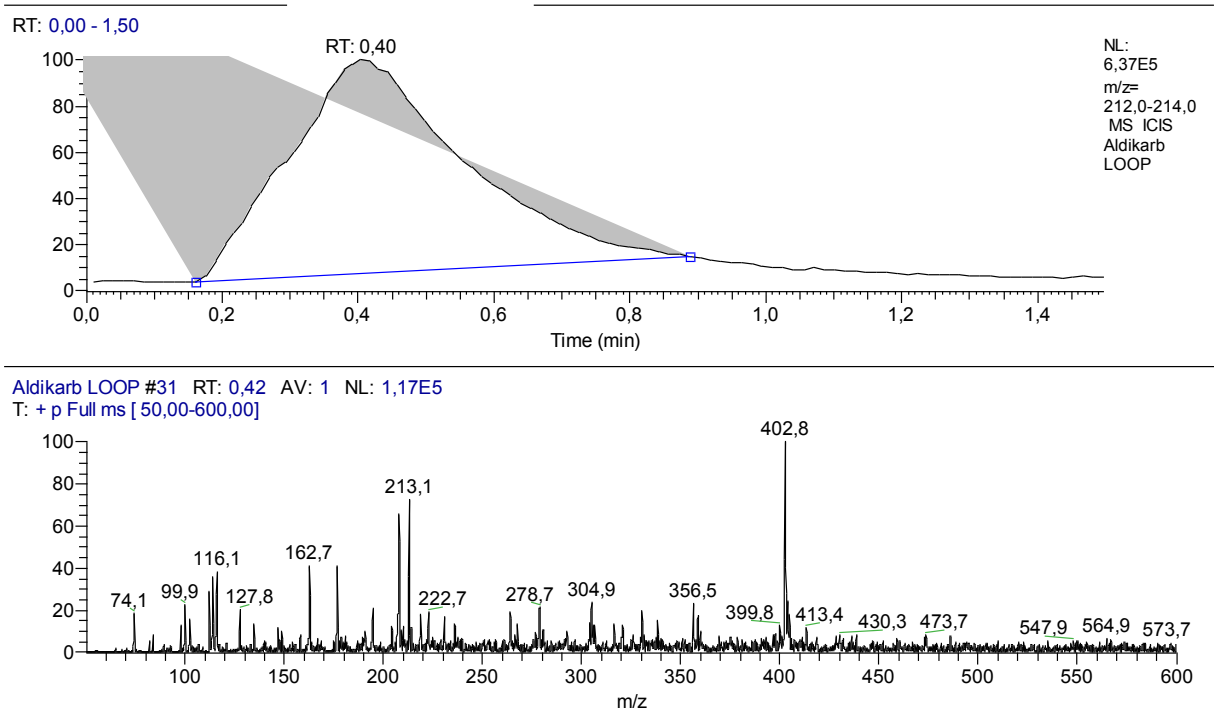
ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-4,25
Lens Voltage (V):	-34,62
Multipole 2 Offset (V):	-8,71
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-30,67
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,18
Fine Trap DC Offset (V):	-10,04
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	216,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-50. ESI MS spektar aldikarba; c = 11,57 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Nijedan H-atom aldikarba ne pokazuje kiseli karakter. Spektri aldikarba i kompleksa aldikarba sa hromom su shodno tome praćeni u pozitivnom modu (ESI MS spektar aldikarba u negativnom modu je dat u *Prilogu*). Kao relevantan je odabran pik *m/z* 213 i prema njemu je izvršena optimizacija radnih uslova. Slika 4.2-50. prikazuje spektar aldikarba, kao i radne uslove u ESI jonskom izvoru i uslove jonske optike nakon optimizacije.

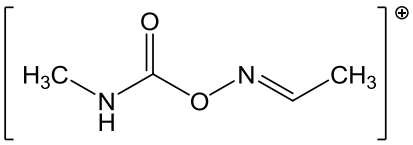
Bazni pik *m/z* 213,1 potiče od mononaelektrisanog adukta aldikarba sa natrijumom $[M+Na]^+$ (rel. int. 100%), i preko ovog jona je vršeno kvantitativno merenje. Izotopski joni su niskog intenziteta, što odgovara teorijskoj izotopskoj distribuciji aldikarba (→ *Prilog*). Protonovani molekulski jon aldikarba $[M+H]^+$ nije karakterističan pri datim uslovima snimanja. S obzirom da za potrebe ovog rada nije neophodan protonovani analit (kao na primer u analitičke svrhe) odnosno nije kritična dalja maksimalna osetljivost pri fragmentaciji u MS-MS procesu, natrijumov adukt je usvojen kao reprezentativan monitoring jon. Uočeni mononaelektrisani jon *m/z* 304 (rel. int. 89,50%) potiče od adukta aldikarba sa metanolom i vodom $[M+3(CH_3OH)+H_2O]^+$ a bliski *m/z* 305 (rel. int. 86,71%) od protonovanog adukta $[M+3(CH_3OH)+H_2O+H]^+$.

Joni *m/z* 402,9 – 42,78%, 541,3 – 47,28%, 493,8 – 65,40% i 547,0 – 22,33 najverovatnije potiču od adukta monomera ili dimera aldikarba sa jonima ili neutralnim vrstama rastvarača, ali zbog nekarakteristične izotopske distribucije samog aldikarba ovi joni ne daju sličnu, odnosno dovoljno izotopsku diferencijaciju odgovarajućeg adukta, usled nedovoljne rezolucije MS analizatora.



Slika 4.2-51. ESI MS LOOP-hromatogramski spektar aldikarba; *c* = 3,30 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

MS/MS spektar aldikarba (→ *Prilog*), sa *parent*-jonom *m/z* 213 ± 1,0 u pozitivnom modu je dao nekoliko fragmentnih vrsta, sa dominantnim *daughter*-jonom na *m/z* 116 strukture:

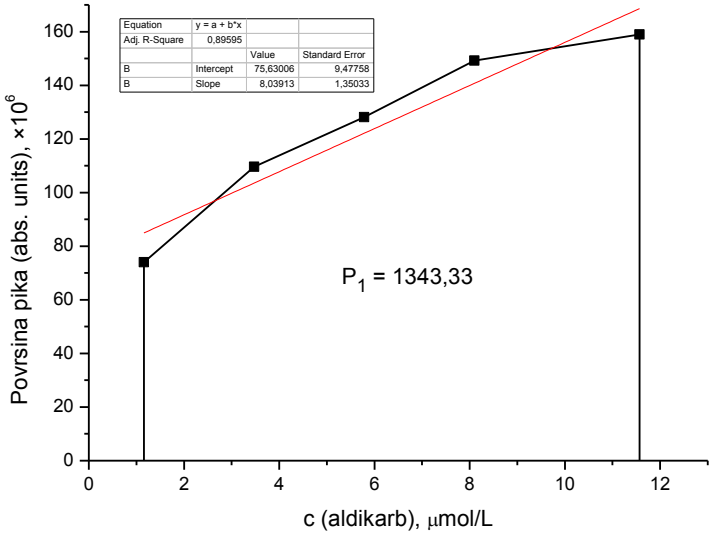


kao i pikove *m/z* 156, 98 i 89. MS-MS *parent*-jona *m/z* 304 ± 1,0 u pozitivnom modu je dao drugačije fragmentne vrste (276, 273 145 itd), ali sada sa pojačanim, odnosno dominantnim *daughter*-jonom na *m/z* 89,5 i ponovo prisutnim *m/z* 116 manjeg intenziteta.

Kvantifikacija aldikarba je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora aldikarba (20 µL) odgovarajućih koncentracija, primenom LOOP-a aparata. LOOP-hromatogram je pokazao zadovoljavajući oblik pika, kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 212 – 214 (slika 4.2-51.). Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za navedeni opseg *m/z* algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-21. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-52.). U spektru LOOP-hromatograma se uočava izražen pik jona $[M+Na]^+$ *m/z* 213, dok su pri uslovima snimanja spektra, donekle potisnuti drugi joni, osim *m/z* 402,8 koji se u uslovima rada sa LOOP-om pojavio kao bazni pik (rel. int 100%).

Tabela 4.2-21. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 212 – 214, u zavisnosti od koncentracije aldikarba. Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a.Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija aldikarba, µmol/L	**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,157	72,26	76,34	73,43	74,01
3,471	107,92	108,66	112,40	109,66
5,785	128,70	124,79	130,98	128,16
8,099	144,87	147,04	155,60	149,17
11,57	158,98	156,00	161,98	158,99

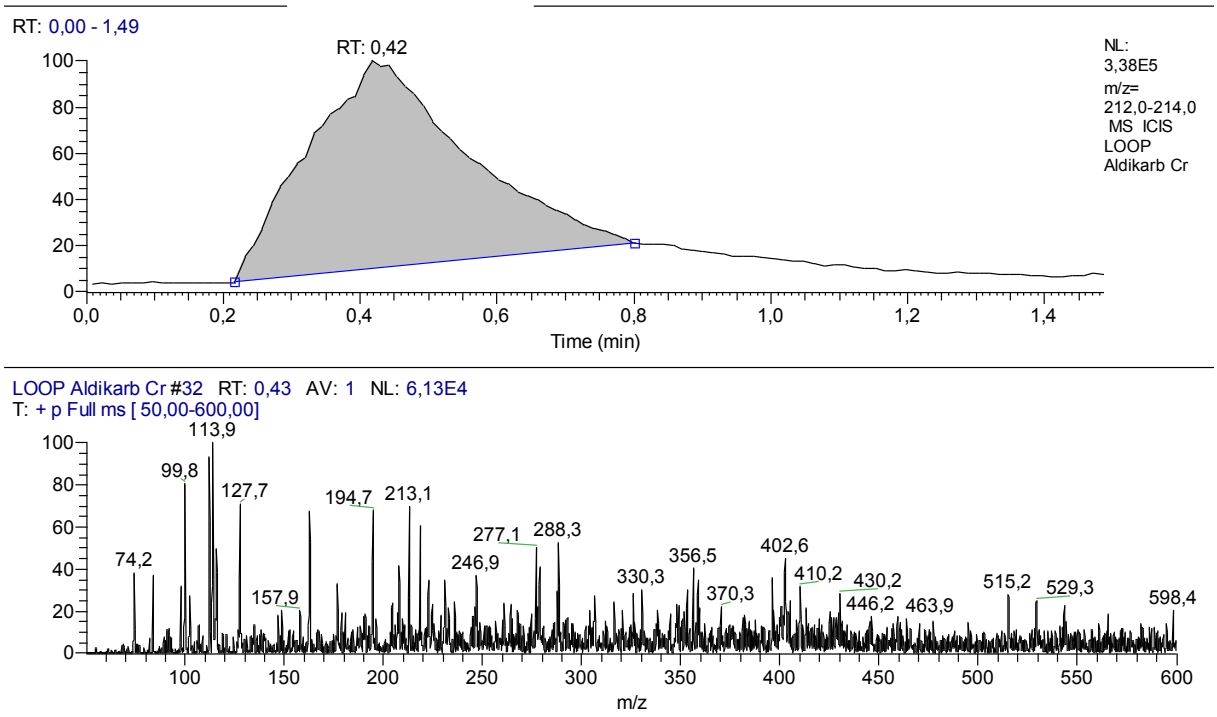


Slika 4.2-52. Odnos koncentracije aldikarba i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 212 – 214 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 1343,33. Dobijena prava $y = 75{,}63 + 8{,}039x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija aldikarba od oko 1 – 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,8959. Interakcija hroma sa aldikarbom je ispitivana u okviru ovog linearnog opsega.

Korespodentan ESI MS LOOP-hromatogram aldikarba sa hromom (slika 4.2-53.) sniman je pod istim uslovima kao i hromatogram aldikarba bez hroma. LOOP-hromatogram pokazuje zadovoljavajući integritet pika kako za TIC, tako i za traženi opseg *m/z* 212 – 214, a retenciono vreme signala je u opsegu vremena LOOP-analize . Numeričke vrednosti površine ESI MS LOOP pikova za binarni sistem su date u tabeli 4.2-22., a aproksimirajuća prava dobijena linearnom regresijom je prikazana na slici 4.2-54.

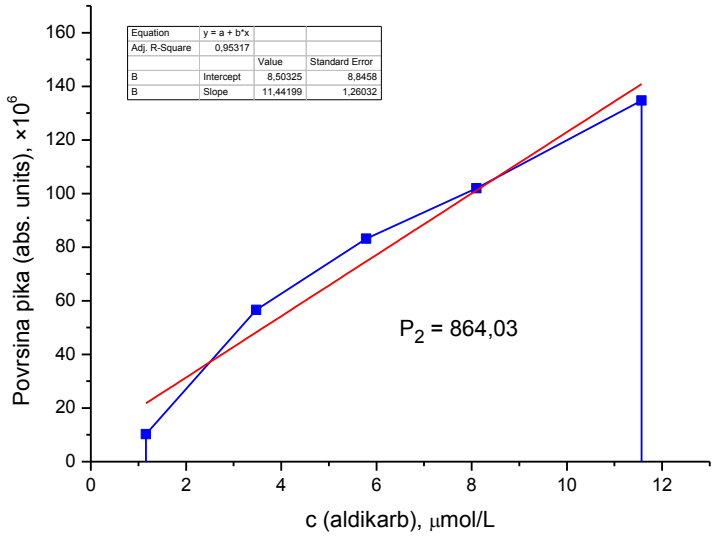
ESI MS LOOP spektar po dodatku hroma(III) pokazuje različitie *m/z* nekarakteristične za čisti aldikarb. Primetna je pojava novih pikova (*m/z* 74, 149, 180, 208, 246, 348, 356) kao moguća posledica koordinacione interakcije hroma(III) sa aldikarba i drugim prisutnim molekulima rastvarača, vode, ili drugih jona i neutralnih vrsta iz matriksa.



Slika 4.2-53. ESI MS spektar aldikarba (c = 1,157 μmol/L) i hroma (c = 9,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Tabela 4.2-22. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 212 – 214, u zavisnosti od koncentracije aldikarba i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Aldikarb	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,157	9,00	9,16	10,98	10,68	10,27
3,471	7,00	51,12	57,30	61,34	56,59
5,785	5,00	74,38	88,60	86,41	83,13
8,099	3,00	98,67	102,53	104,77	101,99
11,57	1,00	134,16	129,93	140,11	134,73



Slika 4.2-54. Odnos koncentracije aldikarba u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 212 – 214; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 864,03. Dobijena prava $y = 8{,}503 + 11{,}442x$ pokazuje, za uslove ESI MS, relativno zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija aldikarba od oko 1 do 12 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije $R^2 = 0{,}9532$. Relativna razlika površina izražena je kao:

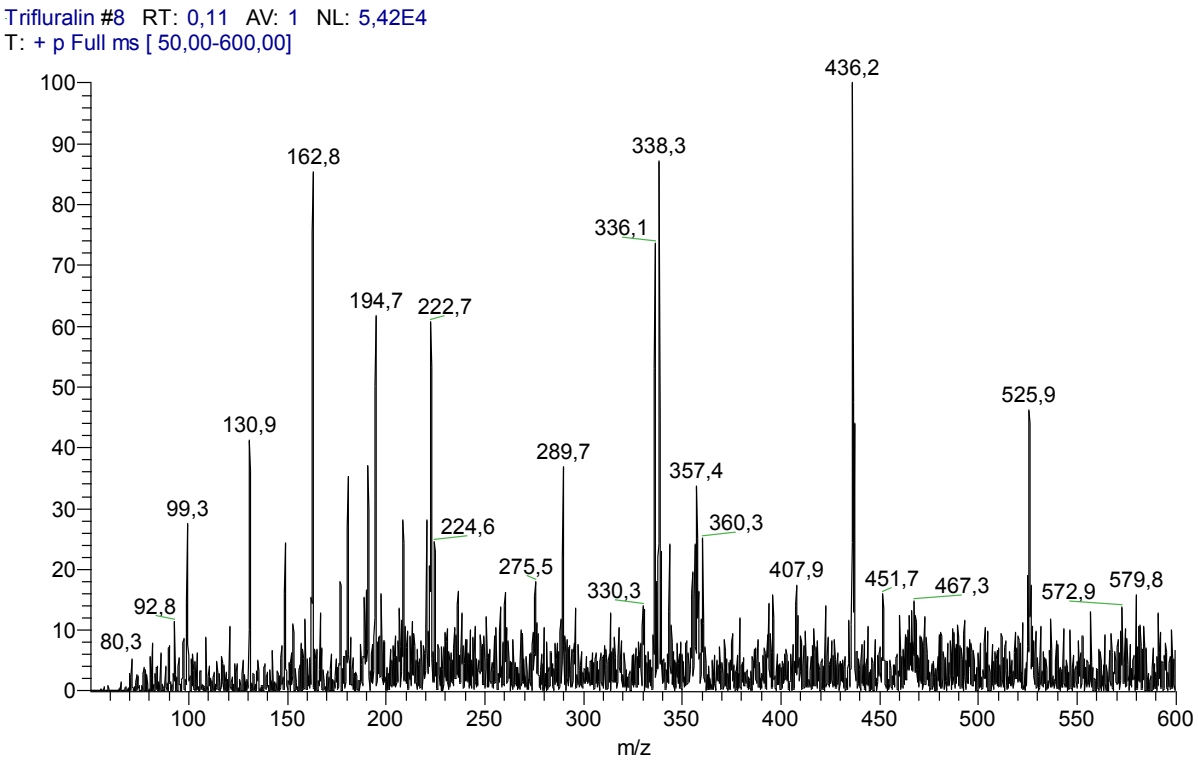
$$\Delta P_{(1-2)\%} = 35{,}68\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\text{ESI}\%} = 35{,}29\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 35,68% manja od analogne površine za aldikarb u monokomponentnom sistemu bez prisustva hroma, dok je vrednost $\Delta P_{\text{ESI}\%}$ = 35,29% što pokazuje srednje izraženu koordinacionu interakciju aldikarba i hroma(III), u odnosu na prethodno ispitivane kombinacije hroma(III) i liganada.

4.2.3.3 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) –trifluralin

Kao i drugi nukleofilni liganadi ispitivani u ovom radu, trifluralin u pozitivnom ESI MS modu daje protonovani molekulski jon $[M+H]^+$ *m/z* 336 (rel. int. 73,60%). Slika 4.2-55. prikazuje spektar trifluralina, a u pratećoj tabeli su dati radni uslovi snimanja spektra, odnosno paramatri ESI izvora i jonske optike koji su posle optimizacije prema signalu *m/z* 336 korišćeni u radu. Signal na *m/z* 338 verovatno potiče od sporednog produkta redukcije trifluralina, imajući u vidu njegove *redoks* karakteristike (koje se ispoljavaju i u prirodnim uslovima razgradnje ovog pesticida, usled postojanja dve visoko oksidovane $–NO_2$ grupe). Osnovni jon (rel. int. 100%) *m/z* 436 je asigniran kao adukt protonovanog trifluralina, metanola i vode $[M+H+2CH_3OH+2H_2O]^+$.

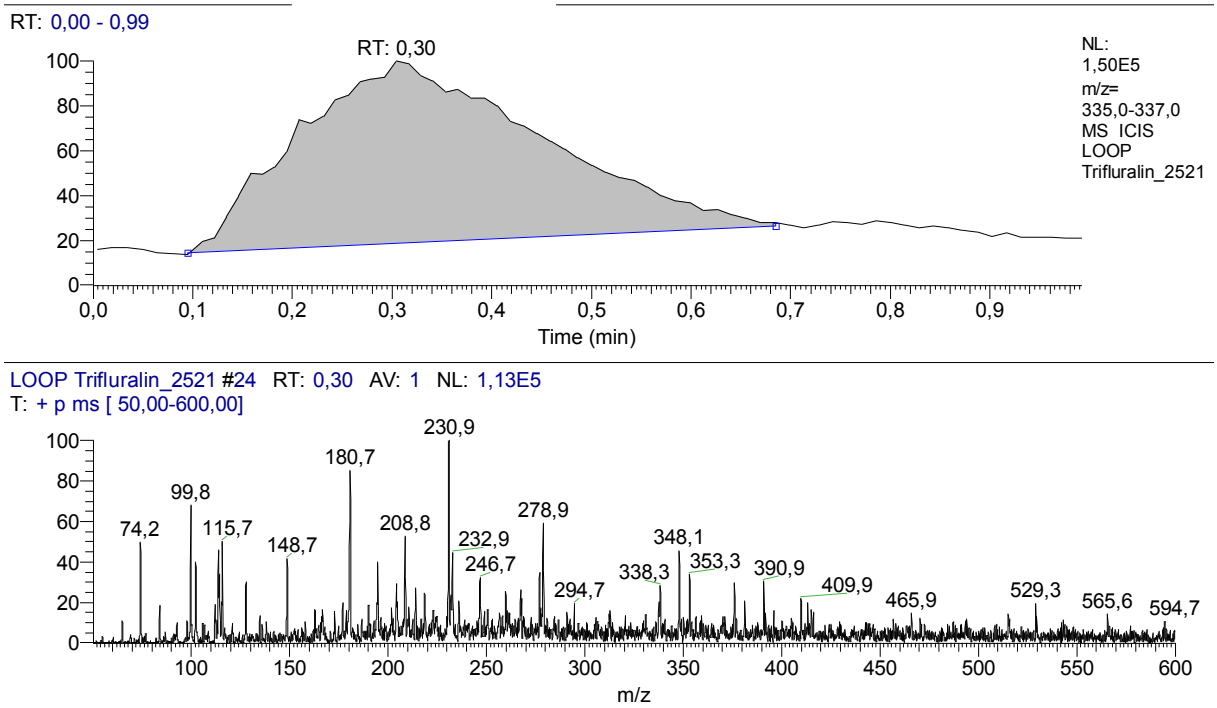
ESI MS spektar trifluralina u negativnom modu (→ *Prilog*) nije signifikantan, usled malog aciditeta (nepostojanja kiselih H-atoma), i nemogućnosti nagradnje drugih anjona u uslovima ESI jonizacije. MS/MS spektar *parent*-jona *m/z* 336 (E_{coll} = 24%) je pokazao fragmente na *m/z* 318 $[M–H_2O]+$, 294, 276, 252, 248, 236 i druge *daughter*-jone manjeg intenziteta.



INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	4,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	18,94
Aux Gas Flow Rate():	1,77
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	3,07
Capillary Temp (C):	220,00
Tube Lens Voltage (V, set po	-25,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-4,69
Lens Voltage (V):	-20,35
Multipole 2 Offset (V):	-7,69
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-38,79
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,18
Fine Trap DC Offset (V):	-10,04
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	253,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-55. ESI MS spektar trifluralina; *c* = 5,432 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

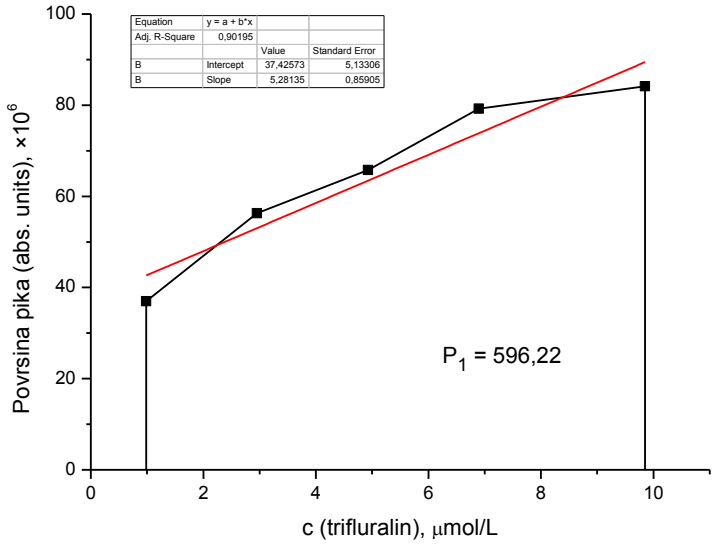


Slika 4.2-56. ESI MS LOOP-hromatogramski spektar trifluralina; *c* = 4,925 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

ESI MS LOOP kvantitativna analiza trifluralina je izvršena injektiranjem tačnih zapremina rastvora (20 µL) odgovarajućih koncentracija. LOOP-hromatogram (sa uslovima ESI i jonskom optikom optimizovanom na *m/z* 336) je pokazao dobar integritet pika za TIC, a nešto slabiji za traženi maseni opseg *m/z* 335 – 337, koji ima proširenu bazu i manje pravilnu liniju promene intenziteta signala (slika 4.2-56.), ali zadovoljava u pogledu konzistentnosti i dužine retencionog vremena. Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova u navedenom opsegu algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-23. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem metodom najmanjih kvadrata izračunata kalibraciona prava (slika 4.2-57.).

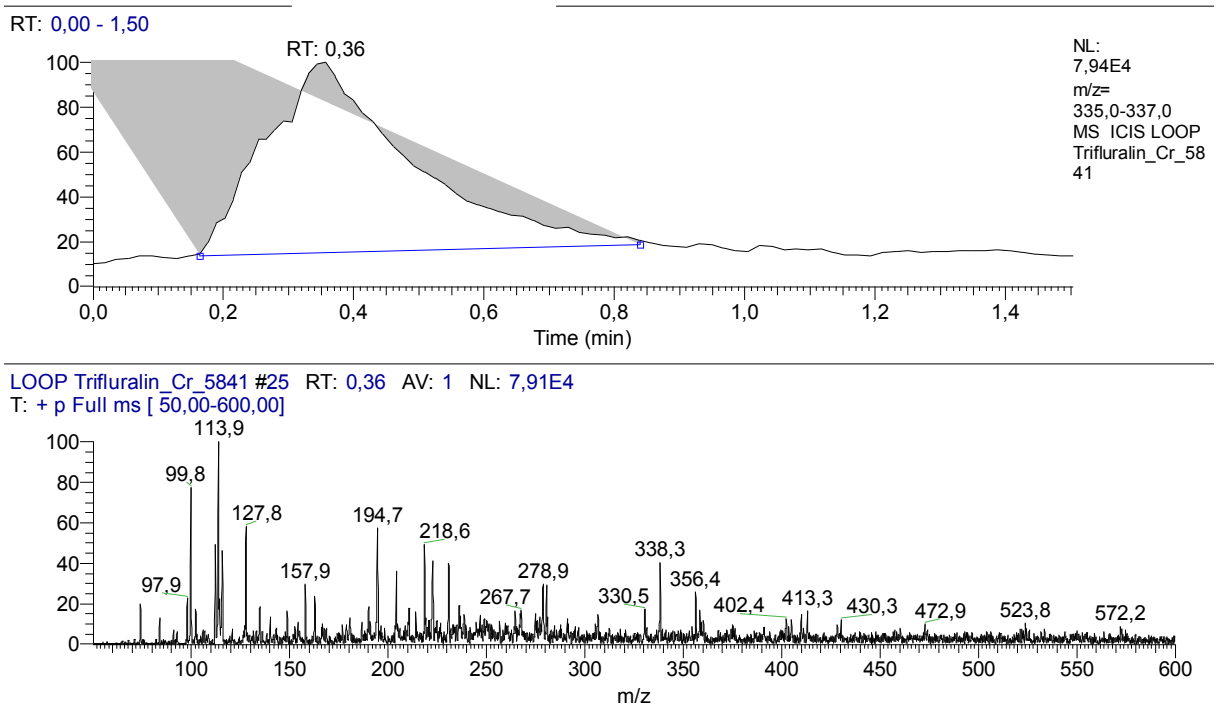
Tabela 4.2-23. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 335 – 337, u zavisnosti od koncentracije trifluralina. Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a.Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija trifluralina, µmol/L	**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
0,985	36,13	38,17	36,71	37,01
2,955	53,96	58,79	56,20	56,32
4,925	69,34	62,39	65,49	65,74
6,895	76,80	83,00	77,80	79,20
9,850	79,49	91,48	81,39	84,12



Slika 4.2-57. Odnos koncentracije trifluralina i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 335 – 337 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 596,22. Dobijena prava $y = 37{,}426 + 5{,}281x$ pokazuje, za uslove ESI MS, zadovoljavajuću linearnost u primenjenom opsegu koncentracija trifluralina od oko 1 – 10 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,90195. Interakcija hroma(III) sa trifluralinom je ispitivana u okviru navedenog linearnog opsega.



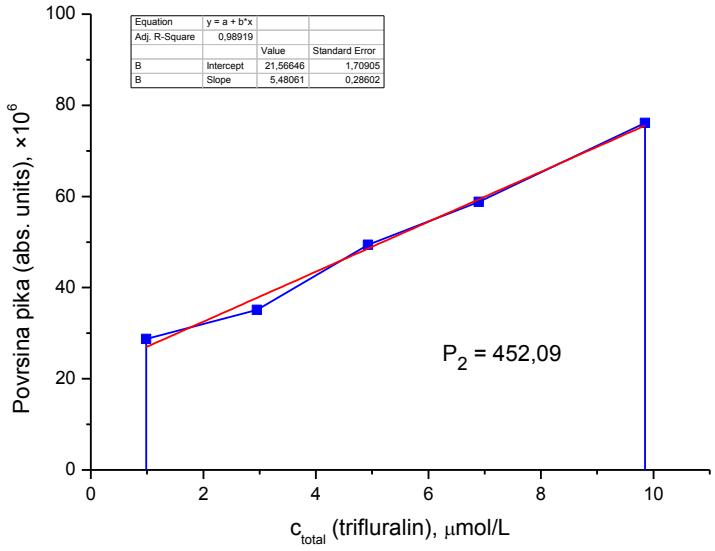
Slika 4.2-58. ESI MS spektar trifluralina (*c* = 4,925 μmol/L) i hroma (*c* = 5,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Korespodentni ESI MS LOOP-hromatogrami binarnog sistema trifluralina sa hromom (slika 4.2-58.) snimani su pod istim radnim uslovima kao i LOOP-hromatogrami trifluralina bez hroma. Slično kao u prethodnim merenjima, LOOP-hromatogram pokazuje zadovolja-

vajući integritet pika za TIC, a za traženi opseg *m/z* 335 – 337, oblik hromatogramskog pika je drugačiji, ali ispunjava uslove geometrijske konzistentnosti i retencionog vremena. Numeričke vrednosti površine ESI MS LOOP pikova za binarni sistem su date u tabeli 4.2-24. Grafički prikaz eksperimentalnih rezultata iz tabele i odgovarajuća linearna regresija za sistem trifluralin – hrom(III) su predstavljeni na slici 4.2-59.

Tabela 4.2-24. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 335 – 337, u zavisnosti od koncentracije trifluralina i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 90 sekundi.

Koncentracija, µmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
Trifluralin	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
0,985	9,00	22,67	31,38	32,22	28,76
2,955	7,00	31,70	35,54	38,04	35,09
4,925	5,00	48,80	50,55	48,80	49,38
6,895	3,00	56,84	59,97	59,68	58,83
9,850	1,00	73,88	75,69	78,81	76,13



Slika 4.2-59. Odnos koncentracije trifluralina u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 335 – 337; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

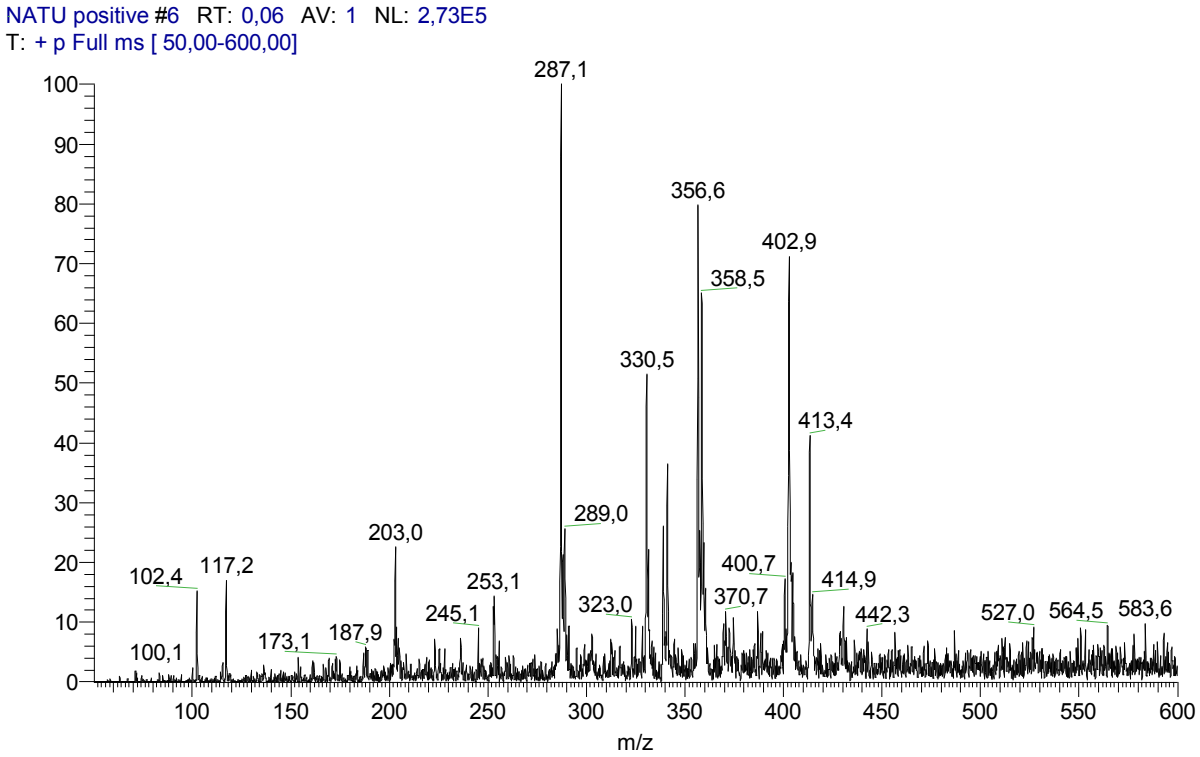
Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 452,09. Dobijena prava $y = 21{,}566 + 5{,}4606x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija trifluralina od oko 1 do 10 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije $R^2 = 0{,}9892$. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 24{,}17\ \% \qquad \text{odnosno} \qquad \Delta P_{ESI\%} = 20{,}36\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 24,17% manja od analogne površine za trifluralin u monokomponentnom sistemu, bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ iznosi 20,36% što pokazuje slabije izraženu koordinacionu interakciju trifluralina i hroma(III), u odnosu na većinu drugih kombinacija hroma(III) i liganada, prethodno ispitivanih u ovom radu.

4.2.3.4 Analiza ESI-MS spektara sistema Cr(III) – *N*-aliltiourea

N-aliltiourea ne poseduje kisele H-atome koji bi deprotonizacijom davali molekulski anjon, a preliminarnim eksperimentalnim ispitivanjem nije uočena tendencija generisanja drugih negativnih vrsta, te je ESI MS spektar u negativnom modu modu odbačen kao nedovoljno signifikantan (→ *Prilog*). U pozitivnom ESI modu pojavljuje se signal *m/z* 117 asigniran protonovanom molekulskom jonu $[M+H]^+$, usled prisustva nuklefilnih centara, odnosno primarne i sekundarne amino grupe. Iako dobro definisan, signal $[M+H]^+$ nije dominantan (rel. int. 16,95%), a dobijeni ESI MS spektar pozitivnog moda pokazuje niz karakterističnih signala koji su asignirani aduktnim, dimernim i trimernim katjonima, npr. *m/z* 203 $[M+2CH_3OH+Na]^+$ (rel. int. 22,57%), *m/z* 253 $[M+2CH_3OH+4H_2O+H]^+$ ili $[M+3CH_3OH+H_2O+Na]^+$ (rel. int. 14,40%), *m/z* 287 $[2M+CH_3OH+Na]^+$ (rel. int. 100%), *m/z* 403 $[3M+CH_3OH+Na]^+$ (rel. int. 71,20%), *m/z* 413 $[3M+2CH_3OH+H]^+$ (rel. int. 41,31%) itd.



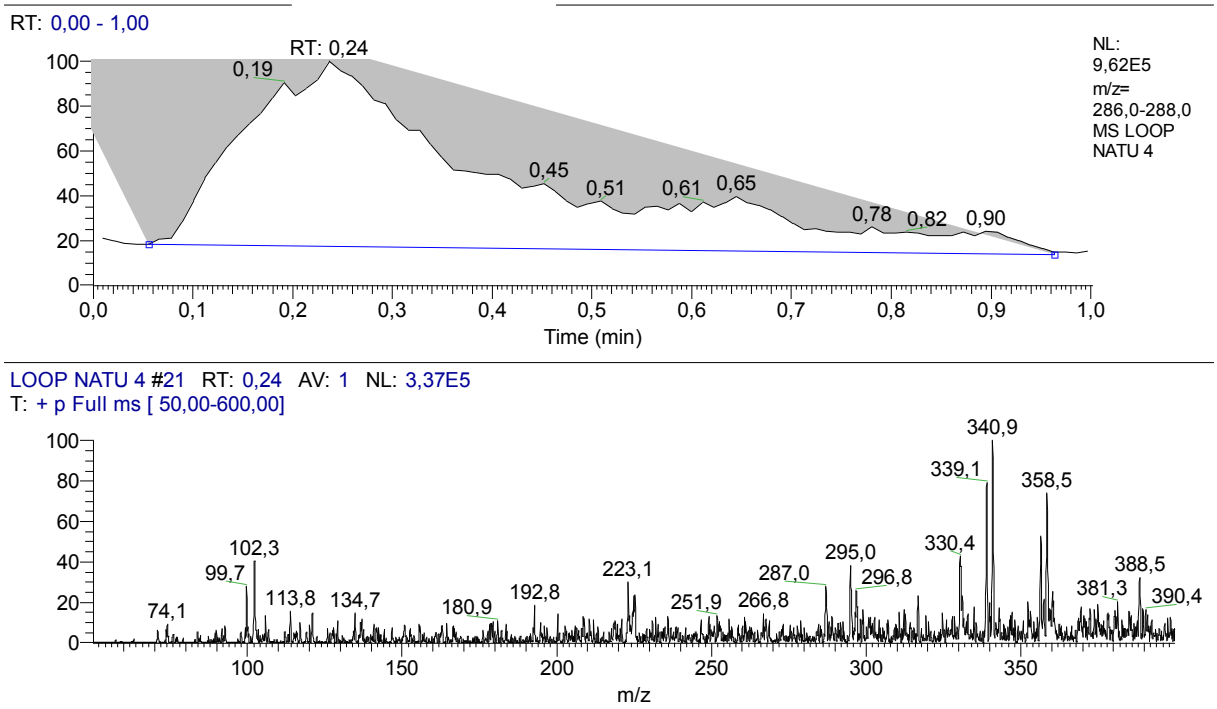
INSTRUMENT OPERATION CONDITIONS	
ESI-MS SPECTRA /POSITIVE MODE/	
API SOURCE	
Source Voltage (kV):	5,01
Source Current (uA):	0,05
Vaporizer Thermocouple OK:	No
Vaporizer Temp (C):	1,60
Sheath Gas Flow Rate ():	33,79
Aux Gas Flow Rate():	2,85
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	13,24
Capillary Temp (C):	278,20
Tube Lens Voltage (V, set po	-15,00

ION OPTICS	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-7,83
Lens Voltage (V):	-18,37
Multipole 2 Offset (V):	-9,66
Multipole RF Amplitude (Vp-p	400,00
Entrance Lens (V):	-28,62
Coarse Trap DC Offset (V):	-10,10
Fine Trap DC Offset (V):	-10,04
SYRINGE PUMP	
Flow Rate (uL/min):	5,00
Infused Volume (uL):	335,00
Syringe Diameter (mm):	3,26

Slika 4.2-60. ESI MS spektar *N*-aliltiouree; c = 11,48 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod

S obzirom da su sve ove i druge potencijalno prisutne vrste koje inkorporiraju molekul *N*-aliltiouree u međusobnoj dinamičkoj ravnoteži, za kvantifikaciju je odabran bazni signal *m/z* 287 $[2M+CH_3OH+Na]^+$ za koji je izvršena optimizacija radnih parametara instrumenta (slika 4.2-60.). MS/MS spektar (dat u *Prilogu*) *parent*-jona $[M+H]^+$ *m/z* 117 (E_{coll} = 23%) ima naglašen samo jedan *daughter*-jon na *m/z* 58 protonovanog alilamina $[CH_2=CH–CH2–NH_3]^+$, nastalog gubitkom neutralnog fragmenta *m* 59 $[S=C=NH]^0$. Sa druge strane, MS/MS

fragmentacija *parent*-jona *m/z* 287 pri sličnoj E_{coll} = 22%, ima sadržajniji spektar *daughter*-jona usled većih mogućnosti rekombinacije složenijeg molekula adukta, a prisutan signal na *m/z* 228 (gubitak identičnog neutralnog fragmenta *m* 59) potvrđuje inkorporaciju molekula *N*-aliltioureee u odabranom monitoring-jonu.



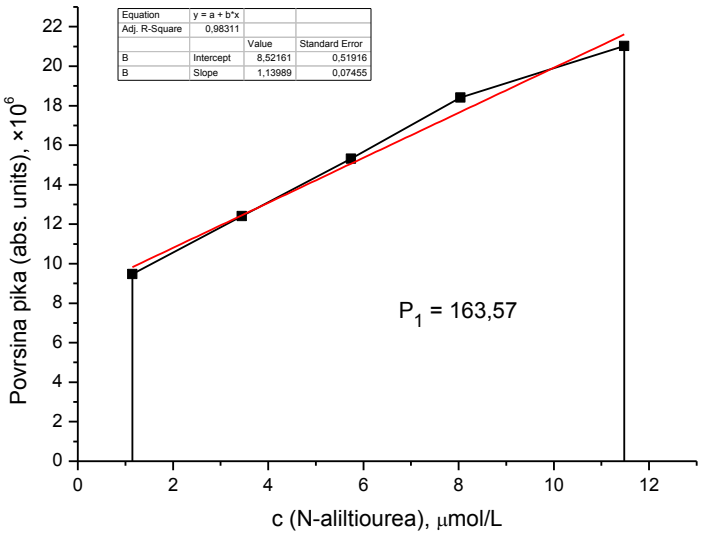
Slika 4.2-61. ESI MS LOOP-hromatogram *N*-aliltiouree (bez prisustva hroma); *c* = 5,740 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizicioni mod, *flow rate* = 100 μL/min

Kvantifikacija je izvršena injektiranjem tačnih zapremina ogdovarajućih rastvora *N*-aliltiouree od 20 μL, primenom LOOP-a aparata. ESI MS LOOP-hromatogram je pokazao integritet TIC signala koji je slabiji u odnosu na druge ispitivane ligande, a hromatogramski pik za traženi opseg *m/z* 286 – 288 ima znatno proširenu bazu (slika 4.2-61.). S obzirom da je pik filtriranih masa i dalje u vremenskim granicama LOOP analize, kao i da nema diskontinuiteta, bez obzira na pojavu lokalnih minimuma i maksimuma, ocenjen je kao prihvatljiv za dalja kvantitativna poređenja. Relativno slaba izraženost TIC pika i proširena baza pika masenog opsega, verovatno nastaje kao posledica retencije $[2M+CH_3OH+Na]^+$ i drugih jona adukta i dimera *N*-aliltiouree, u dodiru sa metalnim delovima (*inox*) injektora i ESI izvora. Ova pretpostavka se bazira na činjenici da *N*-aliltiourea ima izraženu sposobnost hemisorpcije u monomolekulskom sloju na površini metala.

Izračunavanjem površine LOOP-hromatogram pikova za opseg *m/z* 286 – 288 algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program), dobijene su vrednosti koje su prikazane u tabeli 4.2-25. i na osnovu kojih je linearnim fitovanjem izračunata kalibraciona prava za mono-komponentni sistem (slika 4.2-62.). U uslovima snimanja ESI MS LOOP-hromatograma se uočava promena relativnih intenziteta signala monitoring-jona i drugih katjonskih vrsta, u odnosu na *flow injection* analizu.

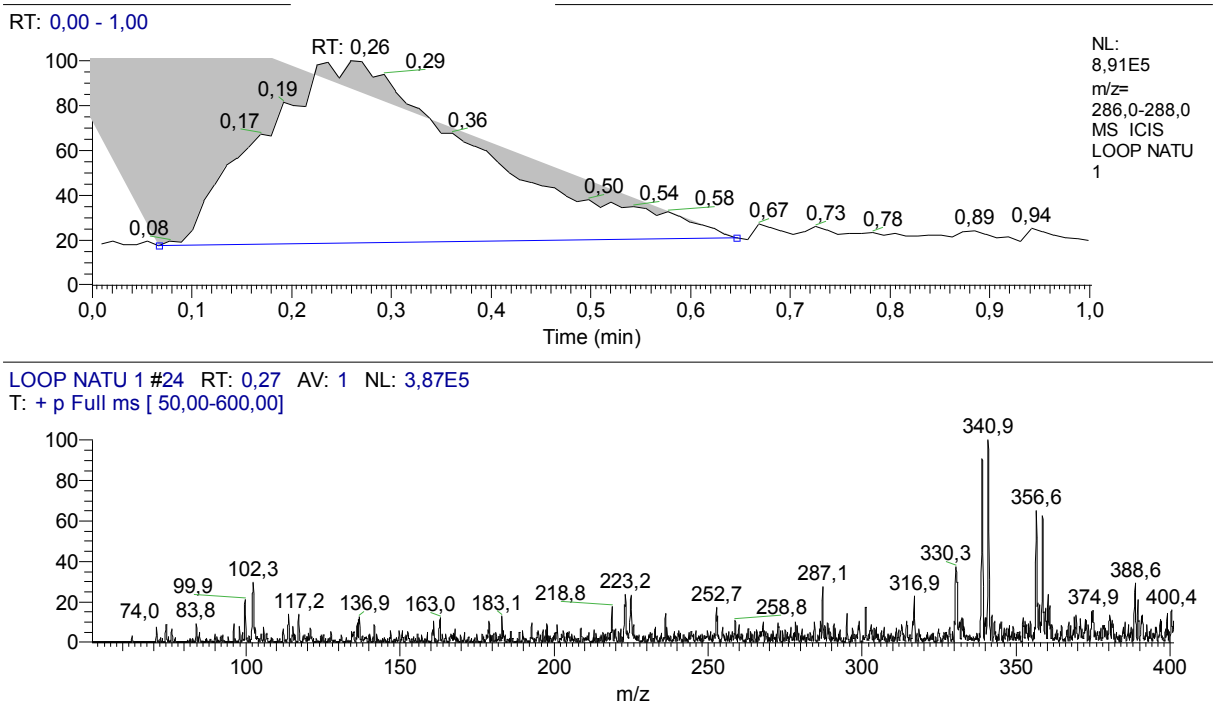
Tabela 4.2-25. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 286 – 288, u zavisnosti od koncentracije *N*-aliltiouree (bez prisustva hroma). Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija *N*-aliltiouree, µmol/L	**Površina pika (abs. units), ×10^6**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
	Serija A	**Serija B**	**Serija C**	
1,148	7,950	10,78	9,710	9,480
3,444	12,11	12,32	12,78	12,40
5,740	16,13	14,63	15,19	15,32
8,036	18,67	18,04	18,53	18,41
11,48	21,36	20,96	20,74	21,02



Slika 4.2-62. Odnos koncentracije *N*-aliltiouree i površine pika ESI MS LOOP-hromatograma za *m/z* 286– 288 (bez prisustva hroma); rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_1 = 163,57. Dobijena prava $y = 8{,}522 + 1{,}1398x$ pokazuje, za uslove ESI MS, dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija *N*-aliltiouree od oko 1 – 12 µmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9831. Interakcija hroma(III) sa *N*-aliltioureom je ispitivana okviru ovog linearnog opsega.

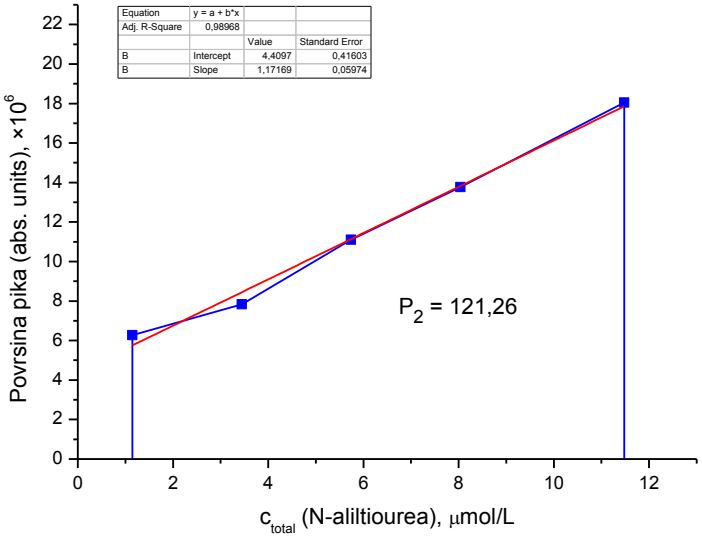


Slika 4.2-63. ESI MS LOOP-hromatogram *N*-aliltiouree (c = 5,740 μmol/L) i hroma (c = 5,00 μmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod, *flow rate* = 100 μL/min

Analogno kvantifikaciji monokomponentnog sistema, nakon aplikacije identičnih zapemina (20 μL) odgovarajućih rastvora *N*-aliltiouree i hroma(III), izračunavanje površine ESI MS LOOP-hromatogram pikova za ciljani opseg *m/z* 268 – 288 je vršeno algoritmom ICIS (EXCALIBURE® program). Pri tome je postignuta bolja pravilnost signala u hromatogramu, u odnosu na čistu *N*-aliltioureu, kako za TIC tako i za filtrirani opseg masa (slika 4.2-63.), a retenciono vreme je skraćeno za oko 30% što je rezultovalo užom osnovom posmatranog pika. Dobijene numeričke vrednosti odgovarajućih površina su date u tabeli 4.2-26. Na osnovu njih je linearnim fitovanjem izračunata aproksimirajuća prava za binarni sistem *N*-aliltiourea – hrom(III), kako je grafički prikazano na slici 4.2-64.

Tabela 4.2-26. Površine ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova za opseg *m/z* 286 – 288, u zavisnosti od koncentracije *N*-aliltiouree i hroma(III). Površine su date u apsolutnim jedinicama ($\times 10^6$) EXCALIBUR software-a. Vreme LOOP-hromatogam analize 60 sekundi.

Koncentracija, μmol/L		**Površina pika (abs. units), $\times 10^6$**			**Srednja vrednost (A+B+C)/3**
***N*-aliltiourea**	**Hrom(III)**	**Serija A**	**Serija B**	**Serija C**	
1,148	9,00	5,901	6,040	6,870	6,271
3,444	7,00	7,860	7,973	7,650	7,832
5,740	5,00	10,99	11,07	11,27	11,11
8,036	3,00	13,99	13,39	13,92	13,77
11,48	1,00	18,13	18,22	17,80	18,05



Slika 4.2-64. Odnos koncentracije *N*-aliltiouree u prisustvu hroma(III) i površine pika ESI MS LOOP-hromatohrama za *m/z* 286 – 288; rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod.

Integral ispod ekperimentalno dobijenih tačaka ima površinu P_2 = 121,26. Dobijena prava $y = 4{,}4097 + 1{,}1717x$ pokazuje, za uslove ESI MS, vrlo dobru linearnost u primenjenom opsegu koncentracija *N*-aliltiouree od oko 1 do 12 μmol/dm^3, sa koeficijentom determinacije R^2 = 0,9898. Relativna razlika površina izražena je kao:

$$\Delta P_{(1-2)\%} = 25{,}87\ \%\qquad \text{odnosno}\qquad \Delta P_{\text{ESI}\%} = 25{,}39\ \%$$

Površina očitana sa dijagrama u prisustvu hroma(III) je 25,87% manja od analogne površine za *N*-aliltioureu bez prisustva hroma, a vrednost $\Delta P_{\text{ESI}\%}$ iznosi 25,39% što pokazuje srednje jaku koordinacionu interakciju *N*-aliltiouree i hroma(III) u poređenju sa drugim interakcijama praćenih u ovom radu.

4.2.4 Uporedni pregled eksperimentalnih rezultata ESI-MS ispitivanja

4.2.4.1 Pregled preliminarnih ESI MS ispitivanja

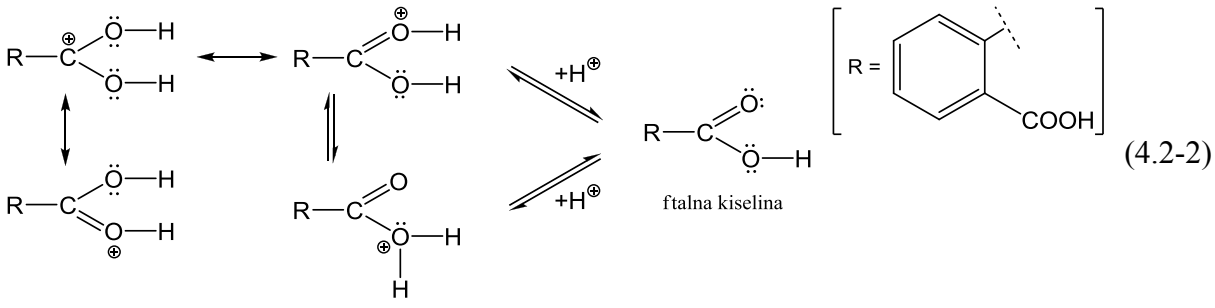
Preliminarna ESI MS ispitivanja rastvora liganda prirodnog i antropogenog porekla u *flow injection* unosu uzorka su pokazala da se odabrani polaritet ESI izvora poklapa sa jonizacionim karakteristikama molekula, koje su očekivane na osnovu njihove strukture (tabela 4.2-27.).

Ligandi sa O-donor atomima sa tendencijom deprotonizacije usled prisutnih OH i COOH grupa su ispitivani u negativnom ESI polaritetu, dok su svi ostali ligandi koji su imali jedan ili više N-atoma pokazali nukleofilni karakter, sa tendencijom građenja katjona u ESI uslovima, prototropnim reakcijama ili građenjem katjonskih dimera i adukata sa CH_3OH, H_2O, Na^+ ili K^+. U tabeli 4.2-27. su prikazani primenjeni ESI polariteti i izbor jona koji su korišćeni prilikom kvantifikacije.

Tabela 4.2-27. Pregled odabranih radnih polariteta ESI izvora i odgovarajućih monitoring jona za sisteme ispitivane ESI MS tehnikom.

Ligand		Polaritet	Monitoring-jon	m/z	Napomena
O-donor	Benzoeva kis.	ESI –	$[M–H]^-$	121	
	Salicilna kis.	ESI –	$[M–H]^-$	137	
	Ftalna kiselina	ESI –	$[M–H]^-$	165	daje i ESI+ spektar, $[M+H]^+$, m/z 167
	Limunska kis.	ESI –	$[M–H]^-$	191	
	Dikamba	ESI –	$[M–H]^-$	219	2. monitor. jon *m/z* 539 $[2M+3CH_3OH–H]^-$
N-donor	2,2'-Bipiridin	ESI +	$[M+H]^+$	157	
	Acetamiprid	ESI +	$[M+H]^+$	223	daje i ESI– spektar, $[M–H]^-$, *m/z* 221
	Atrazin	ESI +	$[M+H]^+$	216	
O, N ili S-don.	Alahlor	ESI +	$[M+H]^+$	270	
	Aldikarb	ESI +	$[M+Na]^+$	213	slab signal $[M+H]^+$
	Trifluralin	ESI +	$[M+H]^+$	336	
	N-aliltiourea	ESI +	$[2M+CH_3OH+Na]^+$	287	relativni int. signala $[M+H]^+$ 16,95%

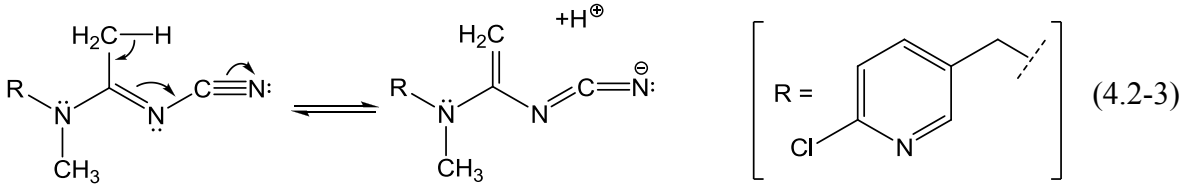
Kao odstupanje od ovih pravilnosti, zapažen je interesantan amfiprotični karakter ftalne kiseline, čiji je ESI MS spektar u suprotnom (pozitivnom) polaritetu dao jasan signal protonovanog molekulskog jona $[M+H]^+$ *m/z* 167 (→ *Prilog*) uprkos izraženom aciditetu osnovnog molekula, tako da se ponašanje ftalne kiseline može objasniti nastankom, rezonancom stabilizovanih, konjugovanih katjonskih kiselina:



ftalna kiselina (4.2-2)

Nastale konjugovane forme su dodatno stabilizovane rezonancijom aromatičnog jezgra kao i građenjem intramolekulskih vodničnih veza (mostova) sa O-atomom susedne COOH grupe. Benzoeva i salicilna kiselina nemaju mogućnost stabilizacije preko H-veza, dok limunska kiselina ne poseduje aromatično jezgro koje sa delokalizovanim π-elektronima daje energetsku stabilizaciju, te ove kiseline nisu gradile konjugovane katjonske kiseline koje bi bile registrovane u MS spektru pozitivnog polariteta ESI izvora.

Amfiprotičnost pokazuje i acetamprid, koji i pored četiri N-atoma, od kojih tri imaju bazni karakter, u negativnom ESI jonizacionom modu (→ *Prilog*) daje signal $[M–H]^-$ na *m/z* 221 (54,98%) sa pratećim izotopskim pikom *m/z* 223, tako da je od ispitivanih liganada, pored ftalne kiseline, još samo acetamiprid moguće pratiti u + i – polaritetu. Usled jakih negativnih induktivnih i rezonancionih efekata (*–I*, *–R*) prisutnih N-atoma, a naročito CN grupe, usled smanjenja elektronske gustine na CH_3 grupi, pojačava se kiselost H-atoma (K_a = 0,199):

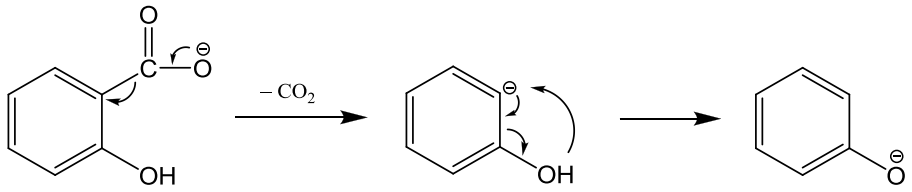


(4.2-3)

Negativno naelektrisanje nastalog anjona stabilizovano je rezonancom u koplanarnoj linearnoj strukturi dela molekula deprotonizovanog acetamprida (cijanamidna struktura). Piridinski prsten manje doprinosi stabilizaciji, usled slobodnih rotacija oko C–C i C–N σ-veza, zbog čega se ne nalazi uvek u ravni sa koplanarnom konformacijom ostatka molekula.

Dobijeni ESI MS spektri ispitivanih jedinjenja pokazuju dobru saglasnost sa njihovom molekulskom strukturom i mogu se dovesti u korelaciju sa njihovim karakteristikama, što je osnovni preduslov za dalji rad i opravdava korišćenje ESI MS tehnike za potrebe ovog rada.

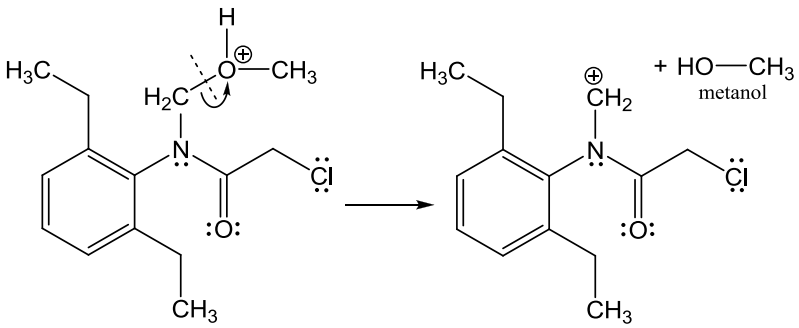
Iako ESI spada u *soft ionization* tehnike sa malim stepenom degradacije analita, ipak je određena fragmentacija u primarnom ESI spektru mogla biti zapažena kod O-donor liganda salicilne kiseline, koja pokazuje primetnu fragmentaciju (rel. int. 16,74% u odnosu na osnovni molekulski jon) uz gubitak CO_2 (dekarboksilacija), sa signalom *m/z* 93 od $[M–H–CO_2]^-$, odnosno $(C_6H_5O)^-$:



(4.2-4)

Dekarboksilacija je omogućena entropijskim faktorom, kao i energetskom stabilnošću produkata, neutralnog CO_2 i fenoksidnog (fenolatnog) anjona, čija je enolatna struktura stabilizovana π-konjugacijom.

Ftalna kiselina pokazuje minimalnu dekarboksilaciju u primarnom MS^1 spektru, sa slabim signalom *m/z* 121 $[M–H–CO_2]^-$ na granici detekcije. Molekul dikambe, takođe iz grupe O-donora, po istim mehanizmu kao salicilna kiselina (jedn. 4.2-4), gubitkom CO_2 gradi dekarboksilovani fragment *m/z* 175 (rel. int. 26,33%), dok alahlor hetrerolitički disocira uz gubitak neutralnog molekula metanola, i daje signal u MS^1 spektru na *m/z* 238 $[M–CH_3OH–H]^-$ (rel. int. 35,84):



(4.2-5)

Utvrđeno je da CID proces u ESI MS^2 modu favorizuje nastanak *doughter*-jona, odnosno favorizuje navedene fragmentacije (jedn. 4.2-4 i 4.2-5) koje su u manjoj ili većoj meri vidljive i u MS^1 spektrima, što predstavlja jednu od potvrda strukture posmatranih *parent*-jona.

Kod većine posmatranih liganada uočena je pojava stvaranja aduktnih jona sa prisutnim jonskim ili neutralnim vrstama matriksa, kao sa Na^+, K^+, H_2O, CH_3OH, dok je kod ftalne kiseline, dikambe, acetamiprida, atrazina, alahlora i, naročito, *N*-aliltiouree, prisutna tendencija građenja dimernih i trimernih vrsta, prisutnih manje u slobodnoj, a češće u aduktnoj formi sa drugim vrstama. Detaljnije analize nađenih asignacija *m/z* vrednosti i druga specifična zapažanja za pojedine ispitivane ligande prirodnog i antropogenog porekla su data u poglavljima 4.2.1 – 3. Iscrpnije analize kompleksnih MS spektara nisu vršene, jer one nisu u okviru ciljeva ovog rada, a za njihovo sprovođenje bi bilo potrebno korišćenje i drugih eksperimentalnih postupaka i instrumentalnih tehnika, kao i *software*-skih paketa (na primer MS analizatora visoke rezolucije 1/100.000, programa za dekonvoluciju spektara itd.).

Navedeni eksperimentalni rezultati, kao i druge karakteristike spektara ESI MS^1 i MS^2 analize, izvršene asignacije jona, nastalih adukata i fragmenata ispitivanih jedinjenja, a koje su date kod prikaza pojedinih liganada u kontekstu ESI MS karakterizacije, jesu u dobroj korelaciji sa njihovom molekularnom strukturom.

U ovom radu, i prema usvojenoj terminologiji u masenoj spektrometriji, termini „dimer“ i „trimer“ se odnose na *agregate* – relativno labilne aduktne strukture nastale *nekovalentnim* spajanjem dva ili tri istovrsna molekula organskog jedinjenja (liganda), za razliku od klasično shvaćenih polimernih struktura koje nastaju kovalentnim vezivanjem, adicionim ili adiciono-eliminacionim mehanizmom (plastične mase, guma itd.).

4.2.4.2 ESI MS LOOP hromatogramska kvantifikacija interakcija liganada i hroma

Kao karakteristični monitoring-joni (tabela 4.2-27), preko kojih je vršeno definisanje ESI MS LOOP-hromatogramskih pikova, u većini slučajeva su odabirani protonovani ili deprotonovani molekulski joni ispitivanih liganada $[M+H]^+$ ili $[M–H]^–$, koji obično imaju dobar intenzitet signala, i što je u skladu sa uobičajenom analitičkom praksom. Kod jednog broja liganada odabrani su drugačiji monitoring-joni. Aldikarb je u uslovima ESI izvora davao slab signal $[M+H]^+$, te je za kvantifikaciju u sistemima aldikarba korišćen znatno izraženiji signal njegovog adukta sa natrijumom $[M+Na]^+$. Usvojeno je i slično opredeljenje za *N*-aliltioureu, sa tendencijom građenja aduktnih i dimernih vrsta, koje dominiraju nad molekulskim jonom, te je ovde odabran monitoring-signal $[2M+CH_3OH+Na]^+$ kao najintenzivniji u spektru.

Na kraju, za ligand dikambu je sproveden prošireni eksperimentalni postupak, u smislu da su za ovo jedinjenje izvšene dve identične kvantifikacione procedure sa dva različita monitoring jona prisutna u rastvoru dikambe, najpre sa jonom slabijeg signala, $[M–H]^–$ *m/z* 219, a zatim sa intenzivnijim $[2M+3CH_3OH–H]^–$ *m/z* 539. Ova dvostruka procedura

je implementirana sa ciljem da se utvrdi da li dolazi do različitih rezultata kada se kvantifikacija interakcije hroma(III) sa dikambom izvrši preko različitih monitoring jona.

I pored korišćenja hemikalija visoke čistoće i rastvarača metanola HPLC *grade*, prisutvo nečistoća nije moglo biti izbegnuto, tako da su uvek prisutni tragovi natrijuma bili prisutni u dovoljnoj koncentraciji za građenje adukata, ukoliko je hemijska priroda ispitivanog jedinjenja to dozvoljavala. Nije identifikovano ometajuće prisutvo drugih supstanci, aditiva, plastifikatora (npr. *terc*-butilftalat) ili drugih organskih i neorganskih nečistoća, u koncentracijama koje bi onemogućile dobijanje eksperimentalnih rezultata. Prisustvo nečistoća u korišćenim rastvaračima i komercijalnim supstancama je u granicama očekivanih u analitičkoj praksi masene spektrometrije.

U narednoj fazi je vršen kvantifikacioni postupak, izračunavanjem površina ESI MS LOOP-hromatograma dobijenih analizom serije monokomponentnih (ligand bez hroma) i druge serije binarnih sistema (ligand sa hromom), kako je opisano u poglavlju 3.2.3. a tačne koncentracije korišćenih rastvora i matematičke interpretacije za pojedine sisteme su date u poglavljima 4.1.1 – 3.

Kvantifikacija interakcije hroma(III) sa odgovarjućim ligandima prirodnog ili antropogenog porekla je zasnovana na činjenici da su sve površine ESI MS LOOP-hromatogram pikova, kao i njihove srednje vrednosti, a na kraju i sama podintegralna površina P_1 odnosno P_2, u direktnoj funkciji intenziteta dobijenog signala monitoring-jona u traženom opsegu masa *m/z*. U sistemima gde se javlja interakcija liganda sa hromom(III), binarni sistem, pri ESI MS detekciji, daje manji relativni intenzitet posmatranog karakterističnog jona, jer se koordinacionim vezivanjem ili drugim interakcijama hroma(III) i liganda menja molekulski i jonski sastav uzorka.

Nastanak novih jonskih vrsta sa hromom, istovremeno ima za posledicu proporcionalno smanjenje koncentracije monitoring jona posmatranog liganda, usled očuvanja bilansa masa. Time se prema određenoj zavisnosti, smanjuje i broj nastalih monitoring jona u jedinici vremena, kada se analizira binarni sistem sa dovoljno izraženim interakcijama. Istovremeno se po sličnoj (ali ne i sasvim identičnoj) zavisnosti smanjuju i koncentracije drugih jonskih vrsta koje imaju, kao inkorporiranu komponentu, molekul liganda (adukti i dimeri), jer su sve prisutne vrste u dinamičkoj ravnoteži u rastvoru koji se injektira, desolvatizuje i jonizuje u ESI izvoru. Ova proporcionalnost se na kraju reflektuje na smanjenje intenziteta signala odabranog jona na MS detektoru, jer je karakteristika ESI izvora osetljivost prema koncentraciji, a ne prema ukupnoj količini injektovanog analita.

Na ovaj način se u binarnim sistemima liganda sa hromom(III), za identične analitičke koncentracije liganda, dobija proporcionalno manja površina LOOP-hromatogramskog pika, te se relativno (procentualno) smanjenje površine može dovesti u vezu sa jačinom interakcije hroma i posmatranog liganda, usled umanjenja koncentracije monitoring jona u ulaznoj kapilari ESI izvora.

Broj i složenost procesa koji u fizičkom i hemijskom smislu definišu ovu proporcionalnost umanjenja površine LOOP-hromatogramskih pikova, onemogućava egzaktno definisanje ove relacije, te je za posmatrani opseg koncentracija liganada i hroma(III) usvojena linearna aproksimacija ove zavisnosti, što omogućava primenu (relativno male) normalizacije putem koncentracionih faktora, u cilju dobijanja bolje poredivih rezultata u seriji različitih liganada (pogl. 3.2.3).

Treba naglasiti da se, iz različitih fundamentalnih i metodoloških razloga, promene površine LOOP pikova mogu tretirati kao validne samo u relativnom odnosu, to jest u okviru ispitivanja jednog sistema ligand-Cr(III), pri identičnim uslovima ESI izvora, jonske optike i MS analizatora, kao i pri ekvivalentnim uslovima pH, jonske sile, rastvarača itd. Poređenje apsolutnih vrednosti površina LOOP-hromatogramskih pikova između različitih jedinjenja

(liganada) nije sprovodivo bez posebnih studija i poznavanja kompletne stehiometrije ispitivanog rastvora, ravnotežnih odnosa među vrstama, kao i evaluacije njihove reaktivnosti i stabilnosti u uslovima desolvatacije i jonizacije, određivanja specifičnih faktora odziva (engl. *response factor*) itd.

U tabeli 4.2-28 prikazana je serija ispitivanih liganada prirodnog i antropogenog porekla, grupisanih prema donor atomima (O-, N- i O,N ili S-), sa pripadajućim vrednostima $\Delta P_{(1-2)\%}$ i $\Delta P_{ESI\%}$ izračunatih prema jednačinama 3.2-15 i 3.2-16. Površine su date u apsolutnim bezdimenzionalnim jedinicama *Xcalibur*™ programa (*count–second units*) koje nemaju fizički smisao. U desnom delu tabele su prikazani ispitivani sistemi u rastućem redosledu vrednosti parametra $\Delta P_{ESI\%}$ koji je usvojen kao karakteristični poredbeni parametar u ispitivanju jačine interakcije binarnih sistema Cr(III)-ligand, ESI MS tehnikom, preko površine LOOP-hromatograma. Za seriju vrednosti $\Delta P_{ESI\%}$ su, u donjem delu tabele, navedeni statistički parametri AVG(x), AVGDEV(x), MAX(x), MIN(x), RELVAR(x), STDEV(x), izračunati prema jednačinama 3.2-7, 3.2-8, 3.2-9 i 3.2-10.

Kako je definisano u poglavlju 3.2.3, parametar razlike površine ispod prava dobijenih linearnom regresijom $\Delta P_{(1-2)\%}$ je zatim korigovan u pogledu normiranja koncentracije analita (liganada) i tako dobijena vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ predstavlja relativnu meru interakcije hroma(III) i ispitivanih liganada. Pri tome, smatra se da sistem sa najmanjom $\Delta P_{ESI\%}$ vrednošću ima najmanju interakciju, a najveća $\Delta P_{ESI\%}$ vrednost ukazuje da je u binarnom sistemu vezano relativno najviše posmatranog karaktrističnog jona, odnosno da je interakcija najjača.

Tabela 4.2-28. Vrednosti $\Delta P_{(1-2)\%}$ i $\Delta P_{ESI\%}$ dobijenih ispitivanem interakcija ESI MS tehnikom (levo). Redosledi liganada, odnosno ispitivanih sistema Cr(III)-ligand, prema rastućoj vrednosti $\Delta P_{ESI\%}$ i izvedeni statistički parametri (desno).

	Ligand	**$\Delta P_{(1-2)\%}$**	**$\Delta P_{ESI\%}$**
O-donor	Benzoeva kis.	4,819%	4,120%
	Salicilna kis.	54,53%	54,78%
	Ftalna kiselina	60,84%	63,72%
	Limunska kis.	62,99%	66,46%
	Dikamba	28,93%	31,31%
N-donor	2,2'-Bipiridin	67,44%	60,95%
	Acetamiprid	31,92%	31,88%
	Atrazin	16,55%	17,11%
O, N ili S-don.	Alahlor	39,99%	46,33%
	Aldikarb	35,68%	35,29%
	Trifluralin	24,17%	20,36%
	N-aliltiourea	25,87%	25,39%

Br.	**Donor**	**Ligand**	**$\Delta P_{ESI\%}$**
1.	O-	Benzoeva kis.	4,120%
2.	N-	Atrazin	17,11%
3.	O,N ili S-	Trifluralin	20,36%
4.	O,N ili S	*N*-aliltiourea	25,39%
5.	O-	Dikamba	31,31%
6.	N-	Acetamiprid	31,88%
7.	O,N ili S-	Aldikarb	35,29%
8.	O,N ili S-	Alahlor	46,33%
9.	O-	Salicilna kis.	54,78%
10.	N-	2,2'-Bipiridin	60,95%
11.	O-	Ftalna kiselina	63,72%
12.	O-	Limunska kis.	66,46%
		AVG(x)	38,14
		AVGDEV(x)	16,92
		MAX(x)	66,46
		MIN(x)	4,120
		RELVAR(x)	0,2714
		STDEV(x)	19,349

Za potrebe određivanja kvantitativnih relacija, izvršeno je ukupno 360 merenja (30 po ligandu). Dobijeni pikovi ESI MS LOOP-hromatograma za monokomponentne i binarne sisteme su pokazali dobar integritet i geometrijski oblik, bez prekida signala monitoring jona, a svi pikovi su se nalazili u granicama definisanog vremena LOOP hromatogram analize (60, 90 ili 120 sekundi), bez pojave „repova“ (engl. *tail*). Najmanje pravilan oblik je pokazao LOOP-hromatogram *N*-aliltiouree čija slaba izraženost TIC pika i proširena baza pika traženog masenog opsega *m/z* 287±1, verovatno nastaje kao posledica retencije monitoring-jona $[2M+CH_3OH+Na]^+$ i drugih jona adukta i dimera *N*-aliltiouree. Ova pretpostavka se bazira na činjenici da *N*-aliltiourea ima izraženu sposobnost hemisorpcije u monomolekulskom sloju na površini metala, te ova interakcija čini da se transport *N*-aliltiouree posle injektiranja kroz *multiport* ventil, ne ponaša po principima idealnog klipnog prenosa definisanog mehanikom fluida, već prema zakonitostima u dinamičkom sistemu ravnoteža između pokretne tečne faze rastvora i stacionarne čvrste faze, to jest unutrašnjih površina transportnih delova instrumenta od materijala prohroma (Fe-Ni-Cr), polietilena i kvarca.

Linearne regresije vršene za monokomponentne i binarne sisteme su prema koeficijentu determinacije R^2 zadovoljile tražene kriterijume, u okvirima tačnosti i preciznosti koje se mogu očekivati praktičnoj primeni ESI MS tehnike. Najmanju linearnost je pokazala kvantifikacija sistema Cr(III)-acetamiprid sa R^2 = 0,8674, dok su ostali sistemi pokazivali bolju determinaciju, do R^2 = 0,99.

Poređenjem jačine interakcije liganda i Cr(III) preko $\Delta P_{ESI\%}$ vrednosti mogu se konstatovati brojna zapažanja o acido-baznim karakteristikama, koordinacionim sposobnostima i strukturi ispitivanih jedinjenja.

4.2.4.3 Uporedni pregled interakcija hroma sa O-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom

U grupi ispitivanih O-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla, jačina interakcije ligand-Cr^{3+} sledi redosled:

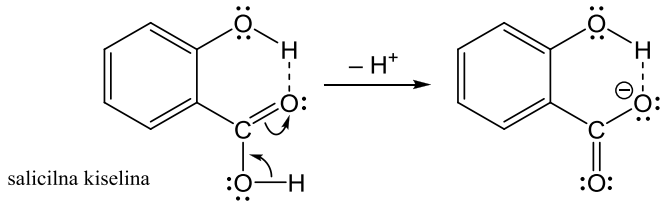
limunska kiselina > ftalna kiselina > salicilna kiselina > dikamba > benzoeva kiselina

Najmanja vrednost vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 4,120% u grupi O-donora i seriji svih ispitivanih liganada, se može objasniti činjenicom da jonizovana benzoeva kiselina, sa jednom karboksilnom grupom u molekulu, nema sposobnost građenja kompleksa velike stabilnosti sa hromom(III). Prvi razlog tome je da je ona od svih poređenih O-donor liganada najslabija kiselina (pK_a = 4,21), što znači da u metanol/vodenom matriksu ima najizraženiju tendenciju vezivanja H_3O^+ jona na konjugovani anjon (benzoat) koji ima ligandna svojstva. Kako ligandi igraju ulogu baze, a joni metala kiseline, u rastvoru koji sadrže vodu može doći do konkurencije između protona i jona hroma(III) u odnosu na ligand. Ukoliko je uzajamno dejstvo između protona i liganda jako, dolazi do protonovanja liganda, što smanjuje koordinacionu interakciju sa hromom(III).

Ostali ispitivani O-donori imaju, u odnosu na benzoevu kiselinu, za red veličine veće konstante kiselosti (limunska kiselina pK_{a1} = 3,09; ftalna kiselina pK_{a1} = 2,98; salicilna kiselina pK_{a1} = 2,97; dikamba pK_a = 1,87) [DEAN, 1992] što im omogućava jaču interakciju sa katjonom hroma u ispitivanim binarnim sistemima. Navedene konstante kiselosti su važeće za vodene rastvore ovih jedinjenja, dok su u smesi metanol/voda v/v50:50 korespodentne konstante oko 6 – 10 puta manje, usled manje baznosti metanola u odnosu na vodu, ali to ne remeti u znatnoj meri navedene relativne odnose. Grupe u *orto*-položaju, kao što su –OH (salicilna kiselina), i CH_3 (dikamba), svojim +*R* efektom slabe aciditet susedne –COOH grupe, ali istovremeno jakim –*I* efektom smanjuju elektronsku gustinu karboksilne grupe, favorizujući deprotonizaciju. Kod dikambe, aciditet je još više izražen, usled –*I* dejstva dva Cl

atoma (što nadjačava +*R* efekat) i još tzv. „*orto*-efektom“ jednog Cl atoma, što uključuje i sterne smetnje koje doprinose deprotonizaciji karboksila.

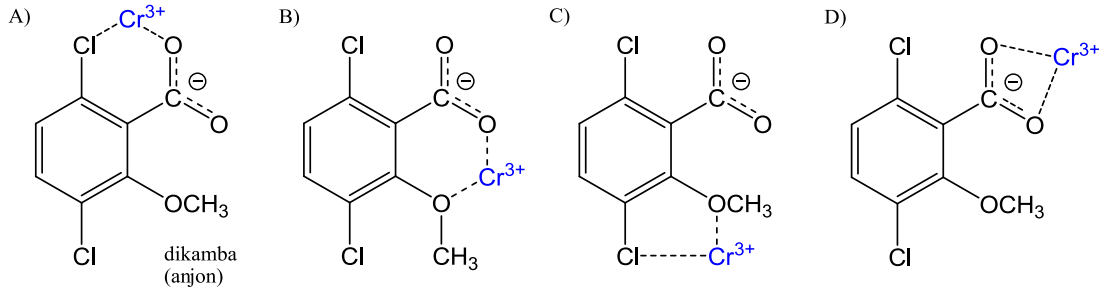
Kod limunske, salicilne i ftalne kiseline i dikambe stabilizacija anjona je pojačana i prisustvom *intramolekulskih vodoničnih veza*, kako je prikazano u jednačini 4.2-6. na primeru salicilne kiseline:



(4.2-6)

Osim diskutovanih acido-baznih karakteristika, *dentatnost* ispitivanih liganada je drugi važan faktor u građenju njihovih kompleksnih jedinjenja sa hromom. Benzoeva kiselina odnosno benzoat, može da se smatra bidentatnim ligandom, usled prisustva karboksilatnog anjona (jedn. 4.2-7(D), primer dikambe). Međutim, usled nešto većeg efektivnog jonskog radijusa jona Cr^{3+} (61,5 pm) ovakve četvoroatomske ciklične strukture nisu značajnije zastupljene, te se benzoeva kiselina može smatrati monodentatnim ligandom. Nasuprot njoj, salicilat, ftalat ($HPht^-$, Pht^{2-}) i anjon dikambe, jesu izraženiji bidentatni ligandi, sa mogućnošću stvaranja petočlanih i šestočlanih prstenova sa Cr^{3+}, što više odgovara stabilizaciji oktaedarskog ligandnog polja u koordinacionoj sferi jona hroma.

Dikamba sa svojim $–COO^-$, $–OCH_3$ i –Cl grupama ima bolje elektron donorske efekte od benzoeve kiseline i veće mogućnosti građenja stabilnih konfiguracija sa hromom, kako je prikazano na slici 4.2-65., pri čemu su strukture (A) i (B) najverovatnije. Ovo jače koordinisanje dikambe u binarnom sistemu sa hromom rezultuje u znatno većoj vrednosti $\Delta P_{ESI\%}$ = 31,31%, u odnosu na benzoevu kiselinu. Treba istaći da je komparativna kvantifikacija preko drugog monitoring jona *m/z* 539 $[2M+3CH_3OH–H]^-$ u poređenju sa prethodno analiziranim $[M–H]^-$ jonom dala vrlo dobro poklapanje $\Delta P_{ESI\%}$ vrednosti, što ukazuje da je u slučaju dikambe bilo moguće koristiti različite forme liganda prisutne u rastvoru za kvantifikaciju.



Slika 4.2-65. Koordinacione interakcije dikambe sa Cr^{3+} jonom.

Salicilna kiselina sa OH grupom u *orto*-položaju, poseduje dva mesta vezivanja sa tri O-atoma sa donorskim svojstvima (ambidentatni ligand), što znatno pojačava njenu interakciju sa hromom u odnosu na benzoat. Treba napomenuti da je dalja deprotonizacija OH grupe u salicilatnom jonu prisutna u vrlo maloj meri ($pK_{a2} \approx 13,80$) tako se ova struktura može isključiti iz razmatranja. Kod dikambe, atomi hlora većeg radijusa, grade manje simetričnu strukturu $Cl–Cr^{3+}–O$ od ekvivalentne $O–Cr^{3+}–O$ bidentatne strukture sa salicilatom. Deprotonizovana karboksilna grupa i *orto*-OH grupa salicilata, mogu, uz manje sterne smetnje, nagraditi stabilan bidentatni kompleks sa hromom što sugeriše još veća vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 54,78%, u odnosu na dikambu.

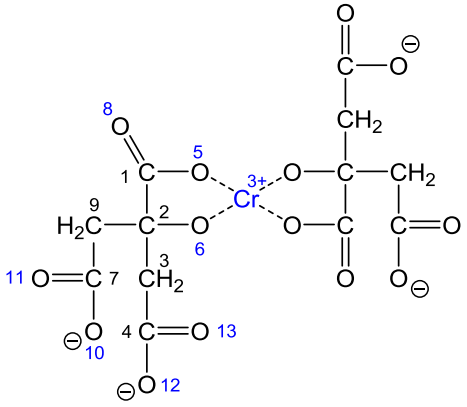
Ftalna kiselina sa dve COOH grupe u 1,2-položaju, podleže dvostepenoj deprotonizaciji i može se pojaviti kao monodentatni ili bidentatni ligand na pH vrednostima ispitivanih rastvora dajući komplekse različitog stehiometrijskog sastava i tipa. Kao i kod salicilata, intramolForme neutralnog liganda, kao i ftalatnog i hidrogenftalatnog jona (H_2Pht, $HPht^-$, Pht^{2-}) su pogodnije za koordinaciju Cr^{3+} od salicilata, na šta ukazuje i veća vrednost $\Delta P_{ESI\%} = 63{,}72\%$.

Kao posledica *intermolekulskih vodoničnih veza*, izražena je i tendencija dimerizacije hidroksikarboksilnih i dikarboksilnih kiselina, naročito u nepolarnim rastvaračima, koje stoga imaju mogućnost građenja otvorenih ili cikličnih „dimernih“ formi, (H_4L_2) u neutralnom ili jonizovanom obliku ($H_3L_2^-$, $H_2L_2^{2-}$ itd.). Ova raznovrsnost formi sa elektron-donorskim sposobnostima omogućava nastanak različitih interakcija sa hromom u posmatranim binarnim sistemima, što ima za konsekvencu znatno smanjenje koncentracije monitoring jona analita u rastvoru i relativno visoke vrednosti $\Delta P_{ESI\%}$ kod O-donor liganada, osim benzoeve kiseline.

Limunska kiselina kao prirodna trikarbonska kiselina sa 4 kisela H-atoma (H_4Cit) ima važnu ulogu u transportnim procesima hroma(III) u zemljišnim sistemima, kako je naglašeno u poglavlju 2.4.2, a može da predstavlja i dobar model sistem u ispitivanju prirodne organske materije. I pored alifatičnog karaktera, ona poseduje znatni aciditet usled jakog $-I$ efekta kojim bliske –COOH grupe deluju jedan na drugu. Efekat je dovoljno jak da omogućava i delimičnu disocijaciju nekarboksilnog H-atoma na $–CH_2$ grupi. Osim polarnih uticaja, iz statističkih razloga se poveća verovatnoća da će jedna od tri ekvivalentne karboksilne grupe disocijacijom dati proton.

Međutim, citratne forme, za razliku od drugih O-donora i većine ostalih ispitivanih liganada, grade tipične helatne komplekse, što dodatno favorizuje koordinacionu interakciju sa hromom, kako je objašnjeno u poglavlju 2.1.4. Pored toga, postoji mogućnost građenja i serije homoleptičkih kompleksa tipa $[CrCit_2]^{n+/-}$, jer su sterne smetnje relativno male, a fleksibilna konformacija σ-veza omogućava povoljnu koordinacionu orjentaciju za građenje oktaedarskog okruženja hroma kiseonikom (slika 4.2-66.).

Iz navedenih razloga, limunska kiselina pokazuje najveću vrednost $\Delta P_{ESI\%} = 66{,}46\%$, ne samo među O-donorima, nego i među svim ispitivanim jedinjenjima, što ukazuje na relativno najjaču interakciju sa Cr^{3+} u seriji ispitivanih liganada.



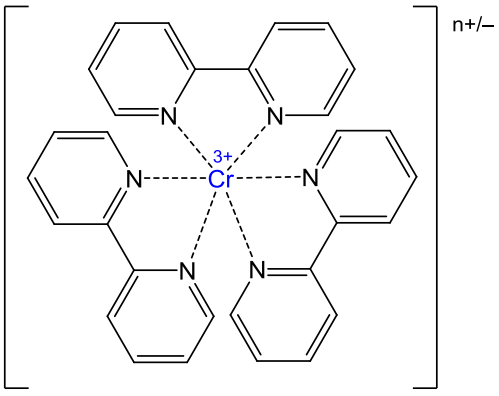
Slika 4.2-66. Koordinacione interakcije limunske kiseline (citrata) sa Cr^{3+} jonom, na primeru $[CrCit_2]$ kompleksa. O-donor atomi koji su potencijalna mesta vezivanja jona Cr^{3+} označeni su brojevima u plavoj boji.

4.2.4.4 Uporedni pregled interakcija hroma sa N-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom

U grupi ispitivanih N-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla, jačina interakcije ligand-Cr^{3+} sledi redosled:

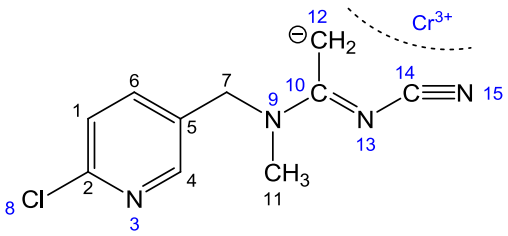
2,2'-bipiridin > acetamprid > atrazin

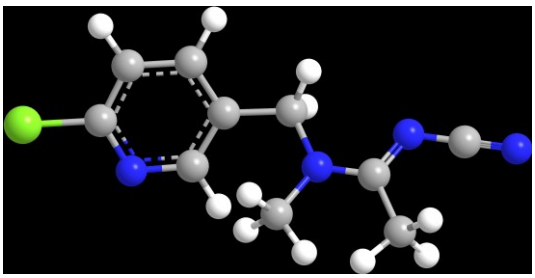
U grupi N-donor liganda, zapažena je najjača interakcija između 2,2'-bipiridina i hroma(III), koja je kvantifikovana sa $\Delta P_{ESI\%}$ = 60,95%. Bidentatne i helatne karakteristike *cis*-konformacije 2,2'-bipiridina su u skladu sa nađenom jakom interakcijom i građenjem serije kompleksa tipa $Cr(L\text{-}L)_3$ ($[Cr(bipy)_3]^{3+}$ do $[Cr(bipy)_3]^{3-}$), kako je prikazano na slici 4.2-67. kao i $Cr(L\text{-}L)_2$ i Cr(L-L), pri čemu centralni jon hroma može biti koordinisan od strane drugih prisutnih vrsta u ispitivanom rastvoru (OH^-, CH_3OH, H_2O). Nešto slabija interakcija u poređenju sa citratnim jonom može se objasniti preko *Pearson*-ovog pravila, odnosno posmatranjem N, i O-donor atoma kao donora, i Cr^{3+} kao akceptora, u kontekstu „*tvrdih*" i „*mekih*" kiselina i baza. Po svom odnosu radijusa i naelektrisanja, Cr^{3+} jon spada u tvrde kiseline, kao i drugi joni prve serije *d*-elemenata višeg oksidacionog stanja. Sa druge strane, i azot i kiseonik imaju karakteristike tvrdih baza, što pogoduje nastanku jakih koordinacionih veza. Ipak, molekuli sa kiseoničnim funkcionalnim grupama imaju, zbog veće elektronegativnosti O-atoma, nešto jače izražene osobine tvrde baze, te su zato kompatibilnije sa Cr^{3+} jonom u odnosu na N-funcionalne grupe. Drugim rečima, kiseonik ima veću *apsolutnu tvrdoću* (η) u odnosu na azot, što generalno dovodi do jačeg afiniteta ka građenju Cr–O veza u kompleksima, i formiranja brojnijih i stabilnijih kompleksa u odnosu na N-donor ligande, a ovakav zaključak se može izvesti i komparacijom izračunatih $\Delta P_{ESI\%}$ vrednosti O-donor i N-donor liganada.



Slika 4.2-67. Jedna od mogućih struktura 2,2-bipiridin–Cr^{3+}, na primeru $[CrBipy_3]$ kompleksa.

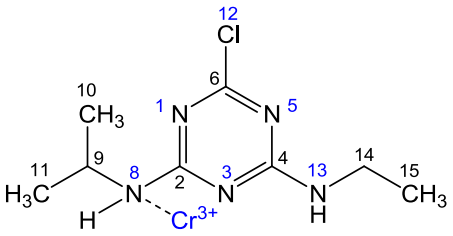
Antropogeni N-donor ligand acetamiprid, dosta jakog aciditeta (pK_a = 0,7 zbog *–I* dejstva –CN grupe), sa $\Delta P_{ESI\%}$ = 31,88% pokazuje znatno manju interakciju sa Cr^{3+}, od 2,2'-bipiridina i pored velikog broja potencijalnih mesta vezivanja (4×N, 1×Cl, 3×C). Najperspektivniji položaj sa azotom u –CN grupi, međutim, ne može da simultano sa susednim grupama, ostvari doniranje elektrona, usled udaljenosti i sternih smetnji, tako da su helatne strukture malo verovatne. Baznost piridinskog N-atoma umanjuje susedni Cl-atom jakim *–I* efektom, tako on ne spada u grupu jakih donora, a pojedini ugljenični atomi sa parcijalnim negativnim naelektrisanjem, δ^- (slika 4.2-68.) imaju malu mogućnost za koordinacionu interakciju sa Cr^{3+}.

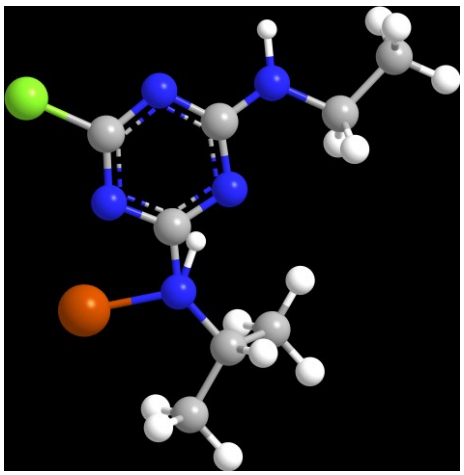




Slika 4.2-68. Koordinacionioni centri anjona acetamiprida, sa potencijalnim donor atomima numerisanih u plavoj boji (levo); 3D geometrijski prikaz molekula acetamprida (desno), sa oznakama atoma: – hlor, – azot – ugljenik

Atrazin pokazuje najnižu vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 17,11% u grupi N-donor liganada i pored pet prisutnih azotovih atoma, najverovatnije usled nepostojanja bidentanog vezivanja sa metalom. Triazinski prsten ne može da ostvari simultanu vezu sa centralnim atomom, a zatvaranje četvoročlanog prestena preko N-8 i N-3 sa jonom hroma nije sterno verovatno, a uz to je i negativna šarža na N-3 atomu znatno smanjena zbog *–I* delovanja ostala dva N-atoma triazinskog prstena i Cl-12. Vezivanje metala je najverovatnije preko N-8 koji ima veću elektronsku gustinu (*+R* efekat od dve $–CH_3$ grupe, umesto jedne $–CH_2–$ na N-13), kako je prikazano na slici 4.2-69.





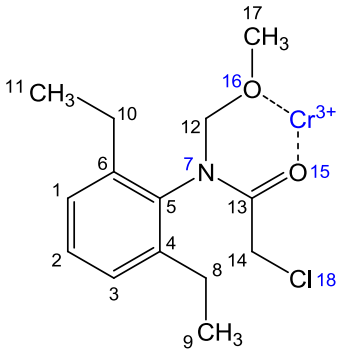
Slika 4.2-69. Najverovatnija struktura atrazin–Cr^{3+}; plavo obojene anotacije se odnose na atome sa donorskim svojstvima (gore). Desno je prikazana 3D geometrijska struktura kompleksa atrazin-Cr^{3+}, sa oznakama atoma: – hlor, – azot – ugljenik, –Cr^{3+}

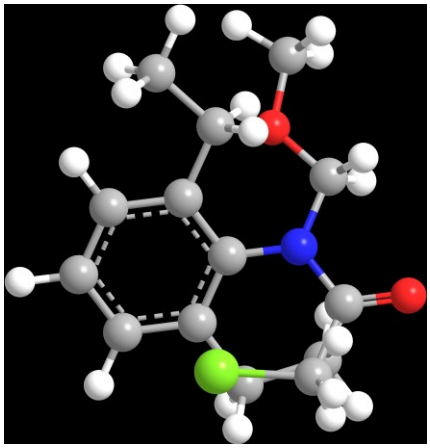
4.2.4.5 Uporedni pregled interakcija hroma sa O, N ili S-donor ligandima ispitivanih ESI MS tehnikom

U grupi ispitivanih O, N ili S-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla, jačina interakcije ligand-Cr^{3+} sledi redosled:

alahlor > aldikarb > N-aliltiourea > trifluralin

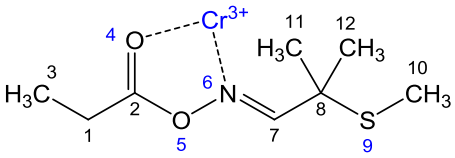
Alahlor sa malim brojem potencijalnih vezujućih mesta (1×N, 2×O i 1×Cl) ipak gradi stabilne komplekse sa hromom(III), na šta ukazuje, najveća u grupi, dobijena vrednost $\Delta P_{ESI\%}$ = 46,33%. Zatvaranje šestočlanog prstena sa jonom Cr^{3+} i atomima O-15 i O-16, čini alahlor relativno dobrim helatnim agansom, kako je prikazano na slici 4.2-70. Pozitivan mezomerni efekat (*+R*) metilgrupe-17 kompenzuje slabi *–I* efekat od *terc*-amino atoma N-7 povećavajući elektronsku gustinu na O-16. Interesantno je da je najstabilnija konformacija alahlora (3D prikaz na slici 4.2-70) nepovoljna za građenje helata sa Cr^{3+}, ali usled slobodnih rotacija oko σ-veza, kiseonik metoksi-grupe dolazi u povoljniji položaj, koji je zatim energetski stabilisan koordinacionom interakcijom sa hromom. Četvoroatomska bidentantna struktura sa N-7 i O-15 je manje verovatna.

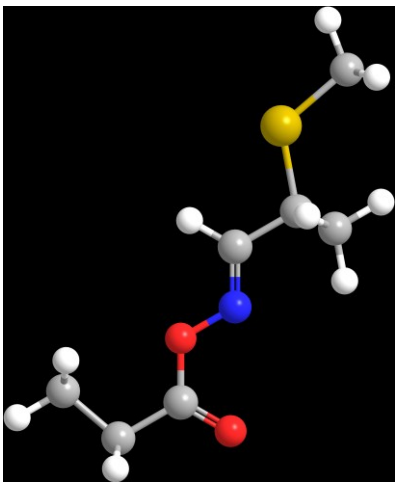




Slika 4.2-70. Verovatna struktura alahlor–Cr^{3+}; plavo obojene anotacije se odnose na atome sa donorskim svojstvima (gore). Desno je prikazana 3D geometrijska najstabilnije konformacije molekula alahlora (bez hroma), sa sledećim oznakama atoma:
– hlor, – azot – ugljenik, – kiseonik

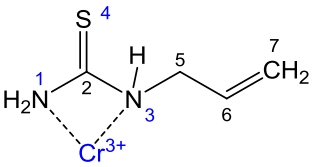
Sledeći po redu je aldikarb koji ima niži $\Delta P_{ESI\%}$ = 35,29% od alahlora. Aldikarb najverovatnije stupa u bidentatnu koordinaciju manje stabilnosti u odnosu na alahlor, vezivanjem hroma u petočlani prsten sa atomima O-4 i N-6 (slika 4.2-71). Elektronska gustina na N-6 je sa jedne strane povećana susednom dvostrukom vezom amida, a sa druge smanjena jakim *–I* efektom O-5 atoma. Atom sumpora je suviše udaljen od N-6, O-4 i O-5 i zbog nepovoljne geometrije ne može da učestvuje u helatnom vezivanju. Monodentatno vezivanje sumpora za Cr^{3+} je isto tako malo verovatno, zbog velike polarizabilnosti sumpora, koja ne stabilizuje interakciju sa hromom („tvrda“ kiselina prema *Pearson*-u).

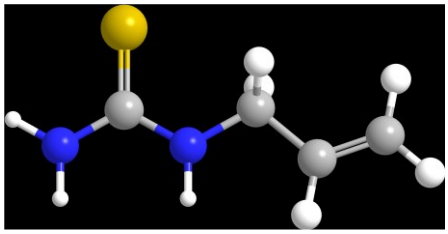




Slika 4.2-71. Verovatna struktura kompleksa aldikarb–Cr^{3+}; plavo obojene anotacije se odnose na atome sa donorskim svojstvima (gore). Desno je prikazana 3D geometrijska struktura najstabilnije konformacije molekula aldikarba (bez hroma), sa oznakama atoma:
– sumpor, – azot – ugljenik, – kiseonik

N-aliltiourea ($\Delta P_{ESI\%}$ = 25,39%) je, u odnosu na Cr^{3+}, još slabiji ligand od aldikarba, usled ponašanja molekula kao monodentatnog liganada, vezivanjem preko zasebnih N-1 i N-3 atoma. Moguće je i bidentatno građenje nešto stabilnijeg četvoroatomskog prstena preko azotovih atoma (slika 4.2.72), što čini slabiju energetsku stabilizaciju u odnosu na petočlani prsten kod aldikarba, koji uključuje po jedan N i O atom. Usled velikog kovalentnog radijusa sumpora (105±3 pm) i srazmerno velike polarizabilnosti („meka“ baza u *Pearson*-ovom nizu), interakcija preko S atoma verovatno ne daje najstabilniju strukturu sa Cr^{3+} („tvrda“ kiselina). Nezasićena etilenska grupa sa atomima C-6 i C-7, takođe ne daje uslove za građenje kompleksa sa hromom. Opisani trihapto (η^3) kompleksi Ni, V, Cr, Fe, Co, Rh i Ir sa alil grupom (CH_2=CH–CH–) se dobijaju sintezom preko *Grignard*-ovog reagensa, ali u metanol-vodenom rastvoru ne postoje uslovi za njihovo građenje.

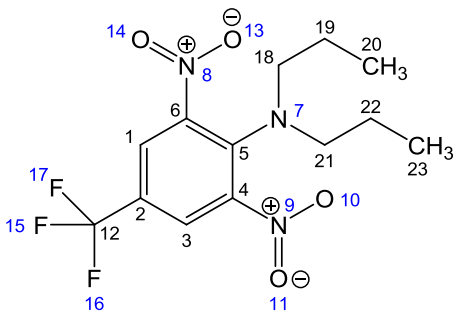


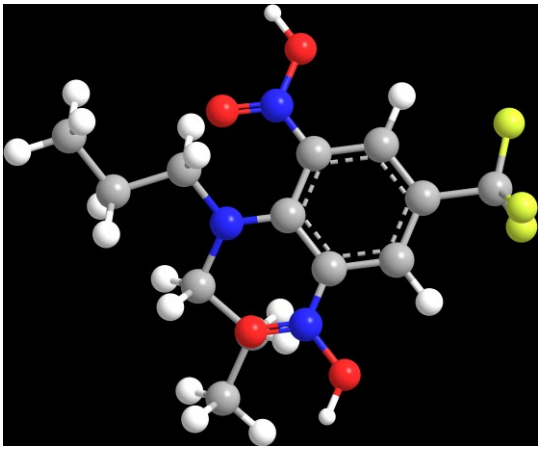


Slika 4.2-72. Verovatna struktura kompleksa *N*-aliltiourea–Cr^{3+}; plavo obojene anotacije se odnose na atome sa donorskim svojstvima (gore). Desno je prikazana 3D geometrijska struktura najstabilnije konformacije molekula *N*-aliltiouree (bez hroma), sa oznakama atoma: – sumpor, – azot – ugljenik.

Trifluralin je po dobijenoj $\Delta P_{ESI\%} = 20{,}36\%$ poslednji u grupi O, N ili S-donora. Tri karakteristična fluorova atoma su dostupna za koordinaciju samo kao monodentatni ligandi, jer trifluorometil grupa ne ulazi u koordinaciju kao celina, niti može da formira bidentatnu vezu sa Cr^{3+}. Kovalentni radijus fluora od 60 pm, velika elektronegativnost i mala polarizabilnost, čine fluor „tvrdom" bazom. Na primer, joni fluora (F^-) grade sa Cr^{3+} kristalnu strukturu $K[CrF_4]$ sačinjenu od niza spojenih oktaedara anjona, ali u trifluorometil grupi sa manjim međuatomskim rastojanjima uslovljenim kovalentnim C–F vezama, ovakve strukture sa hromom nisu moguće. NO_2 grupa kao nitritni anjon (NO_2^-) je vrlo jak ambidentatni ligand (*nitro* $-NO_2^-$ ili *nitrito* $-ONO^-$), prema poziciji u *spektrohemijskom nizu* liganada, ali kao kovalentno vezana $-NO_2$ grupa ima znatno manje izražena elektron-donorska svojstva. Najzad, na atomu N-7 tercijarnog amina je usled sternih smetnji otežano građenje koordinacione interakcije, jer pri bidentatnom vezivanju Cr^{3+} sa atomima N-7 i O-13/14 (ili O-10/11), ostale četiri d^2sp^3 orbitale postaju teško pristupačne drugim ligandima za građenje oktaedarske geometrije kompleksa.

Sva tri nabrojana potencijalna donatorska (–F, $-NO_2$ i azot N-7) su međusobno suviše udaljena da bi formirali helatne strukture sa Cr^{3+} (slika 4.2-73.).





Slika 4.2-73. Strukturna formula trifluarlina; plavo obojene anotacije se odnose na atome sa donorskim svojstvima (gore). Desno je dat 3D prikaz najstabilnije konformacije molekula trifluralina (bez hroma), sa sledećim oznakama atoma: – fluor, – azot – ugljenik, – kiseonik

4.2.4.6 Sumarna evaluacija dobijenih rezultata i ESI MS analize kompleksa

Poredeći seriju svih ispitivanih sistema hroma(III) sa ligandima prirodnog i antropogenog porekla, može se reći da su dobijene vrednosti $\Delta P_{ESI\%}$ u vrlo dobroj korelaciji sa kiselinsko-baznim i elektron-donorskim osobinama, geometrijskim i sternim karakteristikama, kao i molekulskim strukturama ispitivanih jedininja. Elektron-akceptorska interakcija Cr^{3+} jona se smanjuje u nizu O, N, S-donor atoma u skladu sa *Pearson*-ovom koncepcijom „tvrdih" i „mekih" kiselina i baza, a mogućnost građenja bidentatnih, ambidentatnih i, naročito, helatnih struktura veoma doprinosi stabilnosti kompleksa, što se očituje kroz srazmerno manju koncentraciju monitoring jona u analiziranom rastvoru binarnog sistema i samim tim većim $\Delta P_{ESI\%}$ vrednostima.

Mogućnost kvantifikacije preko dva različita monitoring jona je ispitana na pesticidu dikambi. Kako je navedeno, paralelna kvantifikacija dikambe preko drugog monitoring jona na *m/z* 539 je dala dobro slaganje sa merenjem jona *m/z* 219, ali se na osnovu ovog primera još uvek ne može izvući opšti zaključak da je takvu supstituciju moguće primeniti u svim slučajevima. Neophodno je uraditi veći broj eksperimentalnih studija kako bi se potvrdilo da je moguće za kvantifikaciju koristiti različite forme liganda prisutne u rastvoru.

U generalnoj evaluaciji primene ESI MS tehnike za kvalitativno i kvantitativno ispitivanje sistema metal-ligand, na osnovu rezultata drugih autora, kao i na osnovu naših istrživanja u ovom radu, treba uzeti u obzir sledeće činjenice:

1. Idealizovani opisi i teorijska razmatranja prednosti ESI MS tehnike, često ne odgovaraju realnim uslovima, što može uticati na procenu rezultata dobijenih ESI MS tehnikom u cilju ispitivanja metal-ligand interakcija.
2. Za vreme ESI *soft ionization* procesa, sastav rastvora može biti promenjen u odnosu na početne ravnotežne uslove: a) zapremina se menja usled evaporacije spreja, što povećava koncentraciju vrsta i modifikaciju jonske jačine rastvora; b) dolazi do varijacija temperature u kapljicama (engl. *droplet*) spreja, s obzirom na visoku temperaturu ambijenta koja egzistira u ESI izvoru i na stalno isparavanje sa površine kapljica; c) menja se pH, kako pod uticajem promene temperature i koncentracije u spreju tako i usled *redoks*-reakcija kojima rastvor podleže u kapilari jonskog izvora, naročito u sistemima sa *redoks*-aktivnim ligandima ili metalnim jonima, a *redoks* reakcije mogu takođe da se odvijaju i u drugim delovima ES komore, a ne samo u kapilari.
3. Joni proizvedeni u ESI izvoru mogu da podležu različitim reakcijama u gasnoj fazi, pre nego što dođu do masenog analizatora/detektora.
4. Među faktorima koji mogu komplikovati ESI MS analizu je i činjenica potvrđena u ovom radu, da molekuli rastvarača mogu biti dodati (ili zatim oduzeti) centralnom metalnom jonu, ili ligandu, u toku procesa jonizacije.
5. Jonski adukti koji se normalno ne javljaju u rastvoru mogu biti formirani u procesu jonizacije, što je u ovom radu uočeno u više ispitivanih sistema. Formiranje *pseudomolekulskih*, ili aduktnih, jona (na primer, sa Na^+) je vrlo često u ESI-MS analizi. Oni ne ugrožavaju analizu na neprihvatljiv način, ali otežavaju prepoznavanje porekla pojedinih pikova.
6. Uprkos *soft-ionization* karakteristici ESI-MS, fragmentacioni ili polimarizacioni fenomeni ipak mogu doći do izražaja (npr. kod salicilne kiseline i drugih sistema).
7. Broj kiselih protona u metal-ligand kompleksu ne može biti određen.
8. ESI-MS spektri su osetljivi na instrumentalne parametre izvora i jonske optike (uslove snimanja) koji se primenjuju u radu, kao što su napon spreja, temperatura kapilare, napon kapilare, potencijali jonske optike (*tube lens offset*) i napon konusa. Njihovom izmenom se mogu dobiti bitno drugačiji rezultati za dati sistem.
9. Različiti joni mogu mogu davati različite odzive u spektru (engl. *response factor*). Za datu količinu analita, signal dobijen na MS detektoru varira za različite analite, u zavisnosti od prirode jedinjenja i uslova rada na instrumentu.
10. Sastav rastvora koji može biti podvrgnut analizi je uslovljen značajnim ograničenjima: ne sme se primeniti velika jonska jačina, čak i relativno niske koncentracije nevolatilnih komponenti mogu da smetaju (npr. joni Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}), a metoda zahteva i dodavanje organskog rastvarača u vodeni rastvor pre analize, što donekle može da remeti ravnotežna stanja u rastvoru.

Uprkos ovim ometajućim faktorima, može se sa sigurnošću reći da ESI-MS nalazi sve veću primenu u proučavanjima metal-ligand sistema, što potvrđuje i sve veći broj literaturnih referenci. ESI-MS nalazi primenu i u specijaciji pojedinih elemenata [STEWART, 1999; CHASSAIGNE *et al.*, 2000] što se takođe svodi na fenomen koordinacionih interakcija, ali i u pogledu izučavanja nekovalentnih interakcija između velikih biomolekula [BECK *et al.*, 2001; HECK i VAN DEN HEUVEL, 2004].

Metoda ESI-MS u analizi interakcija metal-ligand sistema jeste još uvek relativno nova i nedovoljno široko primenjena. Sa teorijskog aspekta, teško je evaluirati *a priori* pouzdanost ESI-MS u ovoj vrsti aplikacije. Kod ESI-MS se uočavaju brojni limiti, kao prisustvo adukta sa rastvaračem, formiranje pseudomolekularnih, ili aduktnih, jona, pojava fragmentacije ili polimerizacije, nemogućnost prepoznavanja broja jonizujućih protona pojedine vrste, nemogućnost analize rastvora sa većim sadržajem elektrolita, teškoće u radu sa čistim vodenim rastvorima, znatna zavisnost masenih spektara od primenjenih instrumentalnih parametara. Generalno se ovi problemi ipak mogu prevazići, minimizirati ili uzeti u obzir prilikom korekcija, tako da se veliki broj metal-ligand sistema može ispitivati putem ESI-MS bez prevelikih teškoća.

U fazi opredeljivanja istraživačke metodologije, potrebno je utvrditi da li ESI-MS vrši funkciju kvalitativnog određivanja – odnosno, da li daje pouzdane podatke o broju i stehiometriji metal-ligand vrsta u rastvoru. Neophodno je znati da li ESI proces unosi poremećaje u ravnoteži, i da li se javljaju gas-fazne reakcije i koji su njihovi proizvodi. Poremaćaj ravnoteža se može javiti samo ako je metal-ligand sistem kinetički labilan u vremenskom opsegu ESI procesa, tj. oko 0,01 sec, pri čemu ova okolnost često nije uzimana u obzir kod mnogih autora. Što se tiče gas-faznih reakcija, i pored određenih pristupa u cilju prepoznavanja njihove pojave, one se mogu javiti pod vrlo različitim specifičnim uslovima, i ne može se dati jednostavan zaključak po tom pitanju.

U sledećem koraku, treba odrediti da li se ESI-MS može uspešno primiti u kvantifikaciji, to jest, da li dozvoljva korektno određivanje koncentracija vrsta u rastvoru. Za ovu primenu, osim gore navedenih zahteva (kinetička inercija i odustvo gas-faznih reakcija), neophodno je i poznavanje faktora odziva pojedinih jona. Međutim, različiti pristupi predloženi za njihovo izračunavanje još uvek ne deluju dovoljno pouzdani, te se u većini radova pretpostavlja ekvivalentnost faktora odziva, što je relativno diskutabilna pretpostavka, osim u slučajevima sličnih vrsta identičnog naelektrisanja (na primer, *host-guest* sistemi). Najzad, prihvatljiv način za ocenu upotrebljivosti ESI-MS je komparacija rezultata sa dostupnim klasičnim tehnikama, kao što su potenciometrija i druge razrađene metode.

U pogledu kvalitativnih rezultata, ovo poređenje najčešće daje vrlo dobro slaganje – izgleda da se u većini slučajeva, poremećaji ravnoteža i gas-fazne reakcije ne javljaju u značajnoj meri, ili ako se javljaju, onda ne modifikuju broj i stehiometriju vrsta prisutnih u početnom rastvoru, već menjaju samo njihove kvantitativne odnose. Stoga se ESI-MS po dosadšnjim saznanjima, može smatrati relevantnom i pouzdanom tehnikom za kvalitativnu analizu metal-ligand sistema.

U pogledu kvantitativnih primena, rigorozno upoređivanje sa drugim tehnikama može biti vršeno samo uz korekciju koeficijenata aktivnosti, usled različitog sastava rastvora i prisutnih jonskih jačina, a trenutno ne postoji ni jedan generalno primenljiv metod za prevazilaženje problema faktora odziva. Sumarno, ESI-MS se za sada, ne može smatrati pouzdanom aplikacijom za kvantitativna određivanja metal-ligand sistema (ovo naravno ne važi za kvantitativne primene na drugim analitičkim poljima, npr. uz HPLC i druge separacione tehnike), ali zbog nekih jedinstvenih karakteristika, u kombinaciji sa drugim tehnikama, ESI-MS ipak predstavlja vredan izvor ekperimentalnih podataka za bolje razumevanje ravnotežnih metal-ligand sistema. U ovom radu korišćene tehnike UV/VIS spektrofotometrija i ESI MS kvantifikacija su pokazale veliku razliku u informativnosti

dobijenih eksperimentalnih rezultata, u korist ESI MS tehnike, a što je u vezi sa fundamentalnim ograničenjima UV/VIS metode. U tabeli 4.2-29. je dat komparativni prikaz UV/VIS i ESI MS metode za ispitivanje interakcija u metal-ligand sistemima.

Tabela 4.2-29. Poređenje mogućnosti različitih tehnika za ispitivanje metal-ligand sistema.

Tehnika	Određivanje broja vrsta	Prepoznavanje stehiometrije	Izračun. konstanti ravnoteža	Limit detekcije, mol/L
UV/VIS	nije idealno	prihvatljivo	dobro	10^{-5}
ESI-MS	dobro	odlično	problematično	10^{-6}

4.3 Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i antropogene organske materije u tečnoj fazi

U prisustvu prirodne organske materije u čvrstoj fazi, dolazi do brze sorpcije jona teških metala i pesticida na zemljišnim mineralima gline i/ili zemljišnoj organskoj materiji. U kom odnosu će se i pesticid i joni teških metala raspodeliti između črvrste i tečne faze zavisi od mnogih faktora koji određuju čvrstu i tečnu fazu, ali i od karakteristika teških metala i pesticida.

Ispitivani sistemi hroma i pesticida različitih donorskih grupa i polarnosti pokazuju da oni značajno određuju raspodelu hroma između čvrste i tečne faze. Ova raspodela hroma je uslovljena i raspodelom samog pesticida, jer pesticid može da interaguje i sa čvrstom, odnosno nerastvornom frakcijom zemljišne organske materije, ali i sa rastvorenom frakcijom. Stoga će kompetativni efekat, reverzibilnost ova dva tipa interakcija određivati distribuciju pesticida između čvrste i tečne faze organske materije.

4.3.1 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i aldikarba u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i aldikarba u tečnoj fazi je prikazana u tabeli 4.3-1. Rezultati pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, što je u saglasnosti sa činjenicom da veći udeo minerala gline i/ili zemljišne organske materije doprinosi većoj retenciji hroma. Tako da se u slučaju zemljišta koje sadrži manje organske materije i glinovitih minerala, može očekivati veće izluživanje hroma.

U sistemu koji sadrži kvarcni pesak, odnosno u sistemu u kome nema uticaja organske materije na sorpciju metala, sorpcija je najmanja. Ovu sorpciju određuje samo površina kvarca, a ne i funkcionalne grupe organske materije i minerala gline.

Takođe, rezultati pokazuju da sa porastom koncentracije pesticida aldikarba u rastvoru raste udeo hroma u rastvornoj fazi, odnosno smanjuje se sorpcija hroma na zemljištu. Usled formiranja rastvornog kompleksa između aldikarba i hroma, dolazi do porasta koncentracije hroma u rastvoru. Pri koncentraciji pesticida aldikarba od 10 μM, dolazi do smanjenja koncentracije rastvorenog kompleksa i pojačanja sorpcije hroma na zemljištu.

U tabeli 4.3-2. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-1. i 4.3-2. uočava se da se sorpcija hroma povećava pri zakiseljavanju jedino u slučaju organskog supstrata kao čvrste faze. Ovaj efekat je verovatno uslovljen uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema. Pri zakiseljavanju dolazi do taloženja huminske kiseline koja za sobom koprecipituje i hrom i kompleks hrom-aldikarb, tako da koncentracija sorbovanog hroma raste.

Tabela 4.3-1. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu aldikarba (sistem: 10,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 5,2 mg/L, vreme sorpcije 4h).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(aldikarb) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,510	90,2
		1	n.d.	100,0
		5	n.d.	100,0
		10	n.d.	100,0
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,619	88,1
		1	0,766	85,3
		5	0,854	83,6
		10	0,468	91,0
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	2,827	45,6
		1	3,675	29,3
		5	3,936	24,3
		10	2,765	46,8

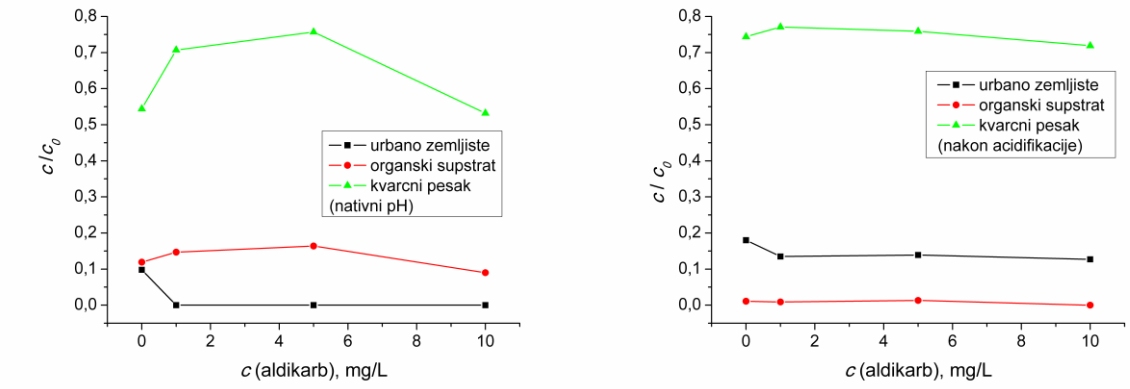
U slučaju kvarcnog peska i urbanog zemljišta, smanjenje pH vrednosti dovodi do smanjenja sorpcije hroma.

I pri nižoj pH vrednosti u sistemu sa kvarcnim peskom i sistemu sa urbanim zemljištem, takođe se uočava da kada koncentracija pesticida aldikarba poraste na 10 µM, dolazi do pojačanja sorpcije na zemljištu.

Tabela 4.3-2. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu aldikarba (sistem: 10 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 5,2 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(aldikarb) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	2,0 – 2,5	0	0,935	82,0
		1	0,701	86,5
		5	0,725	86,1
		10	0,662	87,3
Organski supstrat	3,5 – 4,0	0	0,056	98,9
		1	0,045	99,1
		5	0,065	98,7
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	1,0 – 1,2	0	3,870	25,6
		1	4,007	22,9
		5	3,946	24,1
		10	3,740	28,1

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3-1.



Slika 4.3-1. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije aldikarba u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju organskog supstrata, što se može pripisati efektu kopresipitacije rastvorne faze organske materije i hroma, koji se talože pri nižim pH vrednostima.

4.3.2 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i acetamiprida u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i acetamiprida u tečnoj fazi (tabela 4.3-3.) pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, kao i u slučaju sistema sa aldikarbom. U sistemu koji sadrži kvarcni pesak, odnosno u sistemu u kome nema uticaja organske materije na sorpciju metala, sorpcija je najmanja.

Takođe, rezultati pokazuju da porastom koncentracije pesticida aldikarba u rastvoru raste udeo hroma u rastvornoj fazi, odnosno smanjuje se sorpcija hroma na zemljištu. Usled formiranja rastvornog kompleksa između aldikarba i hroma, dolazi do porasta koncentracije hroma u rastvoru. Pri koncentraciji pesticida aldikarba od 10 μM, dolazi do smanjenja koncentracije rastvorenog kompleksa i pojačanja sorpcije hroma na zemljištu.

Poređenjem soprcije hroma iz sistema sa aldikarbom i acetamipridom (tabela 4.3-1. i tabela 4.3-3.) može se uočiti da prisustvo minerala gline i/ili organske materije ima dominantan uticaj na sorpciju, tako da se uticaj strukture pesticida, odnosno uticaj prisutnim donor atoma liganda ne može pratiti. Prisutne funkcionalne grupe i aktivni površinski centri minerala gline i/ili organske materije čvrste faze imaju „nivelišući efekat“ na vezivanje pesticida i hroma. Razlika u vezivanju acetamiprida i aldikarba se može uočiti tek u odsustvu minerala gline i/ili organske materije, odnosno u sistemu sa kvarcnim peskom. Rezultati pokazuju da je interakcija između hroma i aldikarba nešto veća od interakcije hroma i acetamiprida, jer je udeo sorbovanog hroma za sistem hrom-aldikarb-kvarcni pesak, 29% pri 1,0 μM aldikarbu, odnosno za sistem hrom-acetamiprid-kvarcni pesak, 36% pri 1,0 μM acetamipridu.

U tabeli 4.3-4. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-3. i 4.3-4. uočava se da se sorpcija hroma povećava pri zakiseljavanju u slučaju organskog supstrata i urbanog zemljišta kao čvrste faze. Ovaj efekat je verovatno uslovljen uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne

organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema. Pri zakiseljavanju dolazi do taloženja huminske kiseline koja za sobom koprecipituje i hrom i kompleks hrom-acetamiprid, tako da koncentracija sorbovanog hroma raste.

Tabela 4.3-3. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu acetamiprida (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije c(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	c(acetamiprid) (μmol/l)	c(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,255	90,2
		1	0,172	93,4
		5	0,129	95,0
		10	0,131	95,0
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,309	88,1
		1	0,273	89,5
		5	0,387	85,1
		10	0,327	87,4
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	1,414	45,6
		1	1,657	36,3
		5	1,973	24,1
		10	1,968	24,3

U slučaju kvarcnog peska, smanjenje pH vrednosti dovodi do smanjenja sorpcije hroma.

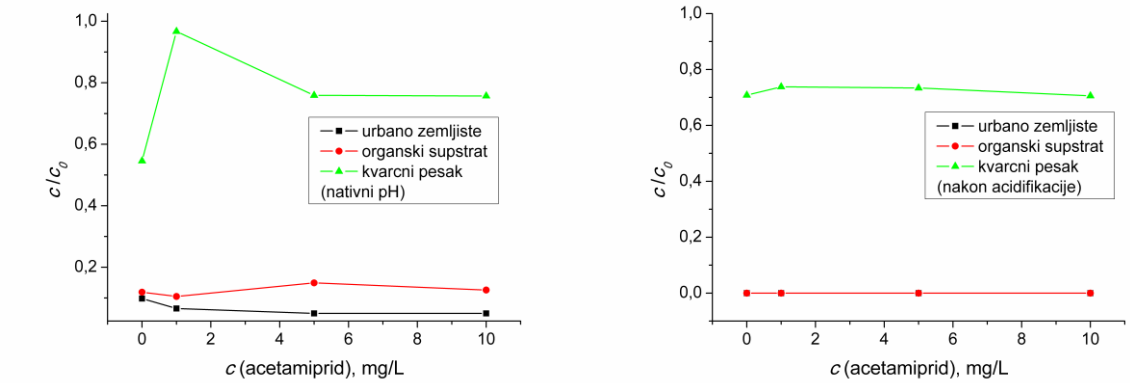
I pri nižoj pH vrednosti u sistemu sa kvarcnim peskom takođe se uočava da kada koncentracija pesticida acetamiprida poraste na 10 μM, dolazi do pojačanja sorpcije na zemljištu.

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3-2.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod urbanog zemljišta i organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema ne povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska.

Tabela 4.3-4. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu acetamiprida (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(acetamiprid) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	6,0 - 7,0	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Organski supstrat	6,0 – 7,0	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	1,4 – 1,5	0	1,840	29,2
		1	1,920	26,2
		5	1,908	26,6
		10	1,835	29,4



Slika 4.3-2. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije acetamiprida u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

4.3.3 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i alahlora u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i alahlora u tečnoj fazi (tabela 4.3-5) pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, kao i u slučaju sistema sa aldikarbom i acetamipridom. U sistemu koji sadrži kvarcni pesak, odnosno u sistemu u kome nema uticaja organske materije na sorpciju metala, sorpcija je najmanja.

Takođe, rezultati pokazuju da porastom koncentracije pesticida alahlora u rastvoru raste udeo hroma u rastvornoj fazi, odnosno smanjuje se sorpcija hroma na organskom supstratu i kvarcnom pesku. Usled formiranja rastvornog kompleksa između alahlora i hroma, dolazi do porasta koncentracije hroma u rastvoru. Pri koncentraciji pesticida alahlora od 10 µM, dolazi do smanjenja koncentracije rastvorenog kompleksa i pojačanja sorpcije hroma na čvrstoj fazi.

Poređenjem soprcije hroma iz sistema sa aldikarbom, acetamipridom i alahlorom (tabela 4.3-1., tabela 4.3-3. i tabela 4.3-5.) može se uočiti da prisustvo minerala gline i/ili organske materije ima dominantan uticaj na sorpciju, tako da se uticaj strukture pesticida, odnosno uticaj prisutnih donor atoma liganda ne može uočiti. Prisutne funkcionalne grupe i aktivni površinski centri minerala gline i/ili organske materije čvrste faze imaju „nivelišući efekat“ na vezivanje pesticida i hroma. Razlika u vezivanju acetamiprida, aldikarba i alahlora se uočava u odsustvu minerala gline i/ili organske materije, odnosno u sistemu sa kvarcnim peskom. Rezultati pokazuju da je interakcija između hroma i alahlora pri koncentraciji pesticida od 1 μM veća od interakcije hroma i aldikarba, odnosno hroma i acetamiprida, jer je udeo sorbovanog hroma za sistem hrom-alahlor-kvarcni pesak, 19%, dok je za sistem hrom-aldikarb-kvarcni pesak, 29%, odnosno za sistem hrom-acetamiprid-kvarcni pesak, 36%. Prema tome, uticaj pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi je:

alahlor > *aldikarb* > *acetamiprid*

U tabeli 4.3-6. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-5. i 4.3-6. uočava se da se sorpcija hroma povećava pri zakiseljavanju u slučaju organskog supstrata i urbanog zemljišta kao čvrste faze. Ovaj efekat je verovatno uslovljen uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema. Pri zakiseljavanju dolazi do taloženja huminske kiseline koja za sobom koprecipituje i hrom i kompleks hrom-acetamiprid, tako da koncentracija sorbovanog hroma raste.

Tabela 4.3-5. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu alahlora (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h).

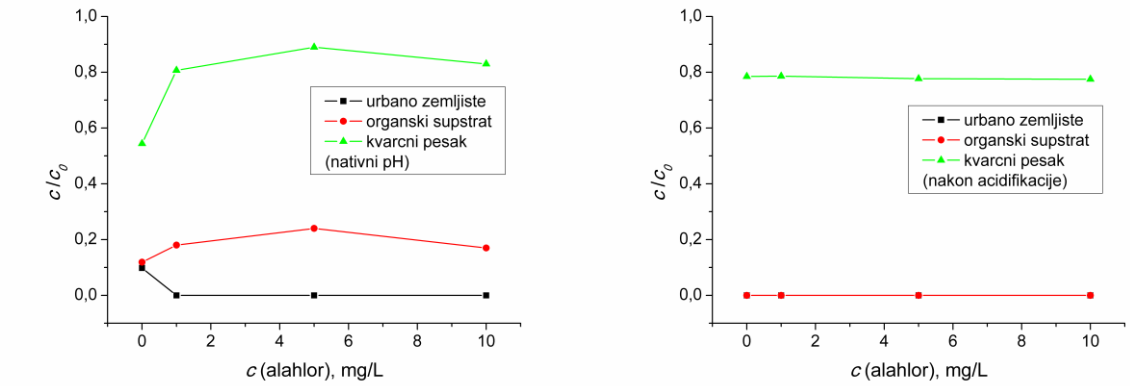
Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(alahlor) (μmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,255	90,2
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,309	88,1
		1	0,467	82,0
		5	0,624	76,0
		10	0,442	83,0
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	1,414	45,6
		1	2,099	19,3
		5	2,313	11,0
		10	2,158	17,0

Tabela 4.3-6. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu alahlora (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(alahlor) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	6,3 – 7,0	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Organski supstrat	6,0 – 7,0	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	1,5	0	2,041	21,5
		1	2,043	21,4
		5	2,019	22,3
		10	2,015	22,5

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3-2.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod urbanog zemljišta i organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema ne povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska.



Slika 4.3-3. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije alahlora u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

Takođe, uočava se da promena koncentracije pesticida nema uticaja na promenu koncentracije hroma u rastvornoj fazi.

4.3.4 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i atrazina u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i atrazina u tečnoj fazi (tabela 4.3-7) pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, odnosno u sistemu koji sadrži kvarcni pesak sorpcija je najmanja kao i u slučaju sistema sa aldikarbom, acetamipridom i alahlorom.

Poređenjem soprcije hroma iz sistema sa aldikarbom, acetamipridom, alahlorom i atrazinom (tabela 4.3-1., tabela 4.3-3., tabela 4.3-5. i tabela 4.3-7.) može se uočiti da se razlika u vezivanju hroma sa pesticidima uočava tek u odsustvu minerala gline i/ili organske materije, odnosno u sistemu sa kvarcnim peskom. Rezultati pokazuju da je interakcija između hroma i atrazina pri koncentraciji pesticida od 1,0 μM manja od interakcije hroma sa ostalim pesticidima, jer je udeo sorbovanog hroma za sistem hrom-atrazin-kvarcni pesak, 50%, tako da je redosled uticaja pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi:

alahlor > *aldikarb* > *acetamiprid* > *atrazin*

U tabeli 4.3-8. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-7. i 4.3-8. uočava se da se sorpcija hroma povećava pri zakiseljavanju u slučaju organskog supstrata i urbanog zemljišta kao čvrste faze. Ovaj efekat je verovatno uslovljen uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema. Pri zakiseljavanju dolazi do taloženja huminske kiseline koja za sobom koprecipituje i hrom i kompleks hrom-acetamiprid, tako da koncentracija sorbovanog hroma raste.

Tabela 4.3-7. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu atrazina (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h).

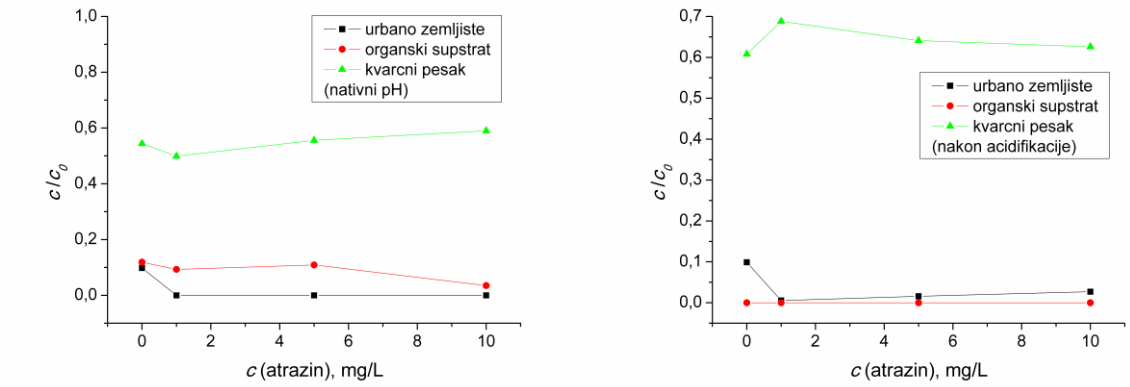
Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(atrazin) (μmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,343	90,2
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,309	88,1
		1	0,241	90,7
		5	0,282	89,1
		10	0,090	96,5
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	1,414	45,6
		1	1,297	50,1
		5	1,445	44,4
		10	1,534	41,0

Tabela 4.3-8. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu atrazina (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(atrazin) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	2,7 – 3,0	0	0,258	90,1
		1	0,013	99,5
		5	0,042	98,4
		10	0,069	97,3
Organski supstrat	5,0 – 5,5	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	1,5	0	1,581	39,2
		1	1,788	31,2
		5	1,666	35,9
		10	1,628	37,4

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3-4.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod urbanog zemljišta i organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema ne povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska.



Slika 4.3-4. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije atrazina u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

4.3.5 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i dikambe u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i dikambe u tečnoj fazi (tabela 4.3-9) pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, odnosno u sistemu koji sadrži kvarcni pesak sorpcija je najmanja kao i u slučaju sistema sa aldikarbom, acetamipridom, alahlorom i atrazinom.

Poređenjem sorpcije hroma iz sistema sa aldikarbom, acetamipridom, alahlorom, atrazinom i dikambom (tabela 4.3-1., tabela 4.3-3., tabela 4.3-5., tabela 4.3-7. i tabela 4.3-9.)

uočava se razlika u vezivanju hroma sa pesticidima tek u sistemu sa kvarcnim peskom. Rezultati pokazuju da je interakcija između hroma i dikambe pri koncentraciji pesticida od 1,0 μM veća samo od interakcije hroma sa atrazinom, jer je udeo sorbovanog hroma za sistem hrom-dikamba-kvarcni pesak, 44%, tako da je redosled uticaja pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi:

alahlor > *aldikarb* > *acetamiprid* > *dikamba* > *atrazin*

U tabeli 4.3-10. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-9. i 4.3-10. uočava se da se sorpcija hroma povećava pri zakiseljavanju u slučaju urbanog zemljišta kao čvrste faze. Ovaj efekat je verovatno uslovljen uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema.

Tabela 4.3-9. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu dikambe (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h).

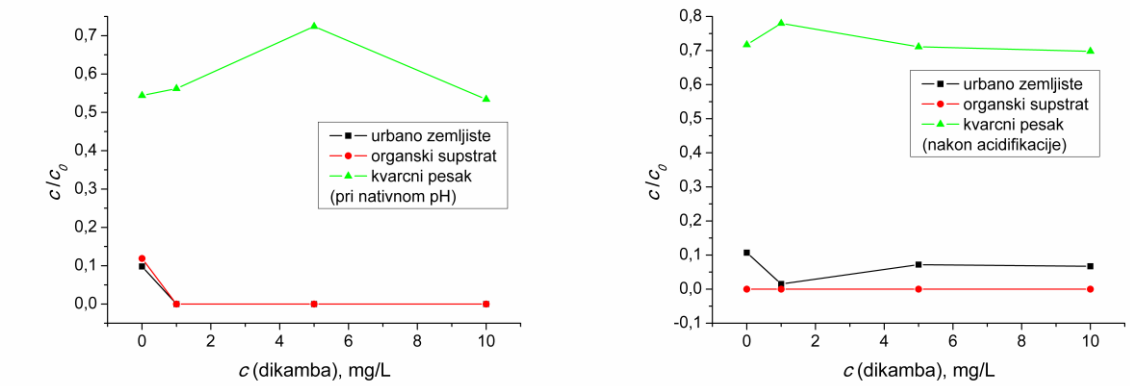
Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(dikamba) (μmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,343	90,2
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,309	88,1
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	1,414	45,6
		1	1.460	43,8
		5	1.883	27,6
		10	1.389	46,6

Tabela 4.3-10. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu dikambe (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(dikamba) (µmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	2,6 – 5,0	0	0,278	89,3
		1	0,040	98,5
		5	0,187	92,8
		10	0,173	93,3
Organski supstrat	5,3 – 6,0	0	n.d.	100
		1	n.d.	100
		5	n.d.	100
		10	n.d.	100
Kvarcni pesak	1,5	0	1,864	28,3
		1	2,029	22,0
		5	1,849	28,9
		10	1,814	30,2

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3-5.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod urbanog zemljišta i organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema ne povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska.



Slika 4.3-5. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije dikambe u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

4.3.6 Raspodela hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i trifluralina u tečnoj fazi

Rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i trifluralina u tečnoj fazi (tabela 4.3-11.) pokazuju da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, odnosno u sistemu koji sadrži kvarcni pesak sorpcija je najmanja kao i u slučaju sistema sa aldikarbom, acetamipridom, alahlorom, atrazinom i dikambom.

Poređenjem sorpcije hroma iz sistema sa aldikarbom, acetamipridom, alahlorom, atrazinom, dikambom i trifluralinom (tabela 4.3-1., tabela 4.3-3., tabela 4.3-5., tabela 4.3-7., tabela 4.3-9. i tabela 4.3-11.) uočava se razlika u vezivanju hroma sa pesticidima tek u sistemu sa kvarcnim peskom. Rezultati pokazuju da je interakcija između hroma i trifluralina pri koncentraciji pesticida od 1 μM veća samo od interakcije hroma sa atrazinom, jer je udeo sorbovanog hroma za sistem hrom-trifuralin-kvarcni pesak, 42%, tako da je redosled uticaja pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi:

alahlor > *aldikarb* > *acetamiprid* > *dikamba* ≈ *trifluralin* > *atrazin*

U tabeli 4.3.-12. prikazani su rezultati uticaja pH vrednosti zemljišnog rastvora na sorpciju hroma. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.

Poređenjem rezultata u tabeli 4.3-11. i 4.3-12. uočava se da se sorpcija hroma neznatno menja pri zakiseljavanju u prisustvu trifluralina.

Tabela 4.3-11. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu trifluralina (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h).

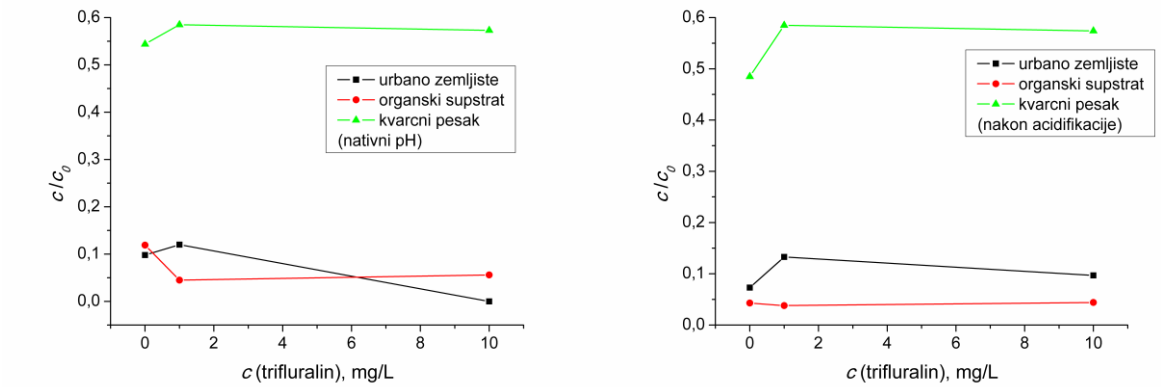
Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(trifluralin) (μmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	8,0 – 8,2	0	0,343	90,2
		1	0,030	98,8
		10	n.d.	100
Organski supstrat	8,0 – 8,5	0	0,309	88,1
		1	0,117	95,5
		10	0,145	94,4
Kvarcni pesak	4,5 – 5,0	0	1,414	45,6
		1	1,521	41,5
		10	1,491	42,7

Tabela 4.3-12. Sorpcija hroma na zemljištu u prisustvu trifluralina (sistem: 5,00 g zemljišta, rastvor hroma početne koncentracije *c*(Cr) = 2,6 mg/L, vreme sorpcije 4h, niska pH vrednost postignuta dodavanjem kiseline).

Tip zemljišta	pH zemljišnog rastvora	*c*(trifluralin) (μmol/l)	*c*(Cr) u rastvoru (ppm)	Udeo sorbovanog Cr (%)
Urbano zemljište	2,5 – 5,0	0	0,189	92,7
		1	0,346	86,7
		10	0,251	90,3
Organski supstrat	3,0 – 5,0	0	0,111	95,7
		1	0,100	96,2
		10	0,114	95,6
Kvarcni pesak	1,5	0	1,261	51,5
		1	1,521	41,5
		10	1,491	42,6

Uticaj pH vrednosti na smanjenje koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije pesticida se uočava na slici 4.3.-5.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) je kod organskog supstrata. Prema tome, zakiseljavanjem sistema ne povećava se sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska.



Slika 4.3-6. Promena koncentracije hroma u rastvoru u zavisnosti od koncentracije trifluralina u sistemima sa: urbanim zemljištem, organskim supstratom i kvarcnim peskom pri nativnom pH (levo) i nakon acidifikacije (desno).

4.3.7 Uporedni pregled ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i antropogene organske materije u tečnoj fazi

Izloženi rezultati ispitivanja raspodele hroma između prirodne organske materije u čvrstoj fazi i antropogene organske materije u tečnoj fazi ukazuju da se joni teških metala i pesticidi lako sorbuju na zemljišnim mineralima gline i/ili zemljišnoj organskoj materiji, što je u skladu sa literaturnim navodima [KAMIYA i KAMEYAMA, 2001].

Sorpcija pesticida na mineralima gline ili organskoj materiji zavisi od sorpcionog mehanizma koji može biti uslovljen hidrofobnim interakcijama ili van der Waals-ovim silama, vodoničnim vezama, jonskom izmenom ili prenosom naelektrisanja. Njihova sorpcija i degradacija zavise i od prisutne rastvorene organske materije (DOM), koja čini 1% ukupnog organskog ugljenika u zemljištu i predstavlja najmobilniju zemljišnu organsku materiju ili humusnu frakciju [NIEROP *et al.*, 2002].

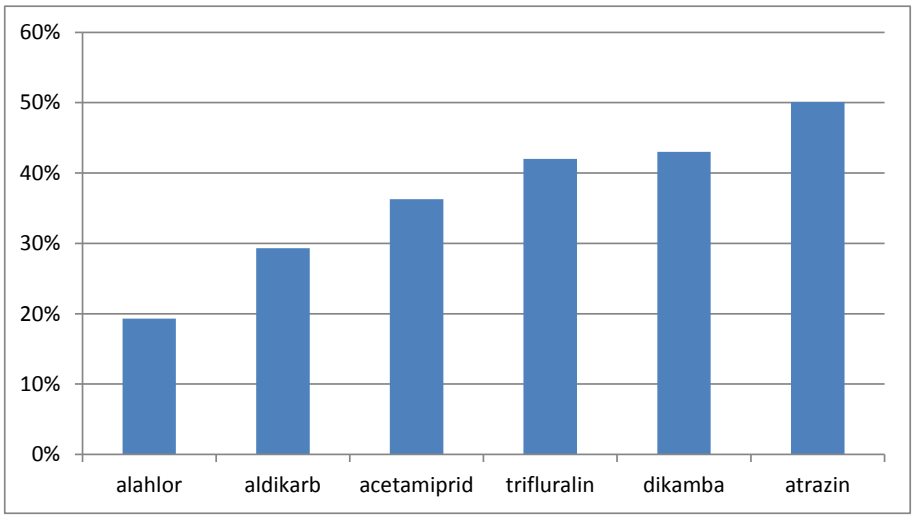
Iako struktura pesticida i njegove fizičko-hemijske karakteristike, kao što su hidrofobnost, isparljivost, napon pare, rastvorljivost u vodi, polarnost, kiselost i polarizabilnost pomažu u definisanju njegove sorpcije, prisustvo kompetitivnih ili nekompetitivnih faktora koji mogu biti prisutni u zemljištu, kao što su teški metali, mogu značajno izmeniti mobilnost i sorpciju i pesticida i teških metala [YANG *et al.*, 2006].

Rezultati su pokazali da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, odnosno da je sorpcija hroma najmanja na kvarcnom pesku, bez obzira koji je pesticid od šest ispitivanih pesticida prisutan u ternarnom sistemu.

Prilikom zakiseljavanja u svim ispitivanim sistemima dolazi do porasta sorpcije hroma na organskom supstratu, što se može objasniti uticajem raspodele rastvorne (fulvo kiseline) i nerastvorne organske faze (huminske kiseline) između čvrste i tečne faze sistema. Pri zakiseljavanju dolazi do taloženja huminske kiseline koja za sobom verovatno koprecipituje i hrom i kompleks hrom-pesticid, tako da koncentracija sorbovanog hroma raste.

Poređenjem sorpcije hroma iz sistema hrom-pesticid-kvarcni pesak (slika 4.3-6.) uočava se razlika u vezivanju hroma sa pesticidima, pri čemu je redosled uticaja pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi sledeći:

alahlor >	*aldikarb* >	*acetamiprid* >	*dikamba* ≈	*trifluralin* >	*atrazin*
O, N ili S-donor	O, N ili S-donor	N-donor	O-donor	O, N ili S-donor	N- donor



Slika 4.3-7. Sorpcija hroma (%) na čvrstoj fazi, u ternarnim sistemima hrom-pesticid-kvarcni pesak pri nativnom pH; c(Cr) = 2,6 mg/L, c(pest.) = 1,0 µmol/L, vreme sorpcije 4h.

Najveća promena koncentracije hroma nakon njegove sorpcije u odnosu na početnu koncentraciju (c/c_0) nakon acidifikacije je nađena kod organskog supstrata.

Zakiseljavanjem sistema ne menja se značajno sorpcija hroma jedino u slučaju kvarcnog peska. U ternarnim sistemima sa urbanim zemljištem i organskim supstratom, zapažena je značajna uslovljenost sorpcije hroma aciditetom tečne faze.

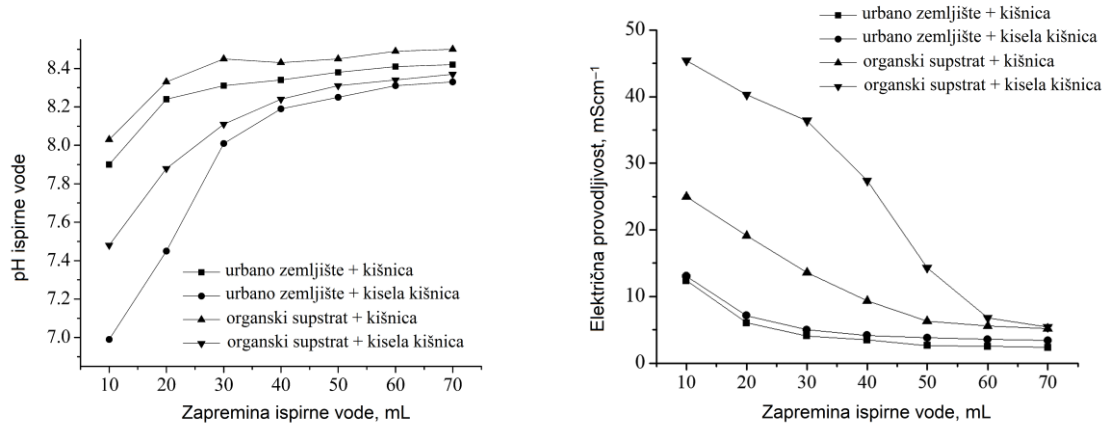
4.4 Rezultati geohemijskog modelovanja hemijskih vrsta hroma

Za definisanje procesa u tlu postoji više važnih karakteristika zemljišta, među kojima su pH, električna provodljivost, sadržaj organske materije, sadržaj mineralnih komponenti itd. Prema podacima u tabeli 4.4-1., urbano zemljište ispitivano u ovom radu spada u visoko alkalna zemljišta [JAKOVLJEVIĆ i PANTOVIĆ, 1991], a u odnosu na organsku materiju, spada u zemljišta sa malim sadržajem SOM (engl. *Soil Organic Matter*) (1,76%) [KONONOVA, 1966]. Organski supstrat za hortikulturu, odnosno kontejnerski uzgoj biljaka, pokazuje sličnu pH vrednost, ali se razlikuje po karakteristično visokom udelu organske materije (15,77%).

Tabela 4.4-1. Karakteristike zemljišta i kišnica korišćenih u radu.

Karakteristika	Urbano zemljište	Organski supstrat	Kišnica	Kisela kišnica
pH	8,60	8,30	5,70	3,20
Električna provodljivost ($\mu S\ cm^{-1}$)	113,0	677,0	26,7	270,0
Organska materija – SOM (%)	1,76	15,77	–	–

U toku izluživanja kišnicom i kiselom kišnicom, uočena je značajna promena pH i elektroprovodljivosti prvih prikupljenih frakcija drenažne (ispirne) vode na početku tretmana, dok u kasnijem toku tretmana ovi parametri u ispirnoj vodi konvergiraju sličnim vrednostima, odnosno razlika je manja (slika 4.4-1).



Slika 4.4-1. Promena pH (levo) i električne provodljivosti (desno) ispirne vode u zavisnosti od zapremine eluata, za različite tipove stacionarne i mobilne faze.

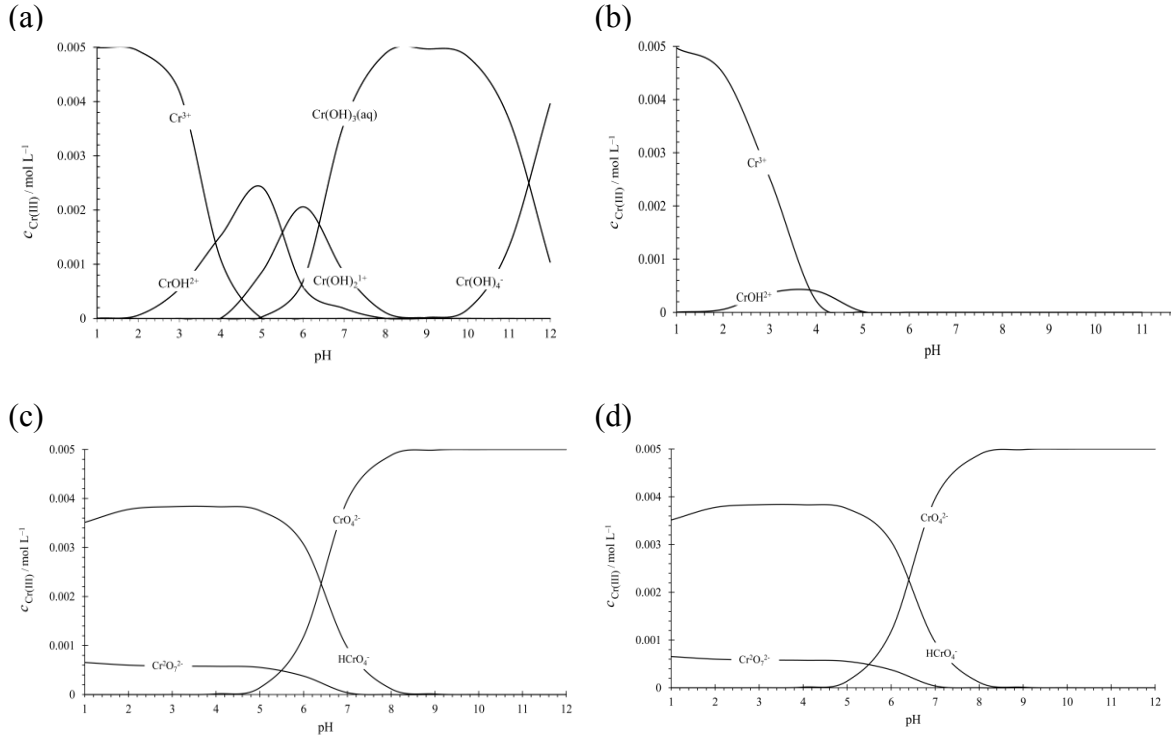
U prvih 70 cm^3 drenažne vode, izlužilo se samo oko 2% hroma(III) od ukupne količine hroma u hromom zagađenom zemljištu, odnosno organskom supstratu (tabela 4.4-2.). Dobijeni rezultati za zagađeno zemljište (ZZ) pokazuju da je više hroma izluženo kiselom kišnicom (2,01%) nego kišnicom koja nije kisela (1,44%). Kisela kiša, kao česta pojava u urbanizovanim i industrijskim okruženjima, dakle, može da određuje akumulaciju hroma(III) u profilima tla, pojačavajući vertikalnu migraciju Cr(III) u smeru donjih horizonata i ka podzemnim vodama, čineći tako verovatnijom ekspoziciju i biološku dostupnost hroma (III) biljnoj vegetaciji.

Tabela 4.4-2. Procentualni odnos izluženog Cr(III) i Cr(VI) prema ukupnom Cr(VI) nakon izluživanja zemljišta.

Vrsta zemljišta	Kišnica	Kisela kišnica
Hromom zagađeno urbano zemljište (ZZ)	1,44	2,01
Hromom zagađen organski supstrat (ZOS)	0,63	0,29

Ipak, u slučaju zemljišta bogatim organskom materijom (ZOS), povećanje kiselosti kišnice uslovljava smanjenu količinu izluženog hroma. Kiselom kišnicom je isprano samo 0,29% ukupnog hroma. Ovo smanjenje je verovatno posledica retencije jednog dela hroma u obliku nerastvornog $Cr(OH)_3$ koji je apsorbovan na površini zemljišnih čestica [LINDE, 2005]. Ovo je potvrđeno činjenicom da je samo mala količina hroma detektovana u ispirnoj vodi, kao i da su detektovane samo Cr(VI) vrste. Na drugoj strani, u slučaju manje kiselosti, više hroma je isprano (0,63%) u odnosu na proces sa kiselom kišnicom, jer u kiseloj sredini hrom se javlja samo u formi rastvornih Cr(III) hemijskih vrsta, nastalih redukcijom Cr(VI), što je pospešeno povećanim sadržajem organske materije i kiselošću sistema [LINDE, 2005].

Huminske supstance, koje čine glavnu frakciju zemljišne organske materije, predstavljaju važnu komponentu zemljišta koja kontroliše sorpciju teških metala. Njihovo svojstvo stvaranja stabilnih kompleksa sa polivalentnim katjonima se pripisuje povećanom sadržaju kiseoničnih funkcionalnih grupa kao što su karboksilne, fenolne, alkoholne, enolne i karbonilne strukture [ANDJELKOVIC *et al.*, 2006, 2010].



Slika 4.4-2. Koncentracija hemijskih vrsta hroma (mol/L) pri različitim pH vrednostima izračunate na osnovu Visual MINTEQ u prisustvu (a) Cr(III), (b) Cr(III) i organske materije, (c) Cr(VI), (d) Cr(VI) i organske materije, prema MINTEQ termodinamičkoj bazi i primenjenim eksperimentalnim uslovima.

Ukoliko je u sistemu prisutan i ovaj visokokompleksan ligand koji može da nagradi kompleks sa metalnim jonom, može doći do smanjenja sorpcije metala na zemljištu i povećanja njegove koncentracije u tečnoj fazi. Rezultati izneti u tabeli 4.4-2. pokazuju da humatni ligand u ZOS sorbuje više nego ZZ, usled stvaranja ternarnog zemljište-ligand-hrom kompleksa, koji pospešuju retenciju u zemljištu i dovode po smanjenja mobilnosti

[JAKOVLJEVIC *et al.*, 1997; JAMES i BARTLETT, 1983a,b, 1988]. Tako, u eksperimentu sa ZOS i kiselom kišnicom smanjenje sadržaja hroma u ispirnoj vodi je 10 puta u poređenju sa zemljištem sa niskim sadržajem organske materije (ZZ) (0,29% u poređenju sa 2,01%). Ovo potvrđuje uticaj organske materije na retenciju hroma u zemljištu.

Slika 4.4-2.(a) prikazuje specijacioni dijagram Cr(III) u funkciji pH koji je izračunat specijacionim software-om MINTEQ. Dominantne jonske vrste hroma(III) na pH < 4.5 su $Cr^{3+}_{(aq)}$ i $Cr(OH)^{2+}$. Pri pH > 4.5, uglavnom se gradi nerastvorni $Cr(OH)_3$. Rastvorne polihidroksilne jonske vrste kao što su $Cr(OH)_4^-$, $Cr_2(OH)_2^{4+}$, $Cr_3O_4(OH)_4^{3-}$, $Cr_4(OH)_4^{5+}$, $Cr_2O_2(OH)_4^{2-}$ i druge nastaju pri alkalnijim rastvorima.

Slika 4.4-2.(b) predstavlja specijacioni dijagram Cr(III) jona u funkciji pH u sistemu koji sadrži organsku materiju. Ovaj specijacioni dijagram dobijen je takođe pomoću *software*-a za proračun specijacije Visual MINTEQ ver. 2.5 Dominantne jonske vrste hroma(III) su $Cr^{3+}_{(aq)}$ i $Cr(OH)^{+2}$ za pH vrednosti niže od 4. Već na pH 4 koncentracija Cr^{3+} opada, a koncentracija $Cr(OH)^{2+}$ opada do pH 5. Dakle, kao što se sa dijagrama može videti, u baznoj sredini Cr(III) joni ne egzistiraju kao dominantna vrsta. Organska metrija zemljišta je definisana kao Stockholm Huminski Model (SHM). SHM je opredeljen u cilju dobijanja realističnije procene kompleksiranja metal-humata, u odnosu na procenu koja se postiže Gausovim modelom rastvorene organske materije u okviru MINTEQ. SHM model omogućava da se vezivanje metala za humat opiše i kao monodentatno i kao bidentatno koordinaciono vezivanje.

Imajući u vidu da huminske supstance mogu da postoje i u rastvornoj i u čvrstoj fazi, vezivanje katjona je razmatrano i za rastvorenu i za čvrstu huminsku supstancu. Ovaj model se bazira na sledećim paramterima: fulvo kiselina je rastvornoj fazi ($FA_{(aq)}$) i vrednost od 0,048 g/L predstavlja koncentraciju „aktivne“ rastvorene organske materije u sistemu. Huminske supstance u čvrstoj fazi su uzete kao mikstura sastavljena od huminskih i fulvo kiselina, a njihov relativan odnos je postavljen kao $FA_{(s)}$ 0,845 g/L i $HA_{(s)}$ 1,457 g/L. Uzeto je takođe u proračunu da su huminska kiselina u čvrstoj fazi i fulvo kiselina u čvrstoj fazi izmešane i da grade jednu komponentu.

Korišćenjem na ovaj način definisanog huminskog modela ravnoteža je simulirana pri čemu je uzeto da zemljišna supsenzija sadrži 2,5 g/L aktivnih huminskih supstanci, od kojih 62% je HA, a 38% FA. 48 mg/L FA je rastvoreno, što je jednako 24 mg/L rastvorenog organskog ugljenika (DOC), uz pretpostavku da je sav DOC sačinjen od FA. Zemljište je suspendovano sa SO_4–S 0,8 mg/L, Cl 0,5 mg/L, NO_3–N, 0,4 mg/L, NH_4–N 0,3 mg/L, Na 0,2 mg/L, K 0,03 mg/L i Mg 0,03 mg/L. Pri ovako definisanim uslovima, ukupna koncentracija K, Mg i Na prestavlja sumu rastvorenih i kompleksiranih jona.

Ravnotežne konstante hemijskih vrsta hroma i model parametara zemljiše FA i zemljišne HA, su definisane u Visual MINTEQ i prikazane su u Tabeli 4.4-3.

Tabela 4.4-3. Parametri modela i ravnotežne konstante definisane pomoću Visual MINTEQ za sistem Cr(III) – Cr(VI) – zemljišna organska materija.

Vrsta SOM	Proton disocujuće grupe (mmol/g)	Gustina vezivnih mesta (*sites*/nm^2)	ΔpK_A (jako kisele grupe)	ΔpK_B (slabo kisele grupe)
Zemljišna FA	7,02	1,2	3,48	2,49
Zemljišna HA	5,33	1,2	3,03	3,03
Ravnotežne konstante reakcija				
$Cr(OH)_2^+ + 2H^+ = Cr^{3+} + H_2O$				*log* K = 9,84
$2Cr(OH)_2^+ + 2H^+ = Cr_2(OH)_2^{4+} + 2H_2O$				*log* K = 14,68
$3Cr(OH)_2^+ + 2H^+ = Cr_3(OH)_4^{5+} + 2H_2O$				*log* K = 18,77
$CrO_4^{2-} + 2H^+ = H_2CrO_4$				*log* K = 6.31
$CrO_4^- + H^+ = HCrO_4^-$				*log* K = 6,51
$2CrO_4^{2-} + 2H^+ = Cr_2O_7^{2-} + H_2O$				*log* K = 14,56
$Cr(OH)_2^+ + H^+ = CrOH^{2+} + H_2O$				*log* K = 6,27

Rezultati dati u tabeli 4.4-4. pokazuju distribucija mase hroma između rastvorene, sorbovane i precipitovane faze izračunata na osnovu Visual MINTEQ za sisteme: (a) Cr(III) i organska materija i (b) Cr(VI) i organska materija. Pod definisanim uslovima izluživanja, 99% Cr(III) je sorbovano, što i potvrđuje eksperimentalno ustanovljen trend. Cr(III) nije detektovan u ispirnoj vodi organskog supstrata prilikom ispiranja kiselom kišnicom, usled njegove sorpcije na organskoj materiji (slika 4.4-2.b).

Tabela 4.4-4. Ravnotežna distribucija mase hroma između rastvorene, sorbovane i precipitovane faze izračunata na osnovu Visual MINTEQ modelovanja za sisteme: (a) Cr(III) i organska materija i (b) Cr(VI) i organska materija.

Sistem	Dominantna vrsta	Rastvoreno (%)	Sorbovano (%)	Precipitovano (%)
Cr(III) + organska materija	$Cr(OH)_2^{1+}$	0,966	99,034	0
Cr(VI) + organska materija	CrO_4^{2-}	100	0	0

Slika 4.4-2.(c) prikazuje specijaciju hroma kada zemljište ima nizak sadržaj organske materije. Dominantne Cr(VI) jonske vrste su $HCrO_4^-$ i $Cr_2O_7^{2-}$ pri pH < 6,5. Povećanjem pH, koncentracija $HCrO_4^-$ se smanjuje naglo i pri pH 8 se približava nultoj vrednosti. Pri pH > 6,5 prvenstveno je prisutna forma CrO_4^{2-}, dok u jako alkalnim uslovima Cr(VI) egzistira samo u obliku CrO_4^{2-} jona.

Očigledno je, prilikom poređenja sa slikom 4.4-2.(d), da prisustvo organske materije ne utiče na koncentraciju Cr(VI) u infiltracionoj vodi. Izluživanjem zemljišta sa niskim i visokim sadržajem organske materije, koncentracija Cr(VI) u formi $HCrO_4^-$, $Cr_2O_7^{2-}$ i CrO_4^{2-} jona, je praktično ista. Ovo je verovatno stoga što se ne dešavaju interakcije između negativno naelektrisanih jonskih vrsta i negativno naelektrisanih aktivnih funkcionalnih grupa organske materije, što dovodi do izluživanja hroma i njegove migracije do podzemnih voda. Rezultati u tabeli 4.4-4. pokazuju da se hrom nije sorbovao ili precipitovao, što je dovelo do zaključka da

se potpuno rastvorio i prešao i mobilne oblike koji u uslovima prirodnog okruženja mogu biti transportovani do slojeva podzmenih voda i bioapsorbovani.

Prikazani rezultati pokazuju da je vezivanje katjona za huminske supstance zemljišta važan proces. Ovaj proces vezivanja je dosta složen da bi se u potpunosti opisao i definisao hemijskim ravnotežnim modelima, jer huminske supstance predstavljaju heterogene ligande koje imaju veliki broj različitih vezivnih aktivnih mesta u svojoj strukturi. Takođe, do vezivanja nekog jona za humisnek supstance može doći i putem akumulacije kao kontra-jona.

Imajući u vidu da se huminske supstance sastoje iz različitih frakcija – huminske i fulvo kiseline, koje mogu biti zastupljene u različitom relativnom odnosu u huminskim supstancama, njihove vezujuće (sorpcione, kompleksirajuće) osobine mogu znatno da variraju. Pošto huminske supstance mogu da se jave i u rastvornoj i u nerastvornoj formi, važno je mogućnost vezivanja jona pratiti i u čvrstoj i u tečnoj fazi. Zato se često koriste različiti alternativni modeli za izračunavanje vezivanja za huminske supstance. Jedan od njih koristi Visual MINTEQ: Stockholm Humic Model. Ovaj model se može koristiti i za vodenu fazu i za praćenje raspodele u čvrsto-tečnom sistemu. Pri tome su primenjen neke pretpostavke za sistem sa huminskim supstancama u rastvornoj i nerastvornoj fazi:

a. Fulvo kiselne, ali ne i huminske kiseline, mogu biti rastvorne (DOC). Prilikom pokretanja *software*-a MINTEQ, odnosno definisanja početnih parametara, uneta je koncentracija za rastvorenu fulvo kiselinu, koja predstavlja koncentraciju „aktivne“ rastvorene organske materije u sistemu (DOC).
b. Huminske supstance u čvrstoj fazi predstavljaju smešu huminske i fulvo kiseline; prilikom korišćenja programa postoji mogućnost definisanja relativnog odnosa ovih frakcija u huminskim supstancama. Parametri koji definišu protonski kapacitet i konstante kompleksiranja mogu biti ponovo uneti i redefinisani. [GUSTAFSSON i VAN SCHAIK, 2003; GUSTAFSSON *et al.,* 2003].

Obim transporta hroma u zemljištu je u velikoj meri uslovljen mobilnošću kompleksa metala sa organskim ligandima, a ova mobilnost je određena sledećim faktorima:

- stepen zagađenja zemljišta hromom,
- valentnim stanjem hroma,
- sadržajem organske materije hroma, i
- kiselošću kišnice (pH ispirne vode).

5 ZAKLJUČAK

Evaluacijom rezultata ispitivanja interakcija koje ostvaruje Cr(III) sa O-, N- ili S-donorskim ligandima prirodnog i antropogenog porekla ESI-MS tehnikom i UV/VIS spektrofotometrijom, kao i rezultata ispitivanja distribucije hroma u model sistemima zemljišta, izvedene su sledeće konstatacije:

- Hrom(III) ostvaruje interakciju sa ispitivanim O, N ili S-donor ligandima.
- Utvrđeni intenzitet interakcije hroma(III) sa O, N i S-donor ligandima je u korelaciji sa kiselinsko-baznim i elektron-donorskim osobinama, geometrijskim i sternim karakteristikama, kao i brojem i pozicijom donor atoma ispitivanih jedininja.
- Intenzitet interakcija hroma sa O-donor ligandima sledi opadajući niz, što korelira sa brojem O-donor atoma u strukturi:
  limunska kiselina > ftalana kiselina > salicilna kiselina > dikmba > benzoeva kiselina
- Cr(III) ostvaruje interakciju sa ispitivanim N-donor ligandima u sledećem redosledu:
  2,2'-bipiridin > acetamprid > atrazin
- U grupi ispitivanih O, N ili S-donor liganada prirodnog i antropogenog porekla, jačina interakcije sa hromom sledi redosled:
  alahlor > aldikarb > N-aliltiourea > trifluralin
- U seriji svih dvanaest ispitivanih O, N i O, N ili S-donor liganada, redosled intenziteta interakcije hrom(III)-ligand je:
  limunska kiselina > ftalana kiselina >2,2'-bipiridin > salicilna kiselina > alahlor > aldikarb > acetamprid > dikmba > N-aliltiourea > trifluralin > atrazin >benzoeva kiselina
- Proučavanje mogućnosti interakcije hroma sa ispitivanim model supstancama huminskih supstanci: benzoeva, salicilna, ftalna, limunska kiselina, 2,2'-bipiridin i *N*-aliltiourea čime su obuhvaćeni O-, N- i S- donor atomi huminskih supstanci, predstavlja dobru aproksimirajuću metodu za definisanje interakcije hroma sa polifunkcionalnim, polidisperznim i polielektrolitnim ligandom, kakav je humatni makromolekul.
- UV/VIS spektrofotometrija i ESI MS kvantifikacija su pokazale veliku razliku u informativnosti definisanja interakcija hrom(III)-ligand, u korist ESI MS tehnike.
- ESI MS LOOP tehnika se može koristiti za kvantitativnu analizu sistema Cr(III)-ligand. ESI MS LOOP-hromatogram pokazuje zadovoljavajući oblik i integritet signala, za TIC i za traženi opseg *m/z* vrednosti.

- Poređenjem rezultata sorpcije hroma u ternarnom sistemu hrom-pesticid-kvarcni pesak uočava se razlika u vezivanju hroma sa pesticidima, pri čemu je redosled uticaja pesticida na povećanje koncentracije hroma u rastvornoj fazi sledeći:

alahlor >	*aldikarb* >	*acetamiprid* >	*dikamba* ≈	*trifluralin* >	*atrazin*
O, N ili S-donor	O, N ili S-donor	N-donor	O-donor	O, N ili S-donor	N-donor

- Rezultati ispitivanja interakcije hrom(III)-pesticid (antropogeni ligand) dobijeni ESI-MS tehnikom i ispitivanja distribucije pesticida u model sistemima zemljišta, su u dobroj saglasnosti, tako da je potvrđeno da stepen interakcija opada u sledećem nizu:
  alahlor > *aldikarb* > *acetamiprid* > *dikamba* > *trifluralin* > *atrazin*
- Rezultati sorpcije hroma u ternarnom sistemu hrom-pesticid-zemljište pokazuju da prisustvo minerala gline i/ili organske materije ima dominantan uticaj na sorpciju hroma. Prisutne funkcionalne grupe i aktivni površinski centri minerala gline i/ili organske materije čvrste faze imaju „nivelišući efekat“ na vezivanje pesticida i hroma, tako da se ne može uočiti razlika u stepenu interakcije hroma i pesticida.
- Raspodela hroma(III) u ternernim sistemima je uslovljena sadržajem organske materije, mineralne materije i kiselošću sistema, tako da je sorpcija hroma najveća na urbanom zemljištu, odnosno u sistemu koji sadrži kvarcni pesak sorpcija je najmanja. Pri nižim pH vrednostima najizraženiji su procesi sorpcije hroma na organskom supstratu i urbanom zemljištu.
- Prilikom izluživanja zemljišta, koncentracija hroma u infiltracionim vodama je uslovljena mobilnošću metalnih jona sa organskim ligandima, a ova mobilnost je određena sledećim faktorima: stepen zagađenja zemljišta hromom, valentnim stanjem hroma, sadržajem organske materije hroma i kiselošću kišnice (ispirne vode).
- Koncentracija hroma, u ispirnim vodama nakon izluživanja zemljišta, su veće pri infiltraciji kišnice i kisele kišnice kroz urbano zemljište, nego kroz organski supstrat za hortikulturu, odnosno kada je količina organske materije veća. Organska materija zemljišta vezuje za sebe jone metala gradeći sa njima stabilne komplekse i/ili vrši neki vid sorpcije.
- Geohemijsko modelovanje pomoću MINTEQ modela na osnovu termodinamičkih podataka i unetih parametara uslova eksperimenta je u saglasnosti sa specijacijom hroma u infiltriranim vodama dobijenom prilikom izluživanja hroma u zemljištu u koloni.
- MINTEQ geohemijski model se može koristiti u specijacionoj analizi hroma(III) u zemljištu, čime se bliže definišu procesi translokacije hroma u sisteme podzemnih voda, odakle hrom može biti dalje transportovan i dispergovan u biotičke i abiotičke sisteme u prirodnom okruženju.

6 LITERATURA

ABDOUL CARIME H. (1998) Chorand crown ether macrocycle alkali metal cation 1:1 complexes—'Host guest' effect investigated directly by mass spectrometry. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **94**:2407–2410

ACKERMAN F. (2007) *The Economics of Atrazine*. International Journal of Occupational and Environmental Health.

ADRIANO D.C.: *Trace Elements in the Terrestrial Environment*, Springer – Verlage, New York Inc., 1986

AGNES G.R., STEWART I.I., HORLICK G. (1994) Elemental speciation measurements with electrospray mass spectrometry: An assessment. *Appl. Spectrosc.* **48**:1347–1359

AHMED F.E. *et al.* (1981) Alachlor: six month study in the dog. St Louis, MO, *Monsanto Agricultural Company*, (study submitted to the US Environmental Protection Agency)

ALLEN H.E., HUANG C.P., BAILEY G.W., BOWERS A.R.: *Metal Speciation and Contamination of Soil*. Lewis Publishers, Ann Arbor, 1995, Michigan: 7 – 9

ANDJELKOVIC T., NIKOLIC R., BOJIC A., ANDJELKOVIC D., NIKOLIC G. (2010) Binding of cadmium to soil humic acid as a function of carboxyl group content. *Maced. J. Chem. Chem. Eng.*, **29**:215

ANDJELKOVIC T., PEROVIC J., PURENOVIC M., BLAGOJEVIC S., NIKOLIC R., ANDJELKOVIC D., BOJIC A. (2006) Spectroscopic and Potentiometric Studies on Derivatized Natural Humic Acid. *Anal. Sci.*, **22**:1553

APPLEBY A.P., MÜLLER F., CARPY S. (2002) "Weed Control" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim.

ARNOLD P.A., MÜLLER F., CARPY S. "Weed Control" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* 2002, Wiley-VCH, Weinheim

ARUNACHALAM T., BHAKYARAJ R., SASI A.K. (2009) Synthesis, Characterization and Biological Activity of Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} and Cu^{2+} Complexes of Benzoic Acid Ligand, *E-Journal of Chemistry*,**6(3):**743–746

ATKINS P.W, *Physikalische Chemie*, VCH, Weinheim (1987)

AUGUSTIJN-BECKERS P.W.M, HORNSBY A.G., WAUCHOPE R.D. (1994) The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. II. Additional compounds., *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **137**:1–82

AYYAMPERUMAL T., JONATHAN M.P., SRINIVASALU S. *et al.* (2006) Assessment of acid leachable trace metals in sediment cores from River Uppanar, Cuddalor, southeast coast of India. *Environ. Pollut.* **143**:34–45.

BAI Y., SONG F.R., CHEN M.L., XING J.P., LIU Z.Q., LIU S.Y. (2004) Characterization of the rutin metal complex by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Sci.* **20**:1147–1151

BAILEY G.W., WHITE J.L. (1964) Review od adsorption and desorption of organic pesticides by soil colloids, with implications concerning pesticide bioactivity. *J. Agric. Food Chem.*, **12**:324–332

BAILEY G.W., WHITE J.L. (1970) Factors influencing adsorption, desorption and movement of pesticides in soils. *Res. Rev.*, **32**:29–32

BARBIER F., DUC G. PETIT-RAMEL M. (2000) Adsorption of lead and cadmium ions from solution to the montmorillonite / water interface. *Colloids and Surfaces*, **166**:153–159

BARDSLEY C.E., SAVAGE K.E., WALKER J.C. (1968) Trifluralin behaviour in soil. II. Volatilization as influences by concentration, time, soil moisture vapors in air. *Agronomy J.*, **60**:89–92

BARON D., HERING J.G. (1998) Analysis of metal EDTA complexes by electrospray mass spectrometry. *J. Environ. Qual.* **27**:844–850

BARRIE L.A., HOFF R.M. (1985) Five years of air chemistry observations in the Canadian Arctic. *Atmos. Environ*. **19(12)**:1995-2010.

BARTLETT R.J. (1991) Chromium cycling in soils and water: Links, gaps, and methods. *Environmental Health Perspectives*, Vol. **92**,17–24

BARTLETT R.J., KIMBLE J.M. (1976 a) Behavior of chromium in soils: I. Trivalent forms. *Journal of Environmental Quality*, Vol. **5**, No. **4**. p 379–383

BARTLETT R.J., KIMBLE J.M. (1976 b) Behavior of chromium in soils: II. Hexavalent forms. *Journal of Environmental Quality*, Vol. **5**, No. **4**. p 383–386

BARTOK M., SZABO P.T., BARTOK T., SZOLLOSI G., BALAZSIK K. (2001) Identification of new types of aluminium compounds by electrospray ionization mass spectrometry: oxonium cations. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **15**:65–69

BECHTOLD T., BURTSCHER E., TURCANU A. (2002) Ca^{2+} – Fe^{3+} – D-gluconate complexes in alkaline solution. Complex stabilities and electrochemical properties. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2683–2688

BECK J.L., COLGRAVE M.L., RALPH S.F., SHEIL M.M. (2001) Electrospray ionization mass spectrometry of oligonucleotide complexes with drugs, metals, and proteins. *Mass Spectrom. Rev.* **20**:61–87

BEDARD C., KNOWLES R. (1989) Phsiology, Biochemistry and Specific Inhibitors of CH_4, NH_4^+ and CO Oxidation by Methanotrophs and Nitrifiers, *Microbiol. Rev.*, **53**:68–84

BEHRENS M.R., MUTLU N., CHAKRABORTY S., DUMITRU, R., JIANG W.Z., LAVALLEE B.J., HERMAN P.L., CLEMENTE T.E. *et al.* (2007) Dicamba Resistance: Enlarging and Preserving Biotechnology – Based Weed Management Strategies. *Science*, **316** (5828): 1185–8

BENYAHYA L., GARNIER M. (1999) Effect of salicylic acid upon trace-metal sorption (Cd^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+} and Mn^{2+}) onto alumina, silica and kaolinite as a function of pH. *Environmental Science and Technology*, **33**:1398–1407

BERTANI R., BOMBI G.G., BORTOLINI O., CONTE V., DI MARCO V.B., TAPPARO A. (1999) Complex formation between aluminium(III) and 2-hydroxy nicotinic acid: An electrospray mass spectrometric investigation. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **13**:1878–1881

BERTHON G. (1996) Chemical speciation studies in relation to aluminium metabolism and toxicity. *Coord. Chem. Rev.* **149**:241–280

BLANC S., YAKIREVITCH P., LEIZE E., MEYER M., LIBMAN J., VANDORSSELAER A., ALBRECHTGARY A.M., SHANZER A. (1997) Allosteric effects in polynuclear triple stranded ferric complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **119**:4934–4944

BLANDA M.T., FARMER D.B., BRODBELT J.S., GOOLSBY B.J. (2000) Synthesis and alkali metal ion binding properties of two rigid sterochemical isomers of calix[6]arene *bis* crown 4. *J. Am. Chem. Soc.* **122**:1486–1491

BOCHMANN M., WILKINSON G., YOUNG G.B., HURSTHOUSE M.B., ABDUL MALIK K.M. (1980) *J. Chem. Soc.*, *Dalton Trans.*, p. 1863

BOESTEN J.J.T.I., VAN DER PAS L.J.T., SMELT J.H. (1989) Field test of a mathematical model for nonequilibrium transport of pesticides in soil. *Pestic. Sci.*, **25**:187–203

BOIS L., RIBES A., PETIT-RAMEL M., GRENIER-LOUSTALOT M.F. (2003) Experimental Study of Chromium adsorption on minerals in the presence of phthalic and humic acids. *Chemistry and Ecology*, Vol. **19** (4), pp 263–273

BOLSHAKOV, G.V., VATAGO, V.S., AND AGREST, F.B.: *Ultraviolet absorption spectra of heteroorganic compounds*, Chemistry, Leningrad Department, Leningrad, 1969

BOMBI G.G., CORAIN B., SHEIKH OSMAN A.A., VALLE G.C. (1990) The speciation of aluminum in aqueous solutions of aluminum carboxylates. Part I. X-Ray molecular structure of $Al[OC(O)CH(OH)CH_3]_3$. *Inorg. Chim. Acta* **171**:79–83

BOND A.M., COLTON R., D'AGOSTINO A., HARVEY J., TRAEGER J.C. (1993) Electrospray mass spectrometric study of the nature and lability of cationic complexes generated by the reaction of solutions of neutral iron(III), cobalt(III), nickel(II) and copper(II) dithiocarbamates with nitrosonium tetrafluoroborate. *Inorg. Chem.* **32**:3952–3956

BOND A.M., COLTON R., TRAEGER J.C., HARVEY J. (1995) Phosphine derivatives of mercury and cadmium dithiolates: An electrospray mass spectrometric study. *Inorg. Chim. Acta* **228**:193–197

BONNINGTON L.S., COLL R.K., GRAY E.J., FLETT J.I., HENDERSON W. (1999) Electrospray mass spectrometric investigation of the relative ligand properties of EPh_3 ligands (E¼P, As, Sb or Bi) towards Ag^+ and Cu^+. *Inorg. Chim. Acta* **290**:213–221

BOUKHALFA H., CRUMBLISS A.L. (2000) Multiple path dissociation mechanism for mono- and dinuclear *tris*(hydroxamato)iron(III) complexes with dihydroxamic acid ligands in aqueous solution. *Inorg. Chem.* **39**:4318–4331

BRADLEY D.C., MEHROTRA R.C., GAUR D.P.: *Metal Alkoxides*, Academic Press, London, 1978

BREAUX E.J. *et al.* (1986) Flurazole mode of action studies. *Plant physiology*, Suppl. No. 690

BRINDLEY G.D., FOX O.D., BEER P.D. (2000) Ferrocene appended and bridged calixarene ligands for the electrochemical sensing of trivalent lanthanide ions. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 4354–4359

BRODBELT J.S., KEMPEN E., REYZER M. (1999) Determination of binding selectivities by electrospray ionization mass spectrometry. *Struct. Chem.* **10**:213–220

BRÜMMER, G.W., GERTH, J., TILLER, K.G. (1988) Reaction kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite. I. Adsorption and diffusion of metals. *J. Soil Sci.*, **39**:37–52

BURNS T.D., SPENCE T.G., MOONEY M.A., POSEY L.A. (1996) Electrospray ionization of divalent transition metal ion bipyridine complexes: Spectroscopic evidence for preparation of solution analogs in the gas phase. *Chem. Phys. Lett.* **258**:669–679

BURROWS D.: *Chromium: Metabolism and Toxicity*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1983

CAIAZZA D., LINCOLN S.F., WARD A.D. (2004) A preparative study of some coronands and their complexation of silver(I), zinc(II), cadmium(II) and lead(II). *Inorg. Chim. Acta* **357**:716–722

CAMPANELLA L. in: *Element Speciation in Bioinorganic Chemistry*, S. Caroli Ed., Wiley Interscience, New York, 1996, p. 419

CARB (1990) Procedure for the analysis of hexavalent chromium at ambient atmospheric levels by ionchromatography. El Monte, CA: *California Air Resources Board*.

CARERI M., DALLAVALLE F., TEGONI M., ZAGNONI I. (2003b) Pentacopper(II) 12-metallacrown 4 complexes with alpha- and beta aminohydroxamic acids in aqueous solution: A reinvestigation. *J. Inorg. Biochem.* **93**:174–180

CARERI M., DALLAVALLE F., TEGONI M., ZAGNONI I. (2003b) Pentacopper(II) 12-metallacrown 4 complexes with alpha- and beta aminohydroxamic acids in aqueous solution: A reinvestigation. *J. Inorg. Biochem.* **93**:174–180

CARERI M., ELVIRI L., LANFRANCHI M., MARCHIO L., MORA C., PELLINGHELLI M.A. (2003a) Versatile ligand behavior of hydrotris(4-ethyl 3-methyl 5-thioxo 1,2,4-triazolyl)borate. Syntheses and crystal structures of Cu(I) and Bi(III) complexes. Inorg. Chem. **42**:2109–2114

CARERI M., ELVIRI L., LANFRANCHI M., MARCHIO L., MORA C., PELLINGHELLI M.A. (2003a) Versatile ligand behavior of hydrotris(4-ethyl 3-methyl 5-thioxo 1,2,4-triazolyl)borate. Syntheses and crystal structures of Cu(I) and Bi(III) complexes. *Inorg. Chem.* **42**:2109–2114

CAUDLE M.T., STEVENS R.D., CRUMBLISS A.L. (1994a) Electrospray mass spectrometric study of 1:1 ferric dihydroxamates. *Inorg. Chem.* **33**:843–844

CAUDLE M.T., STEVENS R.D., CRUMBLISS A.L. (1994b) Amonomer to dimer shift in a series of 1:1 ferric dihydroxamates probed by electrospray mass spectrometry. *Inorg. Chem.* **33**:6111–6115

CERCHIARO G., SABOYA P.L., FERREIRA A.M.D., TOMAZELA D.M., EBERLIN M.N. (2004) Keto enolic equilibria of an isatin Schiff base copper(II) complex and its reactivity toward carbohydrate oxidation. *Trans. Met. Chem.* **29**:495–504

CHAPON D., DELANGLE P., LEBRUN C. (2002) Lanthanide complexes of 1,3,5-triamino 1,3,5-trideoxy-*cis*-inositol: Evidence for heterotrinuclear species in aqueous solution. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 68–74

CHAPON D., HUSSON C., DELANGLE P., LEBRUN C., VOTTERO P.J.A. (2001) Solution properties of trivalent lanthanide trinuclear complexes with ligand 1,3,5-triamino-1,3,5-trideoxy-*cis*-inositol. J. Alloys Comp. **323**:128–132

CHASSAIGNE H., VACCHINA V., LOBINSKI R. (2000) Elemental speciation analysis in biochemistry by electrospray mass spectrometry. *Trac. Trends Anal. Chem.* **19**:300–313

CHEN W., HERTL P., CHEN S., TIERNEY D. (2002) A pesticide surface water mobility index and its relationship with concentrations in agricultural drainage watersheds. *Environ. Toxicol. J. Chem.*, **21**:298–308

CHENG Z.L., SIU K.W.M., GUEVREMONT R., BERMAN S.S. (1992) Electrospray mass spectrometry: A study on some aqueous solutions of metal salts. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **3**:281–288

CHIOU C.T., FREED V.H., SCHMEDDING D.W., KOHNERT R.L. (1977) Partition coefficient and bioaccumulation of selected organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.*, **11**:475–478

CHIOU C.T., KILE D.E. (1998) Deviations from sorption linearity on soils of polar and nonpolar organic compounds at low relative concentrations. *Environ. Sci. Technol.*, **32**:338–343

CLEVELAND C.B. (1996) Mobility assesment of agrichemicals: current laboratory methodology and suggestions for future directions. *Weed Technol.*, **10**:157–168

COHEN S.Z., EIDEN C., LORBER M.N. (1986) Monitoring ground water for pesticides, in *Evaluation of pesticides in groundwater*, ed by Garner W.Y., Honeycutt R.C., Nigg H.N., ACS Symphosium Series, No. 315, American Chemical Society, Washington DC, pp 170 – 196

COLTON R., D'AGOSTINO A., TRAEGER J.C. (1995) Electrospray mass spectrometry applied to inorganic and organometallic chemistry. *Mass Spectrom. Rev.* **14**:79–106

COLTON R., D'AGOSTINO A., TRAEGER J.C., KLAUI W. (1995) A negative ion electrospray mass spectrometric study of complexes in solution formed between uninegative tripodal oxygen or nitrogen ligands and alkali metal ions and alkali metal halides. *Inorg. Chim. Acta* **233**:51–57

COLTON R., HARRISON K.L., MAH Y.A., TRAEGER J.C. (1995a) Cationic phosphine complexes of gold(I): An electrospray mass spectrometric study. *Inorg. Chim. Acta* **231**:65–71

COLTON R., JAMES B.D., POTTER I.D., TRAEGER J.C. (1993) Copper(I) tetrahydroborate derivatives containing phosphine and phenanthroline ligands: An electrospray mass spectrometric study of species in solution. Inorg. Chem. **32**:2626–2629

COLTON R., MITCHELL S., TRAEGER J.C. (1995b) Interactions of some crown ethers, cyclam and its tetrathia analogue with alkali, alkali earth and other metal ions: An electrospray mass spectrometric study. *Inorg. Chim. Acta* **231**:87–93

COMBARIZA M.Y., VACHET R.W. (2002) Gas phase ion molecule reactions of transition metal complexes: The effect of different coordination spheres on complex reactivity. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **13**:813–825

COMBARIZA M.Y., VACHET R.W. (2003) The utility of ion molecule reactions in a quadrupole ion trap mass spectrometer for analyzing metal complex coordination structure. *Anal. Chim. Acta* **496**:233–248

CORWIN D.L., FARMER W.J. (1984) Non-single-valued adsorption-desorption of bromacil and diquat by freshwater sediments. *Envir. Sci. Technol.*, **18**:507–515

COTTON A.F., WILKINSON G., MURILLO C.A., BOCHMANN M. (1999) *Advanced inorganic chemistry*, New York: John Wiley & Sons. 1356 p

COVEY T. (1996) Analytical characteristics of the electrospray ionization process, in Biochemical and Biotechnological Applications of Electrospray Ionization Mass Spectrometry, pp. 21–59 (ed. A.P. Snyder), ACS Symposium Series 619, *American Chemical Society*, Washington, DC

CRANSTON H.J., KERN A.J., JOSETTE H.L., ERICA M.K., BRUCE M.D., WILLIAM D.E. (2001) Dicamba resistance in kochia. *Weed Science*, **49** (2):164

CRICHTON R.R: *Biological Inorganic Chemistry – An Introduction*, Elsevier, Amsterdam, 2008

DALLAVALLE F., TEGONI M. (2001) Speciation and structure of copper(II) complexes with (S)-phenylalanine and (S)-tryptophanhydroxamic acids in methanol/water solution: A combined potentiometric, spectrophotometric, CD and ESI MS study. *Polyhedron* **20**:2697–2704

DAVIS B.D., BRODBELT J.S. (2004) Determination of the glycosylation site of flavonoid monoglucosides by metal complexation and tandem mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **15**:1287–1299

DAYDE S., BRUMASW., CHAMPMARTIN D., RUBINI P., BERTHON G. (2003) Aluminum speciation studies in biological fluids – Part 9. A quantitative investigation of aluminum(III) glutamate complex equilibria and their potential implications for aluminum metabolism and toxicity. *J. Inorg. Biochem.* **97**:104–117

DEAN J.A.: *Lange's Handbook of Chemistry*, fourteenth Edition McGraw Hill, New York, 1992

DEERY M.J., FERNANDEZ T., HOWARTH O.W., JENNINGS K.R. (1998) Aqueous coordination chemistry using electrospray mass spectrometry of anions: Metal(VI) monosaccharide complexes (M = W or Mo). *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2177–2183

DEKKERS W.A. (1978) Computed effect of decomposition on the partition coefficient determined by the bach equilibration method. *Weed Res.*, **18**:341–345

DENG B., STONE A. (1996) Surface-catalyzed chromium (VI) reduction: Reactivity comparisons of different organic reductants and different oxide surfaces. *Environmental Science and Technology*, **30:**2484–2494.

DI MARCO V., KILYEN M., JAKUSCH T., FÓRGO P., DOMBI G., KISS T. (2004) Complexation properties of ethylenediaminetetramethylenephosphonic acid (EDTMP) with Al(III) and V(IV)O. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2524–2532

DI MARCO V.B., BOMBI G.G., TUBARO M., TRALDI P. (2003) Electrospray ionization mass spectrometry in studies of aluminium(III)-ligand solution equilibria. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **17**:2039–2046

DI MARCO V.B., TAPPARO A., BERTANI R., BOMBI G.G. (1999) Complex formation between aluminium(III) and two pyridine derivatives: 2-Hydroxynicotinic and 3-hydroxypicolinic acid. *Ann. Chim.* (Rome) **89**:535–546

DOLE M., MACK L.L., HINES R.L., MOBLEY R.C., FERGUSON L.D., ALICE M.B. (1968) Gas Phase Macroions. *J. Chem. Phys.*, **49**:2240

DRAGUN J.: *The Soil Chemistry of Hazardous Materials*. Hazardous Materials Control Research Institute. Silver Spring, Maryland., 1988, page 75–195

EPA (1983a) Chromium. Method 218.2 (atomic absorption, furnace technique). Methods for chemical analysis of water and wastes. Cincinnati, OH: U.S. *Environmental Protection Agency*.

EPA (1983b) Chromium. Method 218.4 (atomic absorption, chelation-extraction). Methods for chemical analysis of water and wastes. Cincinnati, OH: U.S. *Environmental Protection Agency*

EPA (1983c) Chromium, dissolved hexavalent (atomic absorption, furnace technique). Method 218.5. Methods for chemical analysis of water and wastes. Cincinnati, OH: U.S. *Environmental Protection Agency*

EPA (1986a) Chromium (atomic absorption, furnace technique): Method: 7191. Test methods for evaluating solid waste. Vol. 1A: Laboratory manual physical/chemical methods 3rd ed. SW-846. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. *Environmental Protection Agency*

EPA (1986b) Chromium (atomic absorption, direct aspiration): Method: 7190. Test methods for evaluating solid waste. Vol. 1A: Laboratory manual physical/chemical methods 3rd ed. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. Environmental Protection Agency. SW-846.

EPA (1986c) Chromium, hexavalent (coprecipitation): Method: 7195. Test methods for evaluating solid waste. Vol. 1A: Laboratory manual physical/chemical methods 3rd ed. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. *Environmental Protection Agency*, SW-846.

EPA (1986d) Chromium, hexavalent (chelation/extraction): Method: 7197. Test methods for evaluating solid waste. Vol. 1A: Laboratory manual physical/chemical methods 3rd ed. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. *Environmental Protection Agency*, SW-846.

EPA (1986e) Chromium, hexavalent (differential pulse polarography): Method: 7198. Test methods for evaluating solid waste. Vol. 1A: Laboratory manual physical/chemical methods 3rd ed. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, U.S. *Environmental Protection Agency*, SW-846.

EPA (1996a) Method 7199: Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater and industrial wastewater effluents by ion chromatography. In: Test methods for evaluating solid waste. 3rd ed. Washington, DC: U.S. *Environmental Protection Agency*, Office of Solid Waste and Emergency

EPA (1996b) Method 6010B: Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. In: Test methods for evaluating solid waste. 3rd ed. Washington, DC: U.S. *Environmental Protection Agency*, Office of Solid Waste and Emergency Response, SW-846

EPA (2000) In Situ Treatment of soil and groundwater contaminated with chromium – Technical Resource Guide, USA EPA 625/R-00/004

FANG C.H. (1977) Effects of soils on the degradation of herbicide alachlor under the light. *Journal of the Chinese Agricultural Chemists Society*, **15**:53–59

FARMER W.J., IGUE K., SPENCER W.F., MARTIN J.P. (1972) Volatility of organochlorine insecticides from soil: I. Effect of concentration, temperature, air flow rate, and vapor preasure. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **36**:443–446

FATIN ROUGE N., BLANC S., LEIZE E., VAN DORSSELAER A., BARET P., PIERRE J.L., ALBRECHT GARY A.M. (2000) Self assembly of a diferrous triple stranded helicate with *bis*(2,2'-bipyridine) ligands: Thermodynamic and kinetic intermediates. *Inorg. Chem.* **39**:5771–5778

FAWCETT R.S. (2008) *Twenty Years of University Corn Yield Data: With and Without Atrazine*. North Central Weed Science Society.

FENN J.B., MANN M., MENG C. K. (1989) Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science*, **246**:64

FENN J.B., ROSELL J., NOHMI T. *et al.* (1996) Electrospray ion formation: desorption versus desertion, in *Biochemical and Biotechnological Applications of Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, pp. 60–80 (ed. A.P. Snyder), ACS Symposium Series 619, *American Chemical Society*, Washington, DC

FILIPOVIĆ I., LIPANOVIĆ S.: *Opća i neorganska kemija*, VI izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 1987

FISHBEIN L. (1984) Overview of analysis of carcinogenic and/or mutagenic metals in biological and environmental samples: I. Arsenic, beryllium, cadmium, chromium and selenium. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **17**:113-170.

FOERST D.L., MOYE H.A. (1985) Aldicarb and related compounds in drinking water via direct aqueous injection HPLC (high performance liquid chromatography) with post column derivatization. US *Environmental Protection Agency*, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH (NTIS PB85-173144).

FRANCIOSO O., BAK E., ROSSI N., SEQUI P. (1992) Sorption of atrazine and trifluralin in relation to the physio-chemical characteristics of selected soils. *Sci. Total Environ.*, **123**/**124**: p.503–512

FRANK R. *et al.* (1987) Survey of farm wells for pesticide residues, southern Ontario, Canada, 1981–1982, 1984. A*rchives of environmental contamination and toxicology*, **16**:1–8

FREI R., GAUCHER C., POULTON S.W., CANFIELD D. E. (2009) "Fluctuations in Precambrian atmospheric oxygenation recorded by chromium isotopes". *Nature* **461** (7261): 250–3

FUNARI E. *et al.* (1989) Herbicides in waters intended for human consumption in Italy. *Acqua aria*, **9**:1011–1024

FYLES T.M., ZENG B. (1998) On the assessment of complex cation crown ether equilibria by electrospray mass spectrometry. *Supramol. Chem.* **10**:143–153

GABRIEL C., MATEESCU C., SALIFOGLOU A. (2006) Synthesis, structural and spectroscopic characterization of a new Cr(III)-citrate complex. Relevance to chromium toxicity. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, Volume XII, No. **1** (2006), 265–268

GALL L.N., SMIRNOV I.V., CHUPRIKOV A.V., SHADRIN A.Y., SHKUROV V.A. (1992) Study of complex compounds in solutions by electrospray mass spectrometric method. *Dokl. Akad. Nauk.* (Russian) **325**:514–517

GAMPP M., MAEDER M., MAYER C.J., ZUBERBÜHLER A. (1985) Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic data – I: Mathematical considerations. *Talanta* **32(2)**:95–101.

GAMPP M., MAEDER M., MAYER C.J., ZUBERBÜHLER A. (1985) Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic data – II-1: Specfit: two user-friendly programs in basic and standard fortran 77, *Talanta* (1995) **32(4)**:251–264

GATLIN C.L., TURECEK F. (1997) Electrospray ionization of inorganic and organometallic complexes. *Electrospray Ion Mass Spectrom* 527–570

GATLIN C.L., TURECEK F. (2000) Quantitative electrospray ionization mass spectrometric studies of ternary complexes of amino acids with Cu^{2+} and phenanthroline. *J. Mass Spectrom.* **35**:172–177

GATLIN C.L., TURECEK F.,VAISAR T. (1995) Copper(II) amino acid complexes in the gas phase. *J. Am. Chem. Soc.* **117**:3637–3638

GATLIN C.L.,TURECEK F.,VAISAR T. (1994) Acidity determination in droplets formed by electrospraying methanol water solutions. *Anal. Chem.* **66**:712–718

GIANELLI L., AMENDOLA V., FABBRIZZI L., PALLAVICINI P., MELLERIO G.G. (2001) Investigation of reduction of Cu(II) complexes in positive ion mode electrospray mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **15**:2347–2353

GINESTET P., AUDIC J.M., URBAIN V., BLOCK J.C. (1998) Estimation of Nitrifying Bacterial Activities by Measuring Oxygen Uptake in the Presence of the Metabolic Inhibitors Allylthiourea and Azide. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(6):2266–2268

GÖLLER A. GRUMMT U.W. (2000) Torsional barriers in biphenyl, 2,2'-bipyridine and 2-phenylpyridine. *Chem. Phys. Lett.* **321**:399–405

GOMEZ A., TANG K. (1994) Charge and fission of droplets in electrostatic sprays, *Phys. Fluids*, **6**:404

GOOLSBY B.J, BRODBELT J.S, ADOU E., BLANDA M. (1999) Determination of alkali metal ion binding selectivities of calixarenes by matrix assisted laser desorption ionization and electrospray ionization in a quadrupole ion trap. *Int. J. Mass Spectrom.* **193**:197–204

GOOLSBY B.J., BRODBELT J.S., ADOU E., BLANDA M. (1999) Determination of alkali metal ion binding selectivities of calixarenes by matrix assisted laser desorption ionization and electrospray ionization in a quadrupole ion trap. *Int. J. Mass Spectrom.* **193**:197–204

GORING C.A.I. (1967) Physical aspects of soil in relation to the action of soil fungicides. *Annu. Rev. Phytopatol.*, **5**:285

GOSS D.W. (1992) Screening procedure for soils and pesticides for potential water quality impacts. *Weed Technol.*, **6**:701–708

GREEN R.E., KARICKHOFF S.W. (1990) Sorption estimates for modeling in *Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modeling*, ed. by Cheng H.H., SSSA Book Series, No. 2, Soil Scence Society of America, Inc. Madison, WI. pp 79–102

GREENWOOD N., EARNSHAW A.: *Chemistry of the Elements*, Elsevier, Second edition, 1997

GRIFFIN R.A., AU A.K., FROST R.R. (1977) Effect of pH on Adsorption of Chromium from Landfill-Leachate by Clay Minerals. *Journal of Environmental Science Health*. Part A, Vol. **12**, No. **8.** p 431–449

GROENEWOLD G.S., VAN STIPDONK M.J., GRESHAM G.L., CHIEN W., BULLEIGH K., HOWARD A. (2004) Collision induced dissociation tandem mass spectrometry of desferrioxamine siderophore complexes from electrospray ionization of UO_2^{2+}, Fe^{3+} and Ca^{2+} solutions. *J. Mass Spectrom.* **39**:752–761

GROVER R. (1975) Adorption and desorption of urea herbicides on soils. *Canad. J. Soil. Sci.*, **55**:127–135

GROVER R., WAITE D.T., CESSNA A.J., NICHOLAICHUK W., IRVIN D.G. (1997) Magnitude and persistence of herbicide residues in farm dugouts and ponds in the Canadian prairies. *Environmental toxicology and chemistry*, **16**(4):638–643

GROVER, R., WOLT J.D., CESSNA A.J., SCHIEFER H.B. (1997) Environmental fate of trifluralin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **153**: 65–90.

GUODONG Y. (2009) Copper, zinc, and nickel in soil solution affected by biosolids amendment and soil management. *Australian Journal of Soil Research*

GUSTAFSON D.I. (1989) Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environ. Toxicol. Chem.*, **8**:339–357

GUSTAFSSON J.P. (2001) Modeling the Acid–Base Properties and Metal Complexation of Humic Substances with the Stockholm Humic Model. *J. Colloid Interface Sci.*, **244**:102

GUSTAFSSON J.P., KLEJA D.B. (2005) Modeling salt-dependent proton binding by organic soils with the NICA-Donnan and Stockholm Humic models. *Environ. Sci. Technol.*, **39**:5372–5377

GUSTAFSSON J.P., SCHAIK J.W. J.V. (2003) Cation binding in a mor layer: batch experiments and modelling. *European Journal of Soil Science*, **54**:295–310

HANCE R.J. (1965 a) Observations on the relationships between the adsorption of diuron and the nature of the adsorbent. *Weed Res.*, **5**:108–114

HANCE R.J. (1965 b) The adsorption of urea and some of its derivatives by a variety of soils. *Weed Res.*, **5**:98–107

HAO C.Y., MARCH R.E. (2001) Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of salt cluster ions: Part 2—Salts of polyatomic acid groups and of multivalent metals. *J. Mass. Spectrom.* **36**:509–521

HAO C.Y., MARCH R.E., CROLEY T.R., SMITH J.C., RAFFERTY S.P. (2001) Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of salt cluster ions. Part 1 – Investigations of alkali metal chloride and sodium salt cluster ions. *J. Mass Spectrom.* **36**:79–96

HARDY I.A.J. (2003) Acetamiprid: Kinetic Modelling Analysis of Data from a Laboratory Aged Residue Column Leaching Study, *BayerCropScience SA*, Report C029734

HARDY I.A.J. (2003) Predicted Environmental Concentrations in Groundwater (PECgw) of the Acetamiprid Metabolite IM-1-5 following application to calcareous soils using the FOCUS Groundwater Scenarios, *BayerCropScience SA*, Report C030675

HARGOVE W.L., THOMAS G.W. (1981) Effect of organic matter on exchangeable aluminium and plant growing in acid soils. In *Chemistry in the Soil Environment*, ed. R.H. Dowdy, J.A. Ryan, V.V. Volk & D.E. Baker, pp. 151 – 166, American Society of Agronomy and the Soil Science Society of America, USA

HARGOVE W.L., THOMAS G.W. (1982) Titration properties of Al-organic matter. *Soil. Sci.*, **134**:216–225

HARRIS C.I., WARREN G.F. (1964) Adsorption and desorption of herbicides by soil. *Weeds*, **12**:120–126

HARRIS W.R., WANG Z.P., HAMADA Y.Z. (2003) Competition between transferrin and the serum ligands citrate and phosphate for the binding of aluminum. *Inorg. Chem.* **42**:3262–3273

HARTMAN J.A.R., KAMMIER A.L., SPRACKLIN R.J., PEARSON W.H., COMBARIZA M.Y., VACHET R.W. (2004) A comparison of the gas, solution, and solid state coordination environments for the Cu(II) complexes of a series of linear aminopyridine ligands with varying ratios of 5- and 6-membered chelate rings. *Inorg. Chim. Acta* **357**:1141–1151

HARTMAN J.R., COMBARIZA M.Y., VACHET R.W. (2004) A comparison of the gas, solution, and solid state coordination environments for the Ni(II) complexes of a series of linear penta- and hexadentate aminopyridine ligands with accessible Ni(III) oxidation states. *Inorg. Chim. Acta* **357**:51–58

HARZDORF C., JANSER G. (1984) The determination of chromium(VI) in waste water and industrial effluents by differential pulse polarography. *Anal. Chim. Acta* **165**:201-207.

HAUSER A., MADER M., ROBINSON W.T., MURUGESAN R., FERGUSON J. (1987) Electronic and Molecular Structure of $[Cr(bpy)_3]^{3+}$ (bpy = 2,2'-Bipyridine), *Inorg. Chem.*, **26**, 1331

HAYAT S., AHMAD A.: *Salicylic acid - A Plant Hormone*. Springer Verlag, 2007, ISBN 1402051832.

HAYES T., HASTON K., TSUI M., HOANG A., HAEFFELE C., VONK A. (2003) "Atrazine-Induced Hermaphroditism at 0.1 ppb in American Leopard Frogs" (Free full text). *Environmental Health Perspectives* **111**: 568

HECK A.J.R., VAN DEN HEUVEL R.H.H. (2004) Investigation of intact protein complexes by mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* **23**:368–389

HENDERSON W., NICHOLSON B.K., MCCAFFREY L.J. (1998) Applications of electrospray mass spectrometry in organometallic chemistry. *Polyhedron* **17**:4291–4313

HENDERSON W., NICHOLSON B.K., OLIVER A.G., RICKARD C.E.F. (2001) Dimeric rhodium(III), iridium(III) and ruthenium(II) thiosalicylate complexes. *J. Organomet. Chem.* **625**:40–46

HENDERSON W., TAYLOR M.J. (1996) Organotin halides and their hydrolysed species studied in solution by positive and negative ion electrospray mass spectrometry. *Polyhedron* **15**:1957–1964

HENDERSON W., TAYLOR M.J. (1998) An electrospray mass spectrometric investigation of gallium trihalide and indium trihalide solutions. *Inorg. Chim. Acta* **277**:26–30

HIRAOKA K., MURATA K., KUDAKA I. (1995) Do the electrospray mass spectra reflect the ion concentrations in sample solution? *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* **43**:127–138

HOOPER A.B., TERRY K.R. (1973) Specific Inhibitors of Ammonia Oxidation in *Nitrosomonas*, *J. Bacteriol.*, **115**, 480–485

HORNSBY A.G., WAUCHOPE R.D., HERNER A.E.: *Pesticide properties in the environment*, Springer-Verlag, New York, 1995

HUIJSDUIJNEN H.V., ALBLAS S.W., RIJK R.H.D., BOL J.F. (1986) Induction by Salicylic Acid of Pathogenesis-related Proteins and Resistance to Alfalfa Mosaic Virus Infection in Various Plant Species. *J. Gen. Virol.*, **67**:2135–2143

IARC (1986) Selected methods of analysis: Some metals. In: O'Neill IK, Schuller P, Fishbein L, eds. Vol. 8: IARC Scientific Publications No. 71. Lyon, France: *International Agency for Research on Cancer*, World Health Organization 141-158; 291-317; 433-440.

IARC (1990) IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chromium, nickel and welding. Vol. 49. Lyons, France: *International Agency for Research on Cancer*, World Health Organization 49-256.

IRWIN G., KIRK A.D. (2001) Intermediates in chromium(III) photochemistry, *Coord. Chem. Rev.*, **211**:25

JACOPIN C., SAWICKI M., PLANCQUE G., DOIZI D., TARAN F., ANSOBORLO E., AMEKRAZ B., MOULIN C. (2003) Investigation of the interaction between 1-hydroxyethane 1,10 diphosphonic acid (HEDP) and uranium(VI). *Inorg. Chem.* **42**:5015–5022

JAKOVLJEVIĆ M., PANTOVIĆ M., *Hemija zemljišta i voda*, Naučna knjiga, Beograd, 1991

JAKOVLJEVIĆ M.D., KOSTIĆ N.M., STEVANOVIĆ D., BLAGOJEVIĆ S., WILSON M.J., MARTINOVIĆ LJ. (1997) Factors influencing the distribution of heavy metals in the alluvial soils of the Velika Morava River valley Serbia. *Applied. Geochem.*, **12**:637–642

JAMES B.R., BARTLETT R.J. (1983 a) Behavior of Chromium in Soils: V. Fate of Organically Complexed Cr(III) Added to Soil. *Journal of Environmental Quality*, Vol. **12**, No. **2**. p 169–172

JAMES B.R., BARTLETT R.J. (1983 b) Behavior of Chromium in Soils: VII. Adsorption and Reduction of Hexavalent Chromium Forms. *Journal of Environmental Quality*, Vol. **12**, No. **2**. p 177–181

JAMES B.R., BARTLETT R.J. (1983) Behavior of chromium in soils: VII. Adsorption and reduction of hexavalent forms. *J. Environ. Qual.*, **12**:177–181

JAMES B.R., BARTLETT R.J. (1983) Behaviour of chromium in soils. V. Fate of organically complexed Cr(III) added to soil. *J. Environ. Qual.*, **12**:169–172

JAMES B.R., BARTLETT R.J. in: *Chromium in Natural and Human Environments*, J. O. Nriagu, E. Nieboer, (Eds.), Wiley Interscience, New York, 1988, p. 265

JANKOVICS H., NAGY L.,KELE Z., PETTINARI C., D'AGATI P., MANSUETO C., PELLERITO C., PELLERITO L. (2003) Coordination properties of the ACE inhibitor captopril towards $Me_2Sn(IV)^{2+}$ in aqueous solution, and biological aspects of some dialkyltin(IV) derivatives of this ligand. *J. Organomet. Chem.* **668**:129–139

JANSSEN R.P.T., PEIJNENBURG W.J.G.M., POSTHUMA L., VAN DEN HOOP, M.A.G.T. (1997) Equilibrium partitioning of heavy metals in Dutch field soils. 1. Relationship between metal partition coefficients and soil characteristics. *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2470–2478

JEZOWSKA BOJCZUK M., LESNIAK W., SZCZEPANIK W., GATNER K., JEZIERSKI A., SMOLUCH M., BAL W. 2001. Copper(II) lincomycin: Complexation pattern and oxidative activity. *J. Inorg. Biochem.* **84**:189–200

JOACHIMIAK R., PARYZEK Z. (2004) Synthesis and alkaline metal ion binding ability of newsteroid dimers derived from cholic and lithocholic acids. *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* **49**:127–132

JOHNSTONE P.K., JOLLEY A.V., CODE G.R., MOERKERK M.R., CORBETT A. (1998) Degradation of trifluralin in three Victorian solis – long term field studies. *Aust. J. Exp. Agric.*, **38**: p.363–374

JOLLEY A.V., JOHNSTONE P.K. (1994) Degradation of trifluralin in three Victorian soils under field and laboratory conditions. *Aust. J. Exp. Agric.*, **34**: p.57–65

JURY W.A., SPENCER W.F., FARMER W.J. (1983) Behavior assessment model for trace organics in soil: I. Model description. *J. Envir. Qual.*, **12**:558–564

KABARLE P, TANG L. (1993) From ions in solution to ions in the gas phase. The mechanism of electrospray mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **65**:972A

KAISER K., ZECH W. (1999) Release of natural organic matter sorbed to oxides and a subsoil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **63**:1157–1166

KAMIYA M., KAMEYAMA K. (2001) Effects of selected metal ions on photodegradation of organophosphorous pesticides sensitized by humic acids. *Chemosphere* **45(3)**:231–235

KARICKHOFF S.W. (1984) Organic pollutant sorption in aquatic systems. *J. Hydraul. Engng.*, **110**:707–735

KARICKHOFF S.W., BROWN D.S., SCOTT T.S. (1979) Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res.*, **13**:241–248

KATTA V., CHOWDHURY S.K., CHAIT B.T. (1990) Electrospray ionization: A new tool for the analysis of ionic transition metal complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **112**:5348–5349

KATZ S.A., SALEM H.: *The Biological and Environmental Chemistry of Chromium*, VCH Publishers, New York, 1994

KEBARLE P. (2000) A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **35**:804–817

KEBARLE P., TANG L. (1993) From ions in solution to ions in the gas phase – The mechanism of electrospray mass spectrometry. *Anal. Chem.* **65**:972A–986A

KEMPEN E.C, BRODBELT J.S. (2000) A method for the determination of binding constants by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* **72**:5411–5416

KEMPEN E.C., BRODBELT J.S. (1999) Investigation of alkali metal cation selectivities of lariat ethers by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* **71**:5493–5500

KENNARD C.H.L., KERR B., O'REILLY E.J., SMITH G. (1984) Metal complexes of dicamba. II. The crystal structure of *catena-m*-[Diaquabis-(3,6-dichloro-2-methoxybenzoato(O,O')]-calcium(II). *Australian Journal of Chemistry*, **37**(8) 1757–1761

KENJI M. (2003) Development and Validation of the Analytical Method for the Determination of Acetamiprid in Body Fluids and Tissues, *Nisso Chemical Analysis Service*,. Nippon Soda Co., Ltd. Study No.: NCAS 03-235

KETCHERSID M.L., BOVEY R.W., MERKLE M.G. (1969) The detection of trifluralin vapors in air. *Weed Sci.*, **17**:484–485

KIM J.H., FEAGLEY S.E. (1998) Adsorption and leaching of trifluralin, metalochlor, and metribuzin in a commerce soil. *J. Environ. Sci. Health, B*, **33**(5): p.529–546

KING R.B.: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Wiley, New York, 2001

KINNIBURGH D.G., RIEMSDIJK W.H.V., KOOPAL L.K., BORKOVEC M., BENEDETTI M.H., AVENA M.J. (1999) Ion Binding to Natural Organic Matter: Competition, Heterogeneity, Stoichiometry and Thermodynamic Consistency. *Colloids Surfaces*, **A151**: 147–166

KLING A. (2001) Assessment of side effects of EXP 60707A to the honeybee *Apis mellifera* L. in the laboratory. Source: *Aventis CropScience*, Report No. B003288

KOHL S.D., TOSCANE P.J., HOU W., RICE J.A. (2000) Solid state ^{19}F NMR investigation of hexafluorobenzene sorption to soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, **34**:204–210

KONONOVA M.M., *Soil Organic Matter*, 2nd ed., Pergamon Press, Oxford, 1966

KOPTYUG, V.A. (editor): *Atlas of spectra of aromatic and hetrocyclic compounds*, Science, Siberian Department of AS USSR, Novosibirsk, volumes 28-35 (1984 – 1986)

KORNEV V.I., MIKRYUKOVA G. A. (2004) Coordination Compounds of Chromium(III) with Different Complexones and Citric Acid in Aqueous Solutions. *Russian Journal of Coordination Chemistry*, Vol. **30**, No. **12**, pp 895–899

KORNEV V.I., MIKRYUKOVA G.A. (2004) Coordination of Chromium(III) with Different Complexones and Citric Acid in Aqueous Solutions. Russian Journal of Coordination Chemistry, Vol. **30** No. **12**, pp. 895–899

KOSKINEN W.C., HARPER S.S. (1990) The retention process: mechanisms, in *Pesticides in the soil environment: processes, impacts and modeling*, ed by Cheng H.H., SSSA Book Series, No. 2, Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 51–77

KOTAS J., STASICKA Z., (2000) Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environ. Pollut.*, **107**:263

KRIEGER M.S., MERRITT D.A., WOLT J.D., PATTERSON V.L. (1998) Concurrent patterns of sorption-degradation for oryzalin and degradates. *J. Agric. Food. Chem.*, **46**(8): p.3292–3299

KRUTZ L.J., SHANER D.L., ACCINELLI C., ZABLOTOWICZ R.M., HENRY W.B. (2008) Atrazine dissipation in s-triazine-adapted and non-adapted soil from Colorado and Mississippi: Implications of enhanced degradation on atrazine fate and transport parameters. *Journal of Environmental Quality* **37**:848-857.

KRZYSZOWSKA A.J., VANCE G.F. (1994) Solid-phase Extraction of Dicamba and Picloram from Water and Soil Samples for HPLC Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. **42**(no. 8)

KUSOV M.M., SHIMANKO N.A., AND SHISHKINA M.V.: *Ultraviolet absorption spectra of aromatic hydrocarbons*, AS USSR, Moscow

LAFLEUR K.S. (1979) Sorprion of pesticides by model soils and agronomic soils: rates and equilibria. *Soil Sci.*, **127**:94–101

LAJUNEN L.H.J., PORTANOVA R., PIISPANEN J. TOLAZZI M. (1997) Stability Constants for *alpha*-hydroxycarboxylic acid complexes with protons and metal ions and the accompanying enthalpy changes. Part I: Aromatic and ortho-hydroxycarboxylic acids. *Pure & Appl. Chem.*, Vol. **69**, No. **2**, pp 329–381

LAMBERT S.M., PORTER P.E., SCHIEFERSTEIN R.H. (1965) Movement and adsorption of chemical applied to the soil. *Weeds*, **13**:185–190

LANG, L. (editor): *Absorption spectra in the visible region*, volumes 1-20, Budapest, 1959 – 1975

LASKOWSKY D.A. *et al.*, *Environmental risk analysis for chemicals*. New York, NY, Van Nostrand Reinhold, 1982

LAVANANT H., HECQUET E., HOPPILLIARD Y. (1999) Complexes of L-histidine with Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} studied by electrospray ionization mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* **185(186/187)**:11–23.

LAWRANCE G.A., MAEDER M., ROBERTSON M.J., SUTRISNO (2004) Synthesis of a four strand N_2O_2-donor ligand and its transition metal complexation probed by electrospray ionisation mass spectrometry. *Trans. Met. Chem.* **29**:505–510

LAY P.A., LEVINA A.: *Comprehensive Coordination Chemistry II*, eds. J.A. McCleverty & T.J. Meyer, Elsevier, 2004, Vol. **4**, p. 313

LAY P.A., SARGESON A.M., TAUBE H. (1986) *cis*-Bis(2,2'-Bipyridine-*N*,*N*') Complexes of Ruthenium(III)/(II) and Osmium(III)/(II). *Inorg. Synth.* **24**:291–299

LEE E.A., KISH J.L., ZIMMERMAN L.R., THURMAN E.M. (2001) Method of Analysis by the U.S. Geological Survey Organic Geochemistry Research Group-Update and Additions to the Determination of Chloroacetanilide Herbicide Degradation Compounds in Water Using High-Perfomance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry. *U.S. Department of the Interior*, U.S. Geological Survey

LEE K.P., ULRICH C.E., GEIL R.G., TROCHIMOWICZ H.J. (1989) Inhalation toxicity of chromium dioxide dust to rats after two years exposure. *Sci. Tot. Environ.*, **86**:83

LEE K.W., HOGGARD P.E. (1989) The molecular structure of bipyridinium *tris*(bipyridine)chromium(III) perchlorat, Polyhedron, vol. **8**, Issue 12, 1557–1560

LEE P., COOPER C. (2001) Determination of Residues of Alachlor and Metolahlor and Selected Metabolites in Well Water by Liquid Chromatography – Mass Spectrometry. *California Dept. of Food and Agriculture*, Center for Analytical Chemistry, Sacramento, CA

LEE S.Z., ALLEN H.E., HUANG C.P., SPARKS D.L., SANDERS P.F., PEIJNENBURG W.J.G.M. (1996) Predicting soil-water partition coefficients for cadmium. *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 3418–3424

LEGGETT D. (1985) 6. SQUAD: Stability quotients from absorbance data. Computational methods for the determination of formation constants. ISBN 0-306-41957-2

LEIZE E., JAFFREZIC A., VAN DORSSELAER A. (1996) Correlation between solvation energies and electrospray mass spectrometric response factors. Study by electrospray mass spectrometry of supramolecular complexes in thermodynamic equilibrium in solution. *J. Mass Spectrom.* **31**:537–544

LEIZE E., JAFFREZIC A., VANDORSSELAER A. (1996) Correlation between solvation energies and electrospray mass spectrometric response factors. Study by electrospray mass spectrometry of supramolecular complexes in thermodynamic equilibrium in solution. *J. Mass Spectrom.* **31**:537–544

LENHEER J.A., ARHLICHS J.A. (1971) A kinetic and equilibrium study of the adsorption of carbaryl and parathion upon soil organic matter surfaces. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **35**:700–705

LINDE M., *Trace Metals in Urban Soils – Stocholm as a Case Study*, PhD thesis, Swedich University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.

LINDE M.: *Trace Metals in Urban Soils – Stocholm as a Case Study*, PhD thesis, Swedich University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005

LO F.B., ARAI D.K. (1988) Determination by atomic spectrometry of chromium on air sampling filters in the presence of iron. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **49(5)**:207-212.

LOFTS S. WOOF C., TIPPING E., CLARKE N., MULDER J. (2001) Modelling pH buffering and aluminium solubility in Europian forest soils. *Eur. J. Soil Sci.*, **52**:189–204

LUCAS VAZ J.L., DUC G., PETIT-RAMEL M., FAURE R., VITTORI O. (1996) Cd(II) complexes with phthalic acid: solution study and crystal structure of cadmium(II) phthalate hydrate. *Can. J. Chem.*, **74**:359–364

LUND MYHRE C.E., NIELSEN C. J. (2004) Optical properties in the UV and visible spectral region of organic acids relevant to tropospheric aerosols, *Atmos. Chem. Phys.*, **4**, 1759–1769

LURIE Y.Y.: *Spravochnik po analiticheskoi khimii* (Anlytical Chemitry Handbook), Moscow: Khimiya, 1989

LYAPCHENKO N., EITNER K., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B. (2004) The complexes of some s-triazine herbicides with metal cations studied by ESI mass spectrometry and theoretical calculations. *J. Mol. Struct.* **690**:45–51

MACKAY D., PATERSON S. (1982) The fugacity aproach to environmental transport. *Environ. Sci. Technol.*, **16**:654A–660A

MACKAY D., PATERSON S. (1991) Evaluating the multimedia fate of organic chemicals: a level III fugacity model. *Environ. Sci. Technol.*, **25**:427–436

MADHUSUDANAN K.P., KATTI S.B., VIJAYALAKSHMI R., NAIR B.U. (1999) Chromium(III) interactions with nucleosides and nucleotides: A mass spectrometric study. *J. Mass Spectrom.* **34**:880–884

MAITI B., DESAI S.R. (1986) High-performance liquid chromatographic separation of beryllium, cobalt, nickel and chromium as the *β*-isopropyltropolone complexes and its application to the determination of chromium in air samples. *Analyst* **111**:809-811.

MALTERRE F., PIERRE J.G., SCHIAVON M. (1998) Trifluralin transfer from top soil. *Ecotox. Environ. Safety B*, **39**: p.98–103

MATSUMOTO A., FUKUMOTO T., ADACHI H., WATARAI H. (1999) Electrospray ionization mass spectrometry of metal complexes. Gas phase formation of a binuclear copper(II) 5-Br PADAP complex. *Anal. Chim. Acta* **390**:193–199

MCBRIDE M., SAUVE S., HENDERSHOT W. (1997) Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Eur. J. Soil Sci.*, **48**:337–346

MILLER J.J., FOROUD N., HILL B.D., LINDWALL C.W. (1995) Herbicides in surface runoff and groundwater under surface irrigation insouthern Alberta. *Canadian Journal of Soil Science*, **75**(1):145–148.

MISHRA M.K., MISRA N.M. (2011) Thermal Decomposition Kinetics of Labile Chromium Complex with Benzoic Acid, *E-Journal of Chemistry*, **8(2)**, 513–516

MIZOTA K., UEDA H. (2006) "Endocrine Disrupting Chemical Atrazine Causes Degranulation through Gq/11 Protein-Coupled Neurosteroid Receptor in Mast Cells". *Toxicological Sciences* **90** (2): 362

MODER M., WICHMANN K., GLOE K., VOGTLE F. (2001) Study on formation and stability of azacage metal complexes using electrospray mass spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* **210**:327–339

MOSTAFA I.Y, ZAYED S.M.A.D., ADAM Y.M., ATTABY H.S.H. (1982) Investigations on trifluralin binding to soil and possible uptake of bound residues by plants. *J. Environ. Sci. Health*, **17**:265–275

MOULIN C., AMEKRAZ B., HUBERT S., MOULIN V. (2001) Study of thorium hydrolysis species by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **441**:269–279

MOULIN C., AMEKRAZ B., STEINER V., PLANCQUE G., ANSOBORLO E. (2003) Speciation studies on DTPA using the complementary nature of electrospray ionization mass spectrometry and time resolved laser induced fluorescence. *Appl. Spectrosc.* **57**:1151–1161

MOULIN C., CHARRON N., PLANCQUE G., VIRELIZIER H. (2000) Speciation of uranium by electrospray ionization mass spectrometry: Comparison with time resolved laser induced fluorescence. *Appl. Spectrosc.* **54**:843–848

MOYER J.R., MCKERCHER R.B., HANCE R.J. (1972) desorption of some pesticides from montmorilonit and peat. *Canad. J. Soil. Sci.*, **52**:439–447

MULDER G.J. *et al.* (1984) Reaction of mutagenic phenacetin metabolites with glutathione and DNA. Possible implications for toxicity. *Molecular pharmacology*, **26**:342–347

MUNOZ-PAEZ A., MARCOS E.S. (1992) Experimental evidence by EXAFS of the second hydration shell in dilute solutions of chromium(III) ion, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 6931

MURNER H., VONZELEWSKY A., HOPFGARTNER G. (1998) Dinuclear metal complexes of Cd(II), Zn(II) and Fe(II) with triple helical structure and predetermined chirality. *Inorg. Chim. Acta* **271**:36–39

MUSHTAQ M. FEELY W.F., SYINTSAKOS L.R., WISLOCKI P.G. (1996) Mobility of emamectin benzoeate in soils. *J. Agric. Food Chem.*, **44**:940–944

NAKAYAMA E., KUWAMOTO T., TSURUBO S., TOKORO H., FUJINAGA T. (1981) Chemical speciation of chromium in sea water: Part 1. Effect of Naturally Occurring Organic Materials on the Complex Formation of Chromium(III). *Analytica Chimica Acta*,Vol. **130**, Issue **2**, pp 289–294

NAYLOR M.W. *et al.* (1984) Chronic study of alachlor administered by gelatin capsule to dogs. St Louis, MO, *Monsanto Agricultural Company* (study submitted to WHO)

NEAL, L.N. (2003) Acetamiprid: Validation of the method of analysis for the determination of residues of the acetamiprid metabolite AE 0653700 (IM-1-5) residues in calcareous soils by LC/MS/MS, LP *Bayer CropScience Report*, No. B004279, Study No.: 02Y536660

NELSON D.W., SOMMERS L.E. (1982) Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter, in *Methods of soil analysis*, *Part 2 – chemical and microbiological properties.* Agronomy, No. **9**, 2nd edn. by Page A.I., Miller R.H, Keeney D.R., American Society of Agronomy, Madison, WI, pp 539–579

NEUBERT H., HIDER R.C., COWAN D.A. (2002) Speciation of Fe(III) chelate complexes by electrospray ionization ion trap and laser desorption/ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **16**:1556–1561

NEWMAN M.S., DENO N.C. (1951) Behavior of organic compounds in 100% sulfuric acid, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. **73**:255–266

NICHOLLS P.H., EVANS A.A. (1991) Sorption of ionisable organic compounds by field soils. Part 2: cations, bases, and zwitterions. *Pestic. Sci.*, **33**:331–345

NIEROP KGJ, JANSEN B, VERSTRATEN JM (2002) Dissolved organic matter, aluminium and iron interactions: precipitation induced by metal/carbon ratio, pH and competition. *Sci. Total Environ.* **300**:201–211

NIKOLIĆ R.S., NIKOLIĆ G.M, ĐORĐEVIĆ D.M., KRSTIĆ N.S.: *Koordinaciona hemija*, Prirodno-matematički fakultet, Niš, 2010

NIOSH (1994c) Chromium and chromium compounds, as Cr. Method: 7024. In: NIOSH manual of analytical methods. 4th ed. Cincinnati, OH: Department of Health and Human Services, *National Institute of Occupational Safety and Health.* DHHS publication no. 94–113

NIOSH (1994d) Elements by ICP. Method: 7300. In: NIOSH manual of analytical methods. 4th ed. Cincinnati, OH: Department of Health and Human Services, *National Institute of Occupational Safety and Health.* DHHS publication no. 94–113

NIOSH (1994e) Chromium, hexavalent. Method: 7600. In: NIOSH manual of analytical methods. 4th ed. Cincinnati, OH: Department of Health and Human Services, *National Institute of Occupational Safety and Health*. DHHS publication no. 94–113

NIOSH. (1994f) Chromium, hexavalent. Method: 7604. In: NIOSH manual of analytical methods. 4th ed. Cincinnati, OH: Department of Health and Human Services, *National Institute of Occupational Safety and Health*. DHHS publication no. 94–113

ÖHMAN L., SJÖBERG S. (1983) *Acta Chem. Scand.*, **A37**:875

ÖHMAN L.O., SJÖBERG S. (1996) The experimental determination of thermodynamic properties for aqueous aluminium complexes. *Coord. Chem. Rev.* **149**:33–57

OLESIK J.W., THAXTON K.K., OLESIK S.V. (1997) Ion spray mass spectrometry for elemental speciation in aqueous samples: Preliminary investigation of experimental parameters, matrix effects and metal ligand complexation. *J. Anal. Atom Spectrom.* **12**:507–515

PACYNA J.M., NRIAGU J.O. in: *Chromium in Natural and Human Environments*, J. O. Nriagu, E. Nieboer, (Eds.), Wiley Interscience, New York, 1988, p. 105

PALMER, C.D., WITTBRODT P.R. (1991) Processes Affecting the Remediation of Chromium-Contaminated sites. *Environmental Health Perspectives*, Vol. **92** p. 25–40

PAN P., GUNAWARDENA H.P., XIA Y., MCLUCKEY S.A. (2004) Nanoelectrospray ionization of protein mixtures: Solution pH and protein pI. *Anal. Chem.* **76**:1165–1174

PANKIEWICZ R., PAWLOWSKA A., SCHROEDER G., PRZYBYLSKI P., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004c) Multinuclear NMR, FT IR, ESI MS studies and PM5 semiempirical calculations of new ethylene glycol ester of lasalocid acid and their complexes with K^+ cation. *J. Mol. Struct.* **694**:55–61

PANKIEWICZ R., PAWLOWSKA A., SCHROEDER G., PRZYBYLSKI P., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004d) NMR, FT IR, ESI MS studies and PM5 semiempirical calculations of lasalocid ethylene glycol ester complexes with Li^+ and Na^+ cations. *J. Mol. Struct.* **694**:155–163

PANKIEWICZ R., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004b) Spectroscopic and PM5 semiempirical study of new lasalocid 5-hydroxypentyl ester and its complexes with monovalent cations. *J. Mol. Struct.* **699**:53–64

PANKIEWICZ R., SCHROEDER G., PRZYBYLSKI P., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004a) Lasalocid polyoxaalkyl esters complexes with Li^+, Na^+, K^+, Rb^+ and Cs^+ cations studied by ESI MS and semiempirical methods. *J. Mol. Struct.* **688**:171–176

PARR J.F., SMITH, S. (1973) Degradation of trifluralin under laboratory conditions and soil anaerobiosis. *Soil Sci.*, **115**(1): p.55–63

PAWLAK K.P., PALACIOS O., CAPDEVILA M., GONZALEZ-DUARTE P., LOBINSKI R. (2002) Monitoring of the metal displacement from the recombinant mouse liver metallothionein Zn 7-complex by capillary zone electrophoresis with electrospray MS detection. *Talanta* **57**:1011–1017

PERDUE E.M., REUTER J.H., PAERISH R.S. (1984) A statistical model of proton binding by humus. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **48:**1257–1263

PESAVENTO M., BIESUZ R., DALLA RIVA F., ALBERTI G. (2002) Investigation of the complexation properties of a natural water towards copper(II), manganese(II) and aluminium(III), based on sorption of metal ions on a complexing resin. *Polyhedron* **21**:1343–1350

PESTICIDE INFORMATION PROFILE (june 1996): *Atrazine, Extension Toxicology Network* (Cooperative Extension Offices of Cornell University, Oregon State University, the University of Idaho, and the University of California at Davis and the Institute for Environmental Toxicology, Michigan State University)

PIGNATELLO J.J., FERRANDINO F.J., HUANG L.Q. (1993) Elution of aged and freshly added herbicides from soil. *Environ. Sci. Technol.*, **27**:1563–1571

PRESSPRICH M.R., WILLET R.D., POSHUSTA R.D., SAUNDERS S.C., DAVIS H.B., GARD G.L. (1988) Preparation and crystal structure of dipyrazinium trichromate and bond length correlation for chromate anions of the form $Cr_nO_{3n+1}^{2-}$, *Inorg. Chem.*, **27**:260

PRZYBYLSKI P., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004d) The Schiff base of gossypol with 3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxa-pentacosylamine complexes and monovalent cations studied by electrospray ionization mass spectrometry, H^1 nuclear magnetic resonance, Fourier transform infrared, as well as PM5 semiempirical methods. *Biopol.* **74**:273–286

PRZYBYLSKI P., ILKEVYCH N., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004a) Schiff base of gossypol with 3,6,9-trioxa decylamine complexes with monovalent cations studied by mass spectrometry, H^1-NMR, FT-IR, and PM5 semiempirical methods. *Biopol.* **73**:470–483

PRZYBYLSKI P., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B. (2002) The Schiff base of gossypol with 2-(aminomethyl) 15-crown-5 complexes with monovalent cations studied by MS, H^1 NMR, FT-IR and PM5 semiempirical methods. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**:6137–6143.

PRZYBYLSKI P., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B. (2003) Complexes of Schiff base of gossypol with 5-hydroxy 3-oxapentylamine and Ca^{2+}, Ba^{2+} or Pb^{2+} cations studied by NMR, FT-IR, ESI-MS as well as PM5 semiempirical methods. *J. Mol. Struct.* **658**:115–124

PRZYBYLSKI P., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B. (2004c) The Schiff base of gossypol with 2-(aminomethyl)-18-crown-6 complexes and H^+, Li^+, Na^+, K^+, Rb^+, Cs+ cations studied by ESI-MS, H^1 NMR, FT-IR and PM5 semiempirical methods. *J. Mol. Struct.* **699**:65–77

PRZYBYLSKI P., SCHROEDER G., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2003b) H^1 NMR, MIR and MS studies and PM5 semiempirical calculations of complexes between the Schiff base of gossypol with 2-(aminomethyl)-15-crown-5 and Ca^{2+}, Pb^{2+} and Ba^{2+} cations. *J. Phys. Org. Chem.* **16**:289–297

PRZYBYLSKI P., SCHROEDER G., PANKIEWICZ R., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2003a) Complexes of Schiff base of gossypol with n butylamine and some monovalent or bivalent cations studied by ESI-MS, NMR, FT IR as well as PM5 semiempirical methods. *J. Mol. Struct.* **658**:193–205

PRZYBYLSKI P., WLODARZ M., SCHROEDER G., PANKIEWICZ R., BRZEZINSKI B., BARTL F. (2004b) ESI MS and PM5 semiempirical studies of gossypol Schiff base with (*R*)-tetrahydrofurfurylamine complexes and monovalent cations. *J. Mol. Struct.* **693**:95–102

PULS R.W., POWELL R.M., CLARK D., ELDRED C.J. (1991) Effects of pH, solid/solution ratio, ionic strength and organic acid on Pb and Cd sorption on kaolinite. *Water, Air and Soil Pollution*, **57-58**:423–430

PYRZYNSKA K., GUCER S., BULSKA E. (2000) Flow injection speciation of aluminium. *Water Res.* **34**:359–365

QI W.B., ZHU L.Z. (1986) Spectrophotometric determination of chromium in waste water and soil. *Talanta* **33(8)**:694-696.

RALEBITSO T.K., SENIOR E., VAN VERSEVELD H.W. (2002). "Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments". Biodegradation **13**: 11–19

RALPH S.F., IANNITTI P., KANITZ R., SHEIL M.M. (1996a) Determination of the relative stabilities of metal antibiotic and metal cryptand complexes by electrospray ionisation mass spectrometry. *Eur. Mass Spectrom.* **2**:173–179

RALPH S.F., SHEIL M.M., HICK L.A., GEUE R.J., SARGESON A.M. (1996b) An electrospray mass spectrometry study of some metal ion cage complexes. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 4417–4424

REANY O., BLAIR S., KATAKY R., PARKER D. (2000) Solution complexation behaviour of 1,3,5-trioxycyclohexane based ligands and their evaluation as ionophores for Group IA/IIA metal cations. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **24**:623–630

RICHARD F.C., BOURG A.C.M. (1991) Aqueous geochemistry of chromium: A review. *Water Res*., **25**:807–816

RISHER J.F., MINK L.F., STARA J.F. (1987) The Toxilogical Effects of the Carbamate Insecticide Aldicarb in Mammals. *Environmental Health Perspectives* **78**, 267–281

RITTER W.F. (1990) Pesticide contamination of ground water in the United States – a review. *Environmental science and health*, **B25**(1):1–29

RITTER W.F., CHIRNSIDE A.E.M., SCARBOROUGH R.W. (1996) Leaching of dicamba in a coastal plain soil. *Journal of Environmental Science and Health*, Part A. **31**(3):505–517.

ROGALEWICZ F., HOPPILLIARD Y., OHANESSIAN G. (2000) Structures and fragmentations of zinc(II) complexes of amino acids in the gas phase. I. Electrosprayed ions which are structurally different from their liquid phase precursors. *Int. J. Mass Spectrom.* **201**:307–320

ROGALEWICZ F., HOPPILLIARD Y., OHANESSIAN G. (2001) Structures and fragmentations of zinc(II) complexes of amino acids in the gas phase. III. Rearrangement versus desolvation in the electrospray formation of the glycine zinc complex. *Int. J. Mass Spectrom.* **206**:45–52

ROGALEWICZ F., HOPPILLIARD Y., OHANESSIAN G. (2003) Structures and fragmentations of zinc(II) complexes of amino acids in the gas phase-IV. Solvent effect on the structure of electrosprayed ions. *Int. J. Mass Spectrom.* **227**:439–451

ROGALEWICZ F., LOUAZEL G., HOPPILLIARD Y., OHANESSIAN G. (2003) Structures and fragmentations of electrosprayed Zn(II) complexes of carboxylic acids in the gas phase. Isomerisation versus desolvation during the last desolvation step. *Int. J. Mass Spectrom.* **228**:779–795

ROHNER T.C., LION N., GIRAULT H.H. (2004) Electrochemistry and theoretical aspects of electrospray ionisation. *Phys.Chem. Chem. Phys.* **6**:3056–3068

ROSS A.R.S., IKONOMOU M.G., ORIANS K.J. (2000) Electrospray ionization of alkali and alkaline earth metal species. Electrochemical oxidation and pH effects. *J. Mass Spectrom.* **35**:981–989

ROSS A.R.S., IKONOMOU M.G., ORIANS K.J. (2000a) Characterization of dissolved tannins and their metal ion complexes by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **411**:91–102.

ROSS A.R.S., IKONOMOU M.G., ORIANS K.J. (2000b) Electrospray ionization of alkali and alkaline earth metal species. Electrochemical oxidation and pH effects. *J. Mass Spectrom.* **35**:981–989

ROSS A.R.S., IKONOMOU M.G., THOMPSON J.A.J., ORIANS K.J. (1998) Determination of dissolved metal species by electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem* **70**:2225–2235

ROSS D.S., SJOGREN R.E., BARTLETT R.J. (1981) Behavior of Chromium in Soils: V. Toxicity to Microorganisms. *Journal of Environmental Quality*, Vol. **10**:145–148

ROUSE J.V., PYRIH R.Z. (1990) In-Place Cleanup of Heavy Metal Contamination of Soil and Ground Water at Wood Preservation Sites. Paper Presentation for the *86th Annual meeting of the American Wood-Preservers' Association.* April – May 1990

SAGAYARAJ P., JOSEPH G.P. (2009) Investigations on the physicochemical properties of thiocyanate and allylthiourea complex crystals for blue-violet laser light generation, *J. Mater. Sci: Mater. Electron*, **20**:S390–S394

SAHUREKA F., BURNS R.C., VON NAGY FELSOBUKI E.I. (2002) Electrospray identification of new polyoxochromate species. *Inorg. Chim. Acta* **332**:7–17

SATTERFIELD M., BRODBELT J.S. (2000) Enhanced detection of flavonoids by metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* **72**:5898–5906

SAUVE S., MCBRIDE M., NORVELL W.A., HENDERSHOT W.H. (1997) Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Wat. Air Soil Pollut.*, **100**:133–149

SAUVE S., NORVELL W.A., MCBRIDE M., HENDERSHOT W.H. (2000) Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions. *Environ. Sci. Technol.*, **34**:291–296

SAWHNEY B.L., PIGNATELLO J.J., STEINBERG S.M. (1988) Determination of 1,2-dibromoethane (EDB) in fields: implications vor volatile organic compounds. *J. Environ. Qual.*, **17**:149–152

SCHEUNERT I. (ed): Physical and psysico-chemical processes governing the residue behaviour of pesticides in terrestrial ecosystems, in *Chemistry of plant protection*, Vol. 8, Springer-Verlag, New York, 1992

SCHINDLER, P. W. (1990). Co-adsorption of metal ions and organic ligands: Formation of ternary surface complexes. Mineral–water Interface Geochemistry, Chap. 7; *M. Hochella Reviews in mineralogy*, **23**

SCHMITT H., LOMOTH R., MAGNUSON A., PARK J., FRYXELIUS J., KRITIKOS M., MARTENSSON J., HAMMARSTROM L., SUN L.C., AKERMARK B. (2002) Synthesis, redox properties, and EPR Spectrosc of manganese(III) complexes of the ligand N,N-bis(2-hydroxybenzyl)-N'-2-hdroxybenzylidene-1,2-diaminoethane: Formation of mononuclear, dinuclear, and even higher nuclearity complexes. *Chem. Eur. J.* **8**:3757–3768

SCHUG K., MCNAIR H.M. (2002) Adduct formation in electrospray ionization. Part 1: Common acidic pharmaceuticals. *J. Sep. Sci.* **25**:760–766

SCHUG K., MCNAIR H.M. (2003) Adduct formation in electrospray ionization mass spectrometry II. Benzoic acid derivatives. *J. Chrom. A.* **985**:531–539

SCHULTEN H.R., SCHNITZER M. (1993) A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, **80**:29–30

SERA – *Syracuse Environmental Research Associates*, Inc. (1994) Vanquish Chemical Background Statement. TR 9522-01f, dated October 18, 1995. USDA/Forest, Service Contract 43-3187-5-0787

SHAHGHOLI M., CALLAHAN J.H., RAPPOLI B.J., ROWLEY D.A. (1997) Investigation of copper saccharide complexation reactions using potentiometry and electrospray mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.* **32**:1080–1093

SHARMA B., AHLERT, R.C. (1977) Nitrification and Nitrogen Removal, *Water Res.*, **11**, 897–925

SHARP B.L., SULAIMAN A.B., TAYLOR K.A., GREEN B.N. (1997) Observations on the use of ion spray mass spectroscopy for elemental speciation in aqueous solutions without recourse to chromatography. *J. Anal. Atomic Spectrom.* **12**:603–609

SHEEHAN P., RICKS R., RIPPLE S. *et al.* (1992) Field evaluation of a sampling and analytical method for environmental levels of airborne hexavalent chromium. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **53(1)**:57-68.

SHEETS T.J. (1958) The comparative toxicities of four phenylurea herbicides in several soil types. *Weeds*, **6**:413–434

SHEN J., BRODBELT J. (1999) Formation of doubly charged transition metal polyether pyridyl mixed ligand complexes by electrospray ionization. *J. Mass Spectrom.* **34**:137–146

SHEN Y.H. (1999) Sorption of natural dissolved organic matter in soil. *Chemosphere*, **38**:1505–1515

SHERBURNE H.R., FREED V.H. (1954) Adsorption of 3-(*p*-chlorophenol)-1,1-dimethylurea as a function of soil constituents. *J. Agric. Food Chem.*, **2**:937–939

SHIGERU S. (2002) IM-1-5 (N1-((6-chloro-3-pyridyl)methyl)-N1-methylacetamidine): Acute toxicity to *Daphnia magna*. Source: *Aventis CropScience*, Report No. C028602

SILLEN L.G. (1964) High speed computers as a supplement to graphical methods – III.Twistmatrixmethods for the error square sumin problems with many unknown constants. *Acta Chem. Scand.* **18**:1085–1098

SIMMONDS M. (2003) [^{14}C]-Acetamiprid: Aged Residue Column Leaching Study in Two Calcareous Soils, *BayerCropScience SA*, Report C029849

SKYLLBERG U. (1999) pH and solubility of aluminium in acidic forest soils: a consequence of reaction between organic acidity and aluminium alkalinity. *Eur. J. Soil. Sci.*, **50**:95–106

SMITH A.P. SAVAGE S.A.; LOVE J., FRASER C.L. (2004) Synthesis of 4-, 5-, and 6-Methyl-2,2'-Bipyridine by a Negishi Cross-Coupling Strategy. *Org. Synth.* Coll. Vol. **10**:517

SMITH A.P., LAMBA, J.J., FRASER C. L. (2004) Efficient Synthesis of Halomethyl-2,2'-Bipyridines: 4,4'-*Bis*(chloromethyl)-2,2'-Bipyridine. *Org. Synth.* Coll. Vol. **10**:107

SMITH G., O'REILLY E.J, KENNARD C.H.L. (1983) Metal complexes of dicamba: the crystal and molecular structures of dicamba(3,6-Dichloro-2-methoxybenzoic acid) and catena-μ-Aqua-diaquabis(3,6-dichloro-2-methoxybenzoato)zinc(II) dihydrate. *Australian Journal of Chemistry*, **36**(11) 2175–2183

SMITH R.D., WAHL J.H., GOODLETT D.R., HOFSTADLER S.A. (1993) Capillary electrophoresis mass spectrometry. *Anal. Chem.* **65**:574A–584A

SOIGNET D.M, HARGIS L.G. (1973) Electrochemical Investigation of the Dichlorobis(2,2'-bipyridine)-chromium(III) Complex. *Inorganic Chemistry*, Vol. **12**, No. 4, 877 – 881

SOUTHWICK L.M., WILLIS G.H., DASGUPTA P.K., KESZTHELYI C.P. (1976) The polarographic reduction of some dinitroaniline herbicides. *Anal. Chim. Acta*, **82**: p.29–35

SPASOJEVIC I., BOUKHALFA H., STEVENS R.D., CRUMBLISS A.L. (2001) Aqueous solution speciation of Fe(III) complexes with dihydroxamate siderophores alcaligin and rhodotorulic acid and synthetic analogues using electrospray ionization mass spectrometry. *Inorg. Chem.* **40**:49–58

SPENCER W.F., CLIATH M.M. (1974) Factors affecting vapour loss of trifluralin from soil. *J. Agric. Food Chem.*, **22**:987–991

STEVENSON F.J.: *Humus Chemistry*, Wiley, New York, 1982

STEWART I.I. (1999) Electrospray mass spectrometry: A tool for elemental speciation. *Spectrochim. Acta (Part B) Atom. Spectrosc*. **54**:1649–1695

STILLMAN M.J., THOMAS D., TREVITHICK C., GUO X., SIU M. (2000) Circular dichroism, kinetic and mass spectrometric studies of copper(I) and mercury(II) binding to metallothionein. *J. Inorg. Biochem.* **79**:11–19

STOLWORTHY J.C., PASZCZYNSKI A., KORUS R., CRAWFORD R.L. (2001) Metal binding by pyridine 2,6-*bis*(monothiocarboxylic acid), a biochelator produced by *Pseudomonas stutzeri* and *Pseudomonas putida*. *Biodegrad.* **12**:411–418

STONE J.A., VUKOMANOVIC D. (2001) Electrospray and collisionally activated dissociation study of the association of pyocyanin with alkali metal cations and doubly charged alkaline earth and zinc cations. *Int. J. Mass Spectrom.* **210**:341–359

STOUGAARD R.N., SHEA P.J., MARTIN A.R. (1990) Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. *Weed Sci.*, **38**:67–73

STOUT L.D. *et al.* (1983) A chronic study of alachlor administered in feed to Long-Evans rats. St Louis, MO, *Monsanto Agricultural Company*, (report no. CDL:252498, submitted to WHO)

STUMM, W.: *Chemistry of the Solid–Water Interface*, John Wiley, 1992

SURCMACZ-GORSKA J., GERNAEY K., DEMUYNCK C., VANROLLEGHEM P., VERSTRAETE W. (1995) Nitrification Process Control in Activated Sludge Using Oxygen Uptake Rate Measurements. *Environ. Technol.*, **16**, 569–577

SUTRISNO, B.Y., LAWRANCE G.A., VON NAGY FELSOBUKI E.I. (2001) Determination of acid dissociation constants of neamine by potentiometric and electrospray mass spectral techniques. *Struct. Chem.* **12**:189–195

SUZUKI Y, SERITA F. (1985) Simultaneous determination of water-soluble trivalent and hexavalent chromium by anion exchange high-pressure liquid chromatography. *Ind. Health* **23**:207-220.

SWANSON R.A., DUTT G.R. (1973) Chemical and physical processes that affect atrazine and distribution in soil systems. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, **37**:872–876

SWINEFORD D.M., BELISLE A.A. (1989) Analysis of trifluralin, methyl paraoxon, methyl parathion, fenvalerate and 2,4-D dimethylamine in pond water using solid-phase extraction. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. **8**, Issue 6, 465–468

TAIZ, ZEIGER: *Plant Physiology*, Third Edition, 2002, page 306

TANG L., KEBARLE P. (1993) Dependence of ion intensity in electrospray mass spectrometry on the concentration of the analytes in the electrosprayed solution. *Anal. Chem.* **65**:3654–3668

TAVARES, M.C.H., REZENDE M.O.D.O. (1998) Effect of humic acid on the sorption of trifluralin by soils. *J. Environ. Sci. Health, B*, **33**(6): p.749–767

TIPPING E., WOOF C. (1991) The distribution of humic substances between the solid and aqueous phases of acid organic soils; a description based on humic heterogeneity and charge-dependent soorption equilibria. *J. Soil. Sci.*, **42**, 437–448

TIPPING, E. (1994) WHAM – A chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments and soils incorporating a discrete-site / electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computers and Geosciences*, **20(6)**,973–1023

TIPPING, E., HURLEY, M.A. (1992) A unifying model of cation binding by humic substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **56(10)**, 3627–3641

TOR, J., XU C., STUCKI J.M, WANDER M., SIMS G.K. (2000) Trifluralin degradation under micro-biologically induced nitrate and Fe(III) reducing conditions. *Env. Sci. Tech.*, **34**:3148–3152.

TORGRIMSEN T. 1982. Analysis of chromium. In: Langård S, ed. Biological and environmental aspects of chromium. New York, NY: *Elsevier Biomedical Press*, 65-99.

TOXICOLOGICAL PROFILE FOR CHROMIUM, *U.S. Department of Health and Human Services*, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002

TOXICOLOGY DATA BANK, (2008) Bethesda, MD, National Library of Medicine, USA

TRAORE S., AARON J.J. (1989) Analysis of trifluralin and other dinitroaniline herbicide residues by zero-order and derivative ultraviolet spectrophotometry. *Analyst*, **114**(5):609–13

TUNCELI A., TURKER A.R. (2002) Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in water after preconcentration of its 1,5-diphenylcarbazone complex on amberlite XAD-16 resin and determination by FAAS. *Talanta*, **57**:1199

TUREK A., KOBYECKA J., PTASZYSKI B. (2004) Complexes of Dicamba with cadmium(II), mercury(II), lead and zinc(II). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. **78**:513–524

UKRAINCZYK L., AJWA H.A. (1996) Primisulfuron sorption on minerals and soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **60**:460–467

UNIVERSITY OF CALIFORNIA (2010): Pesticide atrazine can turn male frogs into females retrieved *(article 22933*, March 5th, 2010)

UPCHURCH R.P. (1968) The influence of soil factors on the phytotoxicity and plant selectivity of diuron. *Weeds*. **6**:161–171

USDA-ARS (US Department of Agriculture – Agricultural Research Service) ARS Pesticide Properties Database

USDA-NRCS (US Department of Agriculture – Natural Resources Conservation Service), WIN-PST Pesticide Properties Database)

UV atlas of organic compounds, published in collaboration with the Photoelectric Spectrometry Group, London, and the Institute for Spectrochemie un Angewandte Sspectroskopie, Dortmund, volumes 1-5, London, Butterworths and Weinheim, Chemie, 1966 – 1971

VAISAR T., GATLIN C.L., RAO R.D., SEYMOUR J.L., TURECEK F. (2001) Sequence information, distinction and quantitation of C terminal leucine and isoleucine in ternary complexes of tripeptides with Cu(II) and 2,2'-bipyridine. *J. Mass Spectrom.* **36**:306–316

VENCILL W.K. *WSSA herbicide handbook* (8th edition). Weed Science Society of America. Lawrence, KS – USA, 2002, ISBN 1-891276-33-6.

WACKETT L.P., SADOWSKY M.J., MARTINEZ B., SHAPIR N. (January 2002). "Biodegradation of atrazine and related s-triazine compounds: from enzymes to field studies". Appl. Microbiol. Biotechnol. **58 (1)**: 39–45

WALKER A. (1972) Availability of atrazine to plants in different soils., *Pestic. Sci.*, **3**:139–148

WALKER W.J., CRONAN C.S, BLOOM P.R. (1990) Aluminium solubility in organic soil horizons from northern and southern forested watersheds. Soil. Sci. Soc. Am. J., **54**:369–374

WALKLEY A., BLACK L.A. (1934) An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, **37**:29–37

WALSH A.R., O'HALLORAN J. (1996) Chromium speciation in tannery effluent. (I) An assessment of techniques and the role of organic Cr(III) complexes. *Water Res.*, **30:**2393–2400

WANG G.D, COLE R.B. (1994a) Disparity between solution phase equilibria and charge state distributions in positive ion electrospray mass spectrometry. *Org. Mass Spectrom.* **29**:419–427.

WANG G.D., COLE R.B. (1994b) Disparity between solution phase equilibria and change state distributions in positive ion electrospray mass spectrometry (vol. 29, p. 419, 1994). *Org. Mass Spectrom.* **29**:CP2–CP2.

WANG H.J., AGNES G.R. (1999a). Evaluation of electrospray mass spectrometry as a technique for quantitative analysis of kinetically labile solution species. *Anal. Chem.* **71**:3785–3792

WANG H.J., AGNES G.R. (1999b) Kinetically labile equilibrium shifts induced by the electrospray process. Anal. Chem. **71**:4166–4172

WANG J., ASHLEY K., KENNEDY E.R. *et al.* (1997) Determination of hexavalent chromium in industrial samples using ultrasonic extraction and flow injection analysis. *Analyst* **122(11)**:1307-1312.

WANG J.Y., GUEVREMONT R., SIU K.W.M. (1995) Multiple alkali metal ion complexes of tripeptides: An investigation by means of electrospray tandem mass spectrometry. *Eur. Mass Spectrom.* **1**:171–181

WANG K.S, GOKEL G.W. (1996) Correlation of solution and gas phase complexation assessed by electrospray ionization mass spectrometry: Application to one, two, and three ring macrocycles. *J. Org. Chem.* **61**:4693–4697

WANG K.S., GOKEL G.W. (1996) Correlation of solution and gas phase complexation assessed by electrospray ionization mass spectrometry: Application to one, two, and three ring macrocycles. *J. Org Chem.* **61**:4693–4697

WANG Q.Q., LIU J.L., HUANG B.L., YANG L.M., GUO X.M., WANG X.R. (2000) Evaluation of dissolved species of lanthanum in the solutions containing different amino acids by cation exchange chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Sci.* **16**:241–244

WAUCHOPE R.D. BUTTLER T.M, HORNSBY A.G., AUGUSTIJN-BECKERS P.W.M, BURT J.P. (1992) The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. II. Additional compounds., *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **123**:1–164

WAUCHOPE R.D., NASH R.G., ROJAS K.W., AHUJA L.R., WILLIS G.H., MA Q-L., MCDOWELL L.L, MOORMAN T.B. (1999) Pesticide processes, in Root zone water quality model: modeling management effects on

water quality and production, ed. by Ahuja L.R., Hanson J.D., Shaffer M.J., Rojas K., Water Resources Publications, LLC, Englewood, CO, pp 163–244

WEBER J.B. (1993) Ionization and sorption fomesafen and atrazine by soils and soils constituents. *Pestic. Sci.*, **39**:31–38

WEED S.B., WEBER J.B. (1974) Pesticide organic matter interactions in *Pesticides in soil and water*, ed by Guenzi W.D., Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp 39–66

WERKHEISER W.O., ANDERSON S.J. (1996) Effect of soil properties and surfactant on primisulfuron adsorption. *J. Environ. Qual.*, **25**:809–814

WHITEHOUSE C.M., DREYER R.N., YAMASHITA M., FENN J.B. (1985) Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers. *Anal. Chem.*, **57**:675

WHO 1988. Chromium. Environmental Health Criteria 61. Geneva: United Nations Environment Programme. International Labour Organisation. *World Health Organization*.

WIERSEMA J.M., WRIGHT L., ROGERS B., *et al.* (1984) Human exposure to potentially toxic elements through ambient air in Texas. In: *Proceedings of the 77th meeting of Air Pollution Control Association*, Vol. Austin, TX, 2-15.

WILLIAMS S.M., BRODBELT J.S., BARTSCH R.A. (2003a) Evaluation of alkali and alkaline earth metal cation selectivities of lariat ether amides by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **14**:1215–1228

WILLIAMS S.M., BRODBELT J.S., BARTSCH R.A. (2003a) Evaluation of alkali and alkaline earth metal cation selectivities of lariat ether amides by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **14**:1215–1228

WILLIAMS S.M., BRODBELT J.S., HUANG Z.L., LAI H.G., MARCHAND A.P. (2003b) Complexation of silver and co recovered metals with novel aza crown ether macrocycles by electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst* **128**:1352–1359

WILLIAMS S.M., BRODBELT J.S., HUANG Z.L., LAI H.G., MARCHAND A.P. (2003b) Complexation of silver and co recovered metals with novel aza crown ether macrocycles by electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst* **128**:1352–1359

WILLIS G.H., WANDER R.C., SOUTHWICK L.M. (1974) Degradation of trifluralin in soil suspensions as related to redox potential. *J. Environ. Qual.*, **3**(3): p.262-265

WILM M., SHEVCHENKO A., HOUTHAEVE T. *et al.* (1996) Femtomole sequencing of proteins from polyacrylamide gels by nano-electrospray mass spectrometry. *Nature*, **379** (6564), 466–9

WILSON A.G.E., REISCH C.M. (1985) The study of alachlor metabolism and elimination in the mouse. Part I: Elimination. St Louis, MO, *Monsanto Agricultural Company* (study submitted to WHO)

WILSON L.M., CANNON R.D. (1988) Equilibrium dissociation of tetrakis(acetato)dichromium(II) in acetic acid/water media, *Inorg. Chem.*, **27**, 2382

WOLFE N.L., MINGELGRIN U., MILLER G.C. (1990) Abiotic transformations in water, sediments and soil, in *Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling*, ed by Cheng H.H., SSSA Book Series No. 2, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA

WOODCOCK J.C., HENDERSON W., MILES C.O. (2001) Metal complexes of the mycotoxins sporidesmin A and gliotoxin, investigated by electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Inorg. Biochem.* **85**:187–199

WOODCOCK J.C., HENDERSON W., MILES C.O., NICHOLSON B.K. (2001) Metal complexes of sporidesmin D and dimethylgliotoxin, investigated by electrospray ionisation mass spectrometry. *J. Inorg. Biochem.* **84**:225–232

WU H.F., HUAN S.M.,WU C.F. (2002) Conformational analysis and binding affinity determination for host guest complexation of alkali metal ions with *bis*-crown ethers by electrospray mass spectrometry and molecular modeling. *Eur. J. Mass Spectrom.* **8**:375–380

XU J., STUCKI J.W., WU J., KOSTKA J., SIMS G.K. (2001) Fate of atrazine and alachlor in redox-treated ferruginous smectite. *Environmental Toxicology & Chemistry*, **20**:186–194

XU Y.D., ZHANG X.,YERGEY A.L. (1996) Electrospray ionization of copper glycine solutions. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **7**:25–29

XU, J., STUCKI J.W., WU J., KOSTKA J., AND SIMS G.K. (2001) Fate of atrazine and alachlor in redox-treated ferruginous smectite. *Environmental Toxicology & Chemistry* **20**: 2717-2724

YAMASHITA M., FENN J.B. (1984) Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *J. Phys. Chem.*, **88**:4451

YAMASHITA M., FENN J.B. (1984) Negative ion production with the electrospray ion source. *J. Phys. Chem.*, **88**:4671

YAMASHITA M., FENN J.B. (1984a) Electrospray ion source. Another variation on the free jet theme. *J. Phys. Chem.* **88**:4451–4459

YAMASHITA M., FENN J.B. (1984b) Negative ion production with theelectrospray ion source. *J. Phys. Chem.* **88**:4671–4675

YANG JY, YANG XE, HE ZL, LI TQ, SHENTU JL, STOFFELLA PJ (2006) Effects of pH, organic acids, and inorganic ions on lead desorption from soils. *Environ Pollut* 143:9–15.

YE Y.P., LIU M., KAO J.L.K., MARSHALL G.R. (2003) Peptide bond modification for metal coordination: Peptides containing two hydroxamate groups. *Biopol.* **71**:489–515

YE Z.F., HE W.J., SHI X.F., ZHU L.G. (2001) Interaction of metal ions with two new calix[4,8]arene derivatives. *J. Coord. Chem.* **54**:105–116

ZACHARA J.M., AINSWORTH C.C., COWAN C.E., RESCH C.T. (1989) Adsorption of hromate by Subsurface Soil Horizons. *Soil Science Society American Journal*, Vol. **53**, p418–428 (March-April 1989)

ZACHARA J.M., COWEN C.E., SCHMIDT R.L., AINSWORTH C.C. (1988) Chromate Adsorption by Kaolinite. *Clays and Clay Minerals*, Vol. **36**, No. **4**. p317–326

ZHANG M.X., GUMEROV D.R., KALTASHOV I.A., MASON A.B. (2004) Indirect detection of protein metal binding: Interaction of serum transferrin with In^{3+} and Bi^{3+}. J. Am. Soc. Mass Spectrom. **15**:1658–1664

ZHENG X.J., JIN L.P., MEI Y.H., ZHU L.G. (2001) Photochromism and electrospray mass spectrum of the ternary europium system with nicotinic acid and 1,10-phenanthroline. *J. Sol. Chem.* **30**:985–994

ZHENQING S., DI TORO D.M., ALLEN H.E., SPARKS D.L. (2008) A WHAM−based Kinetics Model for Zn Adsorption and Desorption to Soils. *Environ. Sci. Technol.*, **42(15)**, pp 5630–5636

ZHONG W.Z., LEMLEY A.T., SPALIK J. (1984) Quantitative determination of ppb levels of carbamate pesticides in water by capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, **299**:269–274.

Zhou L.X., Wong J.W.C. (2001) Effects of dissolved organic matter from sludge and sludge compost on soil Cu sorption. *J. Environ. Qual.*, **30**:878–883

ZOMEREN A.V., COMANS R.N. (2004) Contribution of natural organic matter to copper leaching from municipal solid waste incinerator bottom ash. *Environ. Sci. Technol.*, **38**:3927–3932

7 PRILOG

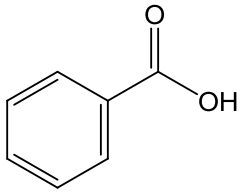
7.1 Opšte karakteristike liganada prirodnog i antropogenog porekla

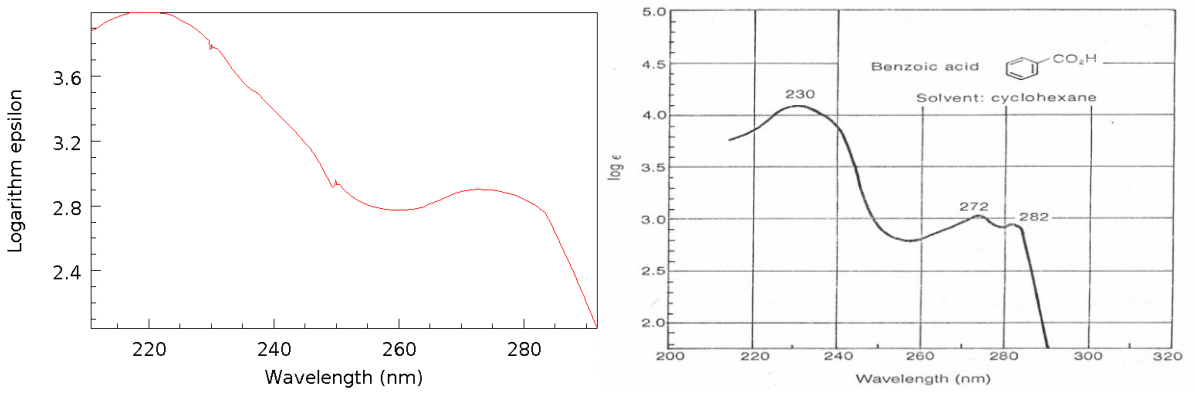
7.1.1 Opšte karakteristike O-donor liganada

7.1.1.1 Benzoeva kiselina

Benzoeva kiselina kao najjednostavnija aromatična karboksilna kiselina je izolovana još u XVI veku kao „*benzoin –smola*“ iz kore drveta roda *Styrax*. Benzoeva kiselina i benzoati se masovno koriste kao konzervansi hrane (aditivi E210, E211, E212, E213) jer efikasno inhibiraju rast gljivica buđi, kvasca i nekih bakterija. Mehanizam delovanja počinje apsorpcijom benzoeve kiseline, a ukoliko je intercelularni pH ≤ 5,0 anaerobna fermentacija glukoze putem fosfofruktokinaze se smanjuje za oko 95% u prisustvu benzoata. Zato je efikasnost delovanja vrlo zavisna od pH i benzoeva kiselina se prvenstveno koristi za konzerviranje kiselih prehrambenih proizvoda – voćnih sokova (limunska kiselina), penušavih pića (CO_2), bezalkoholnih *cola*-pića (fosforna kiselina), marinirane hrane, kiselih krastavaca (sirćetna kiselina) itd., u koncentracijama 0,05 – 0,1%.

Tabela 7.1-1. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike benzoeve kiseline.

BENZOEVA KISELINA	benzenkarboksilna kiselina
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_7H_6O_2$
CAS number	65 – 85 – 0
Molekulska masa	122,12 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 68,85% H – 4,95% O – 26,20%
Izgled	bela kristalna supstanca, bez mirisa
Gustina	g/cm^{-3}
Tačka topljenja	122 °C (± 0,7)
Tačka ključanja	249 °C
Rastvorljivost	2,9 g/L u H_2O (na 25°C)
Konstanta kiselosti	pK_a = 4,21
UV/VIS karakteristike	λ_{max} = 274 nm log ε = 2,898 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ_{min} = 260 nm log ε = 2,771 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ_{max} = 220 nm log ε = 4,012 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]



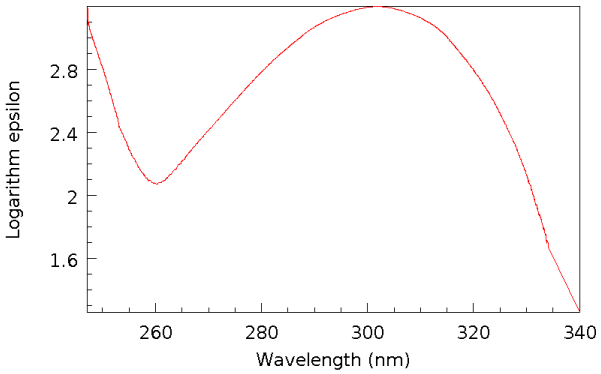
Slika 7.1-1. UV/VIS spektar benzoeve kiseline u vodi (levo) i cikloheksanu (desno) [NIST database, *National Institute for Standards and Technology*, USA; NEWMAN i DENO, 1951].

7.1.1.2 Salicilna kiselina

Salicilna kiselina (od lat. *Salix* – vrba, iz čije je kore prvi put izolovana) je raprostranjena u prirodi kao *fenolni fitohormon*, koji ima ulogu u regulaciji rasta biljaka, fotosintezim transpiraciji, jonskom transportu. Indukuje specifične promene u anatomiji lista i strukturi *hloroplasta* [HAYAT i AHMAD, 2007]. Predstavlja deo endogenog signalnog mehanizma, posredujući u odbrani biljaka od različitih patogena, podstičući produkciju *pathogenesis-related* proteina [HUIJSDUIJNEN *et al.*, 1986]. Zanimljivo je da se odbrambeni signali mogu prenositi i na susedne biljke, putem isparljivog estra, metil-salicilata [TAIZ i ZEIGER, 2002].

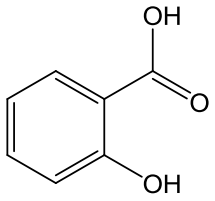
Salicilna kiselina je od davnina poznata u medicini kao sredstvo za smanjenje bolova i lečenje groznice, a acetilsalicilna kiselina (aspirin) je decenijama lek sa najvećom svetskom proizvodnjom. Osim brojnih primena njenih derivata u medicini i kozmetici, salicilna kiselina se upotrebljava kao baktericid i antiseptik, odnosno kao konzervans u proizvodnji hrane, mada može biti toksična u većim dozama.

Salicilna kiselina ima dva jonizabilna H-atoma, iz karboksilne i hidroksilne grupe, ali deprotonacija OH grupe se odvija na vrlo visokim pH, tako da se ne može pouzdano odrediti staklenom elektrodom ($pK_{a2} \approx 13{,}80$).



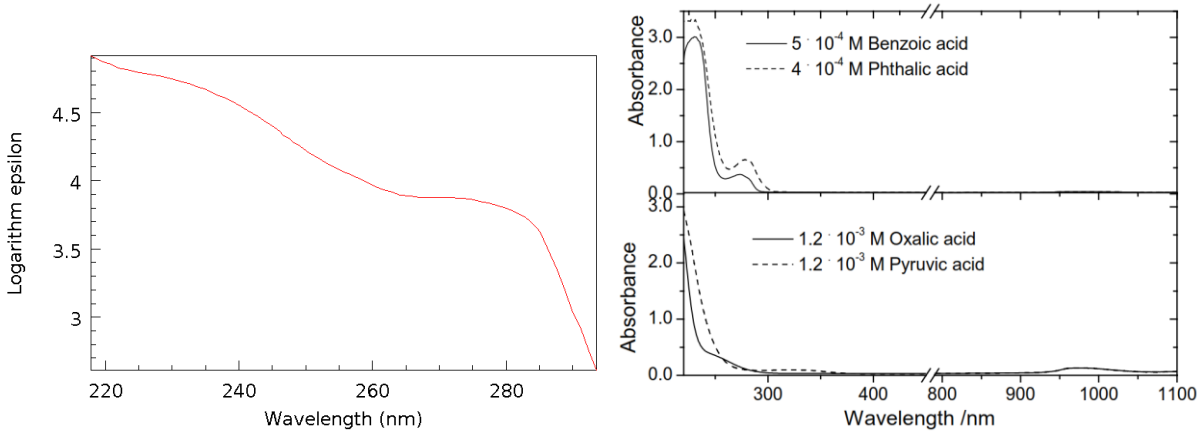
Slika 7.1-2. UV/VIS spektar rastvora salicilne kiseline [NIST database, *National Institute for Standards and Technology*, USA].

Tabela 7.1-2. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike salicilne kiseline.

SALICILNA KISELINA	2-hidroksibenzoeva kiselina
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_7H_6O_3$
CAS number	69 – 72 – 7
Molekulska masa	138,12 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 60,87% H – 4,38% O – 34,75%
Izgled	bela čvrsta kristalna supstanca
Gustina	1,443 g/cm^3
Tačka topljenja	159°C
Tačka ključanja	221°C (na 20 mmHg)
Rastvorljivost	0,2 g/100 mL H_2O (na 20°C)
Konstanta kiselosti	$pK_a = 2,97$
UV/VIS karakteristike	$\lambda_{max} = 237$ nm – $\lambda_{min} = 260$ nm log ε = 2,110 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] $\lambda_{max} = 302$ nm log ε = 3,175 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]

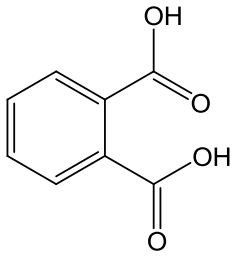
7.1.1.3 Ftalna kiselina

Proizvodi se katalitičkom oksidacijom naftalena do anhidrida i zatim njegovom hidrolizom do kiseline (francuski hemičar Auguste Laurent, 1836), a takođe i oksidacijom uglovodonika oleumom, uz $HgSO_4$ kao katalizator. Kao i druge organske kiseline manje molekulske mase (sirćetna, mlečna, malonska, oksalna itd.) ftalna kiselina je prirodni sastojak nezagađenih prirodnih vodotokova [DENG i STONE, 1996].



Slika 7.1-3. UV/VIS spektar ftalne kiseline (levo) [NIST database, *National Institute for Standards and Technology*, USA]; UV/VIS spektar ftalne i benzoeve kiseline (desno, gornji deo) [LUND MYHRE i NIELSEN, 2004].

Tabela 7.1-3. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike ftalne kiseline.

FTALNA KISELINA	benzen-1,2-dikarboksilna kiselina; orto-ftalna kiselina
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_8H_6O_4$
CAS number	88 – 99 – 3
Molekulska masa	166,13 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 57,84% H – 3,64% O – 38,52%
Izgled	beli kristalni prah, bez mirisa
Gustina	1,593 g/cm^3
Tačka topljenja	191 – 230°C *
Rastvorljivost	0,6 g/100 mL H_2O
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = 0,2
Kostanta kiselosti	pK_{a1} = 2,98 pK_{a2} = 5,28

*Nekoliko podataka za tačku topljenja je referencirano u literaturi: (a) 210 – 211°C uz raspadanje [*Sigma-Aldrich* on-line database]; (b) 191°C u zatopljenoj cevi [*Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*]; (c) 230°C uz konverziju u anhidrid ftalne kiseline i vodu [*J.T.Baker MSDS*].

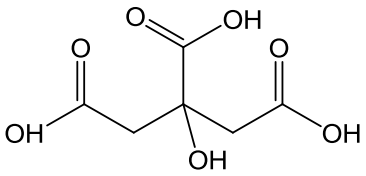
Tabela 7.1-4. Konstante protonacije i molarne apsorbance ftalne kiseline (I = 0,1 mol/L $NaNO_3$, t = 25°C), određene potenciomentrijski i spektrometrijski [LURIE, 1989].

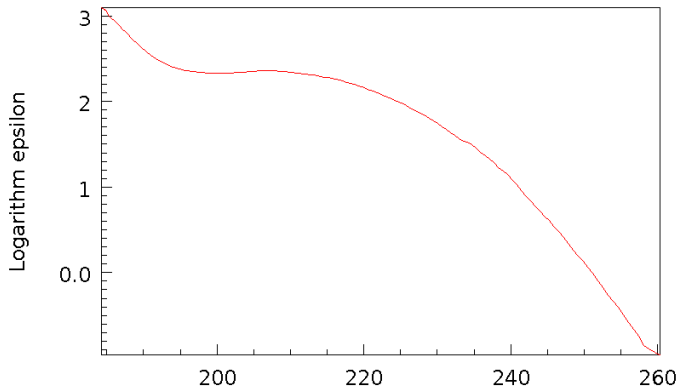
Vrsta	**Opseg pH**	**Potenciometrija**	**Spektrometrija**			
		log K	log K	ε (M^{-1} cm^{-1}) (λ nm)		
H_2Pht	pH < 3	2,78	2,87	1183 (272)	1321 (277)	1281 (280)
$HPht^-$	3 < pH < 5	4,98	4,94	1084 (272)	1310 (277)	1437 (280)
Pht^{2-}	pH > 5			786 (272)	721 (277)	654 (280)

7.1.1.4 Limunska kiselina

Spada u slabe netoksične organske kiseline, koja je nešto jača od tipičnih karboksilnih kiselina zato što anjon može biti stabilizovan intramolekularnom H-vezom bliskih protičnih grupa. Ima vrlo široku industrijsku upotrebu u cilju konzerviranja hrane i proizvodnje sokova, za acidifikaciju, poboljšanje ukusa itd. Svetska proizvodnja ove komercijalne hemikalije je više od milion tona godišnje. U biohemiji, konjugovana baza – citrat – je važan intermedijer u *ciklusu limunske kiseline* (*Krebs*-ov ciklus, *Szent-Györgyi – Krebs*-ov ciklus, ili *tricarboxilic acid* [TCA] *cycle*), te je zato prisutna u metabolizmu praktično svih živih bića. Reakcije ovog ciklusa daju oko 2/3 energije iz hrane koju konzumiraju viši organizmi. Limunska kiselina je važan konstituent kostiju, koji reguliše veličinu kristala kalcijumovih ingredijenata, a citrat je inhibitor *fosfofruktokinaze*, čime se reguliše ćelijska glikoliza.

Tabela 7.1-5. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike limunske kiseline.

LIMUNSKA KISELINA	2-hidroksipropan-1,2,3-trikarboksilna kiselina
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_6H_8O_7$
CAS number	77 – 92 – 9
Molekulska masa	192,12 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 37,51% H – 4,20% O – 58,29%
Izgled	bela čvrsta kristalna supstanca
Tačka topljenja	153°C
Tačka ključanja	175°C (uz raspadanje – dekarboksilacija)
Rastvorljivost	73 g/100 mL H_2O (na 20°C)
Gustina	1,665 g/cm^3
Konstanta kiselosti	pK_{a1} = 3,09 pK_{a2} = 4,75 pK_{a3} = 6,41 pK_{a4} = 16,00



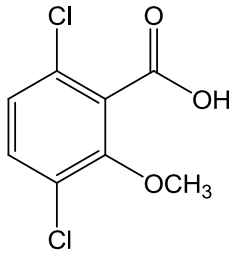
Slika 7.1-4. UV/VIS spektar rastvora limunske kiseline [NIST database, *National Institute for Standards and Technology*, USA].

7.1.1.5 Dikamba

Višedecenijskom primenom dikambe pojedine korovske vrste su razvile rezistentnost, na primer *Kochia scoparia* L., čija razvijena otpornost je uočena 1994 i nije do danas objašnjena uobičajenim modelima rezistentnosti, kao što su adsorpcija, translokacija ili modifikacija metabolizma [CRANSTON *et al.*, 2001].

Konstatovano je da bakterije *Pseudomonas maltophilia*, uz pomoć enzima dikamba-*O*-demetilaze, konvertuju dikambu u 3,6-dihlorsalicilnu kiselinu (3,6-DCSA), koje se u tlu adsorbuje mnogo jače od dikambe, ali ne poseduje herbicidalnu aktivnost, a sama toksičnost ovog metabolita nije dovoljno ispitana [BEHRENS *et al.*, 2007].

Tabela 7.1-6. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike dikambe.

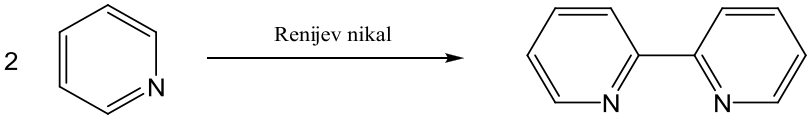
DIKAMBA	3,6-dihloro-2-metoksibenzoeva kiselina
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_8H_{16}Cl_2O_3$
CAS number	1918 – 00 – 9
Molekulska masa	221,04 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 43,47% H – 2,74% Cl – 32,08 O – 21,71%
Izgled	bela kristalna supstanca
Gustina	1,57 g/cm^3
Tačka topljenja	114 – 116 °C
Tačka ključanja	230°C (uz termičku razgradnju)
Napon pare	$1,67\times10^{-3}$ Pa (na 25°C)
Rastvorljivost	500 mg/mL u H_2O; 6,6 g/L u H_2O na 25°C, pH 1,8 >250 g/L u H_2O pH 4,1 >250 g/L u H_2O pH 6,1 >250 g/L u H_2O pH 8,2 922 g/L u etanolu
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = – 0,55 na 25°C, pH 5,0 log K_{ow} = – 1,80 na 25°C, pH 6,8 log K_{ow} = – 1,90 na 25°C, pH 8,9
Hidroliza	ne postoji, ili je vrlo spora, primećena degradacija na pH 5, 7 i 9 u periodu od 30 dana, na 25°C
Fotolitičke karakteristike	u prirodnoj vodenoj sredini DT_{50} = 15 – 50 dana
UV/VIS karakteristike	λ = 228 nm ε = 15940 [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ = 280 nm ε = 1025 [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]
Konstanta kiselosti	pK_a = 1,87

7.1.2 Opšte karakteristike N-donor liganada

7.1.2.1 2,2'-Bipiridin

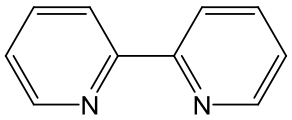
2,2'-Bipiridin je najvažniji izomer iz grupe bipiridina. Ima određenu industrijsku primenu u poljoprivredi kao pesticid, a u zdravstvenom pogledu označen je kao mutagen i kancerogen i kao reproduktivni efektor.

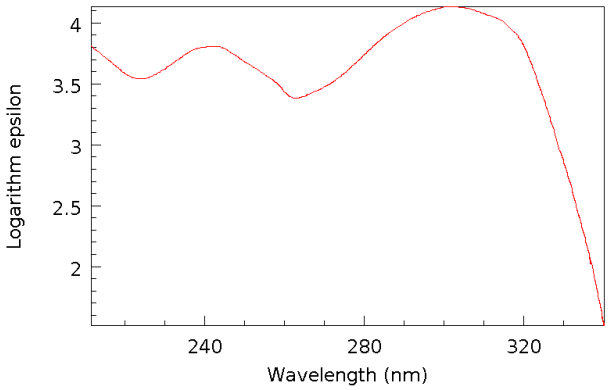
Sintetiše se dehidrogenacijom piridina u prisustvu Renijevog nikla:



(7.1-1)

Tabela 7.1-7. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike 2,2'-bipiridina.

BIPIRIDIN	2,2'-bipiridin; 2.2'-bipiridil; Bipy
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_{10}H_8N_2$
CAS number	366 – 18 – 7
Molekulska masa	156,18 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 76,90% H – 5,16% N – 17,94%
Izgled	beli kristalni prah, bez mirisa
Gustina	1,326 g/cm^3
Tačka topljenja	70 – 73°C
Tačka ključanja	273°C
Napon pare	1×10^{-5} bar (na sobnoj temp.)
Rastvorljivost	5,5 g/L u H_2O, na 22°C
Kostanta baznosti	$pK_b = 9,67$
UV/VIS karakteristike	λ_{max} = 303 nm log ε = 4,11 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ_{min} = 262 nm log ε = 3,38 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ_{max} = 242 nm log ε = 3,80 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] λ_{min} = 234 nm log ε = 3,54 ε[$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$]



Slika 7.1-5. UV/VIS spektar 2,2'-biridina [NIST database, *National Institute for Standards and Technology*, USA].

7.1.2.2 Acetamiprid

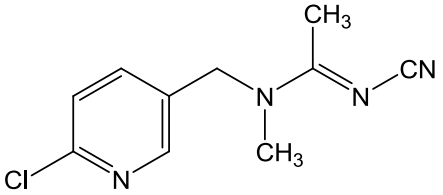
Acetamprid je svrstan u II kategoriju toksičnosti u studijama akutne oralne toksičnosti na pacovima, zatim u III kategoriju toksičnosti prema akutnim dermalnim i inhalatornim ekspozicijama na pacovima, a spada u IV kategoriju toksičnosti u pogledu kožne iritacije kod zečeva.

Od važnosti je da acetamprid kao insekticid pokazuje relativno dobru selektivnost, odnosno ima umerenu toksičnost prema pčelama, a nema negativnih efekata ni prema tretiranim biljkama [SHIGERU, 2002; KLING, 2001]

U pogledu uticaja na životnu sredinu, acetamiprid pokazuje vrlo dobre karakteristike, koje ga čine perspektivnim u komercijalnoj primeni. Vrlo je značajno da se, prema svim studijama, u zemljištu brzo degradira putem aerobnog metabolizma, sa vremenom

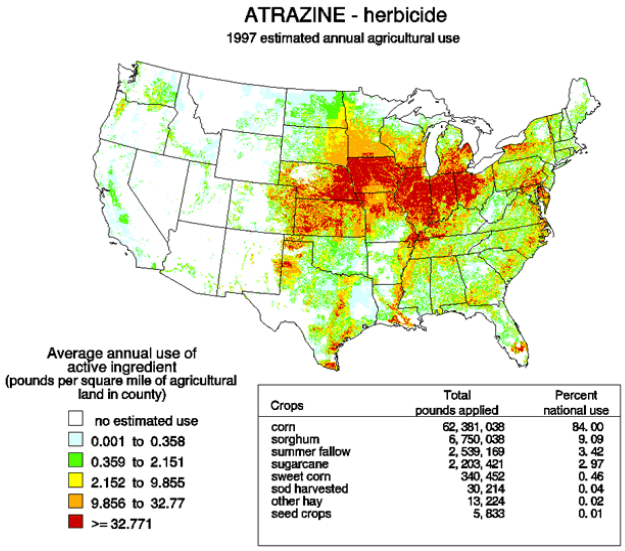
poluraspada od < 24 h do 8,2 dana. Glavni metabolit, metil(6-hloro-3-piridil)metilamin, je znatno stabilniji od samog acetamiprida, a njegova koncentracija dostiže maksimum, izražen kao 73,3% konvertovanog pesticida, posle 121 dana. Za ovaj metabolit nisu dokazani upadljivi negativni efekti.

Tabela 7.1-8. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike acetamprida

ACETAMIPRID	*N*-[(6-hloro-3-piridyl)metil]-*N'*-cijano-*N*-metil-acetamidin
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_{10}H_{11}ClN_4$
CAS number	135410– 20 – 7
Molekulska masa	222,67 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 53,94% H – 4,98% Cl – 15,92% N – 25,16%
Izgled	bela praškasta supstanca, bez mirisa, slabo zapaljiva i neeksplozivna
Gustina	1,17 g/cm^3
Tačka topljenja	98,9 °C
Napon pare	$1,73\times10^{-7}$ Pa (na 50°C)
Rastvorljivost u vodi	čista voda $4,25\times10^3$ mg/L (na 25°C) pufer, pH = 5,0 $3,48\times10^3$ mg/L (na 25°C) pufer, pH = 7,0 $2,95\times10^3$ mg/L (na 25°C) pufer, pH = 9,0 $3,96\times10^3$ mg/L (na 25°C)
Rastvorljivost u organskim rastvaračima	heksan 6,54 ppm (na 25°C) benzen 2,44 g/100g (na 25°C) metanol >20g/100g (na 25°C) acetonitril >20g/100g (na 25°C)
Koef. raspodele oktanol/voda	$K_{ow} = 6,27$ $\log K_{ow} = 0,8$ na 20°C, promena pH bez značajnog uticaja
Konstanta kiselosti	$pK_a = 0,7$ (na 25°C)
UV/VIS apsorpcija (max.)	$\lambda_{max} = 247$ nm $\varepsilon = 1,97\times10^4$ [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] $\lambda_{max} = 217$ nm $\varepsilon = 1,21\times10^4$ [$cm^{-1}\times mol^{-1}dm^3$] (u neutralnoj sredini, rastv. CH_3OH/H_2O)

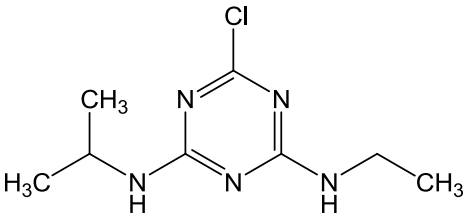
7.1.2.3 Atrazin

Atrazin se sintetiše iz hlorida cijanurne kiselina, koji se sekvencijalno tretira etilaminom i izopropilaminom. Kao i drugi triazinski herbicidi, atrazin deluje blokiranjem *plastohinon-vezujućeg* proteina u *fotosistemu II*, koji ne postoji u životinjskim organizmima. Biljka umire usled oksidativnog oštećenja prouzrokovanog remećenjem elektron-transportnog procesa u metabolizmu, a samo oksidatvno dejstvo se ubrzava pri jakom intenzitetu svetlosti [APPLEBY i MÜLLER 2002].



Slika 7.1-6. Procenjena upotreba atrazina u USA, 1997 god. (USGS Pesticide Use Maps) u funtama atrazina po kvadratnoj milji poljoprivrednog zemljišta. [1 funta (*pound*) = 0,453 kg; 1 milja (*mile*) = 1,609 km; 1 funta/ kv. milji = 0,17498 kg/km^2].

Tabela 7.1-9. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike atrazina

ATRAZIN	1-hloro-3-etilamino-5-izopropilamino-2,4,6-triazin
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_8H_{14}ClN_5$
CAS number	1912 – 24 – 9
Molekulska masa	215,68 gmol^{-1}
Elementalni sastav	C – 44,55% H – 6,54% Cl – 16,44% N – 32,47%
Izgled	bezbojna čvrsta supstanca, bez mirisa, slabo zapaljiva
Gustina	1,187 gcm^{-3}
Tačka topljenja	175 °C (448 K)
Tačka ključanja	200 °C (473 K)
Napon pare	2,89×10^{-7} mm Hg (na 25°C)
Rastvorljivost u vodi	34,7 mg/L H_2O (na 22°C)
Rastvorljivost u organskim rastvaračima	etilacetat 24 g/L ppm (na 25°C) n-pentan 360 mg/L (na 27°C) metanol 18 g/L (na 27°C) hloroform 52 g/L (na 27°C)
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = 2,60 (na 20°C)
Konstanta kiselosti	pK_a = 1,68 (na 20°C)

Atrazin može biti katabolizovan kao izvor ugljenika i azota u redukcionim sredinama, i za određene aerobne degradatore atrazina je pokazno da pri uslovima smanjene dostupnosti kiseonika (*anoksija*), a u prisustvu nitrata kao elektron akceprora, mogu da uključe atrazin u proces *denitrifikacije* [CRAWFORD *et al.* 1998].

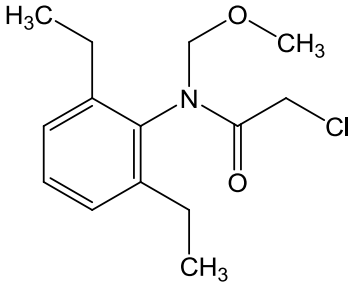
Efekti na amfibijske organizme (vodozemce) su opisani u litertaturi, a nastaju kao posledica *teratogenog* dejstva atrazina, ogledaju se u pojavi demaskulinizacije muških primeraka žaba *Rana pipiens* (engl. *northern leopard frog*), čak i pri niskim koncentracijama [HAYES *et al.* 2003], kao i u poremećaju metabolizma estrogena [MIZOTA i UEDA 2006]. Novije studije pokazuju da je atrazin može prouzrokovati sterilnost 75% muških primeraka žaba, kao i konverziju iz muškog u ženski pol kod 10% primeraka [UNIVERSITY OF CALIFORNIA 2010].

Ipak, Američka agencija za zaštitu životne sredine (EPA, *Environmental Protection Agency*, USA) i njigov nezavisni *Scientific Advisory Panel* (SAP) je na osnovu svih raspoloživih studija na ovu temu uključujići i rad HAYES-a, zaključila da još uvek nema dovoljno eksperimentalnih dokaza o uticaju atrazina na amfibije.

7.1.3 Opšte karakteristike O, N ili S-donor liganada

7.1.3.1 Alahlor

Tabela 7.1-10. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike alahlora

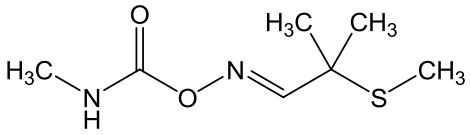
ALAHLOR	2-hloro-*N*-(2,6-dietilfenil)-*N*-(metoksimetil)acetamid
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_{14}H_{20}ClNO_2$
CAS number	15972 – 60 – 8
Molekulska masa	269,767 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 62,33% H – 7,47% Cl – 13,14% N – 5,19% O – 11,86%
Izgled	bela kristalna supstanca, karakterističnog mirisa, slabo zapaljiva
Gustina	1,133 g/cm^3 (na 20°C)
Tačka topljenja	41°C
Tačka ključanja	raspada se na ~105°C
Napon pare	$2{,}9\times10^{-3}$ Pa (na 25°C)
Rastvorljivost u vodi	242 mg/L (na 25°C)
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = 2,6 – 3,1 na sobnoj temperaturi
Faktor biokoncentracije	BCF = 6 za ribe; < 2 za druge akvatične organzme
Koeficijent aps. u zemljištu	K_{oc} = 2,08 – 2,28

Metabolizam alahlora u životinjskim organizmima počinje apsorpcijom kroz gastro-interstinalni trakt i nastavlja se distribucijom i akumulacijom u krv, pankreas, jetru, bubrege, srce i, u manjoj meri oči, mozak i jajnike, transformišući se u 4-amino-3,5-dietilfenol, koji se smatra glavnim metabolitom u pogledu kacerogenih efekata alaholra. Alahlor i njegovi metaboliti se izlučuju urinom i fecesom, sa znatnim razlikama u pogledu vremena zadržavanja kod pojedinih životinjskih vrsta [WILSON i REISCH, 1985; MULDER *et al.*, 1984; AHMED *et al.*, 1981; NAYLOR *et al.*, 1984; STOUT *et al.* 1983].

7.1.3.2 Aldikarb

Aldikarb se upotrebljava u granulovanom obliku, sa 10 – 15% aktivnog ingradijenta, kako bi se minimiziralo stvaranje toksične prašine preparata. Aplicira se neposredno ispod površinskog sloja zemljišta, a zatim se apsorbuje korenom biljaka, te je vlažnost tla od esencijalnog značaja za ukupno delovanje pesticida. Komercijalni aldikarb sarži oko 92% aktivne supstance i oko 1,25% metilizocijanata kao nečistoće.

abela 7.1-11. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike aldikarba

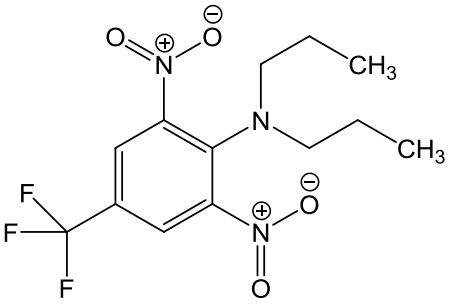
ALDIKARB	2-metil-2-(metiltio)propanal-*O*-(*N*-metilkarbamoil)-oksim
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_7H_{14}N_2O_2S$
CAS number	116 – 06 – 03
Molekulska masa	190,26 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 44,19% H – 7,42% N – 14,72% O – 16,82% S – 16.85%
Izgled	bela, čvrsta, kristalna supstanca, slabog mirisa na sumpor, slabo zapaljiva, nekorozivna i neeksplozivna
Gustina	1,195 g/cm^3
Tačka topljenja	98 – 100 °C
Tačka ključanja	raspada se na t > 100°C
Napon pare	1×10^{-5} mm Hg (na 0°C) 1×10^{-4} mm Hg (na 25°C) 7×10^{-4} mm Hg (na 50°C)
Rastvorljivost u vodi	4,93 g/L (na 20°C)
Rastvorljivost u organskim rastvaračima	aceton 350 g/L (na 25°C) heptan nerastvoran mineralna ulja nerastvoran etanol 100 g/L (na 20°C) hloroform 350 g/L (na 25°C)
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = 1,359 na 20°C, promena pH bez značajnog uticaja
pH (1% vodena suspenzija)	pH 5 – 8

Aldikarb je jedan od akutno najtoksičnijih registrovanih pesticida, sa sličnim zdravstvenim posledicama koje izazivaju organofosforni preparati, a koje se pokazuju posle približno 6 časova. Poznata su trovanja pijaće vode i hrane aldikarbom, a jedno od najmasovnijih trovanja je zabeleženo 1985 u Oregonu i Kaliforniji, kada je oko 2000 ljudi otrovano kontaminiranim lubenicama. Ipak, sa velikom sigurnošću je potvrđeno da aldikarb ne poseduje kancerogena, teratogena ili mutagena svojstva kod ljudi ili životinja [RISHER *et al.* 1987].

7.1.3.3 Trifluralin

U pogledu analitike trifluralina, za razliku od mnogih pesticida, opisana je primena *zero-order* i *first-* i *second-derivative* UV spektrofotometrijskog određivanja trifluralina i nekih srodnih jedinjenja, ali sa sa relativno visokim granicama detekcije od 1 – 7 μg/mL [TRAORE i AARON, 1989]. Razvijen je i metod za simultanu ekstrakciju trifluralina, metilparaoksona, metilparationa, fenvalerata i 2,4-D dimetilamino soli u vodi sa SPE C-18 ekstrakcijom i analizom na GC sa EC (*electron capture*) ili FID (*flame ionisation detector*) [SWINEFORD i BELISLE, 1989]. Ako autetinčni standardi nisu dostupni, sam pesticid i degradacioni proizvodi mogu biti identifikovani GC/MS ili LC/MS tehnikama.

Tabela 7.1-12. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike trifluralina

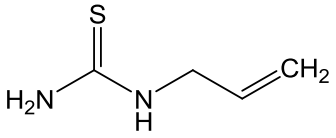
TRIFLURALIN	2,6-dinitro-*N*,*N*-dipropil-4-(trifluorometil)anilin
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$
CAS number	1582 – 09 – 8
Molekulska masa	335,28 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 46,57% H – 4,81% F – 17,00% N – 12,53% O – 19,09%
Izgled	žuto-narandžasta kristalna supstanca, bez mirisa
Gustina	1,294 g/cm^3
Tačka topljenja	46 – 47 °C
Tačka ključanja	139 – 140 °C na 4,2 mmHg
Napon pare	$1{,}1\times10^{-4}$ mmHg (na 25°C)
Rastvorljivost	0,0024 g/100mL H_2O
Koef. raspodele oktanol/voda	log K_{ow} = 5,3111
Koeficijent aps. u zemljištu	K_{oc} = 4,137

7.1.3.4 *N*-aliltiourea

N-aliltiourea stupa u reakcije sa kiselinama i sa bazama, može burno da reaguje sa jakim oksidujućim agensima (peroksidi itd.), ali ulazi u reakcije i sa redukcionim jedinjenjima (kao što su alkalni metali i hidridi) uz oslobađanje gasovitog H_2. Koristi se u industrijske svrhe kao korozioni inhibitor, usled mogućnosti hemijske adsorpcije na površini gvožđa u vidu monomolekularnog sloja.

N-aliltiourea selektivno inhibira oksidaciju amonijaka kod mikroorganizama pri koncentracijama 8 – 86 μmol/L [GINESTET *et al.*, 1998; HOOPER i TERRY, 1973; SHARMA i AHLERT, 1977; SURCMACZ-GORSKA *et al.*, 1995]. Mehanizam inhibicije je objašnjen helatnim vezivanjem bakra(II) iz aktivnog mesta amonijum monooksigenze [BEDARD i KNOWLES, 1989]. Ova osobina *N*-aliltiouree je iskorišćena u inhibiciji rasta i razmnožavanja određenih bakterijskih sojeva u cilju vršenja određenih mikrobioloških ili hemijskih analiza, kao i za prezervaciju nativnog stanja azotnog sadržaja u uzorcima mikrobiološki jako opterećenih voda i muljeva.

Tabela 7.1-13. Osnovne fizičko-hemijske karakteristike *N*-aliltiouree

***N*-ALILTIOUREA**	tiozinamin
Strukturna formula	
Molekulska formula	$C_4H_8N_2S$
CAS number	109 – 57 – 9
Molekulska masa	116,19 $gmol^{-1}$
Elementalni sastav	C – 41,35% H – 6,94% N – 24,11% S – 27,60%
Izgled	bela kristalna supstanca, slabog mirisa na beli luk
Gustina	1,11 g/cm^{-3}
Tačka topljenja	71°C
Rastvorljivost	67 g/L u H_2O (na 20°C)

7.2 Atomske karakteristike hroma

Tabela 7.2-1. Karakteristike izotopa hroma.

Izotop	Atomska masa	Udeo, %	Vreme poluživota	Tip raspada	Nuklearni spin
^{48}Cr	47,954032		23 časa	EC	
^{49}Cr	48.951335		41,9 minuta	β^-	5/2
^{50}Cr	49,946046	4,35	stabilan		–
^{51}Cr	50,944768		27,7 dana	EC	7/2
^{52}Cr	51,940509	83,79	stabilan		–
^{53}Cr	52,940651	9,50	stabilan		3/2
^{54}Cr	53,938882	2,36	stabilan		–
^{55}Cr	54,940839		3,5 minuta	β^-	
^{56}Cr	55.940653		5,9 minuta	β^-	

Tabela 7.2-2. Neke fizičko-hemijske osobine hroma.

Gustina (g cm^{-3})	7,19	Električna otpornost (mΩ)	$12{,}7 \times 10^{-8}$ (A)
Prosečna atomska masa (g mol^{-1})	51,9961(6)	Magnetna suscept. (cm^3 g^{-1})	$+3{,}5 \times 10^{-6}$ (B)
Elektronska konfiguracija	[Ar]3d^{5}4s^1	Termička provod. (W m^{-1} K^{-1})	93,7 (C)
Osnovni term	$^7S_3$	Linearni koef. term. širenja (K^{-1})	$6{,}2 \times 10^{-6}$
Elektronski afinitet (eV)	0,670	Temperatura topljenja (°C)	1907
Jonizacioni potencijal – I (eV)	6,764	Temperatura ključanja (°C)	2671
Jonizacioni potencijal – II (eV)	16,50	Topl. topljenja, ΔH_{fus} (kJ mol^{-1})	15,3
Jonizacioni potencijal – III (eV)	30,95	Topl. ispar., ΔH_{vap} (kJ mol^{-1})	348,78
Jonizacioni potencijal – IV (eV)	49,12	$\Delta H_f°$ (kJ mol^{-1}) čvrsto stanje	0,00 (D)
Jonizacioni potencijal – V (eV)	69,33	$\Delta H_f°$ (kJ mol^{-1}) gasovito stanje	396,6 (D)
Jonizacioni potencijal – VI (eV)	90,55	$\Delta G_f°$ (kJ mol^{-1}) čvrsto stanje	0,00 (D)
Tip kristalne rešetke	centr. kocka	$\Delta G_f°$ (kJ mol^{-1}) gasovito stanje	351,8 (D)
Korak kristalne rešetke, *a* (pm)	288,46	$\Delta S°$ (J K^{-1} mol^{-1}) čvrsto stanje	23,47 (D)
Elektronegativnost (Pauling)	1,66	$\Delta S°$ (J K^{-1} mol^{-1}) gasovito stanje	174,50 (D)
Atomski radijus (pm)	128	ΔC_p (J K^{-1} mol^{-1}) čvrsto stanje	23,35 (D)
Kovalentni radijus (pm)	139 ± 5	ΔC_p (J K^{-1} mol^{-1}) gasovito stanje	20,79 (D)

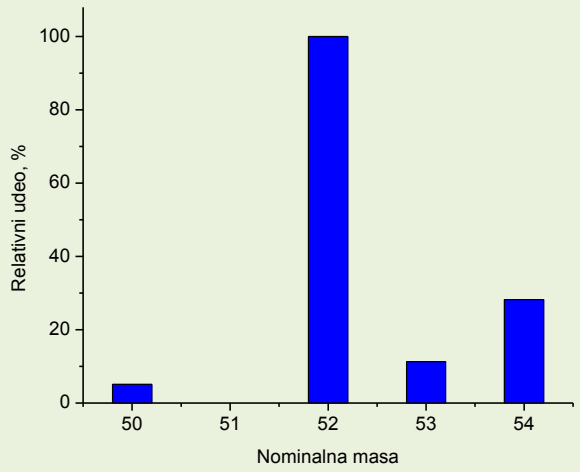
(A) na 273 K; (B) na 20°C; (C) na 300 K; (D) T = 293 K, P = 101 kPa

7.3 Distribucija izotopskih masa

Dat je prikaz relativne raspodele (%) nominalnih izotopskih masa (engl. *isotopic pattern*) za elementarni hrom, monoatomski i diatomski hlor, kao i za molekule liganada korišćenih u ovom radu. Za pojedine ligande dat je i dijagram distribucije kod njihovih dimera. Raspodela je, prema uobičajenoj praksi, data tako da molekul sa najrasprostranjenijim izotopskim sastavom, odnosno nominalnom masom, ima udeo od 100,00%.

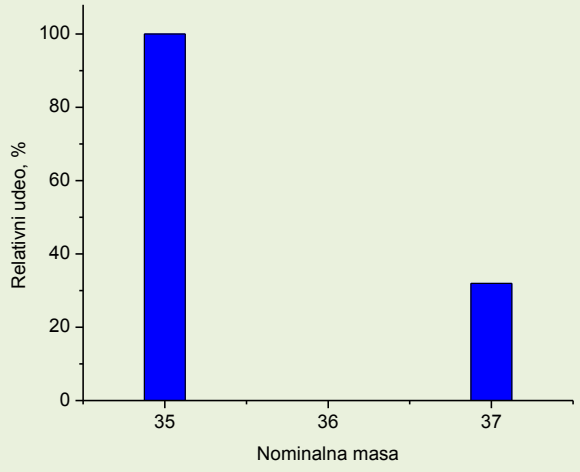
HROM
Cr
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
50	5,12
51	0,00
52	100,00
53	11,30
54	28,20



HLOR
Cl
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
35	100,00
36	0,00
37	31,98

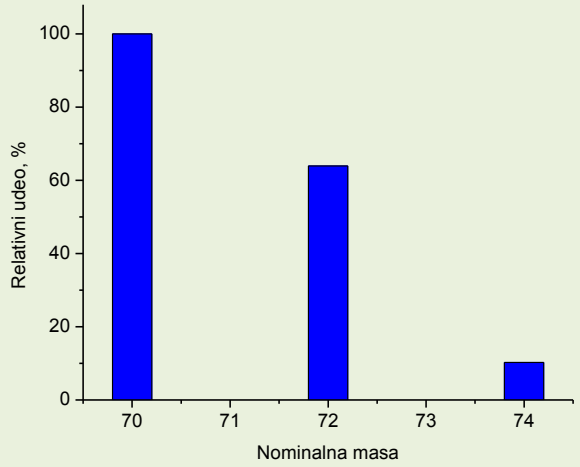


HLOR × 2

Cl_2

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
70	100,00
71	0,00
72	63,96
73	0,00
74	10,23

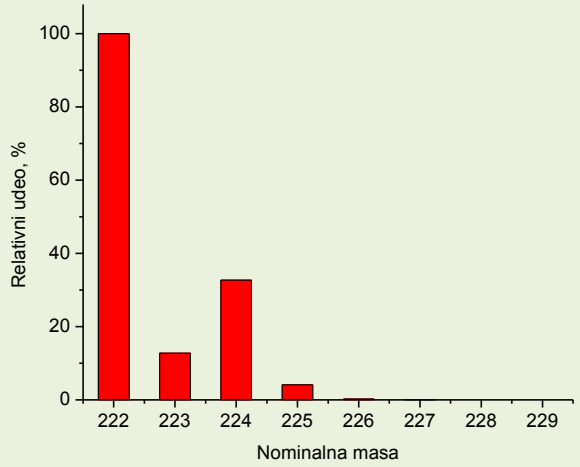


ACETAMIPRID

$C_{10}H_{11}ClN_4$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
222	100,00
223	12,75
224	32,73
225	4,10
226	0,24
227	0,01
228	0,00
229	0,00

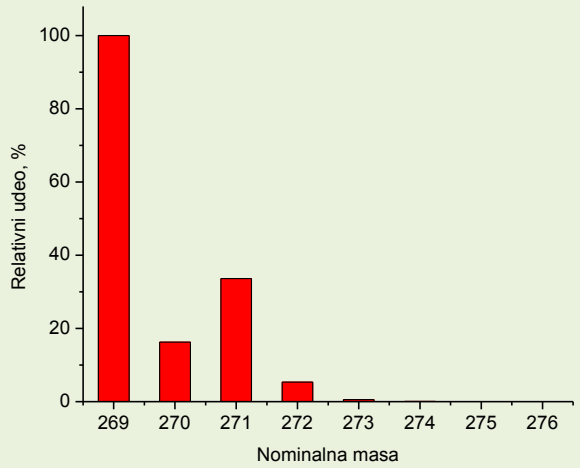


ALAHLOR

$C_{14}H_{20}ClNO_2$

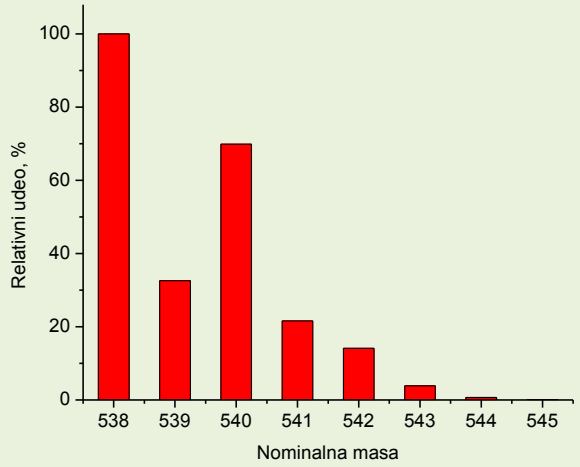
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
269	100,00
270	16,29
271	33,62
272	5,33
273	0,53
274	0,04
275	0,00
276	0,00



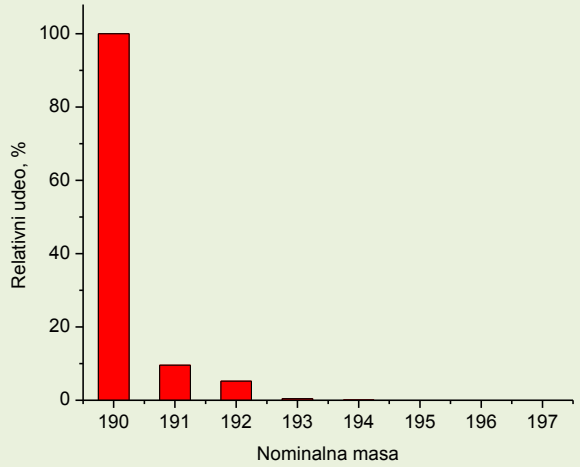
ALAHLOR dimer
$(C_{14}H_{20}ClNO_2)_2$
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
538	100,00
539	32,58
540	69,89
541	21,62
542	14,10
543	3,84
544	0,66
545	0,08



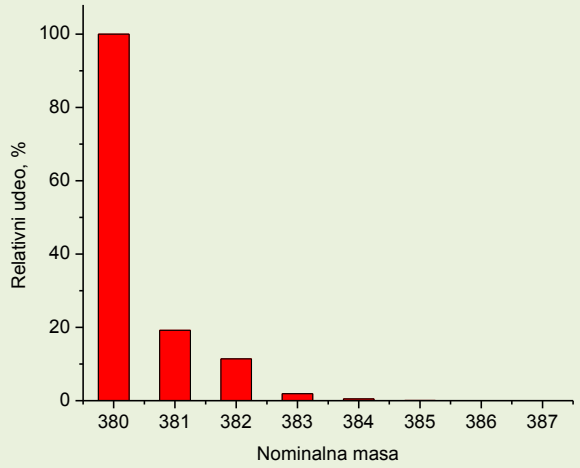
ALDIKARB
$C_7H_{14}N_2O_2S$
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
190	100,00
191	9,59
192	5,23
193	0,44
194	0,06
195	0,00
196	0,00
197	0,00



ALDIKARB dimer
$(C_7H_{14}N_2O_2S)$
distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
380	100,00
381	19,18
382	11,39
383	1,88
384	0,47
385	0,06
386	0,01
387	0,00

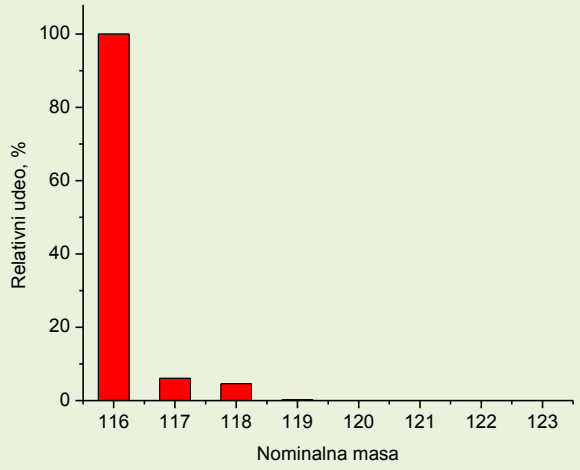


N-ALILTIOUREA

$C_4H_8N_2S$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
116	100,00
117	6,09
118	4,58
119	0,24
120	0,03
121	0,00
122	0,00
123	0,00

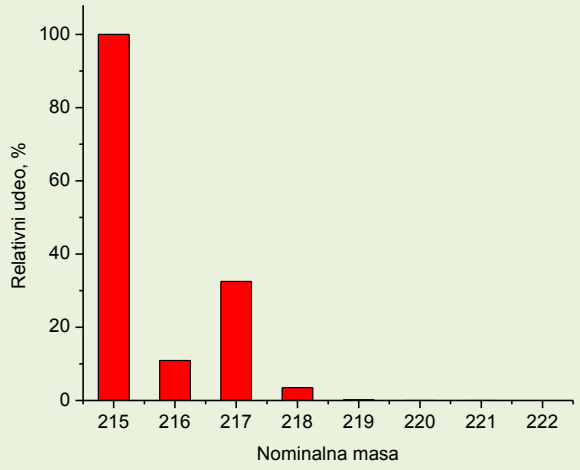


ATRAZIN

$C_8H_{14}ClN_5$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
215	100,00
216	10,94
217	32,52
218	3,51
219	0,17
220	0,01
221	0,00
222	0,00

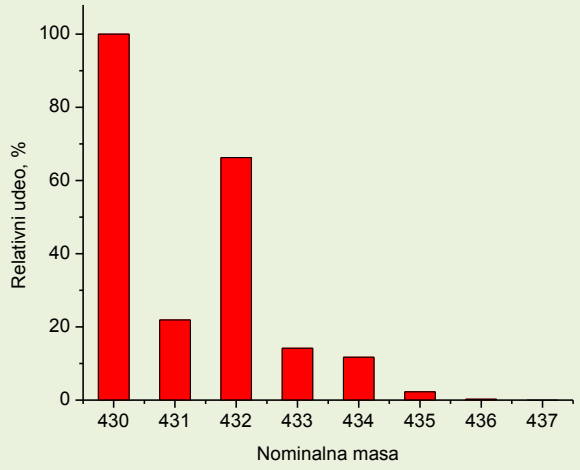


ATRAZIN dimer

$(C_8H_{14}ClN_5)_2$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
430	100,00
431	21,88
432	66,25
433	14,15
434	11,70
435	2,24
436	0,24
437	0,02

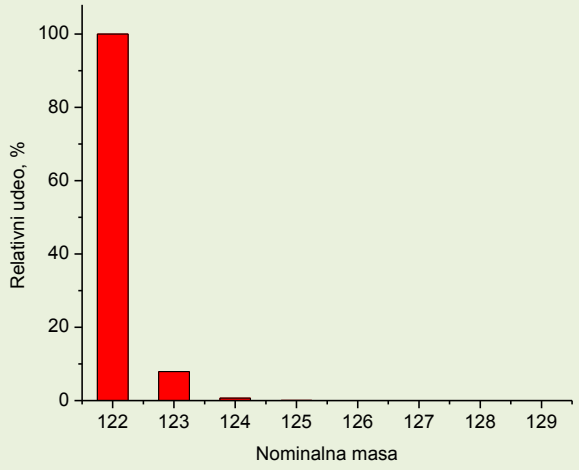


BENZOEVA KISELINA

$C_7H_6O_2$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
122	100,00
123	7,94
124	0,67
125	0,04
126	0,00
127	0,00
128	0,00
129	0,00

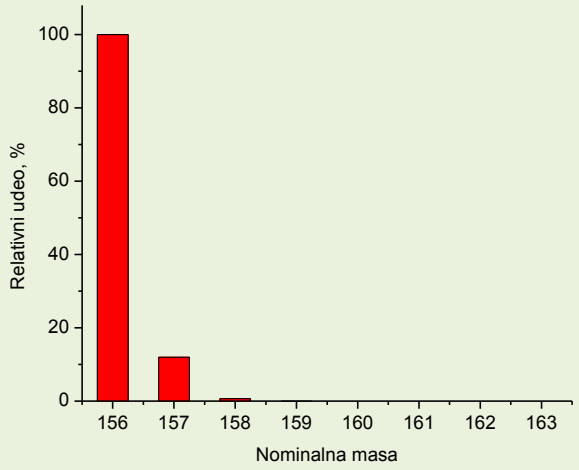


2,2'-BIPIRIDIN

$C_{10}H_8N_2$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
156	100,00
157	11,96
158	0,65
159	0,02
160	0,00
161	0,00
162	0,00
163	0,00

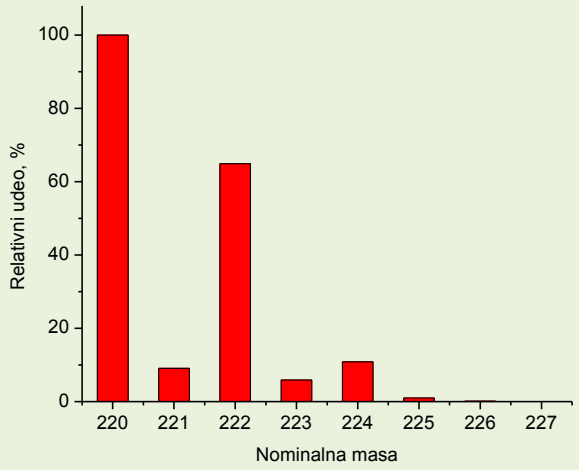


DIKAMBA

$C_8H_6Cl_2O_3$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
220	100,00
221	9,09
222	64,93
223	5,88
224	10,85
225	0,97
226	0,10
227	0,01

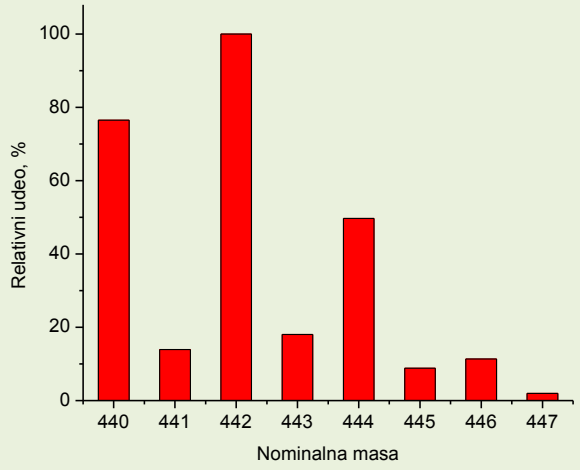


DIKAMBA dimer

$(C_8H_6Cl_2O_3)_2$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
440	76,53
441	13,91
442	100,00
443	18,02
444	49,68
445	8,83
446	11,33
447	1,96

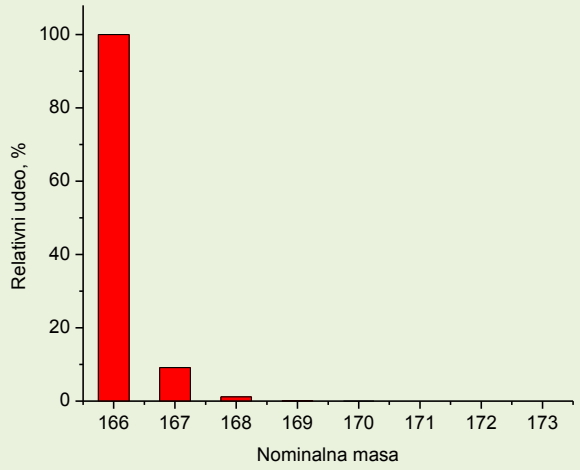


FTALNA KISELINA

$C_8H_6O_4$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
166	100,00
167	9,13
168	1,17
169	0,08
170	0,01
171	0,00
172	0,00
173	0,00

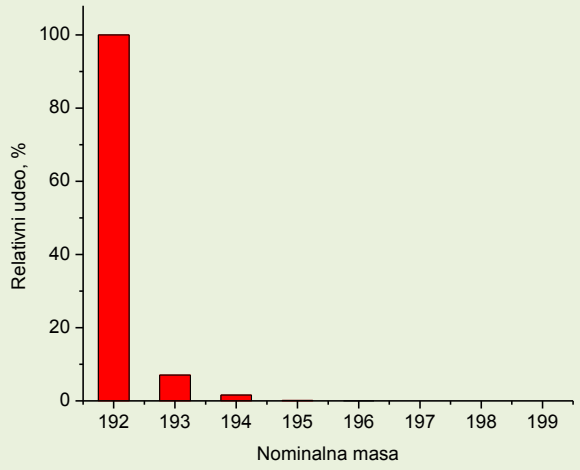


LIMUNSKA KISELINA

$C_6H_8O_7$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
192	100,00
193	7,05
194	1,62
195	0,10
196	0,01
197	0,00
198	0,00
199	0,00

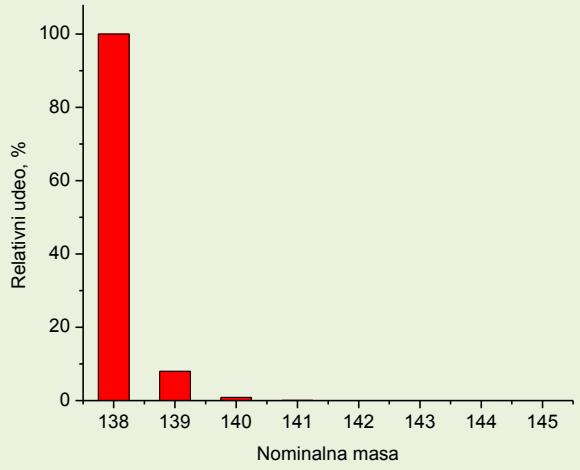


SALICILNA KISELINA

$C_7H_6O_3$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
138	100,00
139	7,98
140	0,88
141	0,05
142	0,00
143	0,00
144	0,00
145	0,00

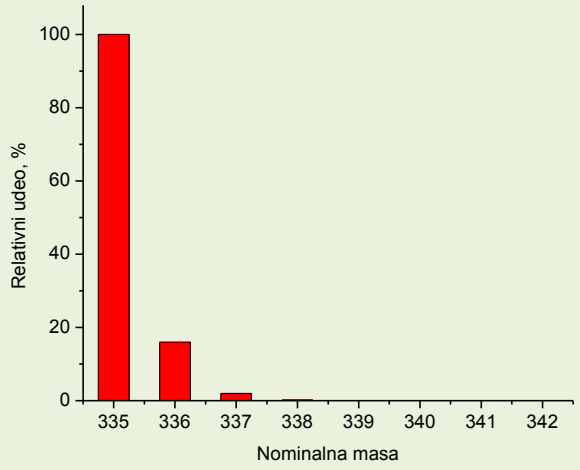


TRIFLURALIN

$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$

distribucija izotopskih masa

Nom. masa	Relativni udeo
335	100,00
336	15,94
337	1,99
338	0,18
339	0,01
340	0,00
341	0,00
342	0,00

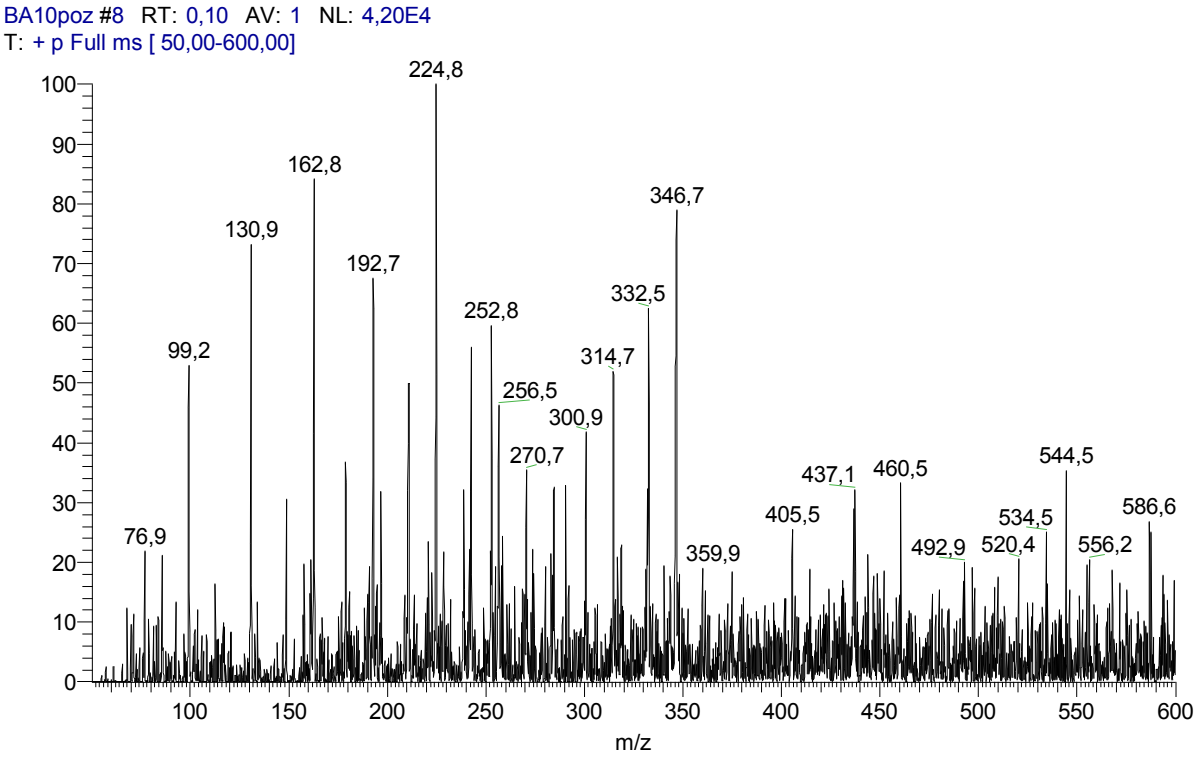


7.4 Prikaz ESI-MS spektara liganada u drugačijim uslovima snimanja

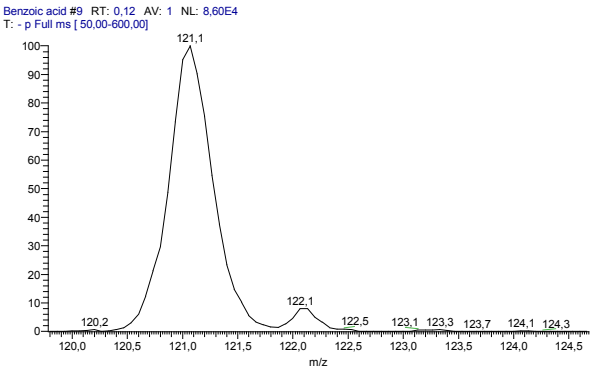
Dati su prikazi ESI-MS spektara u modovima snimanja koji su suprotni osnovnom modu instrumenta, odnosno ESI izvora (pozitivni mod / negativni mod) korišćenog za analizu interakcije liganda sa hromom(III), zatim uvećani prikaz karakterističnih izotopskih pikova pojedinih liganada, kao i MS/MS spektri pojedinih *parent*-jona.

7.4.1 ESI MS spektri O-donor liganada

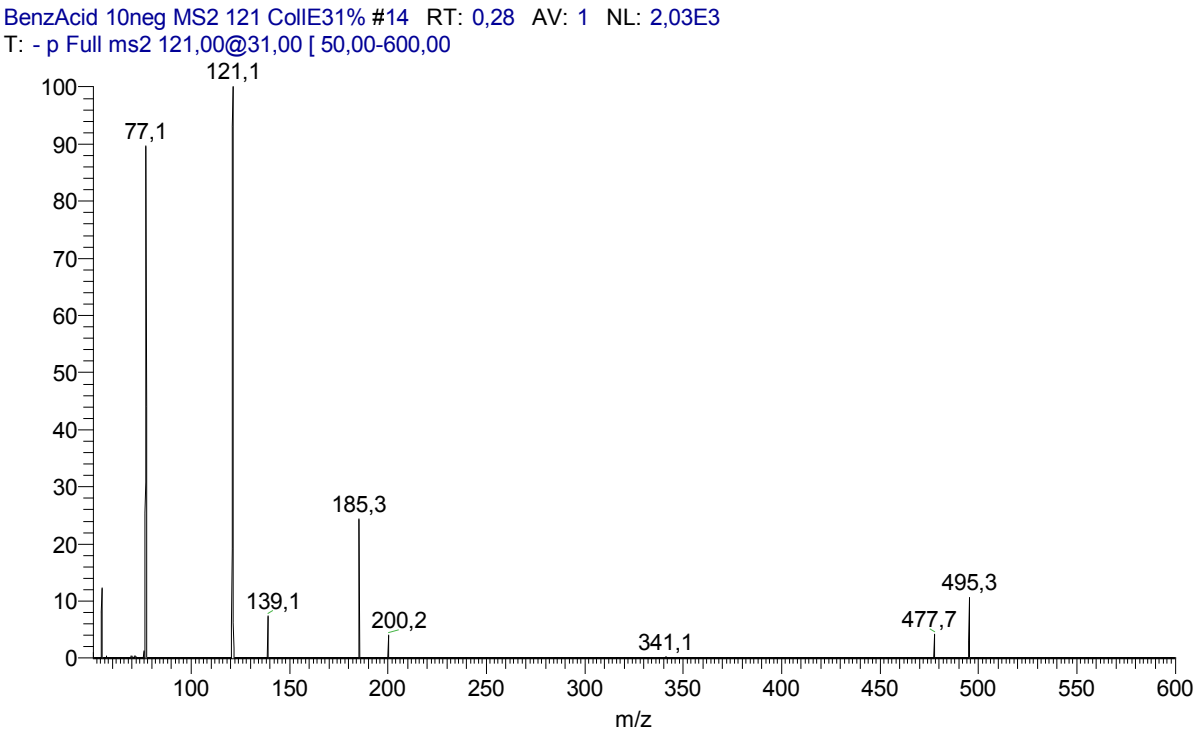
7.4.1.1 Benzoeva kiselina



Slika 7.4-1. ESI MS spektar benzoeve kiseline (c = 8,50 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

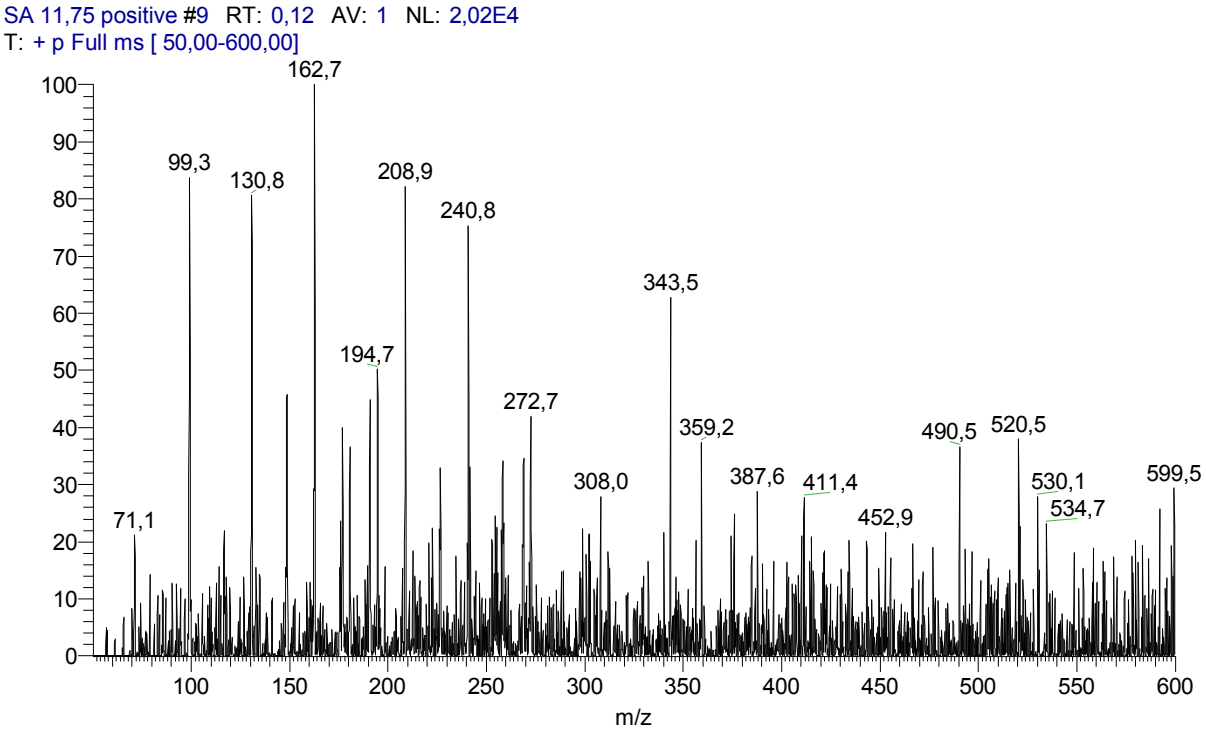


Slika 7.4-2. ESI MS spektar benzoeve kiseline; c = 8,50 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova m/z 121 – 122.

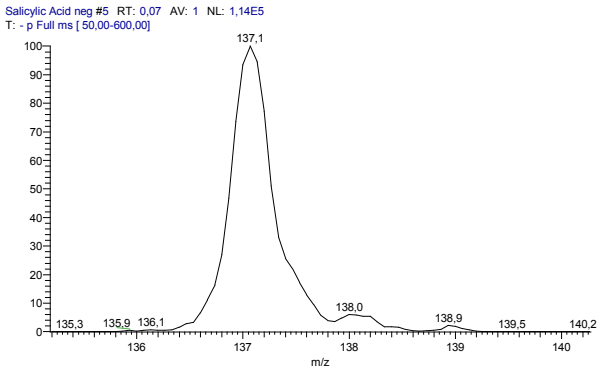


Slika 7.4-3. ESI MS-MS spektar benzoeve kiseline, *parent*-jon *m/z* 121, E_{coll} = 31% (*c* = 8,50) μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

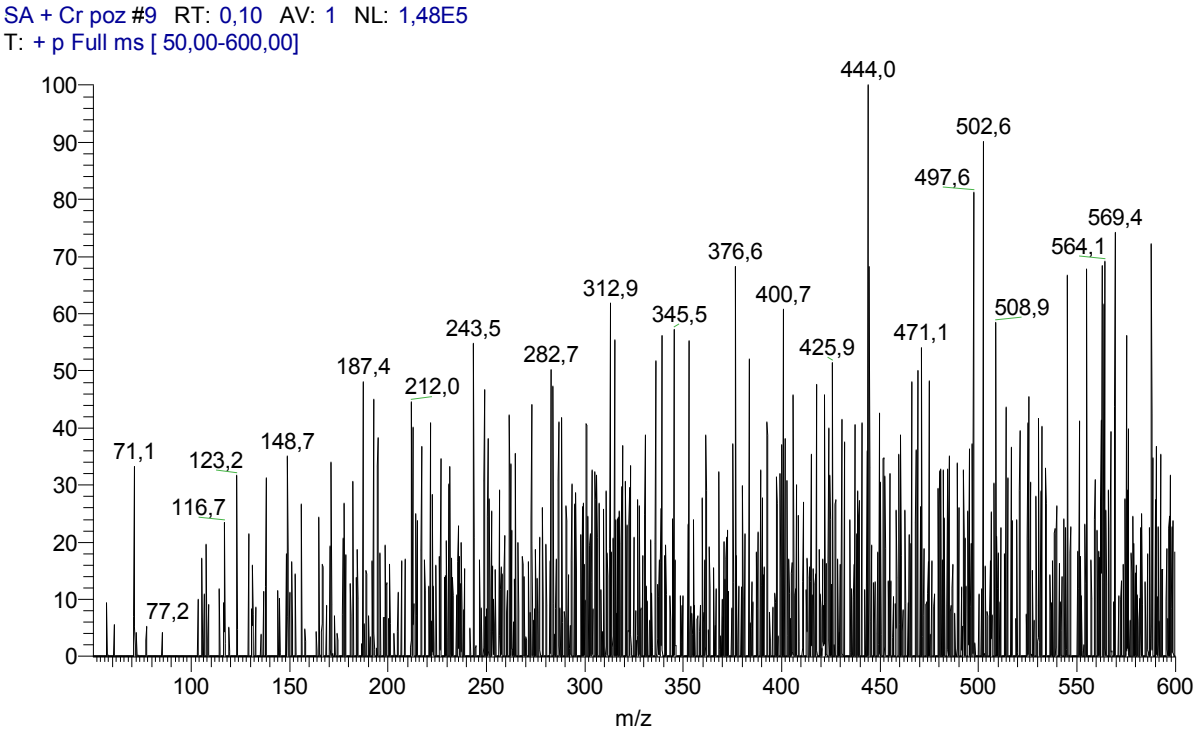
7.4.1.2 Salicilna kiselina



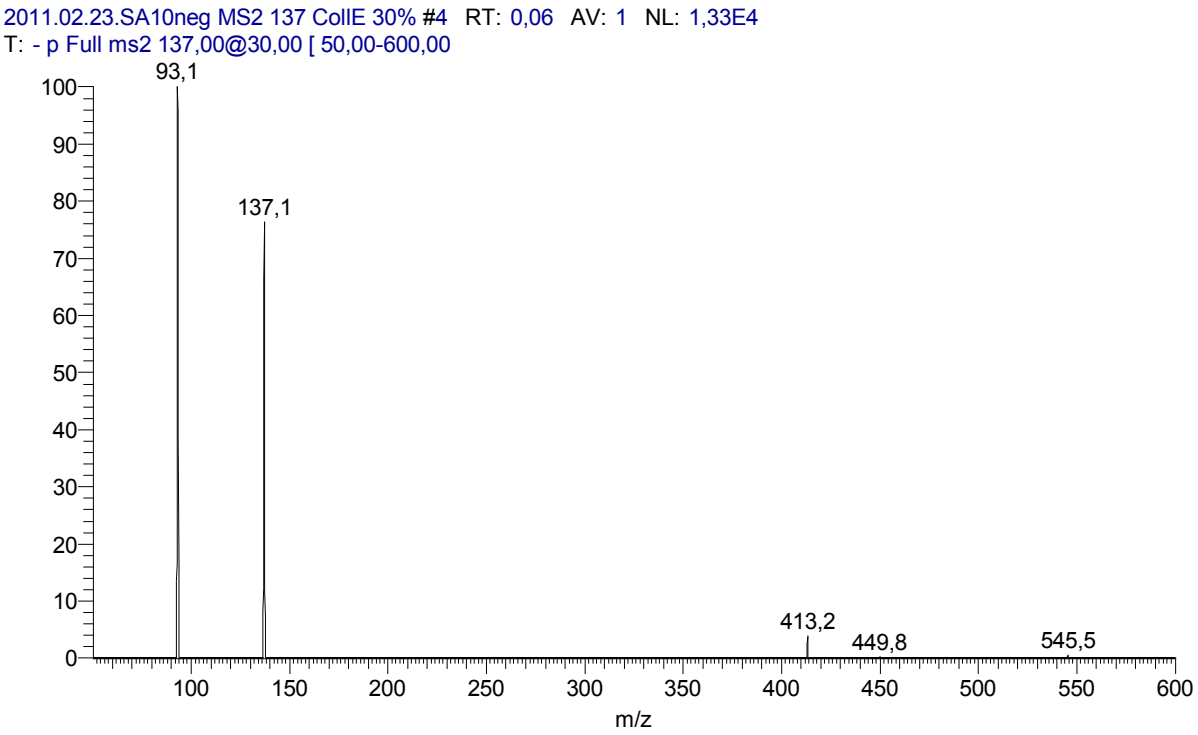
Slika 7.4-4. ESI MS spektar salicilne kiseline (*c* = 11,75 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).



Slika 7.4-5. ESI MS spektar salicilne kiseline; c = 11,75 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 137 – 138.

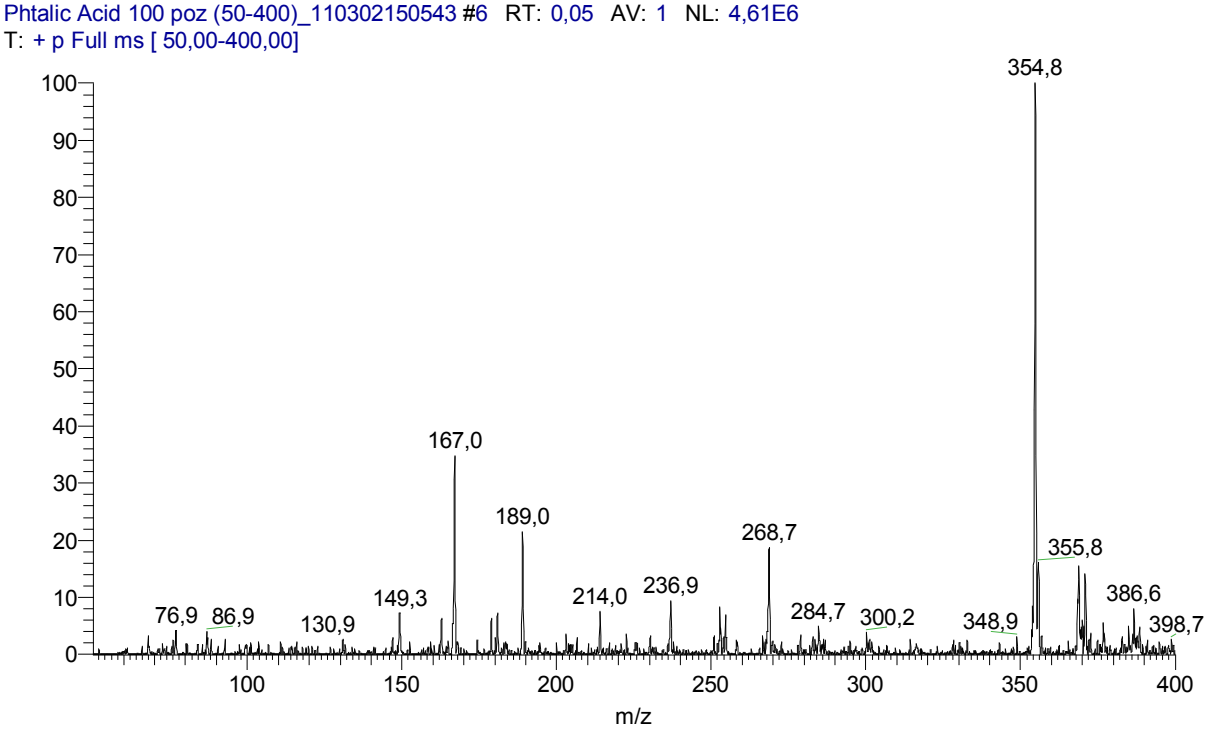


Slika 7.4-6. ESI MS spektar salicilne kiseline (c = 6,30 µmol/L) i hroma (c = 7,00 µmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivni jonizacioni mod.

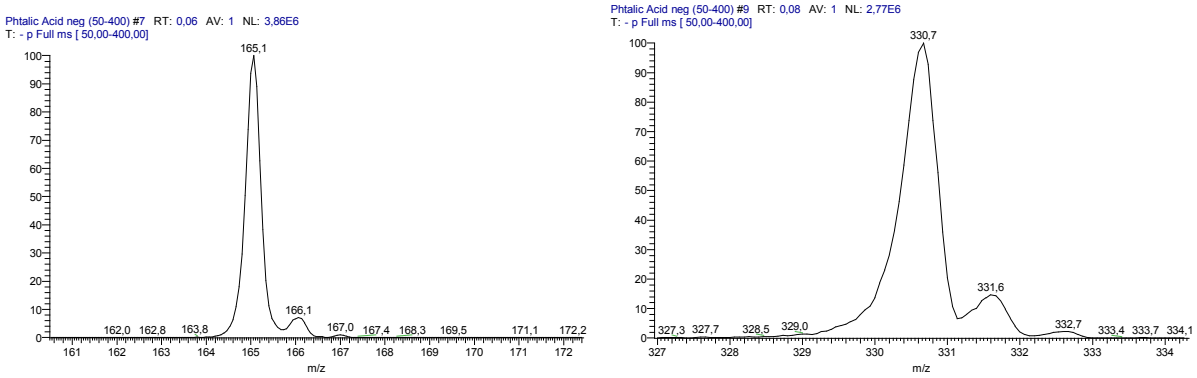


Slika 7.4-7. ESI MS-MS spektar salicilne kiseline, *parent*-jon *m/z* 137, E_{coll} = 30% (*c* = 11,75 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

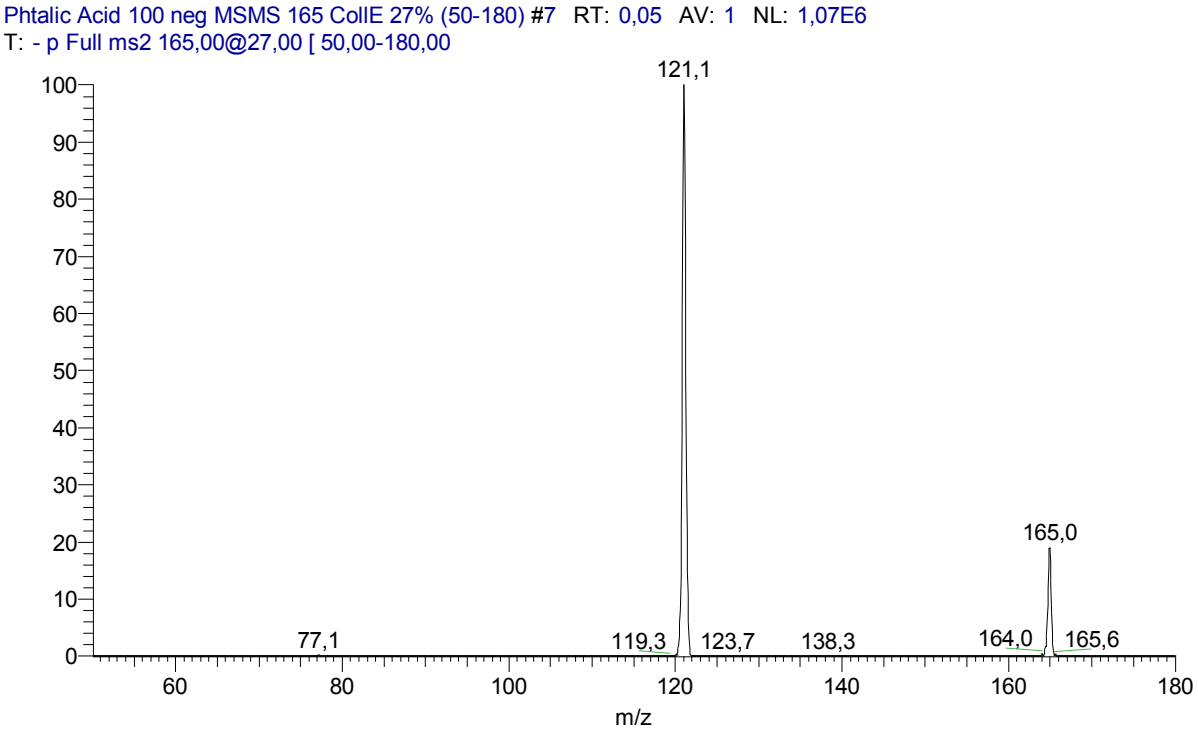
7.4.1.3 Ftalna kiselina



Slika 7.4-8. ESI MS spektar ftalne kiseline (*c* = 13,85 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

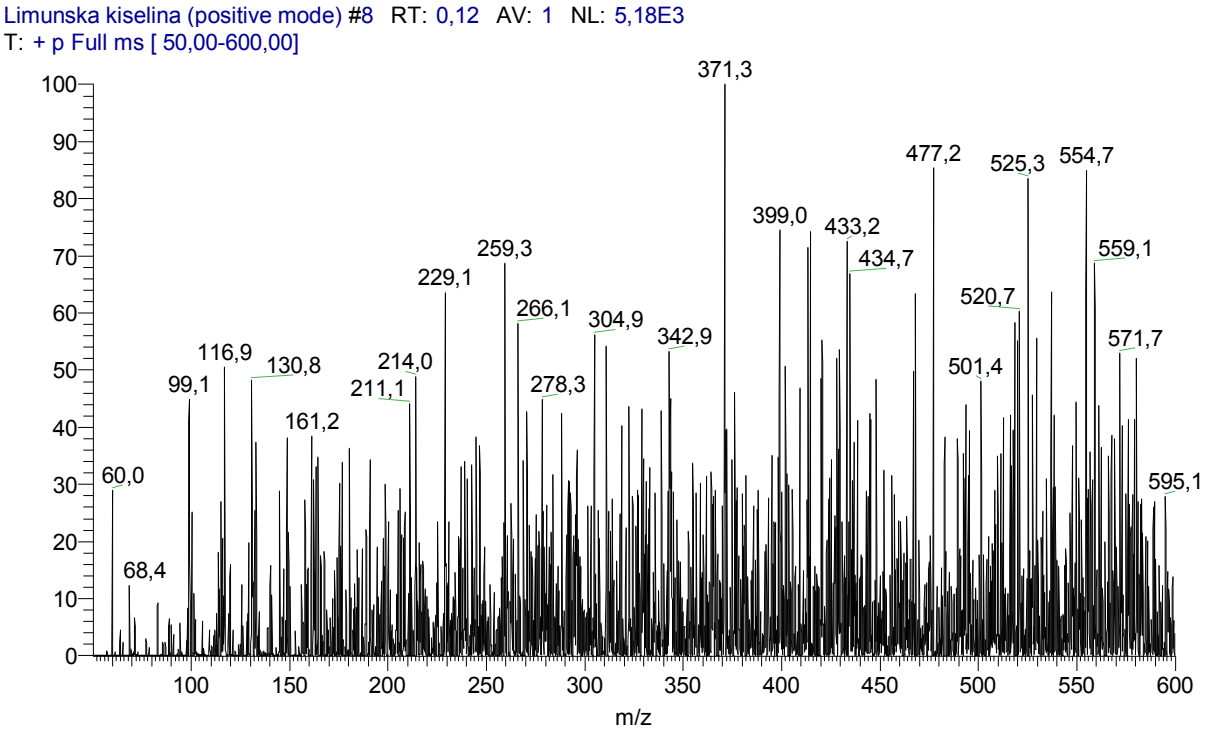


Slika 7.4-9. ESI MS spektar ftalne kiseline; c = 13,85 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 164 – 166 (levo) i 330 – 333 (desno).

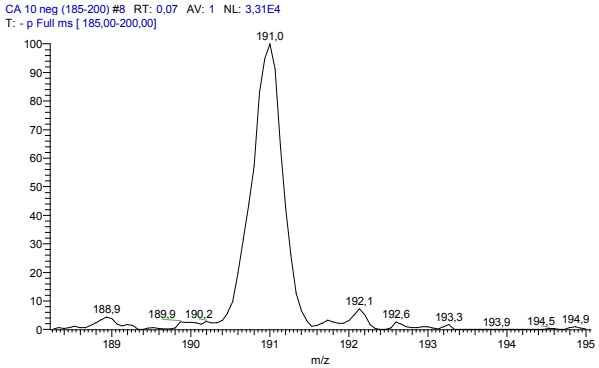


Slika 7.4-10. ESI MS-MS spektar ftalne kiseline, *parent*-jon *m/z* 165, E_{coll} = 27% (c = 13,85 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

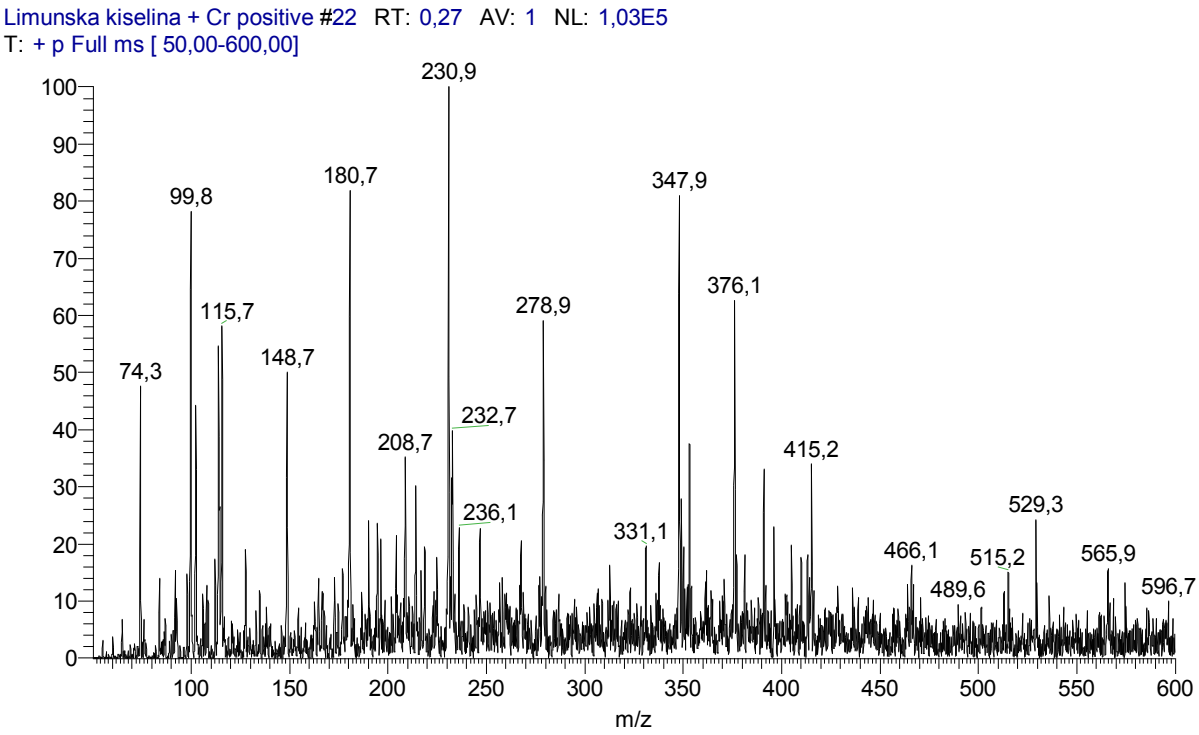
7.4.1.4 Limunska kiselina



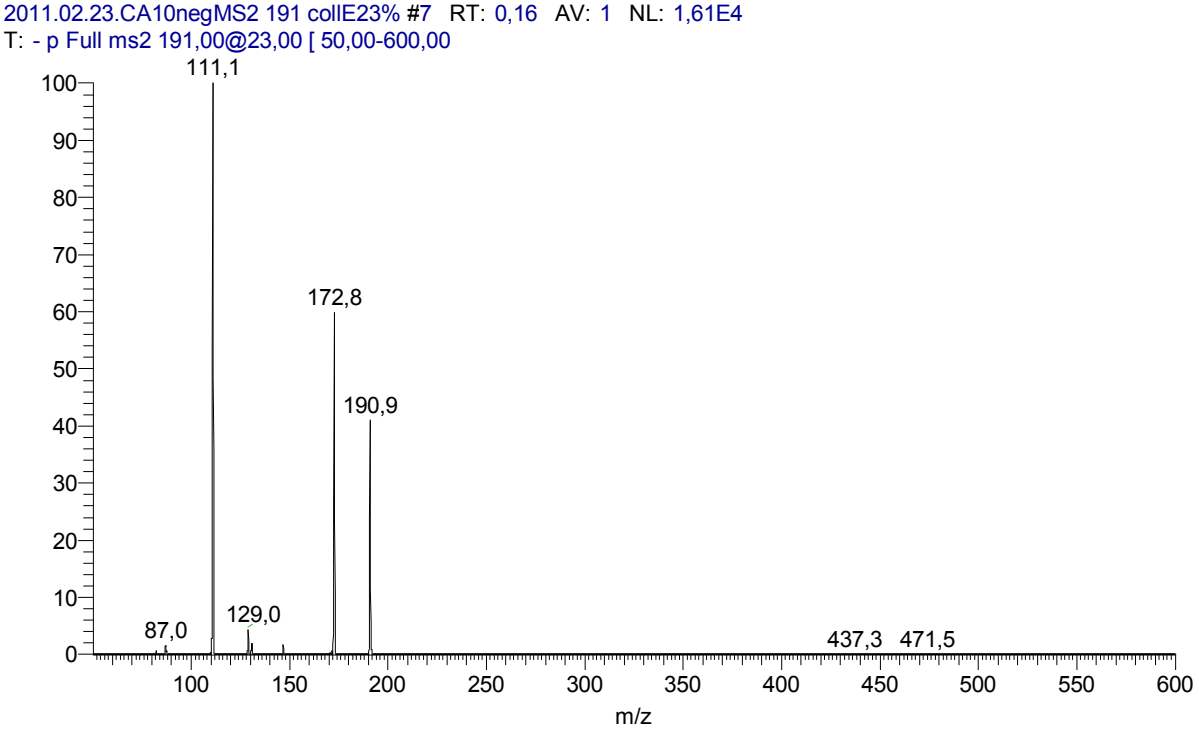
Slika 7.4-11. ESI MS spektar limunske kiseline (c = 8,212 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).



Slika 7.4-12. ESI MS spektar limunske kiseline; c = 12,34 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 191 – 192.

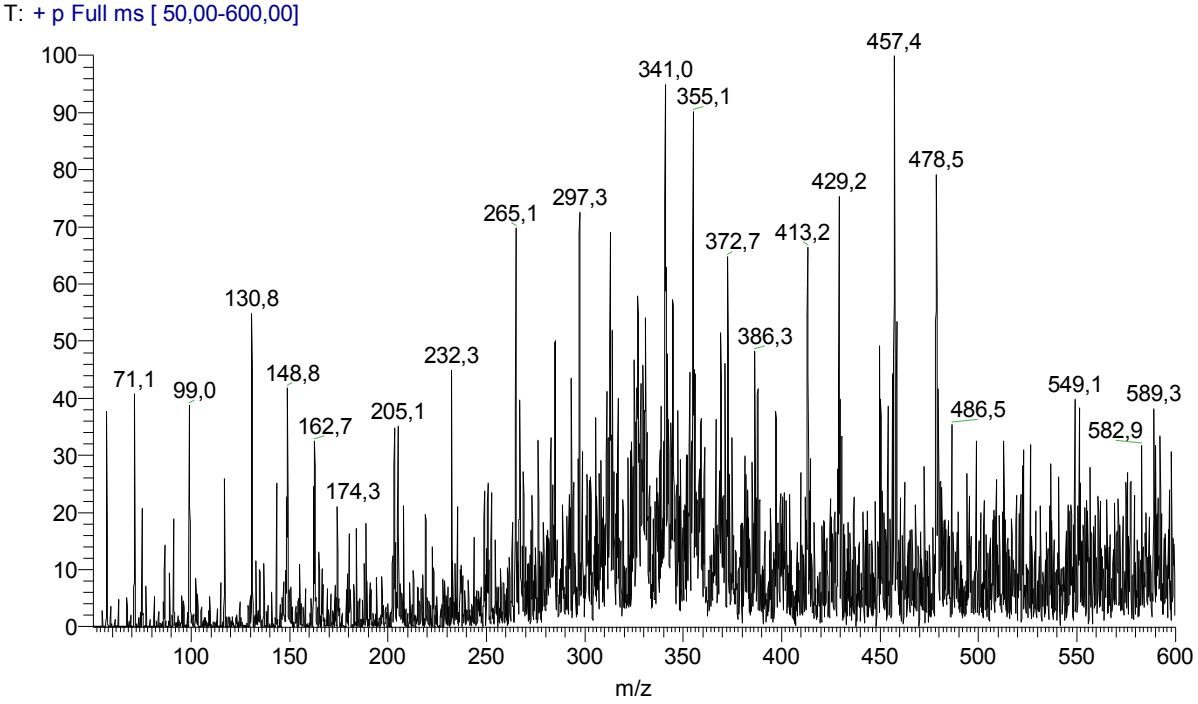


Slika 7.4-13. ESI MS spektar limunske kiseline (c = 6,37 µmol/L) i hroma (c = 7,00 µmol/L), rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivni jonizacioni mod.

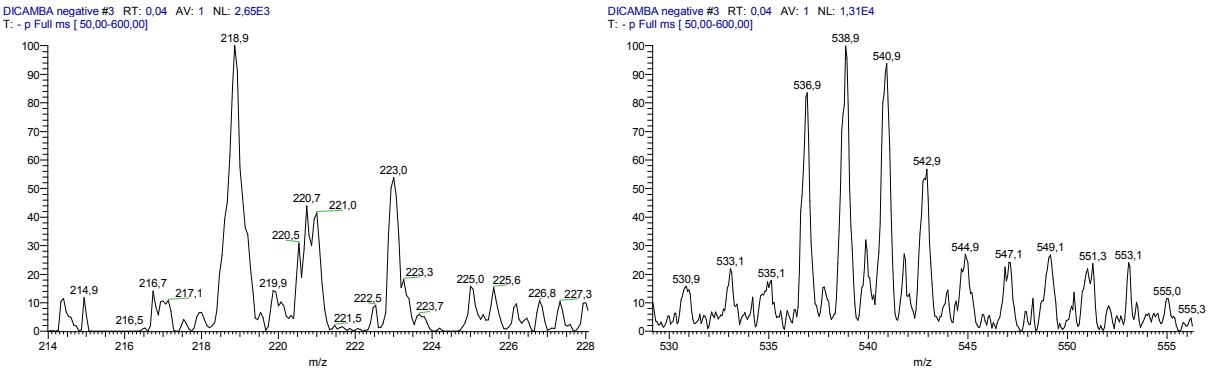


Slika 7.4-14. ESI MS-MS spektar limunske kiseline, *parent*-jon *m/z* 191, E_{coll} = 23% (c = 8,212 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

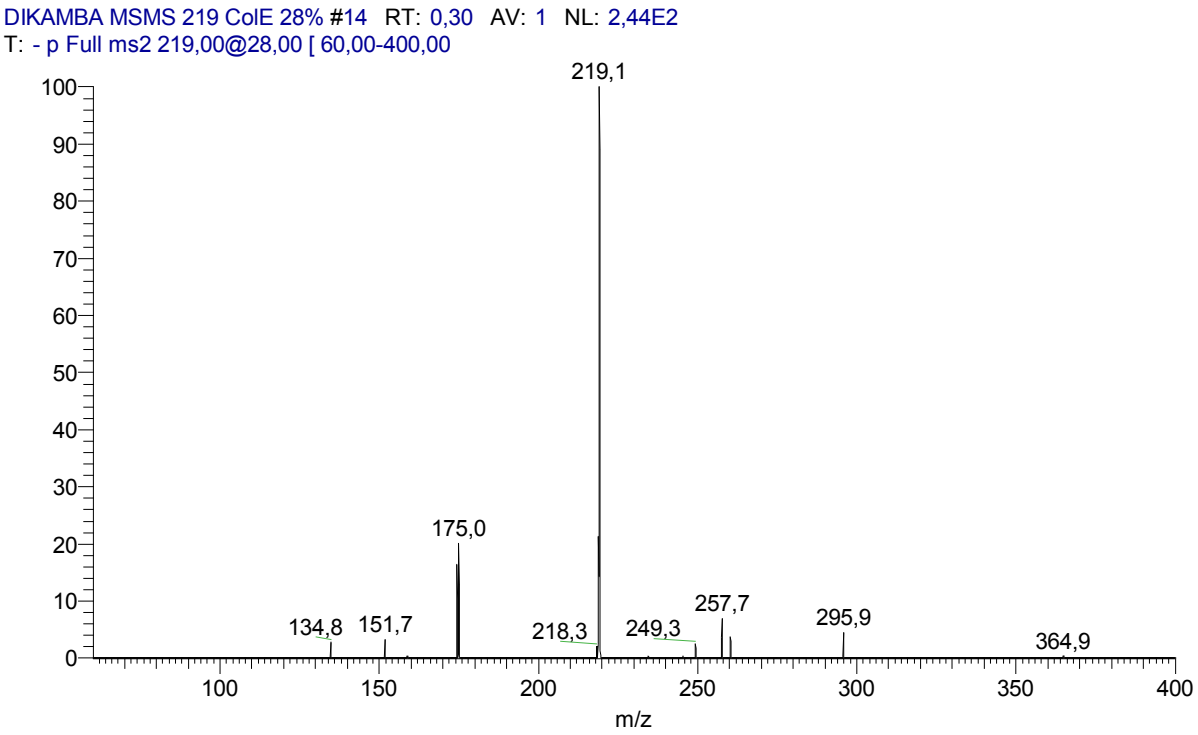
7.4.1.5 Dikamba



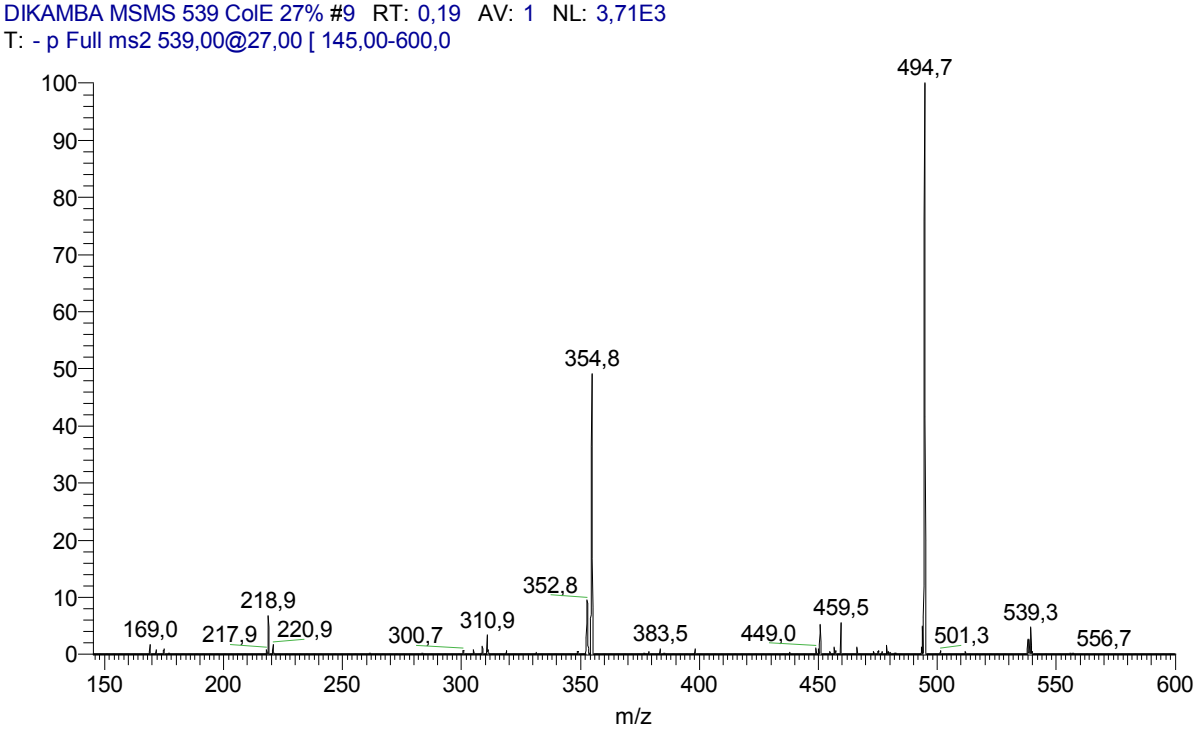
Slika 7.4-15. ESI MS spektar dikambe (c = 11,87 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).



Slika 7.4-16. ESI MS spektari dikambe; c = 11,87 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova m/z 219 – 224 (levo) i 537 – 546 (desno).



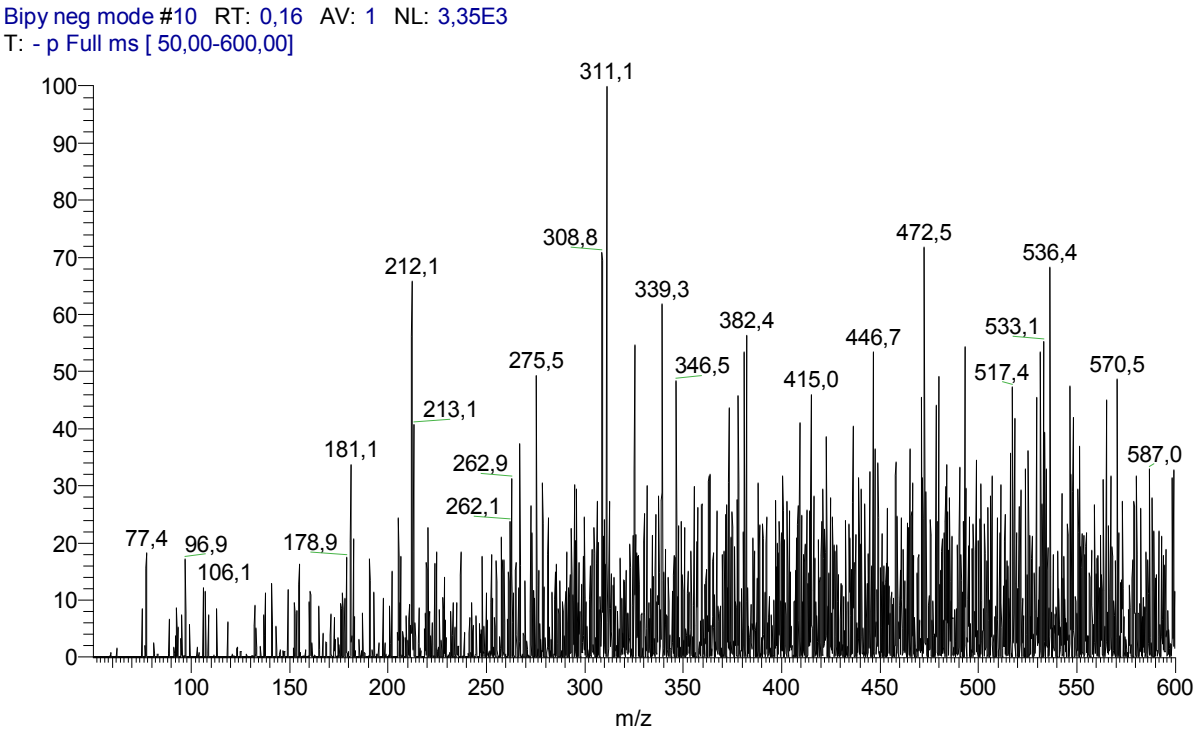
Slika 7.4-17. ESI MS-MS spektar dikambe, *parent*-jon *m/z* 219, E_{coll} = 28% (c = 11,87 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).



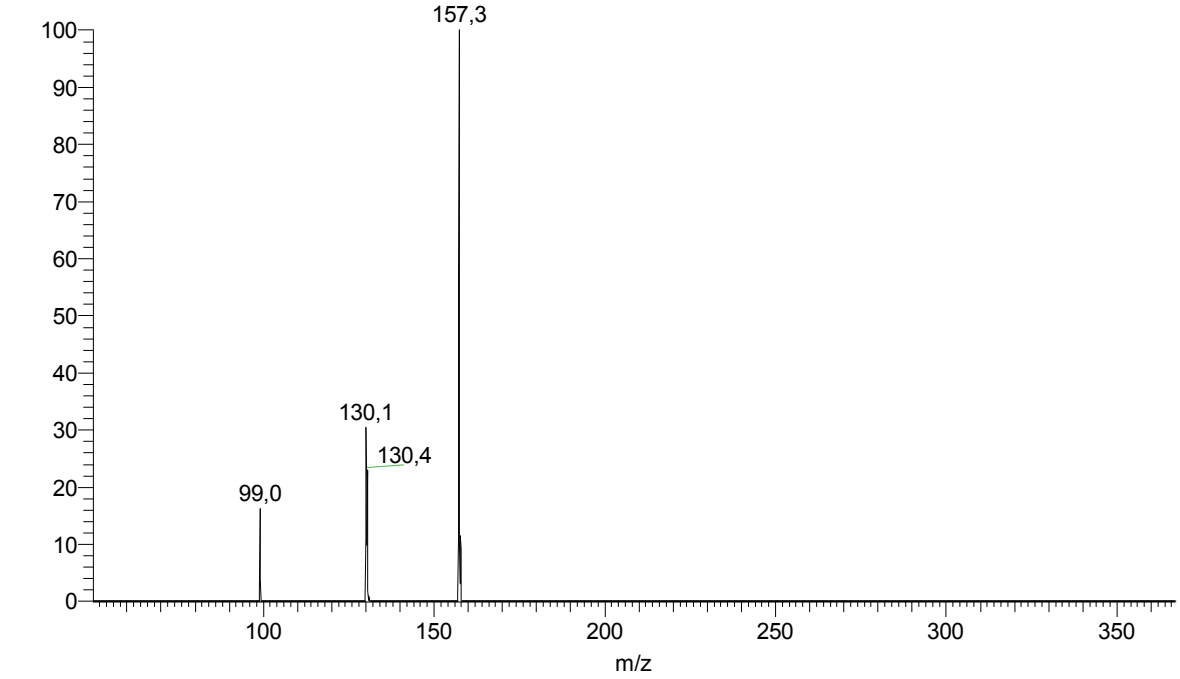
Slika 7.4-18. ESI MS-MS spektar dikambe, *parent*-jon *m/z* 539, E_{coll} = 28% (c = 11,87 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

7.4.2 ESI MS spektri N-donor liganada

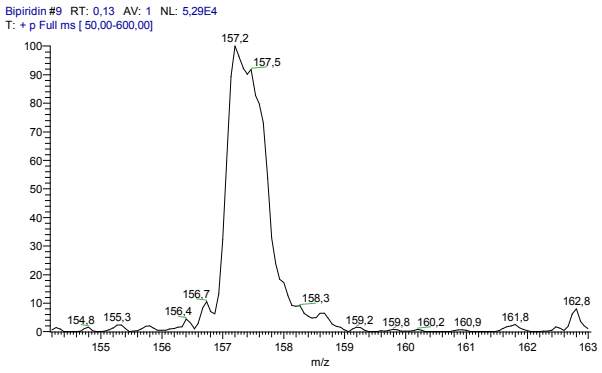
7.4.2.1 2,2'–Bipiridin



Slika 7.4-19. ESI MS spektar 2,2'-bipiridina (c = 10,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

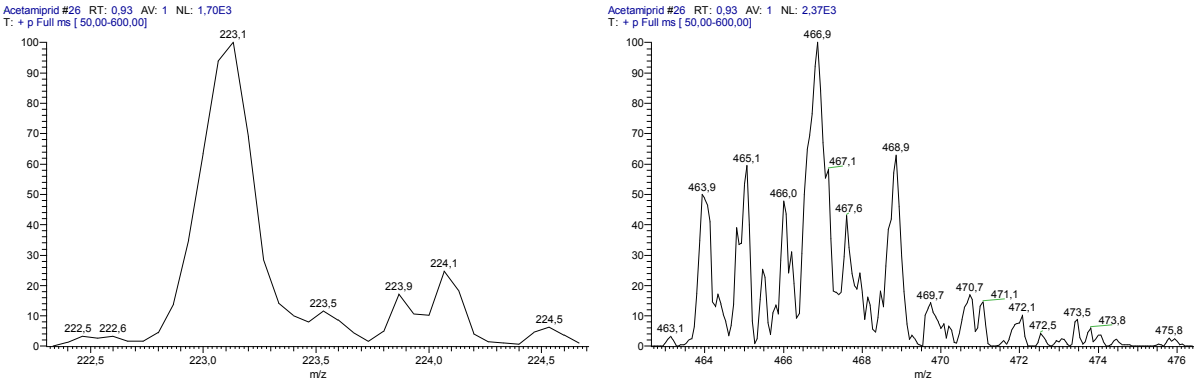


Slika 7.4-20. ESI MS-MS spektar 2,2'-bipiridna, *parent*-jon *m/z* 157, E_{coll} = 37% (c = 10,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

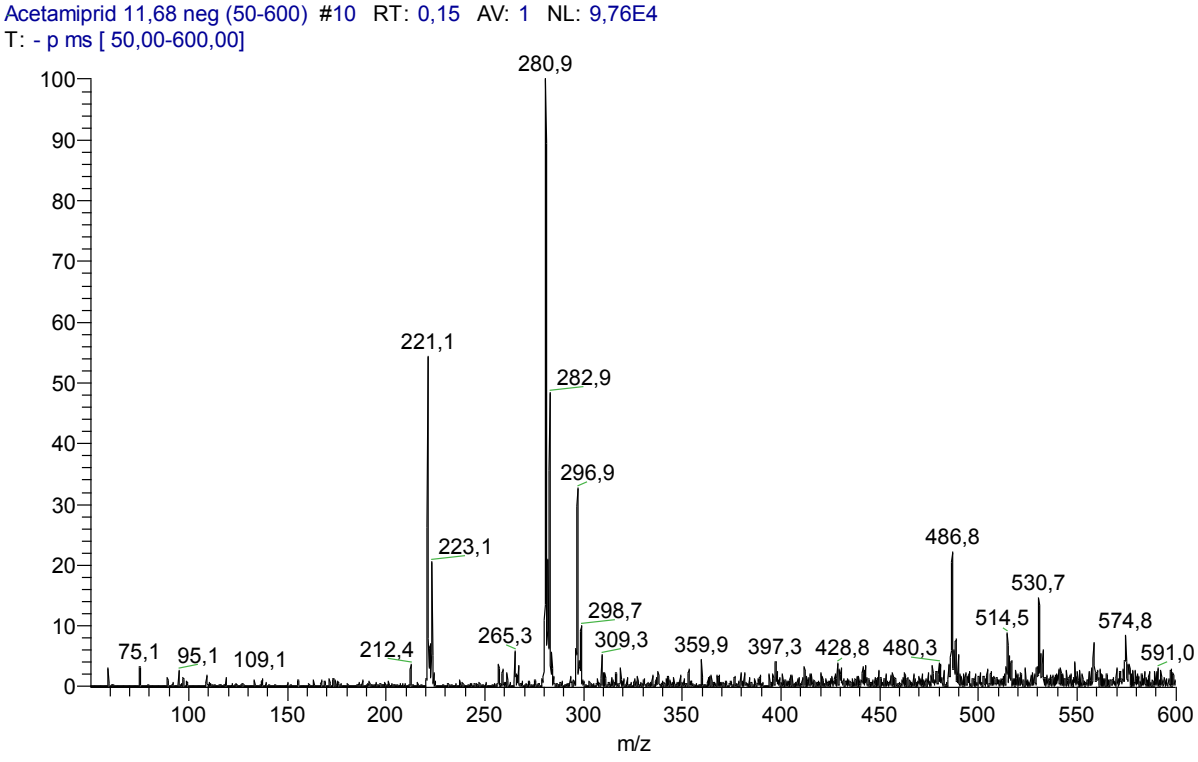


Slika 7.4-21. ESI MS spektar 2,2'-bipiridina; *c* = 10,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 157 – 158.

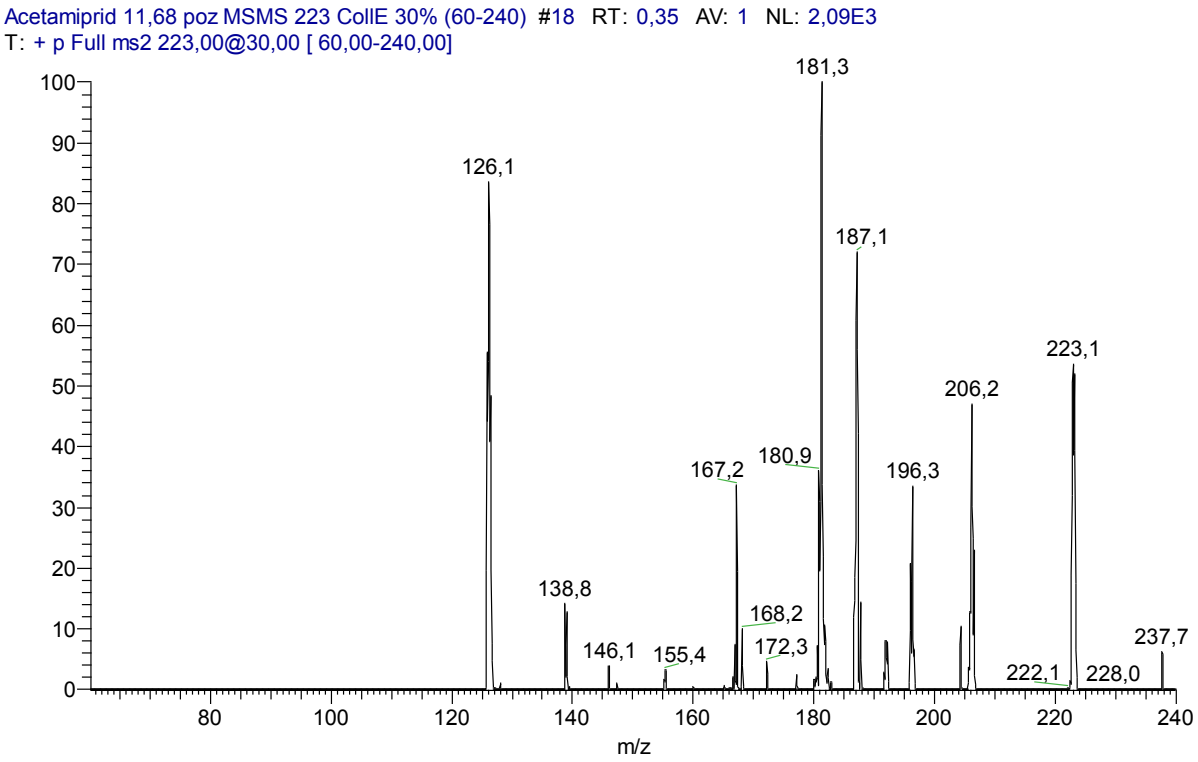
7.4.2.2 Acetamprid



Slika 7.4-22. ESI MS spektari acetamprida; *c* = 11,68 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 223 – 225 (levo) i 464 – 469 (desno).

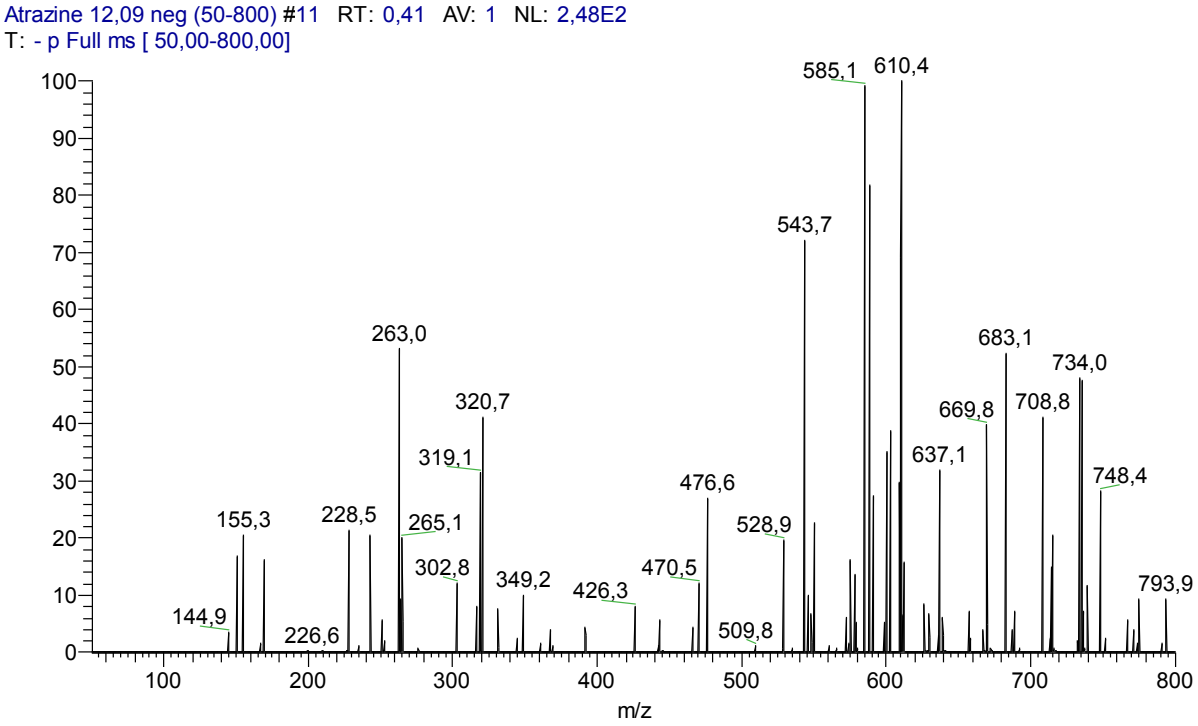


Slika 7.4-23. ESI MS spektar acetamiprida (*c* = 11,68 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

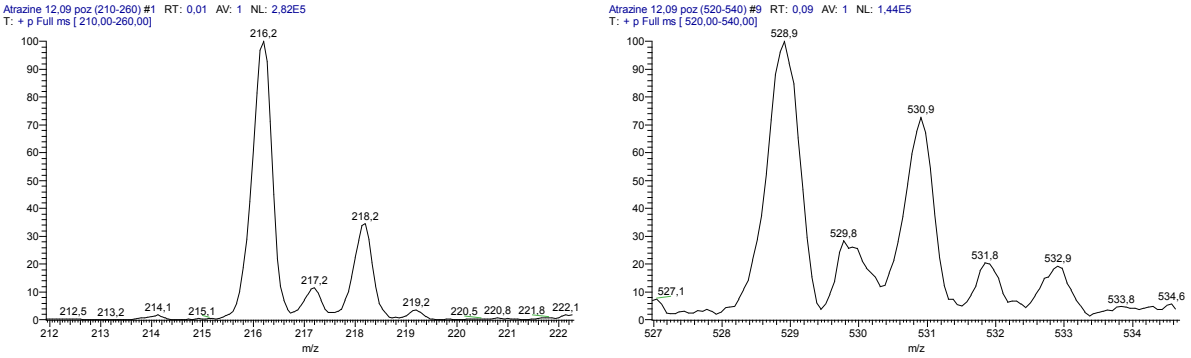


Slika 7.4-24. ESI MS-MS spektar acetamprida, *parent*-jon *m/z* 223, E_{coll} = 30% (c = 11,68 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

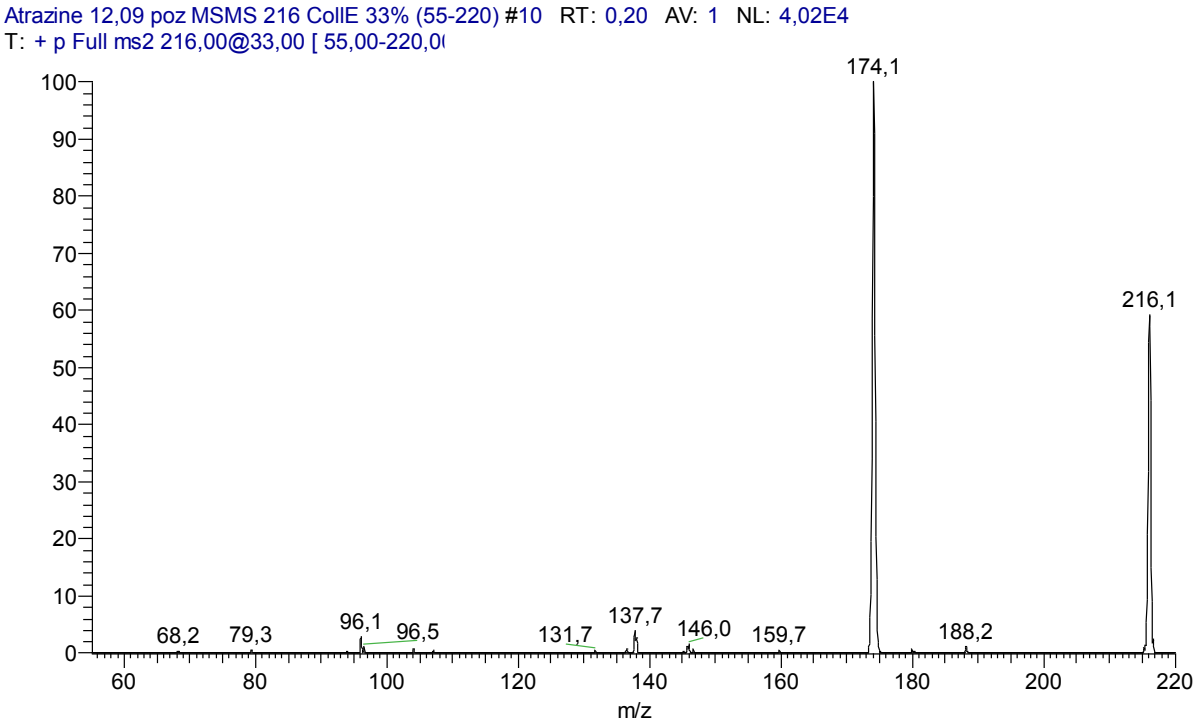
7.4.2.3 Atrazin



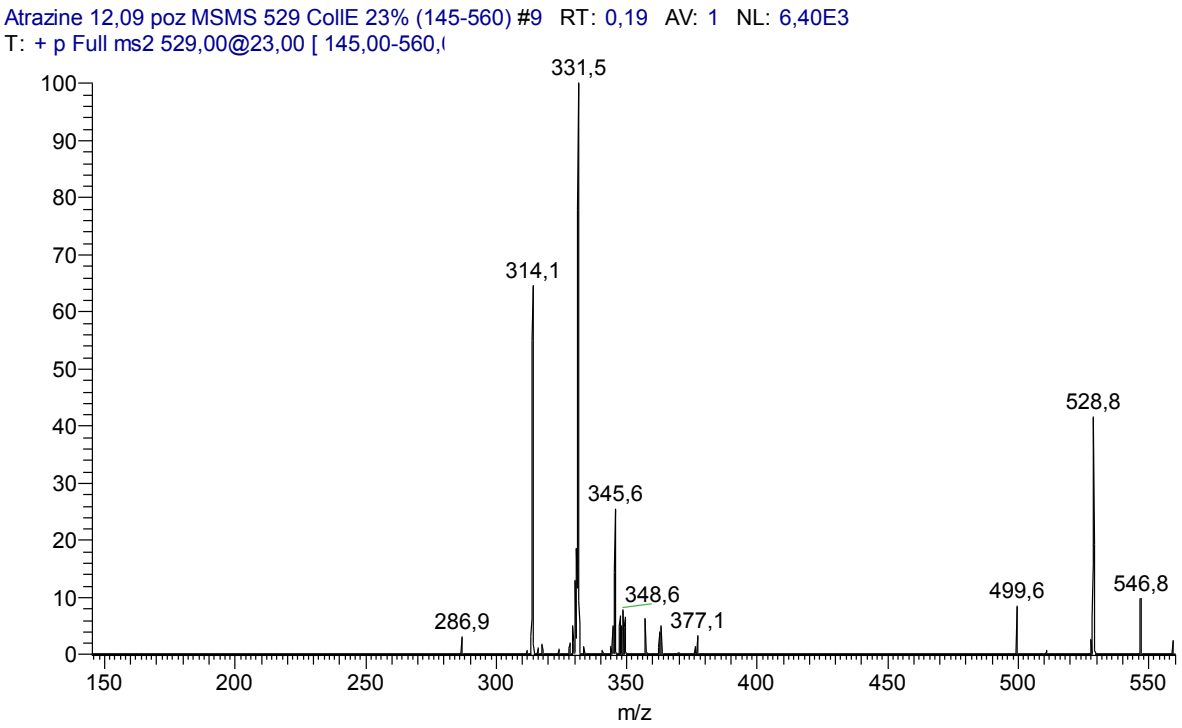
Slika 7.4-25. ESI MS spektar atrazina (c = 12,09 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod)



Slika 7.4-26. ESI MS spektari atrazina; c = 12,09 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 216 – 218 (levo) i 529 – 533 (desno)



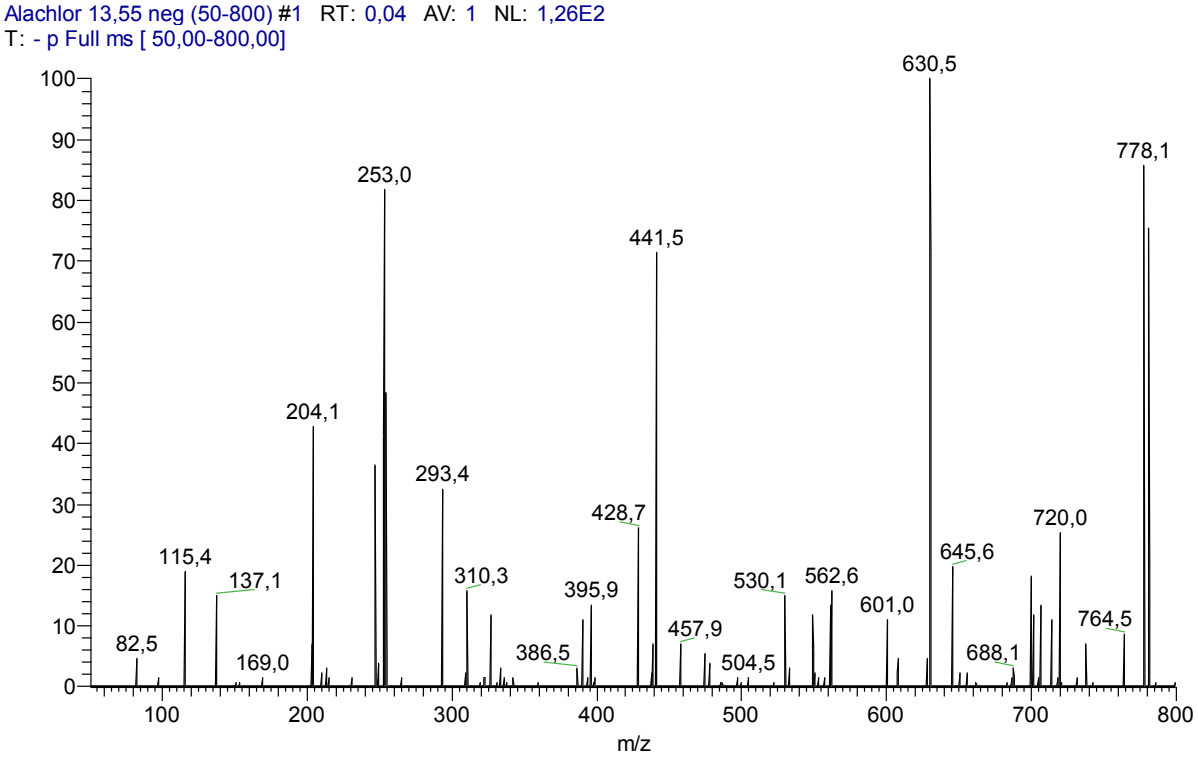
Slika 7.4-27. ESI MS-MS spektar atrazina, *parent*-jon *m/z* 216, E_{coll} = 33% (c = 12,09 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod)



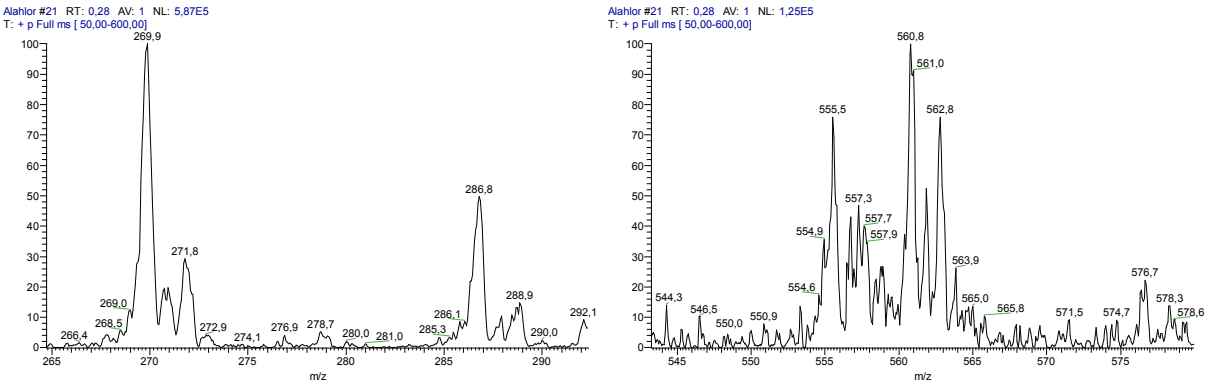
Slika 7.4-28. ESI MS-MS spektar atrazina, *parent*-jon *m/z* 529, E_{coll} = 23% (*c* = 12,09 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod)

7.4.3 ESI MS spektri O, N ili S-donor liganada

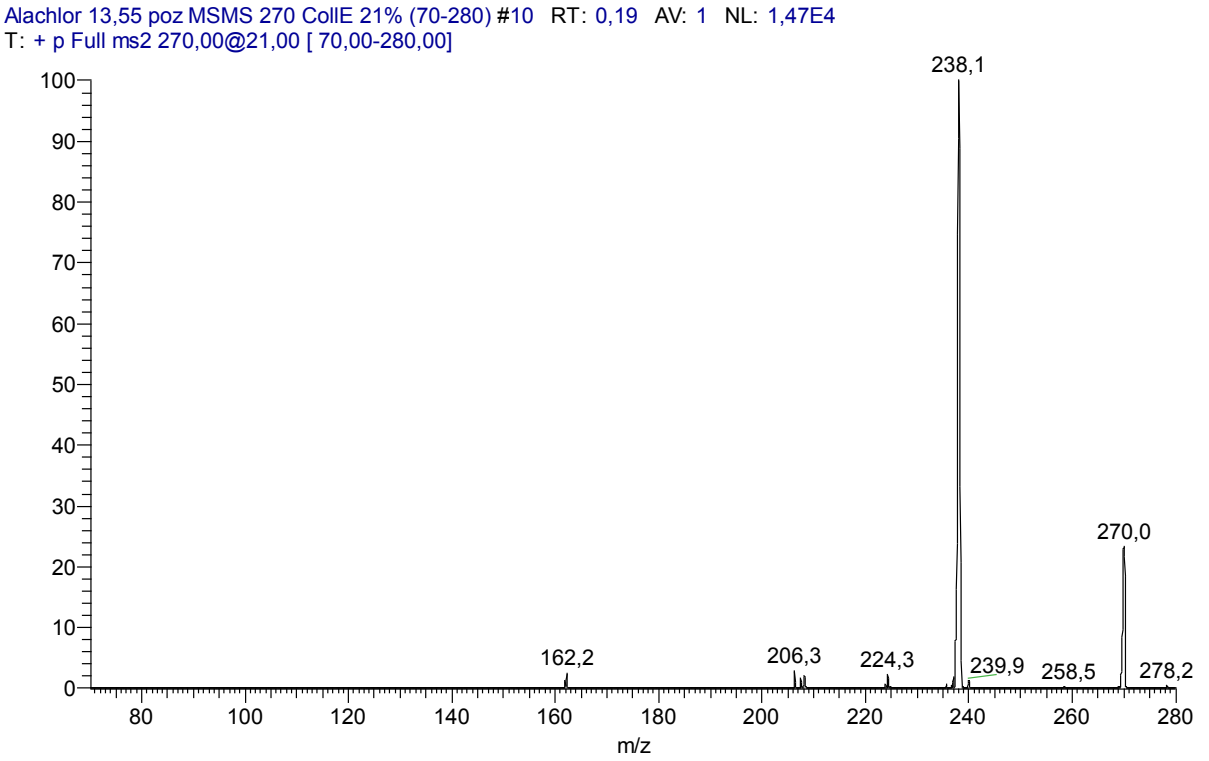
7.4.3.1 Alahlor



Slika 7.4-29. ESI MS spektar alahlora (*c* = 13,55 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

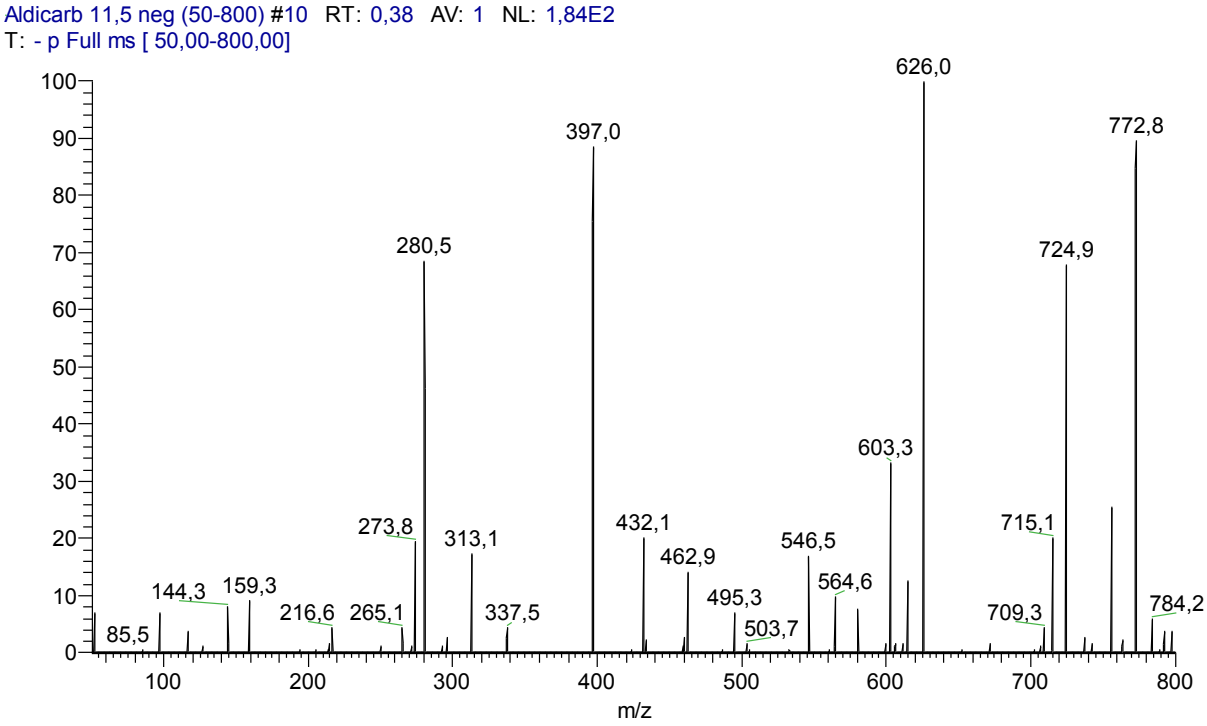


Slika 7.4-30. ESI MS spektari alahlora; c = 13,55 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 270 – 272 (levo) i 560 – 562 (desno)

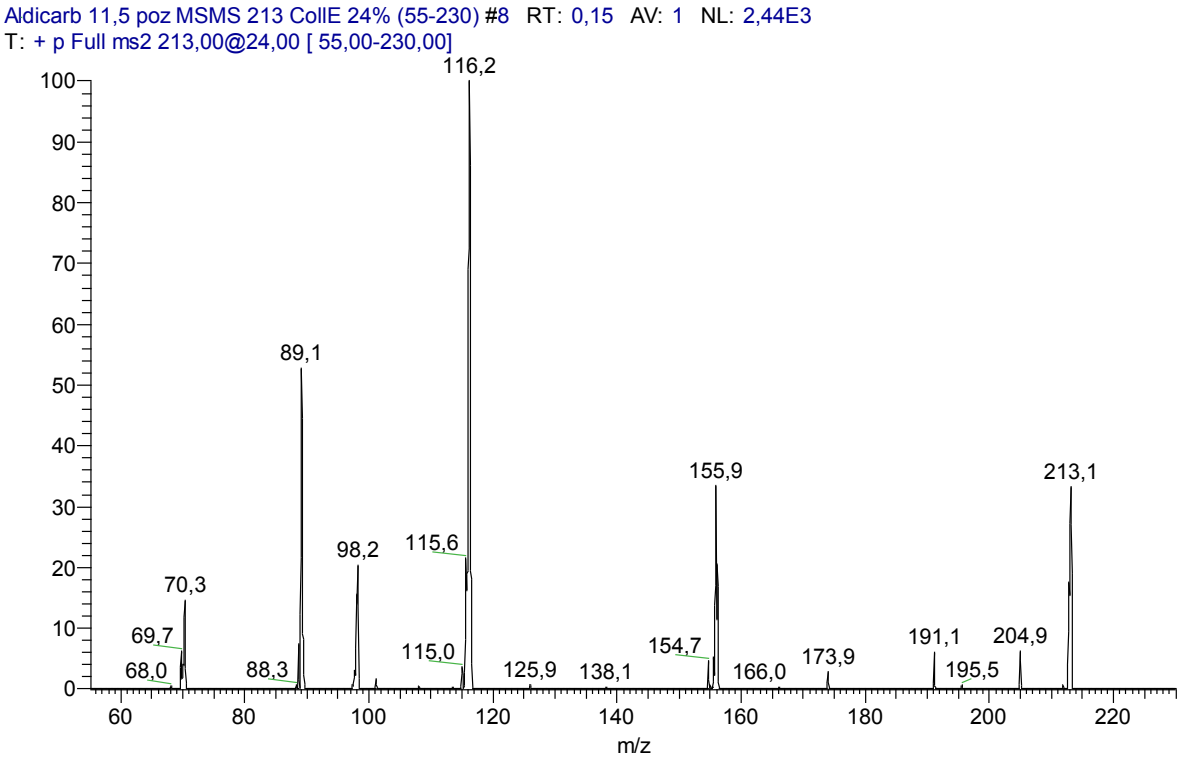


Slika 7.4-31. ESI MS-MS spektar alahlora, *parent*-jon *m/z* 270, E_{coll} = 21% (c = 13,55 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

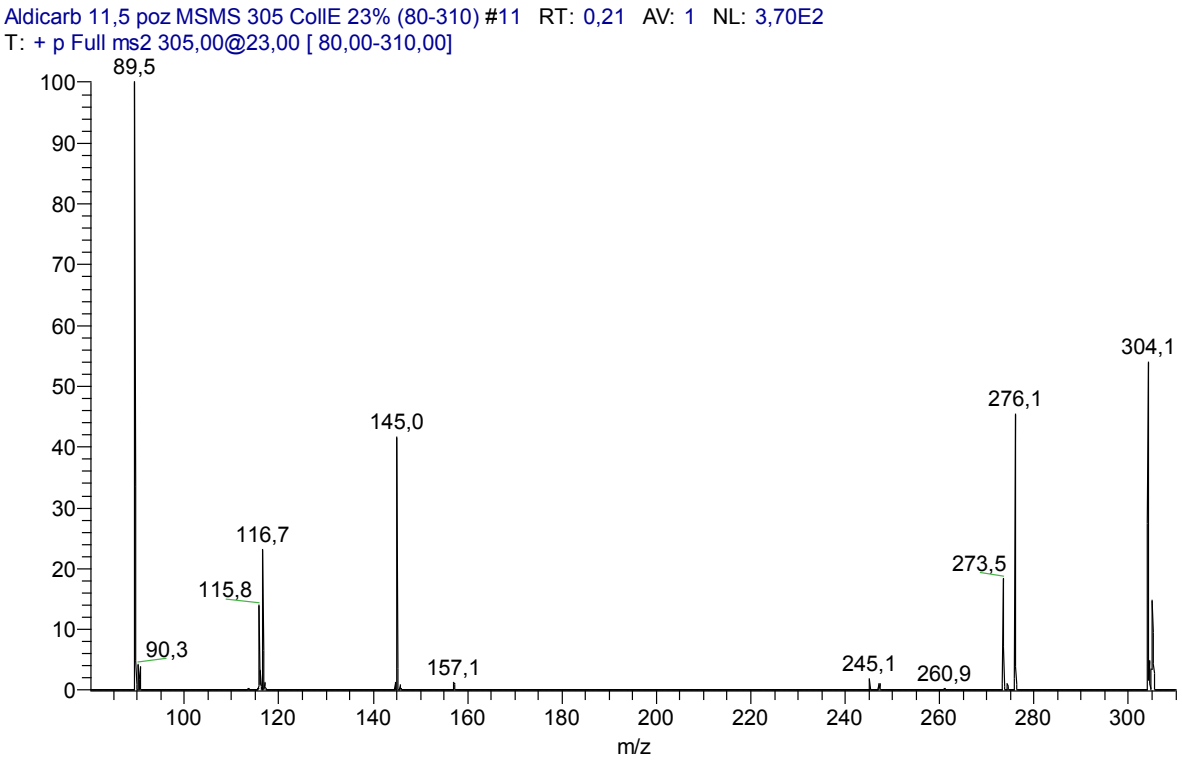
7.4.3.2 Aldikarb



Slika 7.4-32. ESI MS spektar aldikarba; c = 11,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod

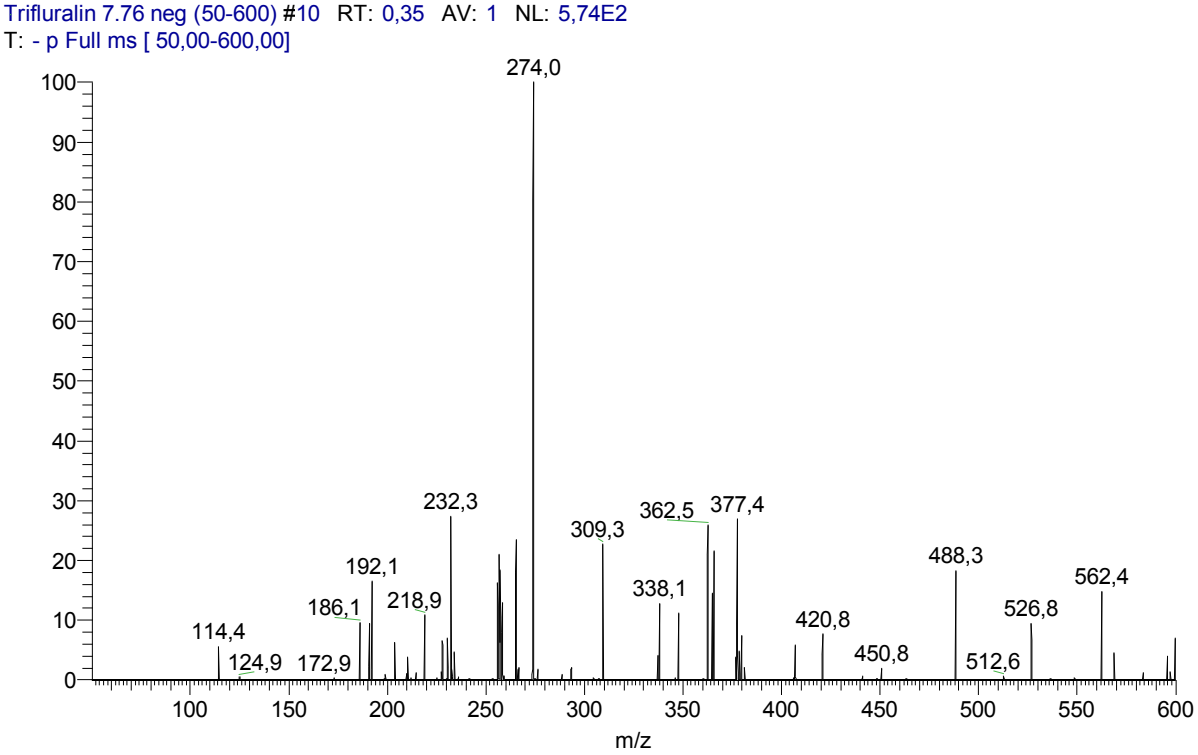


Slika 7.4-33. ESI MS-MS spektar aldikarba, *parent*-jon *m/z* 213, E_{coll} = 24% (c = 11,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod)

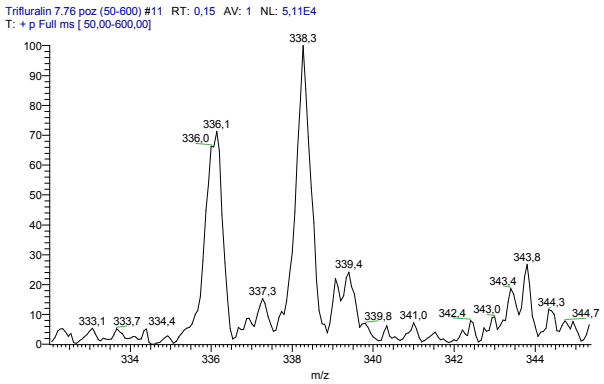


Slika 7.4-34. ESI MS-MS spektar aldikarba, *parent*-jon *m/z* 304, E_{coll} = 23% (c = 11,57 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod)

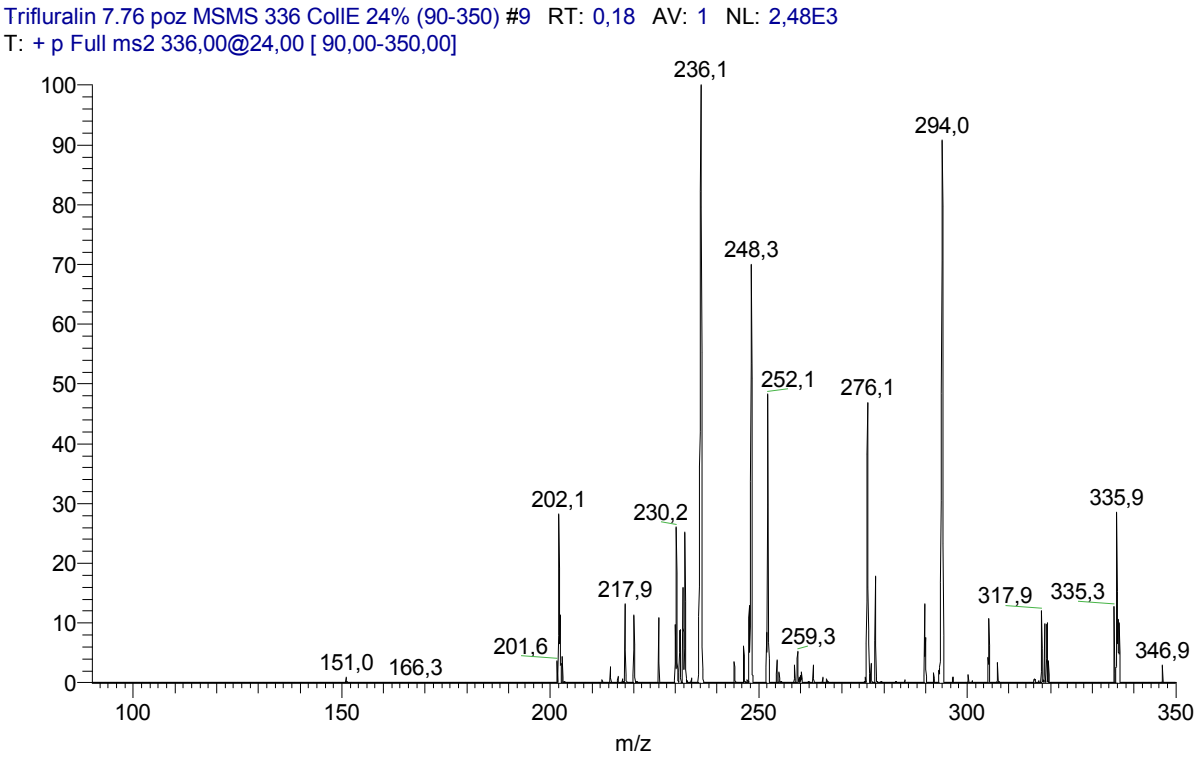
7.4.3.3 Trifluralin



Slika 7.4-35. ESI MS spektar trifluralina (c = 7,76 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod).

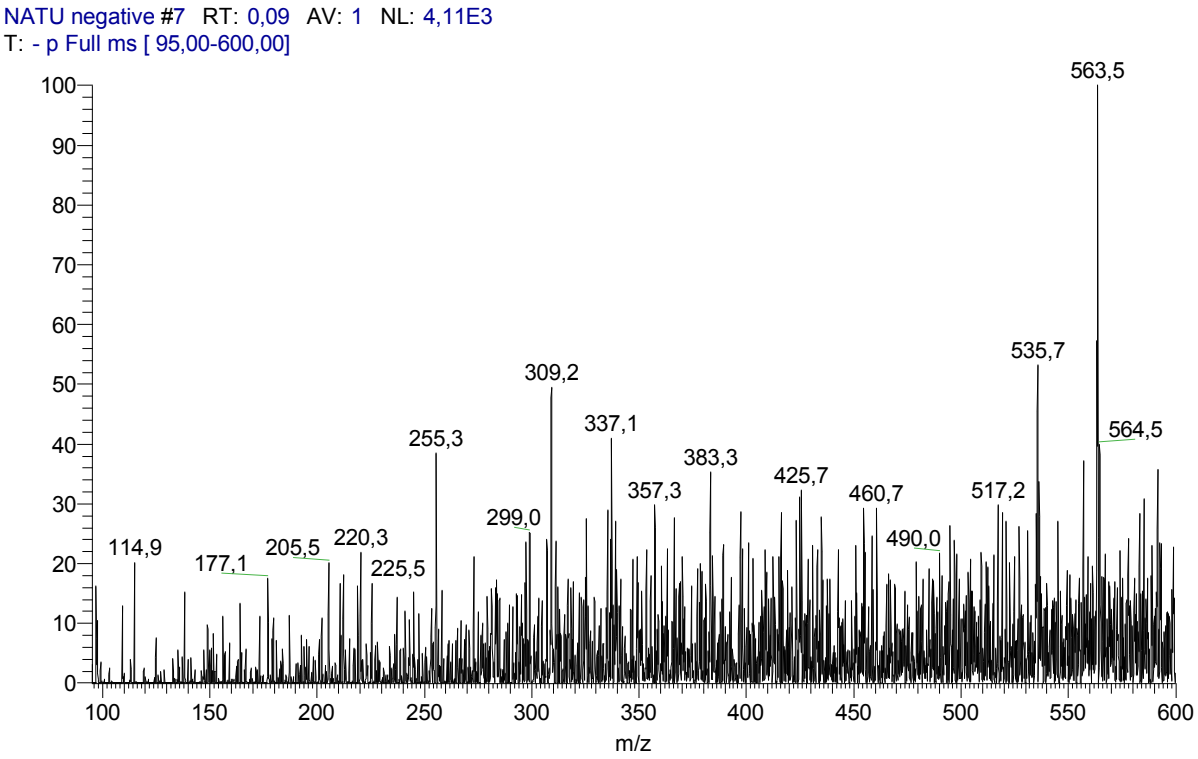


Slika 7.4-36. ESI MS spektar trifluralina; c = 7,76 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 336 – 340.

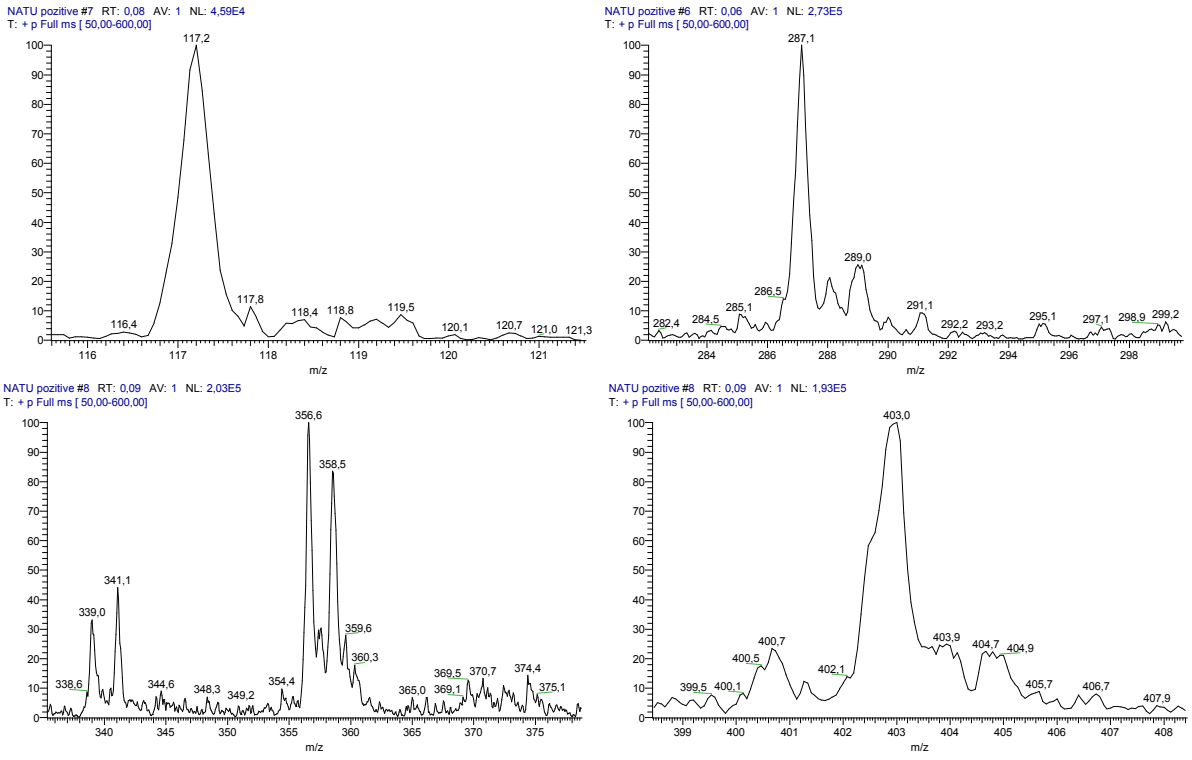


Slika 7.4-37. ESI MS-MS spektar trifluralina, *parent*-jon *m/z* 336, E_{coll} = 24% (c = 7,76 µmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

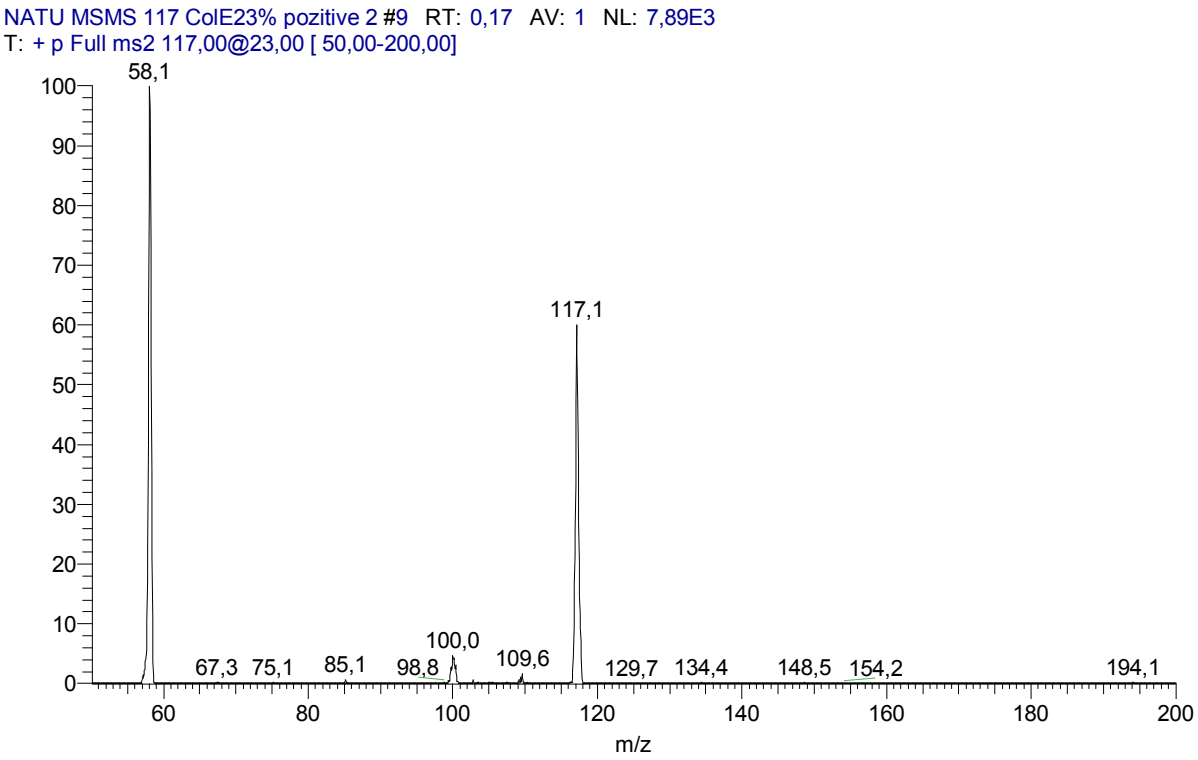
7.4.3.4 *N*-Aliltiourea



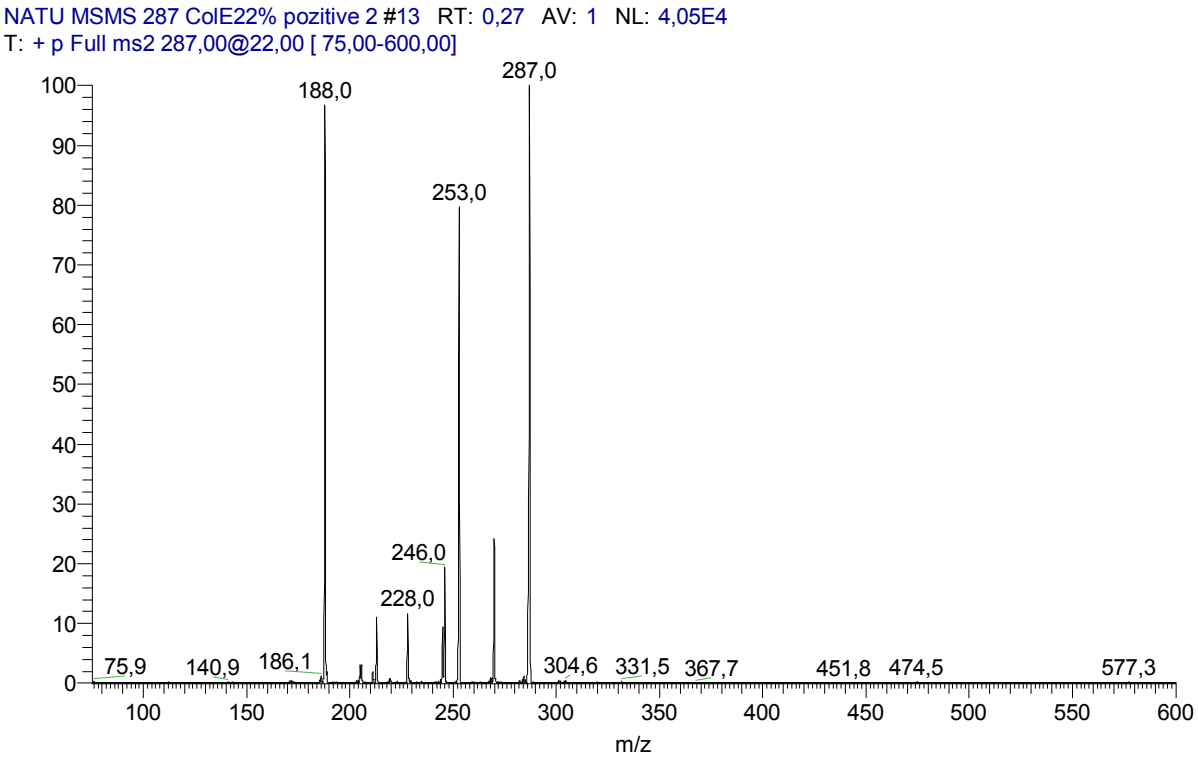
Slika 7.4-38. ESI MS spektar *N*-aliltiouree; c = 8,92 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, negativan jonizacioni mod.



Slika 7.4-39. ESI MS spektari *N*-aliltiouree; c = 8,92 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod. Uvećani prikaz izotopskih pikova *m/z* 117 – 118 (gore levo), 287 – 289 (gore desno) i 357 – 360 (dole levo) i 403 – 406 (dole desno).



Slika 7.4-40. ESI MS-MS spektar *N*-aliltiouree, *parent*-jon *m/z* 117, E_{coll} = 23% (*c* = 8,92 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).



Slika 7.4-41. ESI MS-MS spektar *N*-aliltiouree, *parent*-jon *m/z* 287, E_{coll} = 22% (*c* = 8,92 μmol/L, rastvarač CH_3OH/H_2O = 50/50, pozitivan jonizacioni mod).

Bibliografija

DARKO H. ANĐELKOVIĆ

1. Radovi objavljeni u istaknutom međunarodnom časopisu (M_{22} = 5)

1.1. T. Andjelkovic, J. Perovic, M. Purenovic, S. Blagojevic, R. Nikolic, **D. Andjelkovic**, A. Bojic (2006) *Spectroscopic and Potentiometric Studies on Derivatized Natural Humic Acid*, Analytical Sciences 22, 1553–1558. (IF = 1,589)

2. Radovi objavljeni u međunarodnom časopisu (M_{23} = 3)

2.1. T. Andjelkovic, J. Perovic, M. Purenovic, S. Blagojevic, R. Nikolic, **D. Andjelkovic,** A. Bojic (2006) *A direct potentiometric titration study of the dissociation of the humic acid with selectively blocked functional groups*, Ecletica Quimica **31** (3), 39–46. (IF = 0,085)

2.2. Tatjana Anđelković, Ružica Nikolić, Aleksandar Bojić, **Darko Anđelković,** Goran Nikolić, *Binding of cadmium to soil humic acid as a function of carboxyl group content*, Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, **29** (2) pp. 215–224 (2010). (IF = 0,2)

2.3. **Darko H. Andjelković**, Tatjana D. Andjelković, Ružica S. Nikolić, Milovan M. Purenović, Srdjan D. Blagojević, Aleksandar Lj. Bojić, Milica M. Ristić, *Leaching of chromium from chromium contaminated soil – speciation study and geochemical modeling*, Journal of Serbian Chemical Society (2011) (doi: 10.2298/JSC101216154A) (IF 0,725)

2.4. Ivana Kostić, Tatjana Anđelković, Ružica Nikolić, Aleksandar Bojić, Milovan Purenović, Srđan Blagojević And **Darko Anđelković**, *Copper(II) and lead(II) complexation by humic acid and humic-like ligands,* J. Serb. Chem. Soc. 76 (9), 2011, 1325–1336 (IF 0,725)

3. Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M_{51} = 2)

3.1. Tatjana Anđelković, Jelica Perović, Srđan Blagojević, Milovan Purenović, Ružica Nikolić, Aleksandar Bojić, **Darko Anđelković** (2006) Acidity of humic acid related to its oxygen-containing functional groups. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia* **25**(2), 131–137. ISSN: 0350–0136

3.2. T. Anđelković, **D. Anđelković,** J. Perović, M. Purenović, P. Polić, *Decrease of oxygen interference on humic acid structure alteration during isolation*, Facta Universitatis - Physics, Chemistry and Technology, **2**(3), 2001, pp 163–171

3.3. T. Anđelković, J. Perović, M. Purenović, **D. Anđelković**, *Destabilization and aggregation of aqueous humic acids solution by metal ions,* Facta Universitatis - Physics, Chemistry and Technology, **3**(1), 2004, pp 91–97

4. Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M_{33} = 1)

4.1. M. Purenović, T. Anđelković, **D. Anđelković**, J. Perović, Lj. Ilić, J. Ursić-Janković, *The Study of Interaction between Soil Humic Acid and Cadmium by Gel Permeabile Chromatography*, Physical Chemistry 2000, Beograd, 2000. Proceedings p. 602–604

4.2. T. Anđelković, **D. Anđelković**, J. Perović, M. Purenović, *Nephelometric measurements of humic acids cation-enhanced aggregation*, II Regional Symposium "Chemistry and the Environment", Kruševac, Serbia and Montenegro, 2003. Proceedings p. 73–74

5. Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini (M_{63} = 0.5)

5.1. M. Purenović, J. Perović, T. Anđelković, **D. Anđelković** i P. Polić, *Određivanje stabilnosti kompleksa Cd – huminska kiselina jonoizmenjivačkom metodom*, IV Jugoslovenski simpozijum "Hemija i zaštita životne sredine", Zrenjanin, 2001. Proceedings p. 154–156

5.2. T. Anđelković, A. Bojić, **D. Anđelković** (2010) *Pesticidi u kontekstu održivog razvoja*, 2. Konferencija "Održivi razvoj i klimatske promene", Zbornik radova, 207–212

6. Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M_{34} = 0.5)

6.1. M. Purenović, J. Perović, T. Anđelković, **D. Anđelković**, P. Polić, *FT-IR characterisation of terrestrial humic acids isolated under condition of decreased oxygen level*, 3rd International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Romania, 2002, Proceedings p. 355

6.2. T. Andjelkovic, J. Perovic, M. Purenovic, S. Blagojevic, **D. Andjelkovic**, *Complexation properties of esterified soil humic acid,* 22nd International Meeting on Organic Geochemistry, Sevilla, Spain, 2005, Book of Abstracts, p. 1003–1004

6.3. T. Andjelkovic, J. Perovic, R. Nikolic, S. Blagojevic, **D. Andjelkovic**, A. Bojic, *Binding of lead to humic acid related to its carboxyl and phenol groups contents,* 23rd International Meeting on Organic Geochemistry, Torquay, United Kingdom, 2007, Book of Abstracts, p. 775–776

6.4. T. Andjelkovic, J. Perovic, R. Nikolic, M. Purenovic, **D. Andjelkovic**, A. Bojic, *Humic polyelectrolyte complexing capacity determination by ion-selective electrode potentiometry,* 1st Regional Symposium on Electrochemistry, Rovinj, Croatia, 2008, Book of Abstracts, p. 334–336

6.5. T. Andjelkovic, J. Perovic, R. Nikolic, M. Purenovic, **D. Andjelkovic**, A. Bojic, *Comparison of the Stability Constants of Cd(II) and Pb(II)-Humate complexes,* 5th Symposium Chemistry and Environmental Protection, Tara, Serbia, 2008, Book of Abstracts, p. 104–105

7. Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M_{64} = 0.2)

7.1. J. Perović, M. Purenović, P. Polić, T. Anđelković, **D. Anđelković**, *Modifikacija standardne metode izolovanja huminske kiseline iz zemljišta*, 39. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Beograd, 1999. Zbornik radova, str. 264