



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



Slobodan A. Ćirić

**Razvoj i validacija nove analitičke metode za pripremu uzoraka
vode za kvantifikaciju policikličnih aromatičnih ugljovodonika
primenom gasne hromatografije - masene spektrometrije**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2022. godine



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS



Slobodan A. Ćirić

**Development and validation of a new analytical method for water
samples preparation for polycyclic aromatic hydrocarbons
quantification by using gas chromatography - mass spectrometry**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2022



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



Slobodan A. Ćirić

**Razvoj i validacija nove analitičke metode za pripremu uzoraka
vode za kvantifikaciju policikličnih aromatičnih ugljovodonika
primenom gasne hromatografije - masene spektrometrije**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Текст ове докторске дисертације ставља се на увид јавности, у складу са чланом 30., став 8. Закона о високом образовању ("Сл. гласник РС", бр. 76/2005, 100/2007 – аутентично тумачење, 97/2008, 44/2010, 93/2012, 89/2013 и 99/2014)

НАПОМЕНА О АУТОРСКИМ ПРАВИМА:

Овај текст сматра се рукописом и само се саопштава јавности (члан 7. Закона о ауторским и сродним правима, "Сл. гласник РС", бр. 104/2009, 99/2011 и 119/2012).

Ниједан део ове докторске дисертације не сме се користити ни у какве сврхе, осим за упознавање са њеним садржајем пре одбране дисертације.

Niš, 2022. godine

Mentor:

dr Vesna Stankov Jovanović, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

Članovi komisije:

dr Violeta Mitić, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

dr Gordana Stojanović, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

dr Aleksandar Bojić, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

dr Aleksandar Lolić, vanredni profesor Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:

др Весна Станков Јовановић, редовни професор, Природно-математичког факултета, Универзитета у Нишу

Наслов:

Развој и валидација нове аналитичке методе за припрему узорака воде за квантификацију полицикличних ароматичних угљоводоника применом гасне хроматографије - масене спектрометрије

Резиме:

Полициклични ароматични угљоводоници (ПАУ) су органска једињења чију основну структуру чине два или више кондензованих ароматичних прстенова. С обзиром на њихову токсичност и дуготрајно присуство у животној средини, важно је пратити њихов садржај у свим деловима животне средине, а посебно у води, одакле могу преко ланца исхране или директно, доспети до људи. У оквиру ове докторске дисертације оптимизована је и валидована метода за одређивање ПАУ у води методом гасне хроматографије – масене спектрометрије. У техници припреме узорака, дисперзивној микроекстракцији чврстом фазом, примењени су нови сорбенти припремљени термичком и хемијско-термичком модификацијом природног зеолита, клиноптилолита. Након оптимизационих и валидационих експеримената закључено је да се применом киселинско-термичке модификације масе 200 mg (припремљене модификацијом клиноптилолита употребом $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ хлороводоничне киселине и термички третиране на температури од $500 \text{ }^\circ\text{C}$) постижу најбоље аналитичке карактеристике. Вредности ефикасности биле су у интервалу од 69 % (добензо[а,h]антрацен) до 123 % (пирен). Добијени аналитички параметри валидације методе били су у границама валидационих критеријума. Оптимизована и валидована метода је коришћена за анализу реалних узорака воде реке Нишаве и њених притока на територији општина Димитровград, Пирот, Бела Паланка и Ниш. У свим узорцима били су присутни нафтаген, аценафтилен, аценафтен и флуорен, а укупна концентрација ПАУ варијала је у зависности од места

узорковања и била је у интервалу од 6,47 – 33,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ при чему је закључено да су анализиране притоке доприносиле повећању укупне концентрације ПАУ у Нишави. Добијене појединачне и укупне концентрације биле су веће од дозвољених граница прописаних законом и закључено је да је река Нишава на територији Србије контаминирана ПАУ једињењима, и то у великој мери лаким ПАУ.

Научна област:

Хемија

Научна
дисциплина:

Аналитичка хемија

Кључне речи:

Полициклични ароматични угљоводоници, ПАУ, оптимизација, валидација, дисперзивна микроекстракција чврстом фазом, сорбенти, зеолити, клиноптилолит, гасна хроматографија, масена спектрометрија

УДК:

[543.544.3 : 543.51] : [547.2/.6 + 628.1.032]

CERIF
класификација:

P 003 и P 300 Хемија и Аналитичка хемија

Тип лиценце
Креативне
заједнице:

CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral
Supervisor: Vesna Stankov Jovanović, Ph.D., full professor, Faculty of Science and Mathematics, University of Nis

Title: Development and validation of a new analytical method for water samples preparation for polycyclic aromatic hydrocarbons quantification by using gas chromatography - mass spectrometry

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds whose structure consists of two or more condensed aromatic rings. Due to their toxicity and persistence in the environment, PAHs monitoring is very important especially in water, from where they can through the food chain or directly reach humans. In this doctoral dissertation, a method for the determination of PAHs in water, using gas chromatography - mass spectrometry method was optimized and validated. In the sample preparation technique, dispersive micro-solid phase extraction, new sorbents, prepared by thermal and chemical-thermal modification of natural zeolite, clinoptilolite, were used. After optimization and validation experiments, it was concluded that applying 200 mg of acid-thermal modification (prepared modifying clinoptilolite using 1.5 mol L^{-1} hydrochloric acid and thermally treated at temperature of $500 \text{ }^{\circ}\text{C}$) enabled achieving the best analytical characteristics. Efficiency values ranged from 69% (dibenzo[a,h]anthracene) to 123% (pyrene). The obtained analytical parameters of the method validation were within the validation criterias. The optimized and validated method was used for analysis of real water samples of the river Nišava and its tributaries in the territory of municipalities Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka and Niš. Naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene and fluorene were present

in all samples, and the total concentration of PAHs varied depending on the sampling site, and was in the interval of 6.47 - 33.6 $\mu\text{g L}^{-1}$, where tributaries contributed to the increase of the total PAHs concentration in Nišava. The obtained individual and total concentrations were higher than the limits prescribed by official regulations and it was concluded that the river Nišava in the territory of Serbia has been contaminated with PAHs, of which light PAHs were predominantly presented in all samples.

Scientific

Field:

Chemistry

Scientific

Discipline:

Analytical chemistry

Key Words:

Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH, optimization, validation, dispersive microsolid phase extraction, sorbents, zeolites, clinoptilolite, gas chromatography, mass spectrometry

UDC:

[543.544.3 : 543.51] : [547.2/.6 + 628.1.032]

CERIF

Classification:

P 003 and P 300 Chemistry and Analytical chemistry

Creative
Commons
License Type:

CC BY-NC-ND



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:	Слободан А. Ћирић
Ментор, МН:	Весна П. Станков Јовановић
Наслов рада, НР:	Развој и валидација нове аналитичке методе за припрему узорака воде за квантификацију полицикличних ароматичних угљоводоника применом гасне хроматографије - масене спектрометрије
Језик публикације, ЈП:	српски
Језик извода, ЈИ:	енглески
Земља публикавања, ЗП:	Србија
Уже географско подручје, УГП:	Србија
Година, ГО:	2022
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33.
Физички опис рада, ФО: (поглавља/страна/ цитата/табела/слика/графика/прилога)	11 поглавља, 165 страна, 256 цитата, 32 табеле, 31 слика, 1 прилог (6 слика)
Научна област, НО:	Хемија
Научна дисциплина, НД:	Аналитичка хемија
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	Полициклични ароматични угљоводоници, ПАУ, оптимизација, валидација, дисперзивна микроекстракција чврстом фазом, сорбенти, зеолити, клиноптилолит, гасна хроматографија, масена спектрометрија
УДК	[543.544.3 : 543.51] : [547.2/6 + 628.1.032]
Чува се, ЧУ:	библиотека
Важна напомена, ВН:	Експериментални део докторске дисертације финансиран је од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије у оквиру пројекта „Развој и карактеризација новог биосорбента за пречишћавање природних и отпадних вода“ (евиденциони број ТР - 34008) и „Развој нових и побољшање постојећих, електрохемијских, спектроскопских и проточних (ФИА) метода за праћење квалитета животне средине“ (евиденциони број 172047).

Извод, ИЗ:	Полициклични ароматични угљоводоници (ПАУ) су органска једињења чију основну структуру чине два или више кондензованих ароматичних прстенова. С обзиром на њихову токсичност и дуготрајно присуство у животnoj средини, важно је пратити њихов садржај у свим деловима животне средине, а посебно у води, одакле могу преко ланца исхране или директно, доспети до људи. У оквиру ове докторске дисертације оптимизована је и валидована метода за одређивање ПАУ у води методом гасне хроматографије - масене спектрометрије. У техници припреме узорака, дисперзивној микроекстракцији чврстом фазом, примењени су нови сорбенти припремљени термичком и хемијско-термичком модификацијом природног зеолита, клиноптилолита. Након оптимизационих и валидационих експеримената закључено је да се применом киселинско-термичке модификације масе 200 mg (припремљене модификацијом клиноптилолита употребом 1,5 mol L ⁻¹ хлороводоничне киселине и термички третиране на температури од 500 °C) постижу најбоље аналитичке карактеристике. Вредности ефикасности биле су у интервалу од 69 % (добензо[а,h]антрацен) до 123 % (пирен). Добијени аналитички параметри валидације методе били су у границама валидационих критеријума. Оптимизована и валидована метода је коришћена за анализу реалних узорака воде реке Нишаве и њених притока на територији општина Димитровград, Пирот, Бела Паланка и Ниш. У свим узорцима били су присутни нафтаген, аценафтилен, аценафтен и флуорен, а укупна концентрација ПАУ варирала је у зависности од места узорковања и била је у интервалу од 6,47 – 33,6 μg L ⁻¹ при чему је закључено да су анализирани притоке доприносиле повећању укупне концентрације ПАУ у Нишави. Добијене појединачне и укупне концентрације биле су веће од дозвољених граница прописаних законом и закључено је да је река Нишава на територији Србије контаминирана ПАУ једињењима, и то у великој мери лаким ПАУ.
Датум прихватања теме, ДП:	13.05.2019. год.
Датум одбране, ДО:	}
Чланови комисије, КО:	Председник: Члан: Члан: Члан: Члан, ментор:



**ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
НИШ**

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :	
Identification number, INO :	
Document type, DT :	monograph
Type of record, TR :	textual / graphic
Contents code, CC :	doctoral dissertation
Author, AU :	Slobodan A. Ćirić
Mentor, MN :	Vesna P. Stankov Jovanović
Title, TI :	Development and validation of a new analytical method for water samples preparation for polycyclic aromatic hydrocarbons quantification by using gas chromatography - mass spectrometry
Language of text, LT :	Serbian
Language of abstract, LA :	English
Country of publication, CP :	Serbia
Locality of publication, LP :	Serbia
Publication year, PY :	2022
Publisher, PB :	author's reprint
Publication place, PP :	Niš, Višegradska 33.
Physical description, PD : (chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendixes)	11 chapters, 165 pages, 256 referencess, 32 tables, 31 figures, 1 appendix (6 figures)
Scientific field, SF :	Chemistry
Scientific discipline, SD :	Analytical chemistry
Subject/Key words, S/KW :	Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH, optimization, validation, dispersive micro solid phase extraction, sorbents, zeolites, clinoptilolite, gas chromatography, mass spectrometry
UC	[543.544.3 : 543.51] : [547.2/6 + 628.1.032]
Holding data, HD :	library
Note, N :	The experimental part of the doctoral dissertation was financed by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia within the projects "Development and characterization of new biosorbents for the treatment of natural and waste water" (TR No - 34008) and "Development of new and improvement of existing, electrochemical, spectroscopic and flow (FIA) methods for monitoring the quality of the environment" (OI No- 172051).

Abstract, AB :	<p>Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds whose structure consists of two or more condensed aromatic rings. Due to their toxicity and persistence in the environment, PAHs monitoring is very important especially in water, from where they can through the food chain or directly reach humans. In this doctoral dissertation, a method for the determination of PAHs in water, using gas chromatography-mass spectrometry method was optimized and validated. In the sample preparation technique, dispersive micro-solid phase extraction, new sorbents, prepared by thermal and chemical-thermal modification of natural zeolite, clinoptilolite, were used. After optimization and validation experiments, it was concluded that applying 200 mg of acid-thermal modification (prepared modifying clinoptilolite using 1.5 mol L⁻¹ hydrochloric acid and thermally treated at temperature of 500 °C) enabled achieving the best analytical characteristics. Efficiency values ranged from 69% (dibenzo[a,h]anthracene) to 123% (pyrene). The obtained analytical parameters of the method validation were within the validation criterias. The optimized and validated method was used for analysis of real water samples of the river Nišava and its tributaries in the territory of municipalities Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka, and Niš. Naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene and fluorene were present in all samples, and the total concentration of PAHs varied depending on the sampling site, and was in the interval of 6.47 - 33.6 µg L⁻¹, where tributaries contributed to the increase of the total PAHs concentration in Nišava. The obtained individual and total concentrations were higher than the limits prescribed by official regulations and it was concluded that the river Nišava in the territory of Serbia has been contaminated with PAHs, of which light PAHs were predominantly presented in all samples.</p>
Accepted by the Scientific Board on, ASB :	13.05.2019.
Defended on, DE :	
Defended Board, DB :	
President:	
Member:	
Member:	
Member:	
Member, Mentor:	

Eksperimentalni deo doktorske disertacije urađen je u laboratorijama Katedre za Analitičku i fizičku hemiju, Katedre za Organsku hemiju i biohemiju, na Departmanu za hemiju Prirodno - matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu u okviru projekata „Razvoj i karakterizacija novog biosorbenta za prečišćavanje prirodnih i otpadnih voda” (evidencionni broj projekta TR-34008 - rukovodilac dr Aleksandar Bojić), „Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena” (evidencionni broj projekta OI-172047) i “Razvoj novih i poboljšanje postojećih elektrohemijskih, spektroskopskih i protočnih (FIA) metoda za praćenje kvaliteta životne sredine” (evidencionni broj projekta OI-172051 - rukovodilac dr Vesna Stankov Jovanović).

Neizmernu zahvalnost dugujem svojoj mentorki profesorki dr Vesni Stankov Jovanović koja me je uvela u svet nauke, a svojom strpljivošću, izvanrednim pedagoškim pristupom, nesebičnim ulaganjem svog znanja, iskustva i vremena angažovala se u svim fazama izrade ove doktorske disertacije. Hvala Vam.

Podjednako se zahvaljujem i profesorki dr Violeti Mitić koja je nesebično uložila svoje znanje, iskustvo i vreme u svim fazama izrade disertacije.

Zahvaljujem se profesorki dr Gordani Stojanović, profesoru dr Aleksandru Bojiću, profesoru dr Aleksandru Loliću na korisnim sugestijama prilikom izrade disertacije.

Podjednako se zahvaljujem i profesorki dr Jeleni Nikolić od koje sam puno naučio, naročito na početku doktorskih akademskih studija, a i dalje učim. Hvala.

Dragoj kolegini dr Jovani Ickovski i kolegi dr Radomiru Ljupkoviću, zahvaljujem se na svemu što su za mene učinili. Hvala vam neizmerno.

Hvala i mojim divnim roditeljima. Njima najveća hvala.

1	Uvod	1
2	Teorijske osnove	3
2.1	Policiklični aromatični ugljovodonici, definicija, struktura i nomenklatura	3
2.1.1	Nomenklatura PAU.....	5
2.1.2	Fizičko-hemijske osobine i toksičnost policikličnih aromatičnih ugljovodonika	6
2.2	Izvori policikličnih aromatičnih ugljovodonika i njihova sudbina u životnoj sredini	8
2.3	Policiklični aromatični ugljovodonici u vodi	9
2.4	Uzorkovanje vode za analizu - prikupljanje realnih uzoraka vode.....	13
2.5	Tehnike pripreme uzoraka za analizu PAU.....	15
2.6	Ekstrakcija čvrstom fazom (eng. Solid phase extraction SPE)	15
2.7	Mikroekstrakcije	17
2.7.1	Mikroekstrakcija pakovanim sorbentom (eng. Microextraction by packed sorbent - MEPS)	17
2.7.2	Mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. Solid phase microextraction – SPME)	19
2.7.3	Sorpciona ekstrakcija mešanjem (eng. stir bar sorptive extraction – SBSE)	22
2.7.4	QuEChERS (eng. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) tehnika pripreme uzoraka.....	23
2.7.5	Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. dispersive micro-solid phase extraction – D- μ -SPE) 25	
2.8	Izbor sorbenta za disperzivnu mikroekstrakciju čvrstom fazom	28
2.9	Osnovne karakteristike i primena zeolita	29
2.9.1	Primena zeolita	32
2.9.2	Klinoptilolit.....	33
2.10	Modifikacija zeolita	34
2.10.1	Modifikacija zeolita kiselinama	35
2.10.2	Termička i kiselinsko termička modifikacija klinoptilolita	36
2.11	Analitičke metode za određivanje PAU u vodi	37
2.11.1	Tečna hromatografija visokih performansi (eng. High-performance Liquid Chromatography, HPLC)	38
2.11.2	Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS).....	40
2.12	Validacija analitičkih metoda.....	44
2.12.1	Selektivnost.....	46
2.12.2	Linearnost	47
2.12.3	Radno područje analitičke metode.....	48
2.12.4	Preciznost.....	48
2.12.5	Tačnost (efikasnost).....	49
2.12.6	Granica detekcije	50
2.12.7	Granica kvantifikacije.....	51
2.12.8	Robustnost	51

2.12.9	Efekat matriksa	51
2.12.10	Merna nesigurnost	52
2.12.11	. Međusobna zavisnost parametara validacije.....	53
3	Eksperimentalni deo.....	54
3.1	Hemikalije i reagensi.....	54
3.2	Aparati i pribor.....	54
3.3	Program eksperimentalnog rada.....	55
3.4	Priprema novih sorbenata.....	55
3.5	Priprema standardnih rastvora policikličnih aromatičnih ugljovodonika.....	57
3.6	Priprema model uzoraka voda.....	58
3.7	Prikupljanje realnih uzoraka vode.....	58
3.8	Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (D- μ -SPE) policikličnih aromatičnih ugljovodonika u vodi ..	61
3.9	GC-MS analiza.....	61
4	Rezultati i diskusija.....	63
4.1	Optimizacija i validacija disperzivne mikro-ekstrakcije čvrstom fazu.....	63
4.1.1	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom termički modifikovanog klinoptilolita na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C	66
4.1.2	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog klinoptilolita (0,01 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)	72
4.1.3	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC- MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog klinoptilolita (0,1 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C).....	76
4.1.4	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (1 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)	80
4.1.5	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (1,5 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)	84
4.1.6	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (3 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)	88
4.1.7	Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (6 mol L ⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)	92
4.1.8	Optimizacija mase sorbenta za disperzivnu mikroekstrakciju čvrstom fazom	95
4.2.	Analiza realnih uzoraka	101
5	Izvod	110
6	Summary.....	113

7	Prilog.....	116
8	Reference.....	125
9	Biografija.....	155
10	Bibliografija.....	157
11	Izjave o autorstvu.....	165

Uvod

1 Uvod

Prirodni procesi u životnoj sredini, ljudske aktivnosti i industrijski procesi dovode do zagađenja prirodnih voda, vazduha i zemljišta. Ukoliko dođe do promene u jednom od medijuma životne sredine, dolazi do promene i u ostalim zbog njihove međusobne povezanosti. Zagađenje životne sredine može biti različitog porekla, a putem vode i vazduha zagađujuće supstance se mogu akumulirati u zemljištu, sedimentima i dospeti u biljke i životinje. Spiranjem sedimenta i zemljišta usled padavina, zagađujuće supstance mogu u određenoj meri dospeti do podzemnih i površinskih voda pri čemu dolazi do bioakumulacije i u akvatičnim organizmima. Putem lanca ishrane, zagađivači se prenose u životinjska tkiva potencijalno uzrokujući štetne posledice po njihovo zdravlje, i na kraju po zdravlje ljudi.

Zagađenjem vode smatra se prisustvo u vodenim sistemima (rekama, jezerima, morima, okeanima i podzemnim vodama) supstanci koje nisu njen prirodni deo. Do kontaminacije vodenih sistema dolazi zbog ispuštanja zagađujućih supstanci u vodeni sistem. Izvori organskog zagađenja vodenih sistema uglavnom su otpadne vode koje mogu biti komunalne, industrijske i poljoprivredne. Veliki izvor zagađenja predstavljaju izlivanja nafte i indirektna zagađenja koja uključuju emisiju zagađujućih supstanci iz saobraćaja, i onu nastalu sagorevanjem fosilnih i čvrstih goriva.

Među mnogim zagađujućim supstancama koje se mogu nalaziti u vodi, dugotrajni organski zagađivači (eng. Persistent Organic Pollutants-POPs), u koje se ubrajaju i policiklični aromatični ugljovodonici (PAU), predstavljaju najveću opasnost po životnu sredinu zbog svojih toksičnih i potencijalno toksičnih karakteristika. Policiklični aromatični ugljovodonici predstavljaju grupu rasprostranjenih organskih zagađivača i obuhvataju organska hemijska jedinjenja sa dva ili više kondenzovanih prstenova. Zbog perzistentnosti, biodostupnosti, bioakumulativnosti, i dokazanog štetnog delovanja, PAU predstavljaju opasnost po životnu sredinu, te zbog toga postoji potreba za konstantnim praćenjem koncentracija ovih zagađivača. Praćenje koncentracija PAU postiže se primenom postojećih i/ili primenom novih analitičkih metoda. Kod postojećih analitičkih metoda za analizu PAU tehnike pripreme uzoraka u većini slučajeva nisu u skladu sa zahtevima „zelene analitičke hemije“ što uslovljava težnju za razvijanjem novih analitičkih metoda koje su pouzdane i ponovljive, a ujedno brze, ekonomične, precizne i tačne. Poboljšanje postojećih kao i razvijanje

i validacija novih metoda za analizu PAU je od presudne važnosti zbog konstante potrebe za praćenjem koncentracije ovih zagađujućih supstanci u vodi, ali i u svim ostalim delovima životne sredine.

Kao ciljeve doktorske disertacije postavljeni su:

- Priprema novih sorbenata na bazi prirodnog zeolita, klinoptilolita za primenu u pripremi uzoraka vode disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom;
- Optimizacija disperzivne mikroekstrakcije čvrstom fazom PAU iz uzoraka vode primenom novih sorbenata dobijenih termičkom modifikacijom prirodnog zeolita, klinoptilolita;
- Optimizacija disperzivne mikroekstrakcije čvrstom fazom PAU iz uzoraka vode primenom novih sorbenata dobijenih kiselinsko – termičkom modifikacijom prirodnog zeolita, klinoptilolita;
- Optimizacija mase primenjenog sorbenta;
- Validacija optimizovanih tehnika pripreme uzoraka za analizu PAU; i
- Kvantitativno određivanje sadržaja PAU u uzorcima reke Nišave i njenih pritoka na teritoriji opština Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka i Niš primenom nove optimizovane i validovane analitičke metode.

Teorijske osnove

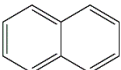
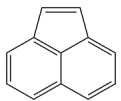
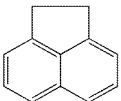
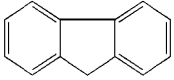
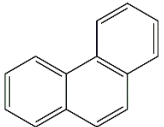
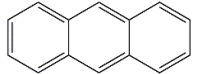
2 Teorijske osnove

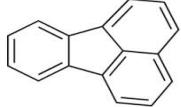
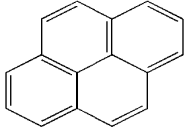
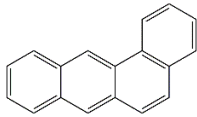
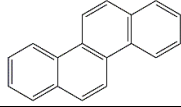
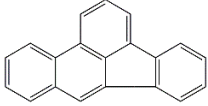
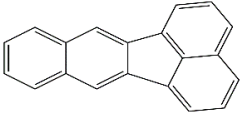
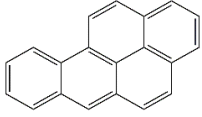
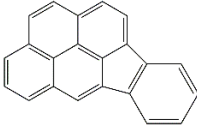
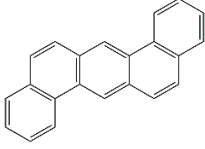
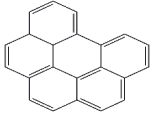
2.1 Policiklični aromatični ugljovodonici, definicija, struktura i nomenklatura

Policiklični aromatični ugljovodonici (PAU) su organska jedinjenja koja u strukturi sadrže dva ili više kondenzovanih benzenovih prstenova. Sastavljeni su od ugljenika i vodonika, a kod derivata PAU, atomi ugljenika su zamenjeni hetero atomima (kiseonika, sumpora i azota) gradeći heterociklična jedinjenja. PAU koji sadrže četiri ili više aromatičnih prstenova se nazivaju „teškim” PAU, dok se oni sa manje od četiri prstena nazivaju „lakim“ PAU. Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih američkih država (eng. United states Environmental Protection Agency, US EPA) definisala je 16 prioritetnih jedinjenja iz grupe PAU koji se najčešće nalaze u uzorcima zemljišta, vazduha i vode, pa je i njihova kvantifikacija najpotrebnija.

Nazivi, strukturne formule, molekulske formule, CAS broj (Chemical Abstracts Service number) i molekulske mase 16 prioritetnih PAU prikazani su u tabeli 1:

Tabela 1. Nazivi, strukturne formule, molekulske formule, molekulske mase, CAS brojevi 16 prioritetnih PAU

Naziv	Strukturna formula	Broj prstenova	Molekulska formula	Molekulska masa	CAS broj
Naftalen		2	C ₁₀ H ₈	128	91-20-3
Acenaftilen		3	C ₁₂ H ₈	152	208-96-8
Acenaften		3	C ₁₂ H ₁₀	154	83-82-9
Fluoren		3	C ₁₃ H ₁₀	166	86-73-7
Fenantren		3	C ₁₄ H ₁₀	178	85-01-8
Antracen		3	C ₁₄ H ₁₀	178	120-12-7

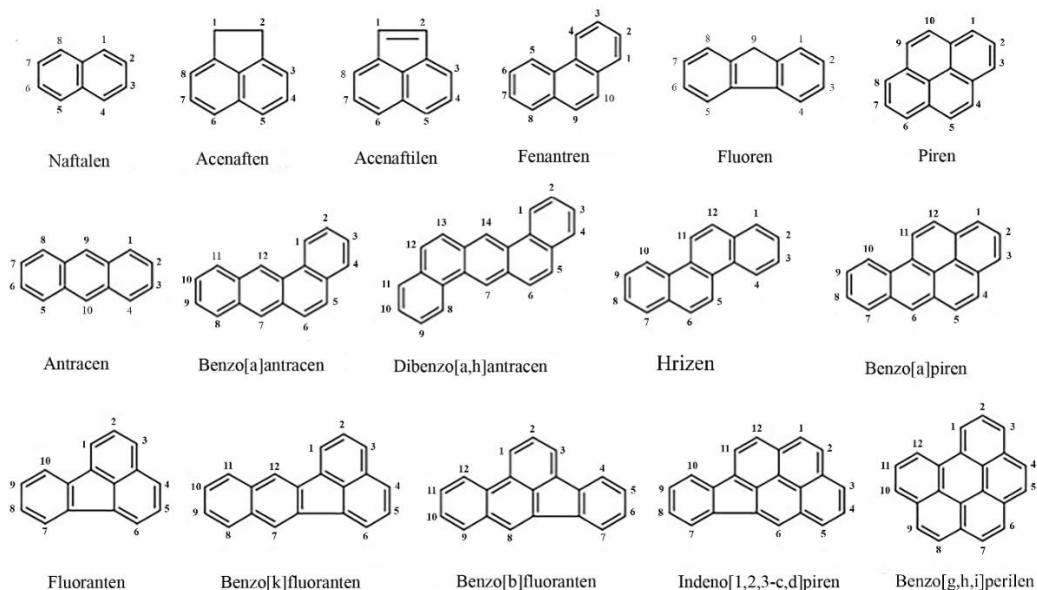
Naziv	Strukturna formula	Broj prstenova	Molekulska formula	Molekulska masa	CAS broj
Fluoranten		4	C ₁₆ H ₁₀	202	206-44-00
Piren		4	C ₁₆ H ₁₀	202	129-00-0
Benzo[a]antracen		4	C ₁₈ H ₁₂	228	56-55-3
Hrizen		4	C ₁₈ H ₁₂	228	218-01-9
Benzo[b]fluoranten		5	C ₂₀ H ₁₂	252	205-99-2
Benzo[k]fluoranten		5	C ₂₀ H ₁₂	252	207-08-9
Benzo[a]piren		5	C ₂₀ H ₁₂	252	50-32-8
Indeno[1,2,3-cd]piren		6	C ₂₂ H ₁₂	276	193-39-5
Dibenzo[a,h]antracen		5	C ₂₂ H ₁₄	278	53-70-3
Benzo[g,h,i]perilen		6	C ₂₂ H ₁₂	276	191-24-2

2.1.1 Nomenklatura PAU

Policiklični aromatični ugljovodonici imenuju se primenom IUPAC nomenklature (International Union of Pure and Applied chemistry – IUPAC) prema sledećim pravilima:

- Prilikom pisanja strukture najveći broj prstenova nalazi se u vodoravnom nizu;
- Povlačenjem ose kroz centar molekula moguće je orijentisati molekul vodeći računa o tome da maksimalan broj prstenova koji ne leže u vodoravnom nizu bude u gornjem desnom, a najmanji broj prstenova treba da bude u donjem levom kvadrantu;
- Ugljenikovi atomi numerišu se u smeru kazaljke na satu. Numeracija ugljenikovih atoma počinje od onog atoma ugljenika koji nije deo ni jednog drugog prstena. Ugljenikovi atomi koji izgradjuju dva ili više prstenova se ne numerišu;
- Ugljenikovi atomi koji čine vezu i koji ne izgrđuju veze sa drugim prstenom ili prstenovima numerišu se brojem „1“ odnosno brojem „2“ (Slika 1);
- Supstituisani poiciklični aromatični ugljovodonci imenuju se tako da se ispred naziva supstituenta koji se nalazi u zagradi piše odgovarajući broj C atoma. Na taj način označava se onaj C atom, odnosno mesto, na kome je došlo do supstitucije.

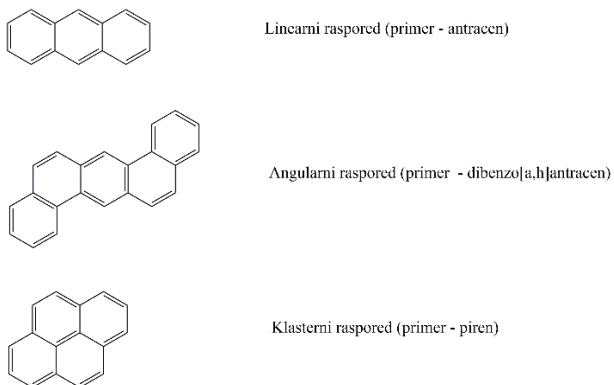
Pravilo kojim se numerišu ugljenikovi atomi kod 16 prioritetnih policikličnih aromatičnih ugljovodonika prikazano je na slici 1.



Slika 1. Pravilo numerisanja ugljenikovih atoma kod polcikličnih aromatičnih ugljovodonika (Wang i saradnici, 2007)

2.1.2 Fizičko-hemijske osobine i toksičnost polcikličnih aromatičnih ugljovodonika

Hemijski posmatrano, PAU se sastoje od dva ili više kondenzovanih benzenovih prstenova povezanih u linearni, angularni ili klasterni raspored (Arey i saradnici, 2003; Di – Toro i saradnici, 2000) kako je prikazano na slici 2.



Slika 2. Linearni, angularni i klasterni raspored PAU

PAU su veoma stabilna jedinjenja sa karakterističnim UV spektrima i odlikuju se fotosenzitivnošću i sposobnošću fluoresciranja. Prema nekim istraživanjima utvrđeno je da kada PAU apsorbuje svetlost dolazi do procesa fotoksidacije i fotolize, odnosno, dolazi do

fotomodifikacije PAU pri čemu su proizvodi fotomodifikacije jedinjenja koja su toksičnija od polaznih jedinjenja (Sabate i saradnici, 2001; Sanches i saradnici, 2011).

Tabela 2. Fizičko - hemijske karakteristike 16 PAU prioritetnih za analizu (Monaco i saradnici, 2017; Nollet, 2005)

PAU	Rastvorljivost u vodi [$\mu\text{g mL}^{-1}$ na 25 °C]	Temperatura topljenja [°C]	Temperatura ključanja [°C]	Log K_{ow}
Naftalen	31,6	81	218	3,37
Acenaftilen	16	92	265	3,98
Acenaften	4,5	96	278	4,07
Fluoren	1,8	116	295	4,18
Fenantren	1,3	101	339	4,45
Antracen	0,07	216	340	4,45
Fluoranten	0,24	111	375	4,90
Piren	0,14	156	360	4,88
Benzo[a]antracen	0,01	160	435	5,61
Hrizen	0,003	255	448	5,16
Benzo[b]fluoranten	<0,001	168	481	6,04
Benzo[k]fluoranten	<0,001	217	481	6,06
Benzo[a]piren	<0,001	175	495	6,06
Indeno[1,2,3-cd]piren	<0,001	164	536	6,58
Dibenzo[a,h]antracen	<0,001	267	524	6,50
Benzo[g,h,i]perilen	<0,001	277	n.p.	6,84

Log K_{ow} - vrednost logaritma koeficijenta raspodele u sistemu oktanol-voda; n.p. – nije pronađeno

Čisti PAU su nepolarne čvrste supstance koje imaju visoku temperaturu ključanja (Maagd i saradnici, 1998). Rastvorljivost PAU u vodi opada sa porastom molekulske mase, odnosno sa povećanjem broja kondenzovanih aromatičnih prstenova. Sa povećanjem broja kondenzovanih prstenova i angularnosti u strukturi PAU povećava im se tačka ključanja i lipofilnost, koja se izražava preko koeficijenta raspodele oktanol/voda, što ukazuje na njihov visok potencijal adsorpcije na čvrstim suspendovanim česticama i mogućnost akumulacije u živim sistemima. (Stogiannidis i Laane, 2014; Achten i Andersson, 2015).

PAU imaju umerenu do visoku akutnu toksičnost za akvatične organizme i ptice, dok se njihovim prisustvom u zemljištu jedino u visokim koncentracijama ispoljavaju toksični efekti po kopnene životinje. Neželjeni efekti koje ova jedinjenja izazivaju jesu kancerogeni efekti, utiču na reprodukciju, razvoj i imunitet (Abdel-Shafu i saradnici, 2016). Do neželjenih efekata kod sisara

dolazi usled udisanja, dermalnog kontakta ili gutanjem ovih jedinjenja (Dong i saradnici, 2012; Veltman i saradnici, 2012; Bayer i saradnici, 2010). S druge strane, biljke mogu apsorbovati PAU iz zemljišta kroz svoje korenje pri čemu se PAU mogu preneti na druge delove biljaka. Apsorbovanje PAU iz zemljišta od strane biljaka zavisi od njihove koncentracije, rastvorljivosti u vodi, fizičko-hemijskog stanja kao i od tipa zemljišta u kome se ova jedinjenja nalaze. Fitotoksični efekti izazvani PAU jedinjenjima su retki ali ukoliko životinje koriste biljku koja je apsorbivala PAU za ishranu mogu se ispoljiti štetni efekti ovih jedinjenja kod životinja. Glavni putevi izloženosti PAU jedinjenjima u opštoj populaciji je udisanjem vazduha, konzumiranjem hrane koja sadrži PAU, pušenjem cigareta i udisanjem dima sa otvorenih ognjišta (ACGIH, 2005). Uticaj PAU na životnu sredinu i javno zdravlje izaziva zabrinutost zbog njihovih mutagenih i kancerogenih svojstava. Izlaganje genotoksičnim PAU jedinjenjima izaziva oksidativni stres koji može dovesti do oštećenja DNK i poremećaja u replikaciji DNK. Promene u replikaciji DNK mogu izazvati mutacije i dovesti do kancerogenih efekata. (Sopian i saradnici, 2017; Hisamuddin i saradnici, 2021).

PAU predstavljaju potencijalno kancerogena jedinjenja (Colins i saradnici, 1998; Devi i saradnici, 2016; Rengarjan i saradnici, 2015), pa je zato Međunarodna agencija za istraživanje kancera (IARC, 2000) klasifikovala tri policiklična aromatična ugljovodonika: benzo[a]piren, benzo[a]antracen i dibenzo[a,h]antracen kao dokazano kancerogena jedinjenja (Bekki i saradnici, 2009). Pored toga, od stotinu poznatih PAU, Agencija za zaštitu životne sredine Sjedinjenih američkih država (US EPA) odredila je 16 prioriternih PAU čije se količine moraju pratiti u životnoj sredini zbog njihove štetnosti, potencijalne toksičnosti po zdravlje ljudi i drugih živih bića kao i njihove perzistentnosti u životnoj sredini (ATSDR, 2008).

2.2 Izvori policikličnih aromatičnih ugljovodonika i njihova sudbina u životnoj sredini

PAU predstavljaju ubikvitarna jedinjenja u životnoj sredini i u većoj koncentraciji se nalaze u urbanim oblastima u odnosu na ruralne. Izvori PAU se mogu podeliti na prirodne i antropogene. U prirodne izvore se ubrajaju šumski požari, curenje nafte, vulkanska aktivnost, erozija sedimentnih stena, sinteze od strane mikroorganizama, algi i biljaka i razgradnja vegetacije (Zakaria i saradnici, 2002; Jiao i saradnici, 2009; Nikolau i saradnici, 2009). U antropogene izvore PAU ubrajaju se nepotpuno sagorevanje fosilnih goriva i drveta, naftne mrlje, prerada nafte,

emisija gasova iz motornih vozila (saobraćaj), sagorevanje otpada i industrijski procesi (Haaepa i saradnici, 2006; Harvey, 1997).

Policiklični aromatični ugljovodonici, bilo da su nastali prirodnim ili antropogenim putem, dospevaju u atmosferu odakle se mogu transportovati vazдушnim kretanjem daleko od izvora emisije. U atmosferi, PAU su u gasnoj fazi ili su adsorbovani na aerosolima što zavisi od njihovi fizičko – hemijskih karakteristika kao i od karakteristika sredine u kojoj se nalaze (temperatura, vlažnost vazduha, prisustvo čvrstih čestica). Laki PAU su u gasovitoj fazi dok se teški PAU adsorbuju na čestice prisutne u atmosferi (Ravindra i saradnici, 2008). Na površinu zemljišta PAU dospevaju posredstvom atmosferske depozicije pri čemu se zadržavaju u zemljištu ili se bioakumuliraju.

Hemijske reakcije koje se odvijaju tokom transformacije i degradacije PAU katalizovane su svetlošću i uključuju procese isparavanja, oksidacije, nitrovanja i druge hemijske procese koji se odvijaju pri interakciji između PAU, vazduha, zemljišta i vode (Fu i saradnici, 2012; Kamens i saradnici, 1998; Kim i saradnici, 2009). PAU se akumuliraju u prometnim područjima kao što su, na primer, putevi i parkinzi odakle se prenose u vodenu fazu spiranjem kišom i otapanjem snega što rezultira neprekidnim snadbjevanjem PAU jedinjenjima od izvora emisije do vazduha, vode i zemljišta (Neary i Bovig, 2011).

U zavisnosti od biodostupnosti PAU, proces bioakumulacije od strane živih organizama dovodi do njihovog transporta putem lanca ishrane preko biljaka i životinja do čoveka. PAU se u životnoj sredini transformišu posredstvom hemijskih i bioloških procesa.

2.3 Policiklični aromatični ugljovodonici u vodi

Zbog porasta antropogenih aktivnosti i industrijalizacije dolazi do sve većeg zagađenja voda perzistentnim zagađujućim jedinjenjima. U vodenu sredinu, PAU dospevaju putem atmosferske depozicije, putem spiranja sa površine zemljišta tokom padavina, izlivanjem otpadnih industrijskih voda, izlivanjem nafte i sagorevanjem fosilnih goriva u blizini voda (Karyab i saradnici, 2013). Kada jednom dospeju u vodu, PAU ostaju u njoj, bilo u rastvorenom obliku, vezani za rastvorenu organsku materiju ili se adsorbuju na sitnim suspendovanim česticama ili sedimentima (Akkanen i saradnici, 2012; Qin i saradnici, 2014). Raspodela PAU između vode i sedimenata je proces koji određuje dalju sudbinu PAU i njihov potencijalni štetni efekat na

akvatični ekosistem. Ova raspodela se objašnjava preko koeficijenata raspodele sediment - voda (Yang i saradnici, 2019) i zavisi od nekoliko faktora koji uključuju adsorpciju PAU na sedimentima i njihovu re-suspenziju. Do re-suspenzije PAU dolazi usled procesa kretanja vode ili prisustva akvatičnih organizama pri čemu se sa povećanjem re-suspenzije PAU povećava potencijalni štetni učinak PAU na akvatične organizme, naročito na akvatične organizme koji žive u regiji sediment-voda (Yang i saradnici, 2008; Dong i saradnici, 2016). U vodenim sredinama, PAU se mogu bioakumulirati u akvatičnim organizmima (Meador i saradnici, 1995), a zbog niske rastvorljivosti u vodi, vezuju se za čvrste supstance (Kumar i saradnici, 2014; Kafilzadeh i saradnici, 2011). Koncentracije PAU veće su u blizini sedimenata pri dnu, nego u vodi bliže površini (Zhang i saradnici, 2011), što može usloviti pokretanje PAU usled kretanja vode (Lei i saradnici, 2016).

Procesi bioakumulacije i desorpcije PAU sa čvrstih čestica usled strujanja vode odgovorni su za proces kruženja PAU u vodenim sredinama. U vodenim ekosistemima PAU su podložni procesima transformacije i degradacije usled fotoksidacije. Proces fotoksidacije PAU odigrava se u gornjim slojevima vode zbog toga što je proces fotoksidacije intenzivniji u prisustvu svetlosti i pri većim koncentracijama rastvorenog kiseonika (Xiao i Shao, 2017). Proizvodi fotooksidacije mogu biti različiti - tako fotoksidacijom PAU mogu nastati fenoli, hinoni i kiseline (Stucki i Alexander, 1987; Beltran i saradnici, 1996). Ovi proizvodi fotoksidacije se odlikuju većom rastvorljivošću u vodi i većom toksičnošću (Huang i saradnici, 1993; El – Alawi i saradnici, 2002). PAU i proizvodi njihove fotoksidacije toksični su po akvatične organizme (Honda i saradnici, 2020). Toksičnost PAU zavisi od biodostupnosti. PAU koji su adsorbovani na sedimentu nisu biodostupni akvatičnim organizmima (Endo i saradnici, 2020), dok su PAU desorbovani sa sedimenata i rastvoreni PAU biodostupni i mogu izazvati štetne efekte po akvatične organizme (Tuikka i saradnici, 2016).

Pretraživanjem literature (tabela 3) o koncentracijama PAU uočava se da se u vodama u mnogo većem postotku nalaze laki PAU u odnosu na teške PAU. Razlog prisustva veće koncentracije lakih PAU u odnosu na koncentracije teških PAU je u većoj rastvorljivosti lakih PAU u vodi u odnosu na teške PAU.

Tabela 3. Koncentracija PAU u vodi - pregled literature

Poreklo	Ukupna koncentracija PAU [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Laki PAU [%]	Literatura
Evropa			
Evoikos zaliv, Grčka	0,0009–0,14	68,6	Triantafyllaki i saradnici, 2005
Malliakos zaliv, Grčka	0,002–0,05	75,0	Triantafyllaki i saradnici, 2005
Površinske vode u severnoj Grčkoj	0,001–0,68	85,2	Manoli i saradnici, 2000
Azija			
Reka Kor, Iran	0,0003–0,24	81,6	Kafilzadeh i saradnici, 2011
Površinske vode u Hangzhou, Kina	0,99–9,66	n.d.	Chen i saradnici, 2004
Reka Gao-ping, Tajvan	0,01–9,40	n.d.	Doong i saradnici 2003
Reke severnog Tajlanda	2250–42 350	n.d.	Hajisamoh, 2013
Reka Tianjin, China	1,80–35	95,9	Cao i saradnici, 2005
Afrika			
Suecki kanal, Egipat	0,01–0,5	16,2	Al-Agroudy i saradnici, 2017
Reka Mvudi, Južna Afrika	126–7510	25,3	Edokpayi i saradnici, 2016
Reka Nzhelele , Južna Afrika	n.d. – 7805	23,1	Edokpayi i saradnici, 2016
Reka Tema Harbour, Gana	33,20–84,50	n.d.	Gorleku i saradnici, 2014
Reka Limpopo, Južna Afrika	0,10–137	n.d.	Nekhavambe i saradnici, 2014
Amerika			
Reka Paraíba do Sul, Brazil	0,255 (benzo[a]piren)	n.d.	Azevedo i saradnici, 2004
Reka Mississippi, USA	0,06–0,15	n.d.	Zhang i saradnici, 2007
Reka York, USA	0,002–0,12	n.d.	Countway i saradnici, 2003
Otpadne vode petrohemijske industrije, Sergipe, Brazil	3,50–44,30	52,4	Bispo i saradnici, 2011

n.d. - nije detektovano

Naučne studije su pokazale da se količine PAU u rekama nalaze u opsegu od 0.0003 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Reka Kor u Aziji) do 42 350 $\mu\text{g L}^{-1}$ za reke severnog Tajlanda (Sairubi, Pattani, Thepba i Sungai Golok reka). Za većinu analiziranih reka na sadržaj PAU propisana maksimalno dozvoljena

vrednost za površinske vode od $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ za svaki od 16 prioritetnih PAU je prekoračena (WHO, 1998). Veća količina PAU od dozvoljene pripisuje se povećanoj urbanizaciji, industrijalizaciji i ispuštanju neprečišćenih ili delimično prečišćenih otpadnih voda u reke. Drugi mogući izvori povećanih količina PAU u vodi uključuju emisije iz izduvnih gasova vozila kopnenog i vodenog saobraćaja. (Cao i saradnici, 2005, Li i saradnici, 2020).

Republika Srbija nema zvaničnu regulativu koja propisuje maksimalno dozvoljene količine prioritetnih PAU za reke i vodu za ljudsku upotrebu. EU 98/83/EC (Evropski savet za kvalitet vode za ljudsku upotrebu) direktiva propisuje graničnu vrednost sume svih 16 prioritetnih PAU od $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ za vodu koja se koristi za ljudsku upotrebu dok svetska zdravstvena organizacija propisuje koncentraciju od $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ za svaki od 16 prioritetnih PAU pojedinačno za sve površinske vode (WHO, 1998). Američka agencija za zaštitu životne sredine (US-EPA) propisuje maksimalnu dozvoljenu količinu od $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ za benzo[a]antracen, od $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ benzo[a]piren, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten i hrizen, $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ dibenzo[a,h]antracen i $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ za indeno[1,2,3-c,d]piren. Nacionalni Institut za javno zdravlje i životnu sredinu u Holandiji 2012. (RIVM - the Netherlands National Institute for Public Health and the Environment) godine objavio je za svaki od prioritetnih PAU maksimalno prihvatljive i rizične koncentracije (tabela 4), a izvedene su na osnovu dvadeset petogodišnjeg istraživanja uticaja štetnog delovanja PAU za slatku vodu kao deo životne sredine i akvatične organizme (RIVM, 2012). Sve vode u kojima je sadržaj PAU veći od propisane smatraju se zagađenim vodama.

U tabeli 4 prikazane koncentracije PAU ukazuju da su ova štetna jedinjenja u vodi prisutna u tragovima. Ovako niska količina PAU svrstava ih u mikro-polutante, a sama analiza mikro-polutanata predstavlja izazov istraživačima, zbog toga što je za njihovu kvantifikaciju potrebna osetljiva metode analize.

Tabela 4. Ekotoksikološki limiti 16 prioritetnih PAU za slatkovodne akvatične ekosisteme (RIVM, 2012)

PAU	Maksimalno prihvatljiva koncentracija [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Rizična koncentracija [$\mu\text{g L}^{-1}$]
Naftalen	130	518
Acenaftilen	33	72
Acenaften	3,8	102
Fluoren	34	117
Fenantren	6,7	43
Antracen	0,10	4,2
Fluoranten	0,12	12
Piren	0,023	4,2
Benzo[a]antracen	0,10	3,1
Hzizen	0,070	1,6
Benzo[b]fluoranten	n.p.	1,3
Benzo[k]fluoranten	n.p.	0,93
Benzo[a]piren	0,010	0,87
Indeno[1,2,3-cd]piren	n.p.	0,64
Dibenzo[a,h]antracen	0,014	0,14
Benzo[g,h,i]perilen	0,0082	0,16

n.p. – nije prihvatljivo

2.4 Uzorkovanje vode za analizu - prikupljanje realnih uzoraka vode

Uzorkovanje voda je postupak uzimanja reprezentativnih uzoraka u cilju fizičko-hemijskog ili mikrobiološkog ispitivanja voda, a u svrhu kontrole kvaliteta. Reprezentativni uzorak je uzorak koji reprezentuje aktuelni sastav vode. Ključni faktori uzorkovanja su:

- Odabir lokacije uzorkovanja;
- Pravilno uzorkovanje (priprema i terenske analize);
- Konzerviranje;
- Čuvanje i transport uzoraka.

Za adekvatan odabir lokaliteta na kome se realizuje uzorkovanje primenjuju se sledeće smernice:

- Lokacija uzorkovanja bira se na osnovu literaturnih podataka o opterećenosti površinskih voda policikličnim aromatičnim ugljovodonicima na teritoriji Srbije;
- Uzorkovanje je potrebno realizovati uzvodno i/ili nizvodno u zavisnosti od tačke uliva nekog vodotoka i/ ili ispusta zagađujućih supstanci; i

- Uzorke površinskih voda potrebno je prikupiti na mestima gde je brzina vode dovoljna da spreči taloženje čvrstih supstanci pri uzorkovanju.

Uzorci površinskih voda za određivanje fizičko-hemijskih parametara se uzimaju u boce od polietilena ili od borsilikatnog stakla, u zavisnosti od vrste parametra koji se analizira. Za organska jedinjenja (pesticide, lakoisparljiva i poluisparljiva organska jedinjenja, ukupne ugljovodonike i drugo), obavezno je koristi staklenu ambalažu zbog moguće kontaminacije, adsorpcije na zidovima kao i poroznosti plastike i isparenja organskih jedinjenja. Uzorci se mogu uzimati i u Majerovim bocama. Majerove boce su staklene boce koje pri gornjem delu imaju konopac za spuštanje i uzorkovanje na većim dubinama. Pri uzorkovanju površinskih voda koriste se i automatski uzorkivači. Vrsta i zapremina ambalaže je određena vrstom i obimom ispitivanja. Pre uzorkovanja vode, ambalaža za uzorkovanje se ispere 2-3 puta vodom koja se uzorkuje, izuzev ako u bocu nije već dodato sredstvo za konzerviranje. Za pojedine parametre ispitivanja, neophodno je da ambalaža za čuvanje uzoraka bude napunjena do samog vrha uzorkom.

Uzimanje uzoraka vode je proces uzimanja reprezentativnih uzoraka koji prethodi fizičko-hemijskom i/ili mikrobiološkom ispitivanju vode u svrhu kontrole određenih hemijskih jedinjenja koja mogu biti prisutna u uzorcima i čije je koncentracije je potrebno pratiti (kontrola kvaliteta životne sredine). Da bi se izabrao uzorak koji će biti reprezentativan kao celina, on mora imati ista hemijska, fizička i biološka svojstva kao celina. Reprezentativan uzorak vode treba da poseduje sva bitna obeležja analizirane celine koja se uzorkuje (na primer reke), pri čemu je potrebno da uzorak bude homogen. Kada se uzimaju uzorci površinskih voda potrebno je sa određenih mesta uzeti više uzoraka. Kada se uzorak uzima iz stajaćih voda, voda se uzorkuje uzorkivačem (sonda za uzorkovanje) na različitim dubinama. Uzorkovanje tekućih voda se vrši sondom i bocama za uzorkovanje, ili automatskim uzorkivačem. Nakon uzimanja uzoraka kada se kao oprema koristi boca, na boci se upisuje redni broj uzorka, lokacija, datum, vremenski uslovi, nekada prema zahtevima analize se uzorak konzervira, a potom se bezbedno transportuje do laboratorije gde se ostavlja najčešće u frižider do vremena izvođenja eksperimenata.

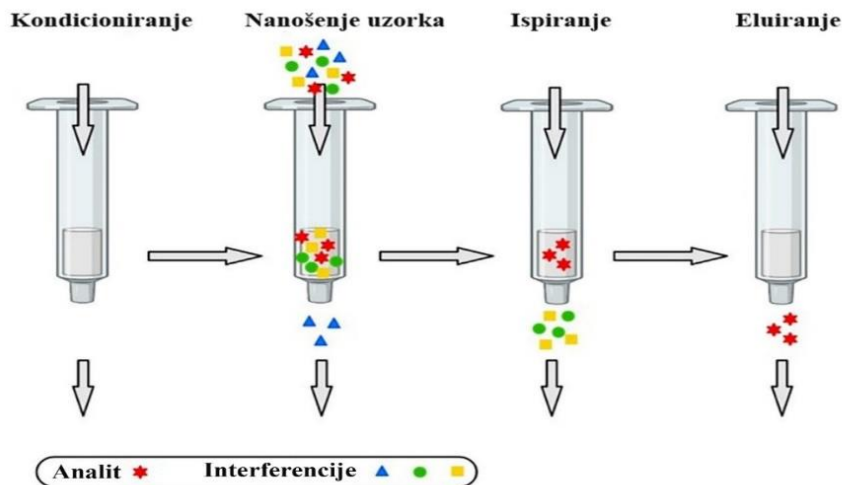
2.5 Tehnike pripreme uzoraka za analizu PAU

Pri analizi PAU u vodi, priprema uzoraka najčešće se vrši tečno – tečnom ekstrakcijom, ili metodom ekstrakcije čvrstom fazom kao alternativnom metodom koja prevazilazi nedostatke koje ima ekstrakcija tečno – tečno (teška automatizacija procesa, stvaranje emulzija, upotreba velike zapremine rastvarača visoke čistoće, mala ekonomičnost, itd). Primarna prednost tehnike ekstrakcije čvrstom fazom, pored selektivnosti, uključuje brzinu, efikasnost, reproduktivnost, ekonomičnost i bezbednost.

2.6 Ekstrakcija čvrstom fazom (eng. Solid phase extraction SPE)

Ekstrakcija čvrstom fazom je metoda koja se koristi za izolovanje analita iz gasa, fluida ili tečnosti selektivnim (i reverzibilnim) vezivanjem na čvrstoj podlozi (sorbentu). Ekstrakcioni sistem je obično konfigurisan kao upakovan disk ili kertridž, i sastoji se od kratke kolone koja je ispunjena sorbentom određene veličine čestica, upakovanim između poroznih diskova.

Ekstrakcija čvrstom fazom se izvodi u nekoliko koraka (slika 3). Prva faza je faza kondicioniranja sorbenta koja se izvodi pripremanjem (aktiviranjem) sorbenta za proces ekstrakcije propuštanjem određene zapremine rastvarača. Nakon faze kondicioniranja, odnosno aktivacije sorbenta, sledi faza nanošenja uzorka. Određena zapremina uzorka propušta se kroz sloj sorbenta pri čemu se analiti od interesa zadržavaju na koloni, a ometajuće komponente uzorka (interferencije) prolaze bez zadržavanja, ili se za sorbent vezuju interferencije, a analiti od interesa neometano i bez vezivanja prolaze kroz sloj sorbenta. Nakon faze nanošenja uzorka sledi faza ispiranja sorbenta i faza eluiranja sorbenta (ukoliko su analiti od interesa vezani za sorbent).



Slika 3. Šema ekstrakcije čvrstom fazom (Dawadi i saradnici, 2021)

SPE ekstrakciona procedura se može posmatrati kao gruba hromatografska metoda, tako da se primenjuju isti principi i stacionarne faze. Odabrani sorbent može vezati analite jonskim, vodoničnim vezama, ili dipol - dipol, dipol-indukovani dipol interakcijama. Izbor sorbenta kod ekstrakcije čvrstom fazom zavisi od prirode analita, odnosno, fizičko – hemijskih osobina analita na osnovu kojih se definiše način interakcije sa sorbentom. Sorbenti koji se široko primenjuju za SPE se mogu klasifikovati kao (Luci i saradnici, 2012): sorbenti na bazi silicijum i magnezijum oksida, sorbenti na bazi silika gela (C8 i C18), sorbenti na bazi polimera (polistirendivinil benzen PSDVB) i imunosorbenti.

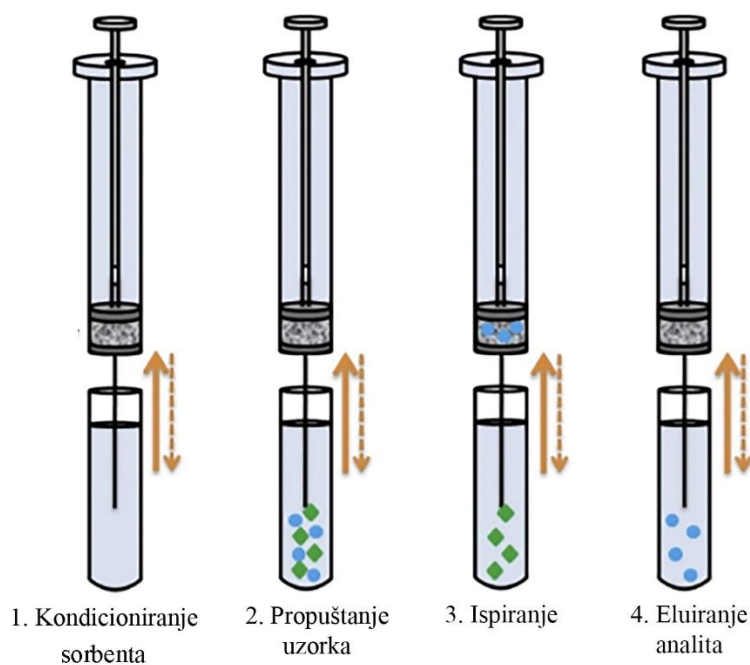
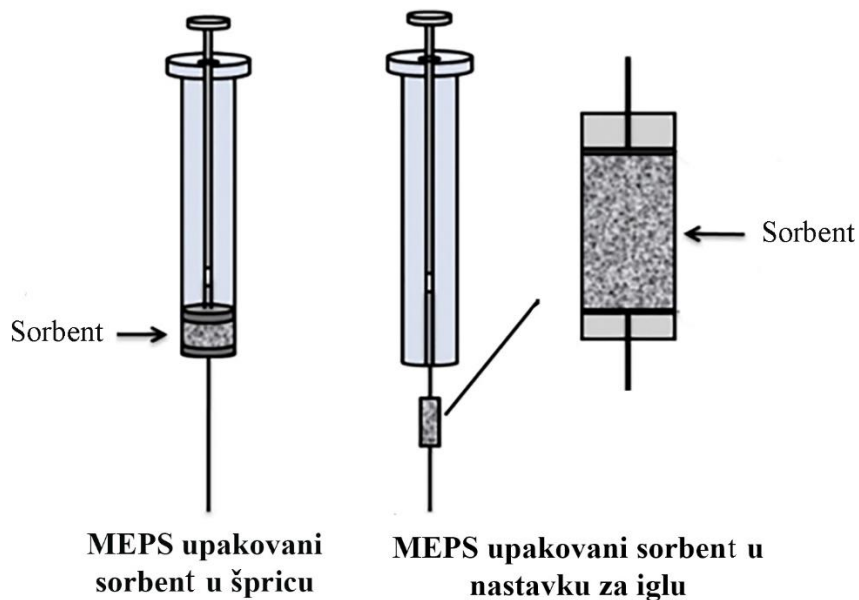
Za analizu PAU u uzorcima vode, SPE ekstrakcija je pouzdanija u odnosu na klasičnu ekstrakciju tečno - tečno (eng. LLE). Kao sorbenti za SPE u analizi PAU iz vode koriste se C8, C18, i polistiren/divinil benzen (Marce i Borrull, 2000; Martinez i saradnici, 2004). SPE predstavlja konvencionalnu metodu ekstrakcije PAU iz uzoraka vode (Bruzzoniti i saradnici, 2010), pri čemu se glavni nedostatak ove metode ogleda u velikoj zapremini utrošenog rastvarača za ekstrakciju. Takođe, SPE ekstrakcija se u odnosu na konvencionalnu LLE ekstrakciju PAU u vodi odlikuje mogućnošću automatizacije, većim vrednostima efikasnosti ekstrakcije i boljom ponovljivošću (Sargent i McNair, 1998).

2.7 Mikroekstrakcije

Novi trendovi u analizi perzistentnih organskih zagađujućih supstanci, u koje se ubrajaju i PAU, ogledaju se u prevazilaženju nedostataka konvencionalnih ekstrakcionih pristupa i poštovanju pravila „zelene“ analitičke hemije, te se mikroekstrakcije sve više koriste. Prednost mikroekstrakcionih postupaka pripreme uzoraka za analizu ogleda se u smanjenom utrošku kako rastvarača za ekstrakciju, tako i povećanoj brzini pripreme uzorka i smanjenom vremenu trajanja postupka. Pri analizi mikropolutanata (uključujući i PAU) koriste se različite tehnike mikroekstrakcije u postupcima pripreme uzoraka za analizu. Prethodne dve decenije, nekoliko mikroekstrakcionih tehnika našle su primenu u pripremi uzorka vode za analizu PAU.

2.7.1 Mikroekstrakcija pakovanim sorbentom (eng. Microextraction by packed sorbent - MEPS)

Novi domet na polju pripreme uzorka predstavlja mikroekstrakcija pakovanim sorbentom (eng. microextraction by packed sorbent – MEPS) (Abdel-Rehim i Zeneca, 2003; Abdel-Rehim, 2004). MEPS je minijaturizovana SPE tehnika u kojoj se ekstrakcija vrši propuštanjem uzorka kroz špric, odnosno kroz pakovanje sorbenta (oko 1 mg). Pakovanje sorbenta može biti unutar šprica ili u nastavku koji se nalazi na igli (Slika 4) (Moein i saradnici, 2015). MEPS može da bude u potpunosti automatizovana, pri čemu se isti špric koristi za ekstrakciju i ubacivanje uzorka u hromatografsku kolonu. (Abdel-Rehim, 2010).



Slika 4. Šema mikroekstrakcije pakovanim sorbentom (Casado i saradnici, 2020)

MEPS procedura se izvodi na isti način kao SPE (slika 4) sa razlikom u smeru kretanja tečnosti - kod SPE se rastvor uzorka i rastvarač za kondicioniranje, ispiranje i eluiranje kreće u jednom smeru, odozgo naniže, dok se kod MEPS procedure tečnost kreće u oba smera (slika 4). Za ekstrakciju se obično koristi 10 - 250 μL vodenog rastvora, što omogućava koncentrovanje

analita na odabranom sorbentu. Kod MEPS tehnike se koriste isti sorbenti kao i kod konvencionalne SPE. Elucija analita se obično obavlja sa 20 – 50 μL odgovarajućeg rastvarača, koji može direktno da se prebaci vijalu za gasnu ili tečnu hromatografiju. U poređenju sa drugim tehnikama pripreme uzoraka, MEPS omogućava značajno kraće vreme ekstrakcije i korišćenje značajno manje količine uzorka i rastvarača (oko 10 μL) u odnosu na klasičnu SPE (Fu i saradnici, 2012).

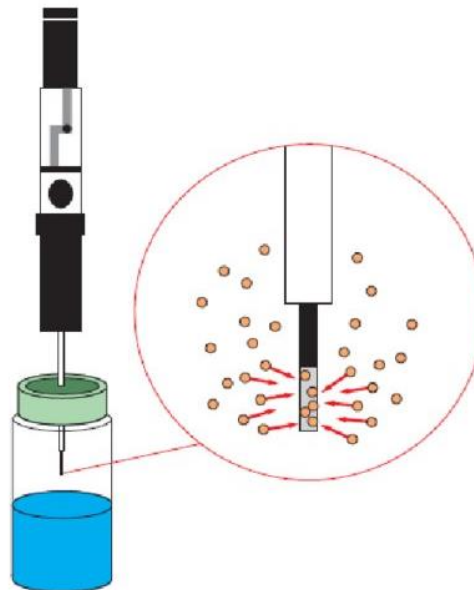
MEPS tehnika pripreme uzoraka se primenjuje za određivanje PAU u vodi (El-Beaqqali i saradnici, 2006; Fu i saradnici, 2012). Fu i saradnici (2012) su opisali metodu za pripremu uzoraka za analizu PAU, primenom MEPS tehnike koja sadrži špric sa sorbentom C18. Pre svake ekstrakcije uzorka MEPS sorbent je kondicioniran sa 80 μL metanola i 100 μL vode visoke čistoće. Autosempler propušta uzorak vode (50 μL) kroz špric 40 puta, brzinom od 5 $\mu\text{L s}^{-1}$. Zatim se sorbent ispira čistom vodom (100 μL) i suši se propuštanjem vazduha u 10 ciklusa. Na kraju, analiti se eluiraju sa 50 μL metanola direktno u injektor gasnog hromatografa. MEPS ima slične rezultate efikasnosti ekstrakcije kao SPE metoda. Međutim, korišćenjem MEPS metode dobija se veća osetljivost. Takođe, MEPS metoda smanjuje količinu organskog rastvarača koji se koristi za eluciju, kao i količinu uzorka. Predložena MEPS metoda primenjena je kao tehnika pripreme uzoraka za određivanje PAU u vodi primenom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (Fu i saradnici, 2012).

2.7.2 Mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. Solid phase microextraction – SPME)

Studije mikroekstrakcije čvrstom fazom (solid-phase microextraction – SPME) su započete pre 30 godina. Ova tehnika je prihvaćena kao alternativa postojećim metodama pripreme uzorka i danas se široko primenjuje za ekstrakciju različitih analita (Arthur i Pawliszyn, 1990; Pawliszyn, 1997). SPME je brza metoda pripreme uzoraka za gasnu i tečnu hromatografiju bez upotrebe sorbenta. Osnovni deo SPME tehnike predstavlja SPME špric, koji podseća na hromatografski, s tom razlikom što sadrži 1 cm dugo vlakno smešteno unutar igle šprica, koje je napravljeno od odgovarajućeg polimera nanetog na nosač od istopljenog SiO_2 , prečnika od 110 μm . Proces mikroekstrakcije se zasniva na raspodeli analita između ekstrakcionog medijuma (vlakno) i matriksa uzorka, odnosno na selektivnoj adsorpciji ciljanih analita u aktivnom sloju vlakna i direktnoj desorpciji u injektoru hromatografa (Đurović, 2011).

SPME se sastoji iz dva osnovna koraka:

- raspodela analita između ekstrakcione faze i matriksa uzorka; i
- desorpcija koncentrovanog uzorka u analitički instrument.



Slika 5. Mikroekstrakcija čvrstom fazom (SPME) (Schmidt i Podmore, 2015)

Postoje dva tipa SPME: vlakno za SPME i cevčica za SPME (Kataoka 2003; Hinshaw 2003). Teorije koje stoje u osnovi ove dve SPME tehnike su slične. Pomoću vlakna analiti se vezuju na spoljašnoj površini vlakna iz homogenizovanog rastvora uzorka, dok se kod cevčice vezuju na unutrašnjoj površini koja je obložena sorbentom. Kod SPME sa cevčicom potrebno je da se filtriranjem rastvora uzorka pre ekstrakcije spreči zapušavanje kapilarne kolone. S druge strane, vlaknom za SPME mora da se pažljivo rukuje prilikom ubacivanja i homogenizacije jer je veoma lomljivo (Pawliszyn 1997; Lord i Pawliszyn 2000). SPME pomoću vlakna ograničena je na analizu isparljivih i termički stabilnih jedinjenja. SPME sa cevčicom, povezana sa LC sistemom se koristi za analizu slabo isparljivih i termički labilnih jedinjenja koja nisu pogodna za GC (Lord and Pawliszyn 2000; Zambonin 2003).

Količina sorbenta kod SPME je veoma mala ($< 0.7 \mu\text{g}$), što ograničava količinu ekstrahovanih analita i umanjuje primenljivost tehnike za analite prisutne u tragovima (Baltussen i saradnici, 1999). Osim toga, efikasnost ekstrakcije je mala, čak i za analite koji imaju relativno veliki podeoni koeficijent između gasne i tečne faze, što čini kvantifikaciju osetljivom na matriks

efekat. Iz ovih razloga, izvođenje SPME metode nije bez komplikacija, ali jednostavnost i lakoća primene ove tehnike je čini pogodnom za primenu (Baltussen i saradnici, 1998; Mol i saradnici, 1995). Razlike u karakteristikama između SPE, MEPS i SPME su predstavljene u tabeli 5 (Abdel-Rehim, 2011).

Tabela 5. Pregled karakteristika SPE, MEPS i SPME

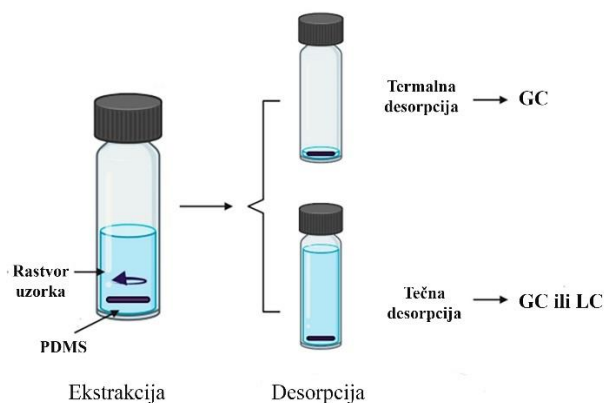
	SPE	MEPS	SPME
Količina sorbenta	50 – 2000 mg	2 – 4 mg	vlakno debljine 150 µm
Vreme	15 min	1 min	20 – 40 min
Efikasnost ekstrakcije	dobra	dobra	niska
Osetljivost	dobra	dobra	niska
Ponovno korišćenje sorbenta	1 ekstrakcija	100 ekstrakcija	50 ekstrakcija

Pri SPME proceduri za analizu PAU u vodi, vlakna od polidimetilsiloksana (PDMS debljine filma od 100 µm) se kondicioniraju u injektoru 3 sata na 270 °C. Zapremina od 8 mL uzorka vode se stavlja u vijale od 100 mL zatvorene septom prevučenom politetrafluoroetilenom (PTFE). Vlakna se potapaju u uzorak vode, mešaju 60 minuta i onda se termički desorbuju 10 minuta u injekcioni sistem (Rami i saradnici, 2012). Sprovedeni su različiti eksperimenti kako bi se utvrdili optimalni uslovi za primenu SPME za analizu PAU u vodi, kao što su temperatura, pH i koncentracija jedinjenja (King i saradnici, 2003). Publikacija Čena (Chen, 2004) pokazuje da u optimizovanim uslovima SPME predstavlja veoma jednostavnu, brzu, osetljivu i preciznu tehniku za ekstrakciju PAU iz uzoraka vode, gde su visoka efikasnost ekstrakcije i dobra reproduktivnost postignute korišćenjem PDMS vlakana.

2.7.3 Sorpciona ekstrakcija mešanjem (eng. stir bar sorptive extraction – SBSE)

Sorpcionu ekstrakciju mešanjem (SBSE) kao tehniku pripreme uzoraka je uveo Baltussen (Baltussen i saradnici, 1999.) 1999. godine. Ova tehnika je razvijena za ekstrakciju organskih analita iz tečnog uzorka i zasnovana je na sorpciji analita na tanak film polidimetilsiloksana (PDMS) koji je nanet na gvozdenu šipku (Popp i saradnici, 2001). Sastoji se iz dva koraka:

- ekstrakcija analita iz uzorka na PDMS polimer; i
- desorpcija analita sa sorbenta u hromatografski sistem.



Slika 6. Šema sorptivne ekstrakcije mešanjem (SBSE) (Ochiai i saradnici, 2018)

Tečni uzorak se meša šipkom, koja se nakon ekstrakcije uklanja i suši mekom krpom. Analiti se desorbuju bilo termički (za GC analizu) ili pomoću tečnosti (uglavnom za LC analizu). Za razliku od SPME, potreban je poseban pristup za termičku desorpciju. Proces desorpcije je relativno spor zbog velike debljine PDMS filma. Vreme desorpcije je 10 minuta, i obično se izvodi u programiranom temperaturnom isparivaču (programmed temperature vaporizer – PTV) sa hlađenjem. Za poluisparljive analite sa tačkom ključanja iznad 200 °C, sobna temperatura je dovoljna za koncentrovanje, dok se za isparljive analite može koristiti temperatura do 150 °C kombinovana sa hlađenjem tečnim azotom (Kawaguchi i saradnici, 2006).

Nekoliko studija je pokazalo da se SBSE može primenjivati za ekstrakciju različitih organskih jedinjenja iz vodenog rastvora (Kolahgar i saradnici, 2002) i vina (Sandra i saradnici, 2001). Međutim, tehnika nije u širokoj primeni kako bi se očekivalo, verovatno zbog organičenog broja komercijalno dostupnih materijala za oblaganje šipke i zbog problema sa potpunom

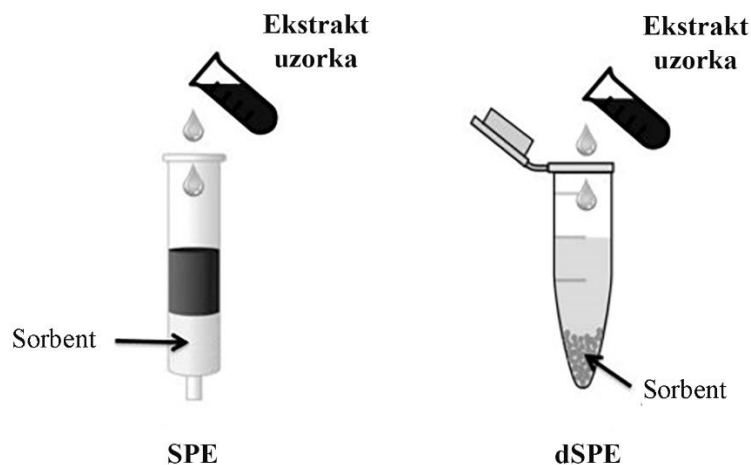
automatizacijom. Trenutno se pažnja usmerava na razvoj dvofaznog/hibridnog „užeta“, gde se konvencionalna PDMS faza kombinuje sa još jednim sorbentom da bi se povećala selektivnost i/ili efikasnost ekstrakcionog procesa (Ibrahim i saradnici, 2011) kao i na razvoj novih materijala koji bi imali bolje analitičke karakteristike (Faraji i saradnici, 2011).

SBSE se uspešno primenjuje za prekoncentrovanje isparljivih organskih jedinjenja u tragovima, PAU, polihlorovanih bifenila (PHB), pesticida, hormona, alkilfenolima i bisfenola A (Rykowska i Wasiak, 2013).

SBSE tehnika je pokazala veliki potencijal za ekstrakciju PAU iz vode (Popp saradnici, 2001; Hauser i saradnici, 2002). Procedura za SBSE za analizu PAU iz vode, onako kako je opisuje Pop (Popp i saradnici, 2001) sastoji se od korišćenja novih ili korišćenih šipki koje su kondicionirane na sledeći način: šipka se stavlja u vijalu koja sadrži 1 mL mešavine metilen hlorida i metanola (1:1, v/v) i tretira se 5 minuta ultrazvukom. Zatim se rastvor odbacuje i procedura se ponavlja tri puta. Šipka se suši u eksikatoru na sobnoj temperaturi i zagreva 90 minuta na 280 °C u struji azota (100 mL min⁻¹). Za prekoncentrovanje PAU, 10 mL vodenog rastvora (uzorka koji sadrži PAU) se stavlja u staklene kivete od 10 mL i ekstrahuje 60 min pri brzini mešanja od 1000 rpm. Nakon ekstrakcije šipka se uklanja čistom pincetom, suši i prebacuje u vijalu u koju se dodaje 150 µL acetonitrila (ACN) pri čemu se desorcija PAU vrši uz pomoć ultrazvuka u trajanju od 10 min. Nakon desorcije PAU, šipka se uklanja, i vijala u kojoj se nalaze PAU u rastvoru acetonitrila se prebacuje u autosempler LC aparata. Vreme ekstrakcije i desorcije se mogu optimizovati u cilju povećanja osetljivosti određivanja PAU u uzorcima vode.

2.7.4 QuEChERS (eng. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) tehnika pripreme uzoraka

Brza, jednostavna, relativno nova i veoma efikasna tehnika pripreme uzoraka – QuEChERS predstavljena je od strane Anastassiades i saradnika 2003. Postupak pripreme počinje ekstrakcijom analita iz uzorka. Sledi prečišćavanje kod koga se sorbent nalazi u kiveti u koju se dodaje ekstrakt. Ovaj deo QuEChERS tehnike se naziva disperzivna ekstrakcija čvrstom fazom. Postupak ekstrakcije i prečišćavanja se sastoji samo od mućkanja i centrifugiranja, što tehniku čini pristupačnom za analizu velikog broja analita iz različitih uzoraka.



Slika 7. Razlika između ekstrakcije čvrstom fazom i disperzivne ekstrakcije čvrstom fazom (Suk-Hang Lam, 2016).

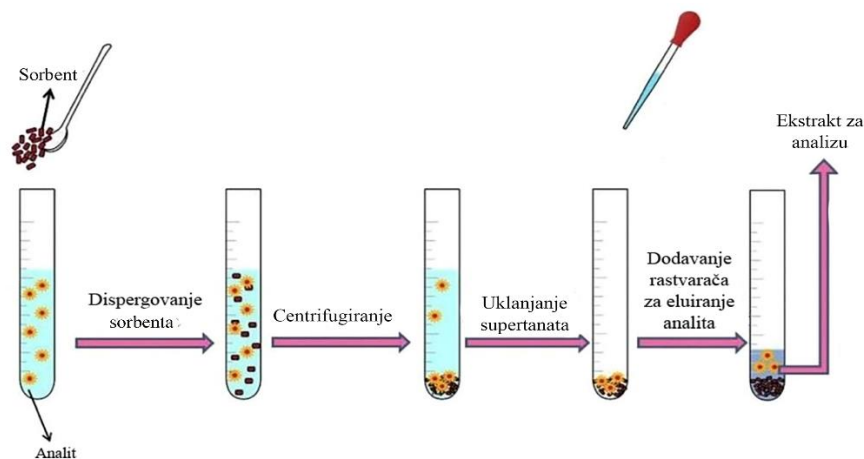
Više od 50 sorbenata je testirano za primenu u dSPE, ali uobičajno se koriste četiri tipa sorbenata i to: primarni–sekundarni amin (PSA), grafitizirani ugljenik (eng. graphitized carbon black–GCB), oktadecilsilan (C18) i aluminijum-oksidi (Anastassiades, 2006). Pri izboru sorbenta obično treba imati u vidu prirodu interferencija. Prema tome, PSA se koristi za uklanjanje polarnih organskih kiselina, šećera, pigmenata i masnih kiselina, dok se GCB koristi za uklanjanje aromatičnih i polarnih jedinjenja; C18 je pogodniji za uklanjanje skroba, šećera i lipofilnih jedinjenja, aluminijum oksid za uklanjanje vitamina, glikozida i fitosterola (Lagana i saradnici 2002; Lagarda saradnici, 2006). PSA u kombinaciji sa GCB daje odlične rezultate za uzorke sa visokom koncentracijom karotenoida ili hlorofila (Anastassiades, 2006).

QuEChERS tehnika, uključujući i dSPE, se koristi za analizu PAU u različitim uzorcima. Neke publikacije opisuju analizu 16 prioriternih PAU (Cvetković i saradnici, 2016; Kao i saradnici, 2014; Madureira i saradnici, 2014; Ramalhosa saradnici, 2009), dok druge opisuju analizu samo pojedinih PAU (Sadowska-Rociek i saradnici, 2014; Surma i saradnici, 2014; Yoo i saradnici, 2014).

2.7.5 Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (eng. dispersive micro-solid phase extraction – D- μ -SPE)

Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (D- μ -SPE) kao miniaturizovana verzija disperzivne ekstrakcije čvrstom fazom (dSPE) se počela koristiti za ekstrakciju i prečišćavanje uzoraka pri analizi mnogih analita (tetraciklina, organofosfatnih pesticida, policikličnih aromatičnih ugljovodonika, triazina i jona teških metala) (Khezeli i Daneshfar, 2017). D- μ -SPE, kao novi tip ekstrakcije čvrstom fazom koristi se za prekoncentrovanje, prečišćavanje i ekstrakciju. Kod ove tehnike, čvrsti sorbent se dodaje rastvoru uzorka. Može se dodati pre ili nakon dodavanja uzorka bez prethodnog kondicioniranja, tako da se postupak prekoncentracije, prečišćavanja ili ekstrakcije sastoji samo iz mućkanja i centrifugiranja, što ovu metodu odlikuje brzinom, jednostavnošću, robustnošću, ekonomičnošću i sigurnošću.

Sorbent se od tečnog uzorka odvaja centrifugiranjem, gde u zavisnosti od prirode sorbenta, analiti se nalaze ili u supertanatu ili vezani za sorbent. Ukoliko se analiti od interesa selektivno zadržavaju na sorbentu, sa sorbenta se odgovarajućim rastvaračem desorbuju. Posle centrifugiranja suspenzije čvrsta faza je na dnu mikroekstrakcione kivete. Zatim se koristi odgovarajući organski rastvarač za eluiranje analita iz čvrstog sorbenta. Nakon eluiranja absorbovanih analita oni se termički desorbuju ili se direktno određuju odgovarajućom tehnikom. Na slici 8 je prikazano izvođenje D- μ -SPE procedure.



Slika 8. Šema disperzivne mikroekstrakcije čvrstom fazom (D- μ -SPE) (Khezeli and Daneshfar, 2017)

Zbog brze reakcije između analita i sorbenta vreme pripreme uzorka je skraćeno. Kontakt između analita i sorbenta mnogo je veći nego kod konvencionalne SPE. Jednostavnost operacije i fleksibilnost radnih uslova za SPE metodu zavisi u mnogome od dobrog izbora sorbenta. Čvrsti sorbenti koji se koriste u D- μ -SPE moraju da imaju veliki kapacitet i veliku specifičnu površinu kakobi omogućili brzu sorpciju i eluiranje velike količine analita. Takođe, moraju da imaju visoku disperzibilnost u tečnim uzorcima (Kocot i saradnici, 2013).

Prednosti D- μ -SPE nad konvencionalnim metodama su:

- Omogućava se direktan kontakt između analita i interferencija zahvaljujući homogenoj disperziji sorbenta u tečnoj fazi uzorka;
- Veća selektivnost metode;
- Veća osetljivost metode koja se postiže odabirom odgovarajućeg sorbenta;
- Koriste se znatno manje količine sorbenata i rastvarača u poređenju sa ostalim tehnikama pripreme uzoraka;
- Jednostavnost primene; i
- Upotreba jeftine opreme.

Glavne razlike između SPE i D- μ -SPE su:

- Tip primenjenog sorbenta; Kod D- μ -SPE metode pripreme uzoraka moguće je koristiti širok spektar sorbenata dok je SPE metoda ograničena na upotrebu komercijalnih sorbenata, što kao posledicu ima ograničenu mogućnost selektivnog odvajanja analita od interesa;
- Razlika u ekstrakcionoj proceduri: Kod SPE ekstrakcije tečni uzorak se propušta kroz kolonu u kojoj se nalazi sorbent na kome se zadržavaju analiti od interesa, i obično proces propuštanja uzorka traje dugo. U slučaju D- μ -SPE, mala količina sorbenata (reda veličine μg ili mg) se disperguje u rastvor uzorka iz kojeg se ekstrahuju analiti od interesa;
- Vreme ekstrakcije: SPE metoda traje relativno dugo, dok kod D- μ -SPE metode ne postoje kertridži za ekstrakciju kao kod SPE, pa se ekstrakcija izvodi u kivetu, mešanjem sorbenta i rastvora uzorka. U poređenju sa SPE, kod D- μ -SPE analiti iz uzorka interaguju sa sorbentom kvantitativnije jer se sorbent disperguje jednako kroz rastvor. Na taj način je

omogućeno da se svi analiti od interesa vežu za sorbent, dok kod konvencionalne SPE metode može doći do zapušavanja kanala kertridža ili diska sa sorbentom;

- Upotreba nanomaterijala - kod SPE metode je komplikovano primeniti nano materijale zato što mnogi nano materijali mogu izazvati visok pritisak kada bi se nalazili u kertridžu s obzirom na dugo vreme propuštanja uzorka kroz kertridž (Asgharinezhad i saradnici, 2015);
- Nano materijali imaju veliku specifičnu površinu i smanjeno vreme difuzije što za rezultat ima veliku ekstrakcionu efikasnost i brzo izvođenje same ekstrakcije kada se kao tehnika primenjuje D- μ -SPE (Huang i saradnici, 2013); i
- Najbitnija razlika D- μ -SPE u odnosu na SPE je što se kod D- μ -SPE koriste manje količine organskih rastvarača i manje količine sorbenata. Takođe je značajna razlika kraće vreme izvođenja i bolja ekstrakciona efikasnost.

Za analizu PAU u vodi, primenjuju se različiti sorbenti, kao što su nanočestice najlon 6 kompozita (Reyes-Gallardo i saradnici, 2014), magnetni grafitni ugljenik nitrid ($g\text{-C}_3\text{N}_4/\text{Fe}_3\text{O}_4$) (Rajabi i saradnici, 2016), kalicijum karbonat dobijen iz ljuske jajeta (Nuhu et al., 2012) i termički modifikovan prirodni zeolit, klinoptilolit (Ćirić i saradnici, 2018).

2.8 Izbor sorbenta za disperzivnu mikroekstrakciju čvrstom fazom

Selekcija sorbenta se vrši prema prirodi analita, količini uzorka, koncentraciji analita i fizičko-hemijskim karakteristikama sorbenta. Sorbenti koji se koriste kod D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka imaju ključnu ulogu u procesu ekstrakcije analita iz uzorka. Efikasnost ekstrakcije zavisi od afiniteta sorbenta prema analitu, odnosno od mogućnosti zadržavanja analita od interesa na sorbentu koji se kasnije u procesu eluiranja mogu desorbovati. Korak vezivanja analita za sorbent jednako je važan kao i korak desorpcije analita sa sorbenta. Interakcija sorbent-analit treba da bude reverzibilna pod različitim uslovima kako bi se analiti lako desorbovali sa analita. Efikasnost sorpcije analita za sorbent, odnosno desorpcije analita sa sorbenta zavisi od kontaktne površine između uzorka i sorbenta kao i između sorbenta i rastvarača kojim se vrši ekstrakcija, odnosno desorbovanje analita sa sorbenta. Zbog svega navedenog, razvoj novih materijala kao sorbenata može imati veliki uticaj pri poboljšanju efikasnosti i selektivnosti kod procesa u tehnikama mikroekstrakcije, uključujući i D- μ -SPE.

Sorbenti koji se koriste u D- μ -SPE se mogu podeliti u dve grupe (Chisvert i saradnici, 2019)

- Mikro-materijali – Mikro-materijali koji se primenjuju kod D- μ -SPE tehnike pripreme su svi oni materijali koji se mogu primenjivati kod svih mikro-ekstrakcionih procedura zasnovanih na upotrebi sorbenta. Najčešće primenjivani mikro-materijali kao sorbenti su: primarni-sekundarni amin (PSA), oktadecil silan (C18), grafitizirani ugljenik (GCB), molekulski utisnuti polimeri (eng. molecularly imprinted polymers-MIPs) (Santoyo i saradnici, 2022) i zeoliti koji predstavljaju alumosilikatne materijale sa velikom poroznošću i koji se koriste kod D- μ -SPE bilo da je njihova površina modifikovana, ili je na nju nanet polianilin (Chisvert i saradnici, 2018)
- Nano-strukturirani sorbenti- nano-čestice - NPs (eng. nano particles) i magnetne nano čestice - MNPs (eng. Magnetic nano particles). Najčešće primenjivani nano-materijali kod D- μ -SPE tehnike priprema uzoraka su nano-čestice SiO₂, Al₂O₃, ZrO₂ (Song i saradnici, 2011) TiO₂ (Krawczyk i saradnici, 2016), ZnO (Stanisz i saradnici, 2017), i magnetni Fe₃O₄ (Casado-Carmona i saradnici, 2016).

U tabeli 6 prikazan je pregled literature o upotrebi D- μ -SPE za određivanje PAU u vodi primenom različitih analitičkih metoda.

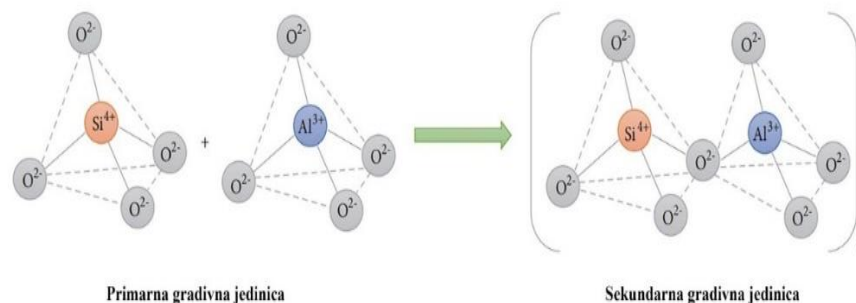
Tabela 6. Pregled literature određivanja PAU različitim analitičkim metodama, primenom D- μ -SPE i različitih sorbenata

Analit	Rastvarač	Sorbent	Metoda određivanja	Efikasnost [%]	Preciznost [%]	Limit detekcije [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Referenca
7 PAU	ACN	Fe_3O_4	HPLC-DAD	85,85-109,55	2,7-4,3	0,021-0,13	Xia i saradnici, 2018
16 PAU	n-heksan	Termički tretiran klinotplilolit	GC-MS	63,5-132	0,03-6,49	0,01-0,92	Čirić i saradnici, 2018
16 PAU	2 propanol, n-hexan	C18	GC-MS	59,1-110	1,03-7,33	0,0008-0,0015	Nascimento i saradnici, 2019
7 PAU	DCM	CaCO_3	GC-FID	84-110	2,71-11,21	0,004-0,022	Nuhu i saradnici, 2012
4 PAU	Aceton	MNP-najlon 6	UPLC-DAD	80-111	3,4-6,8	0,05-0,58	Reyes-Gallardo i saradnici, 2014

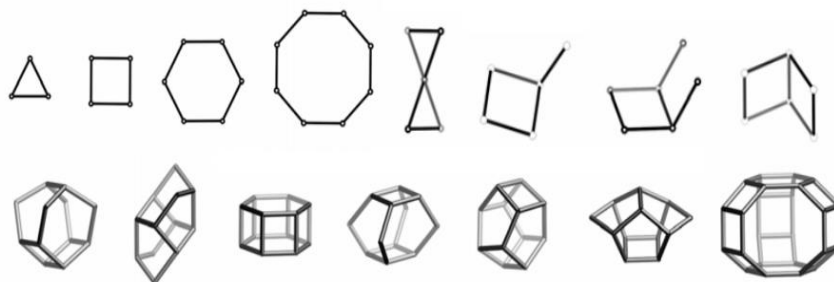
MNP – Magnetne nano-čestice

2.9 Osnovne karakteristike i primena zeolita

Zeoliti predstavljaju hidratizane, kristalne i mikroporozne alumosilikate alkalnih i zemnoalkalnih elemenata. Alumosilikatna mreža zeolita izgrađena je od tetraedara SiO_4 i AlO_4 (primarne gradivne jedinice) koji su međusobno povezani zajedničkim atomomima kiseonika u sekundarnu izgrađivačku jedinicu (slika 9). Povezivanjem sekundarnih gradivnih jedinica dobijaju se poliedri (tercijarne gradivne jedinice) prikazani na slici 10. (Breck, 1997; Meier i Olson, 1987; i Kašić i saradnici, 2018).



Slika 9. Primarne i sekundarna gradivna jedinica zeolita (Emami Moghaddam i saradnici 2018)



Slika 10. Sekundarne i tercijarne izgrađivačke jedinice zeolita (Baerlocher i saradnici, 2007)

Struktura zeolita sastoji se od alumosilikatne mreže ($[(Al_2O_3)_x \cdot (SiO_2)_y]$), izmenljivih katjona ($M_{x/n}^{n+}$) i vode (mH_2O).

Opšta formula zeolita je: $M_{x/n}^{n+}[(Al_2O_3)_x \cdot (SiO_2)_y] \cdot mH_2O$

M – izmenljivi katjon;

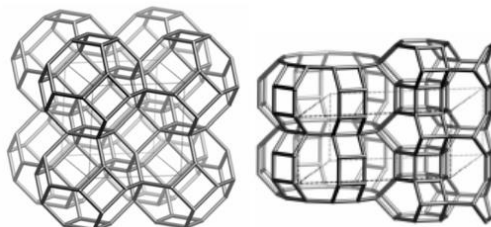
n – valenca katjona,

m – broj molekula vode,

x i y su ukupni brojevi tetraedara po zeolitnoj ćeliji.

Negativno naelektrisana struktura alumosilikata neutralisana je katjonima M^{n+} koji su najčešće zemnoalkalni ili alkalni metali (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}). Ti joni su izmenljivi katjoni koji

su pokretljivi i nalaze se u šupljinama i kanalima zeolita, što omogućava primenu zeolita kao izmenjivača jona (Inglezakis i Zorpas, 2012).



Slika 11. Prostorna mreža zeolita (Baerlocher i saradnici, 2007)

Mikroporozna struktura zeolita predstavlja njihovu glavnu karakteristiku. Kanali i šupljine kod zeolita su veličine 0,2-1 nm. Unutar kanala i šupljina nalaze se izmenljivi katjoni i voda.

Adsorbovana voda se može ukloniti zagrevanjem zeolita na temperaturi do 100 °C, dok se zeolitna voda koja se nalazi u strukturi zeolita, može ukloniti zagrevanjem zeolita na temperaturi od 100-300 °C. Kristalna voda zeolita uklanja se zagrevanjem zeolita na temperaturi od 350-400 °C. U zavisnosti od veličine otvora i kanala zeoliti mogu selektivno zadržavati odnosno propuštati molekule zbog čega se zeoliti nazivaju molekulskim sitima (Weitkamp, 2000; Sidheswaran i Bhat, 1997; Carey i Bis, 1996; Inglezakis i Zorpas, 2012).

Kristalna struktura, veličina, oblik i udeo kanala i šupljina, udeo vode i vrsta izmenljivih katjona su karakteristike zeolita od kojih zavise adsorpciona, jonoizmenjivačka i katalitička svojstva zeolita (Armbruster, 2001; Pabalan i Bertetti, 2001).

Fizičko-hemijske karakteristike zeolita zavise od odnosa molskog odnosa Si/Al odnosno odnosa mase $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ (Jiang i saradnici, 2018), pa se tako zeoliti u odnosu na odnos silicijuma i aluminijuma mogu podeliti u tri grupe (Csicsery, 1986): nisko silikatne, srednje silikatne i visoko silikatne zeolite.

- Zeoliti sa niskim sadržajem Si (molski odnos Si/Al = 1-2, odnos masa $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 = 1,18-2,35$)
- Zeoliti sa srednjim sadržajem silicijuma (molski odnos Si/Al = 3-10, odnos masa $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 = 3,53-11,76$)

- Zeoliti sa visokim sadržajem silicijuma (molski odnos Si/Al = 10-∞, odnos masa SiO₂/Al₂O₃ o = 11,76-∞)

Fizičko-hemijske karakteristike zeolita određene su sadržajem Al u zeolitu, tačnije odnosom SiO₂/Al₂O₃ (Li i saradnici, 2017). Niže vrednosti ovog odnosa uslovljavaju hidrofilnu površinu zeolita koja je uzrok bolje interakcije ovakvih zeolita sa polarnim molekulima, na primer vodom (Castilo i saradnici, 2013). Veće vrednosti SiO₂/Al₂O₃ odnosa uslovljavaju hidrofobna svojstva površine zeolita (Jiang i saradnici, 2018; Wang i saradnici, 2019) pri čemu ovakve vrste zeolita ostvaruju bolje interakcije sa nepolarnim molekulima, na primer isparljivim organskim molekulima (Kuwahara i saradnici, 2012).

Zeoliti sa visokom vrednošću odnosa SiO₂/Al₂O₃, koji su pogodni za sorpciju organskih nepolarnih mikropolutanata mogu se dobiti procesom dealuminacije. Proces dealuminacije definiše se kao proces pri kome dolazi do uklanjanja atoma Al iz alumosilikatne rešetke pri čemu ne dolazi do narušavanja mikroporozne strukture zeolita. Proces dealuminacije postiže se hidrolizom Al-O-Si veza primenom termičkog tretmana (Muller i saradnici, 2000) i kiselinskim tretmanom (Boveri i saradnici, 2006). Usled procesa dealuminacije dolazi do promene Si/Al odnosa u zeolitu. Nasuprot procesu dealuminacije, proces desilikonizacije (desilicijacija) predstavlja proces uklanjanja atoma Si iz alumosilikatne rešetke zeolita s tom razlikom da se kod procesa desilikonizacije koriste alkalni rastvori (Meunier i saradnici, 2012).

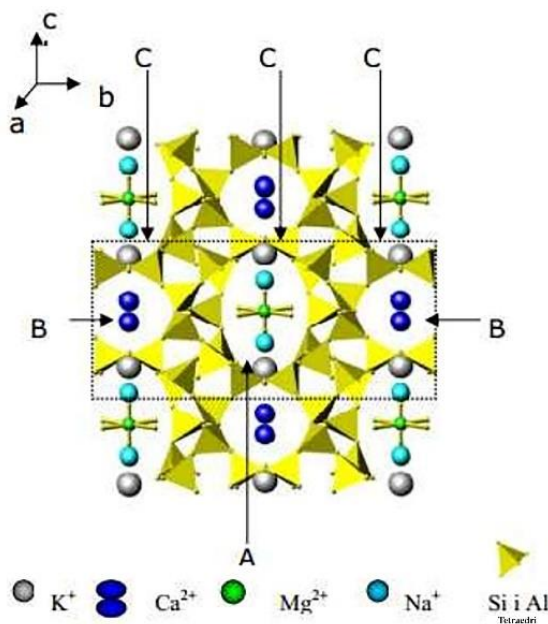
2.9.1 Primena zeolita

Zeoliti se karakterišu kao materijali sposobni da reverzibilno vezuju/otpuštaju vodu (Chibani i saradnici, 2016), te se mogu koristiti kao sredstva za sušenje. Takođe, zeoliti široku primenu nalaze u procesima prečišćavanja otpadnih voda, i to u uklanjanju prioriternih toksičnih metala (Cr, Ni, Zn, Cu i Cd) iz otpadnih voda metaloprerađivačke industrije (Ayuso i saradnici, 2003), iz otpadnih voda iz rudnika (Motsi i saradnici, 2009), u uklanjanju amonijum jona iz komunalnih i poljoprivrednih voda (Mumpton i saradnici, 1999), u uklanjanju radionuklida iz otpadnih voda nuklearnih elektrana (Borai i saradnici, 2009). Zeoliti se primenjuju i u procesima remedijacije zemljišta (Shia i saradnici, 2009) i adsorpciji mikotoksina (Tomašević-Čanović i saradnici, 2003).

2.9.2 Klinoptilolit

Klinoptilolit pripada grupi zeolita hejlanditskog tipa (Mumpton, 1960). Hemijski sastav klinoptilolita prikazan je sledećom emirijskom formulom: $(\text{Na}, \text{K})_6[\text{Al}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72}] \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (Breck, 1974). Klinoptilolit ima strukturu koja je izomorfna hejlanditu. Hejlandit i klinoptilolit se razlikuju po odnosu Si/Al što za posledicu ima njihovu različitu termičku stabilnost. Hejlandit ima odnos $\text{Si}/\text{Al} = 2,5\text{-}3,7$ i njegovim zagrevanjem na $350\text{-}450\text{ }^\circ\text{C}$ dolazi do narušavanja kristalichnosti u strukturi. Klinoptilolit ima odnos $\text{Si}/\text{Al} = 4,0\text{-}5,3$ i termički je stabilan do $800\text{ }^\circ\text{C}$ (Armbruster, 2001; Sprynsky i saradnici, 2010).

U strukturi klinoptilolita postoje tri vrste kanala: A, B i C. Kanal A izgrađen je od desetočlanih, a kanali B i C izgrađeni su od osmočlanih prstenova. Desetočlani kanal A veličine $0,44 \times 0,72\text{ nm}$ i jedan osmočlani kanal (šupljina) veličine $0,41 \times 0,47\text{ nm}$ su paralelni kristalografskoj osi c, a drugi osmočlani kanal veličine $0,40 \times 0,55\text{ nm}$ paralelan je kristalografskoj osi a (Ming i Mumpton, 2018) Na slici 12 prikazani su položaj i vrsta kanala kod klinoptilolita.



Slika 12. Vrsta i položaj kanala kod klinoptilolita-presek (Margeta i saradnici, 2009)

U šupljinama i mikroporama trodimenzionalne i kristalne strukture klinoptilolita se nalazi voda i izmenljivi katjoni: Na^+ , K^+ i Ca^{2+} ili drugi (Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}) u zavisnosti od porekla

odnosno sastava klinoptilolita. Klinoptilolit se može okarakterisati različitim stepenima poroznosti, pa tako postoje mikroporozni (<2 nm), mezoporozni (2-50 nm) i makroporozni (>50 nm) klinoptiloliti. Primarna poroznost (mikroporoznost) uslovljena je građenjem kristala klinoptilolita, dok je sekundarna poroznost (makro-i mezoporoznost) uslovljena i prisustvom drugih minerala u sastavu klinoptilolita (Tsitsishvili i saradnici, 1992).

Klinoptilolit, kao jedan od najčešće primenjivanih zeolita nalazi primenu kao sorbent, izmenjivač jona, a zbog svoje porozne strukture nalazi primenu kao molekulska sito (Grce i Pavelić, 2005). Ovakve karakteristike klinoptilolita omogućavaju mu primenu u različitim oblastima kao što su: agrikultura i hortikultura, zaštita životne sredine, farmacija, tehnologija nafte i građevina. U agrikulturi i hortikulturi, klinoptilolit se koristi kao nosač koji sporo oslobađa đubrivo, insekticide, pesticide, antibakterijske agense i stimulatore rasta (Rehakova i saradnici, 2004). U oblasti zaštite životne sredine, klinoptilolit nalazi primenu u uklanjanju teških metala (Jovanović i saradnici, 2012), boja iz vode tekstilne industrije (Stankov-Jovanović i saradnici, 2003), za uklanjanje toksičnih gasova (Ahmadi i saradnici, 2017). U oblastima farmacije i medicine, klinoptilolit nalazi primenu kao antidijarij (Rodriguez-Fuentes i saradnici, 1997), kod antivirusnih lekova (Grce i Pavelić, 2005), antikancer terapiji (Tomečkova i saradnici, 2012) i kao nosač aktivnih komponenti lekova (Nezamzades-Ejhieh i Thavakoli Ghikani, 2014). Klinoptilolit se ne koristi samo kao materijal u svojoj inicijalnoj već i u modifikovanoj formi pri čemu se areal upotrebe klinoptilolitnog materijala proširuje.

2.10 Modifikacija zeolita

U proteklih nekoliko godina, zeoliti dobijaju sve veću pažnju u oblasti nauke zbog svojih specifičnih osobina, pristupačnosti i niske cene. Iako su se zeoliti pokazali kao efikasni sorbenti u primeni za prečišćavanje ili ekstrakciju polutanata iz vode, u poslednje vreme sve veća pažnja posvećena je procesima modifikacije zeolita. Modifikacijom zeolita dobijaju se materijali kojima su uklonjene nečistoće i povećana specifična površina, kao poboljšane osnovne fizičko-hemijske karakteristike (Duola i saradnici, 2006).

Uopšteno, svi procesi modifikacije zeolita mogu se podeliti na fizičke i hemijske procese modifikacije. Fizičkom i hemijskom modifikacijom moguće je kontrolisati strukturne i morfološke karakteristike (Cheong i saradnici, 2020).

Fizička modifikacija zeolita uključuje termičke i ultrazvučne modifikacije (Shi i saradnici, 2018). Termička modifikacija se izvodi u peći za žarenje ili mikrotalsnoj peći, pri čemu se na povišenim temperaturama smanjuje površinska optornost zeolita i povećava kapacitet adsorpcije.

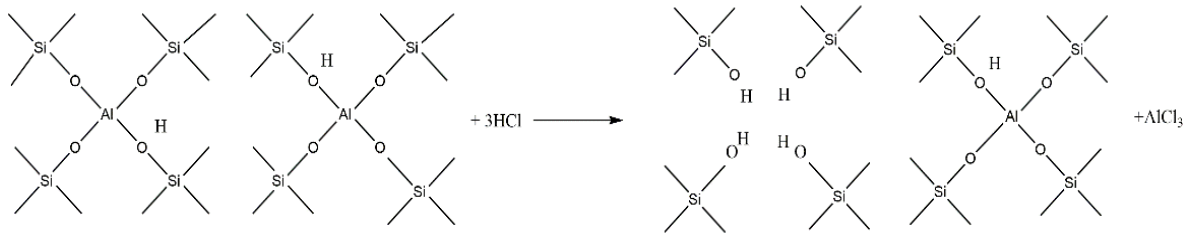
Termičkom obradom zeolitnog materijala postiže se uklanjanje vode iz šupljina i kanala zeolita, što dovodi do promene teksture i specifične površine (Margeta i saradnici, 2013). Ultrazvučnom modifikacijom dolazi do uklanjanja nečistoća i povećanja adsorpcione efikasnosti (Zielinski i saradnici, 2015).

Hemijska modifikacija zeolita odvija se neorganskim kiselinama (najčešće HCl i H₂SO₄), bazama (NaOH, KOH, NH₄OH), neorganskim solima (NaCl, NH₄Cl, Na₂CO₃, CoCl₂) i katjonskim surfaktantima (Inglezakis, 2012).

2.10.1 Modifikacija zeolita kiselinama

Delovanjem kiseline na zeolit uklanjaju se nečistoće koje se nalaze u porama što dovodi do dekaltonizacije, odnosno do zamene izmenljivih metalnih katjona, H⁺ jonima iz kiseline. Kiselina deluje na Al-O veze pri čemu dolazi do procesa dealuminacije zeolitne strukture. H⁺ joni iz kiseline napadaju Al-O vezu pri čemu dolazi do odvajanja AlOH²⁺ i uspostavljanja novih Si-O-Si na mestima tetraedarskih šupljina što uzrokuje povećanje otvora zeolitskih kanala, odnosno dolazi do povećanja mikroporoznosti i u manjoj meri mezoporoznosti u strukturi, samim tim i do povećanja specifične površine zeolita (Wang i Peng, 2010; Christidis i saradnici, 2003; Margeta i saradnici, 2013; Wang i saradnici, 2012; Beyer, 2002). Dejstvo kiseline na zeolit zavisi od odnosa SiO₂/Al₂O₃.

Klinoptilolit sadrži veće količine Si (Si/Al ≥ 4) i karakteriše se visokom kiselinskom stabilnošću, pri čemu zadržava silicijumsku kristalnu strukturu i pod dejstvom jakih kiselina (Barrer, 1978; Basabe i saradnici, 2010). Reakcija po kojoj se vrši modifikacija zeolitnog materijala kiselinom prikazana je na slici 13.



Slika 13. Reakcija zeolita sa hlorovodoničnom kiselinom (Valdes i saradnici, 2012)

U reakciji zeolita i HCl dolazi do oslobađanja molekula AlCl_3 i pri tome dolazi do povećanja otvora pora u zeolitu. Kod kiselinski modifikovanog zeolita zbog znatno manjih dimenzija H^+ neometano se vrši difuzija sorbata (Matijašević i saradnici, 2009).

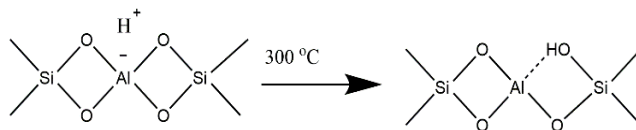
U istraživanju Matijaševića i saradnika (2009) ispitivan je uticaj jačine kiseline na strukturu klinoptilolita u procesu dealuminacije hlorovodoničnom, oksalnom i limunskom kiselinom. Potvrđeno je da je najveći stepen dealuminacije postignut upotrebom hlorovodonične kiseline. Misaelides (1996) je ispitivao uticaj koncentracije hlorovodonične kiseline na dealuminaciju klinoptilolita korišćenjem HCl molariteta od 0,001 do 2 mol L^{-1} , pri čemu je ustanovljeno da za uzorke koji su tretirani 1 i 2 mol L^{-1} kiselinom dolazi do smanjenja koncentracije Al, a Tsitsishvili i saradnici (1992) su dokazali da klinoptilolit tretiran 1 mol L^{-1} HCl gubi najveći deo tetraedarski vezanog aluminijuma u izmenljivim položajima.

2.10.2 Termička i kiselinsko termička modifikacija klinoptilolita

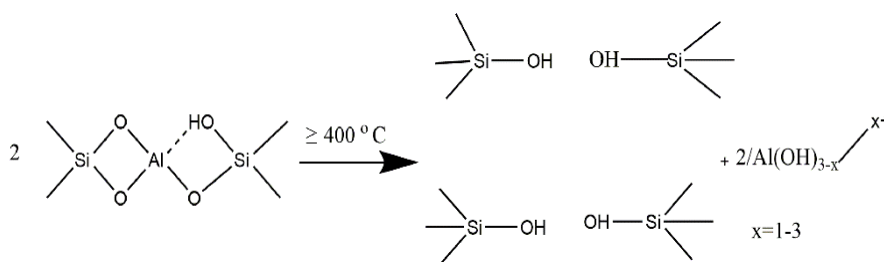
Klinoptilolit je prirodni zeolit koji je termički stabilan do 800 °C (Sprynskyy i saradnici, 2010; Armbruster i saradnici, 2001). Zagrevanjem klinoptilolita na temperaturi do 300 °C ne dolazi do promene u strukturi, dok na temperaturama od 350-550 °C dolazi do delimičnog razaranja kristalne strukture. Tek na temperaturi od 900 °C dolazi do potpunog razaranja kristalne strukture (Vasylechko i saradnici, 2003). U temperaturnom intervalu od 300-500 °C gubi se najveća količina vode (Vasylechko i saradnici, 2015).

Zagrevanjem kiselinski modifikovanog klinoptilolita kristalna struktura se razara na temperaturi od 150 °C dok se značajne promene u strukturi primećuju na temperaturama između 350 i 450 °C. I u slučaju kiselinski modifikovanog klinoptilolita na temperaturi od 900 °C dolazi do razaranja kristalne strukture (Vasylechko i saradnici, 2003).

Na slikama 14 i 15 prikazan je mehanizam transformacije kiselinski modifikovanog klinoptilolita na različitim temperaturama u tri stepena (Tomazović i saradnici, 1995; Tomazović i saradnici, 1996). Termički tretman kiselinski modifikovanog klinoptilolita na temperaturi od 300 °C prikazan je na slici 14.

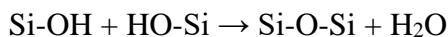


Slika 14. Termički tretman kiselinski modifikovanog zeolita na temperaturi od 300 °C



Slika 15. Termički tretman kiselinski modifikovanog zeolita na temperaturama većim od 400 °C

U prvom stepenu dolazi do delimične transformacije kiselinski modifikovanog klinoptilolita. U drugom stepenu dolazi do procesa dealuminacije, a u trećem do građenja novih Si-O-Si veza na dealuminisanim mestima (Tomazović i saradnici, 1996).



2.11 Analitičke metode za određivanje PAU u vodi

Standardne procedure za određivanje PAU u vodi imaju istoriju koja traje nekoliko decenija, a jedna od prvih zvaničnih metoda za određivanje PAU u vodi publikovana je 1985. godine (HMSO, 1985). US-EPA je 1986 godine publikovala EPA proceduru 8310 (EPA 8310, 1986) za određivanje PAU u vodi metodom HPLC. Novija EPA publikacija iz 2007. godine predlaže proceduru 8270 D (EPA-8270D, 2007), pri čemu je metoda određivanja GC-MS. Metoda određivanja PAU u vodi preporučena od strane internacionalne organizacije za standardizaciju (the International Organization for Standardization-ISO) zasniva se na određivanju PAU u vodi HPLC-

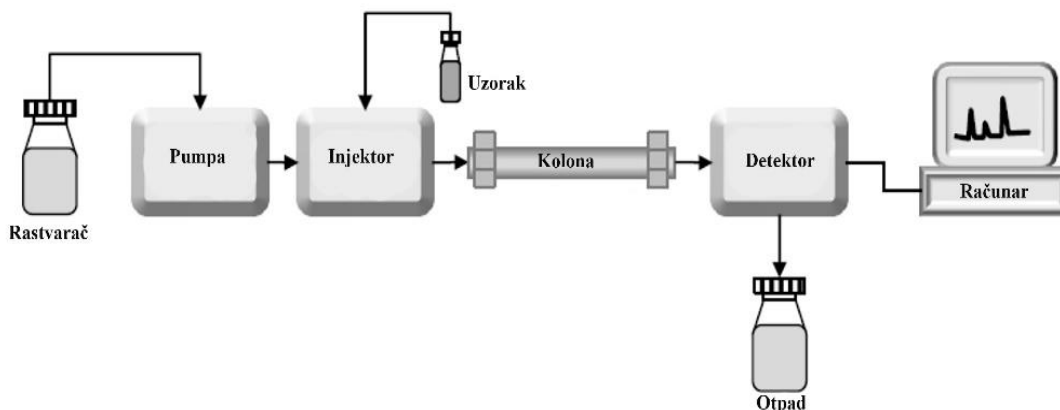
FD metodom (ISO, 2002). U tabeli 7 prikazane su zvanične standardne procedure za određivanje PAU u vodi.

Tabela 7. Standardne procedure za određivanje PAU u vodi (Wolska, 2008)

Naziv zmetode	Vrsta uzorka	Priprema uzoraka	Metoda određivanja
EPA-610	PAU iz gradskih i industrijskih otpadnih voda	LLE	HPLC ili GC
EPA-8310 (1986)	Podzemne vode i otpadne vode	EPA 3500 serija metoda zasnovana na ekstrakciji tečno-tečno; ekstrakcija tečno tečno (EPA 3510), kontinualna ekstrakcija tečno-tečno (EPA 3520) i ekstrakcija čvrstom fazom (EPA 3535)	HPLC
EPA-8270D (2007)	Uzorci vode	EPA 3500 serija metoda za analizu voda zasnovana na ekstrakciji tečno-tečno; ekstrakcija tečno-tečno (EPA 3510), kontinualna tečno-tečno ekstrakcija (EPA 3520) i ekstrakcija čvrstom fazom (EPA 3520)	GC-MS uz primenu deuterisanih standarda
ISO 17993:2002	Voda za piće, podzeme, površinske i otpadne vode;	Ekstrakcija tečno-tečno	HPLC-FD

2.11.1 Tečna hromatografija visokih performansi (eng. High-performance Liquid Chromatography, HPLC)

Tečna hromatografija visoke efikasnosti, HPLC, predstavlja analitičku metodu koja se koristi za odvajanje, identifikaciju i određivanje komponenata u smeši. Princip HPLC metode zasniva se na propuštanju uzorka i mobilne faze pod pritiskom uz pomoć pumpe kroz stacionarnu fazu, odnosno kolonu sa odgovarajućim sorbentom (slika 16). Svaka komponenta iz uzorka interaguje sa sorbentom na različit način što rezultuje različitim vremenom zadržavanja svake od komponenti iz uzorka na stacionarnoj fazi i njihovo razdvajanje eluiranjem (Pitigoi, 2022). Vreme eluiranja komponente sa kolone je retenciono vreme. Identifikacija komponenata zasniva se na poređenju dobijenih retencionih vremena sa retencionim vremenima standarda. HPLC uređaj povezan je sa detektorskom jedinicom i računarom pomoću kojih se dobijaju i analiziraju hromatogrami i vrši kvalitativna i kvantitativna analiza. Razdvojeni analiti transportovani mobilnom fazom sa kolone dolaze u detektorsku jedinicu (slika 16). Zadatak detektorske jedinice je da registruje vreme i količinu supstance koja se eluira iz kolone i da pošalje električni signal računaru (Meyer, 2010).



Slika 16. Šema HPLC sistema (Czaplicki, 2013)

Kolone koje se koriste za HPLC analize su najčešće dužine 10, 15 ili 25 cm unutrašnji prečnika 4,6 ili 5 mm i ispunjene su najčešće silicijum oksidom ili sintetičkim organskim smolama (Reuhs, 2017; Swadesh, 2000). Nakon odabira odgovarajuće stacionarne i mobilne faze, vrši se eluiranje i razdvajanje komponenata iz uzorka. Proces eluiranja sa kolone može se vršiti u izokratskom režimu gde se sastav mobilne faze ne menja sa vremenom trajanja analize, ili se proces može vršiti gradijentno pri čemu dolazi do promene sastava mobilne faze tokom trajanja analize. Gradijentnim eluiranjem postiže se bolje odvajanje komponenata iz uzorka pri čemu se za eluiranje mogu koristiti dva ili više rastvarača različite polarosti. (Skoog i West, 1999).

Za određivanje PAU u vodi HPLC metodom najčešće se koristi C18 kolona i gradijentno eluiranje smešom acetonitrila i vode (Chen, 2004), dok se kao detektori najčešće koriste UV-VIS detektor, detektor sa nizom dioda (diode array detector - DAD) i fluorescentni detektor (FLD), ali je zbog boljih karakteristika određivanja najčešće u primeni FLD detektor. (Santana-Rodriguez i Padron Sanz, 2000). U tabeli 8 prikazan je pregled publikacija koje se bave određivanjem PAU u uzorcima voda HPLC metodom sa različitim tipovima detektora.

Tabela 8. Određivanje PAU u vodi HPLC metodom sa različitim tipovima detektora- pregled

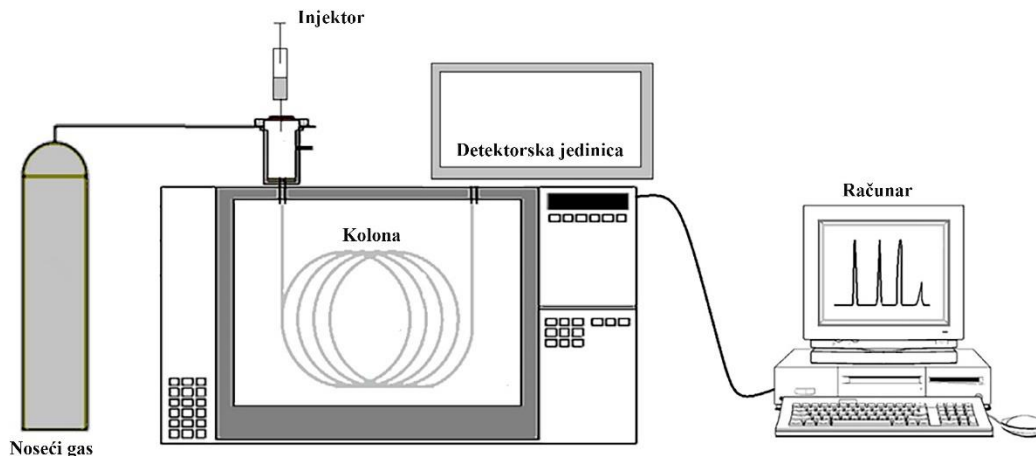
Analizirani PAU	Metoda određivanja	Tehnika pripreme uzoraka	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	RSD [%]	Referenca
16 PAU	HPLC-UV-VIS-DAD	SPE	0,0003-0,001	2,1-17,9	Lima i saradnici, 2015
16 PAH	HPLC-FLD	MSPE	0,0022-0,0091	2,2-9,1	Wang i saradnici, 2013
16 PAU	HPLC-DAD	USAEME	5,40-16,44	1,01-13,08	Akvan i saradnici, 2019
16 PAU	HPLC-UV	DLLME	0,0005-0,88	2,7-7,4	Zhou i Gao, 2014
10 PAU	HPLC-UV	SPE	0.007-0.048	<.00	Khaili-Fard, 2012
6 PAU	HPLC-FLD	SPE	0,0001-0,003	4,85-10,39	Pan i saradnici, 2011
6PAU	HPLC-FLD	LPME	0,0030-0,015	3,5-10,4	Sun i saradnici, 2018
5 PAU	HPLC-FLD	SPME	0,0034-0,006	2,3-4,8	Chen i saradnici, 2004

LPME – Mikroekstrakcija tečnom fazom, USAEME - Ultrazvučna emulzifikaciona mikroekstrakcija

2.11.2 Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS)

Kuplovanjem gasne (GC) hromatografije i masene spektrometrije (MS), dobija se analitička tehnika - gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS) koja se koristi za razdvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju lako isparljivih organskih jedinjenja.

Gasna hromatografija predstavlja analitičku tehniku koja se koristi za razdvajanje, kvalitativnu i kvantitativnu analizu komponenata iz uzorka smeše organskih isparljivih jedinjenja. Stacionarna faza kod ovog tipa hromatografije može biti čvrst adsorbent koji se nalazi u koloni (gasno-čvrsta hromatografija) ili sloj tečnosti na inertnom nosaču u hromatografskoj koloni (gasno-tečna hromatografija). Mobilna faza je hemijski inertan gas, najčešće argon ili helijum, ili gas koji ne reaguje sa uzorkom (azot). Uzorak se pre analize na odgovarajućoj temperaturi prevodi u gasovito stanje i nošen mobilnom fazom, prolazi kroz kolonu - stacionarnu fazu gde dolazi do razdvajanja komponenata iz smeše uzorka na osnovu različitog adsorpcionog afiniteta prema mobilnoj i stacionarnoj fazi. Svaka razdvojena komponenta eluira se mobilnom fazom i prolazi kroz detektorsku jedinicu gde se registruje električni signal proporcionalan koncentraciji komponente u mobilnoj fazi. Detektorska jedinica je povezana sa računarom na kome se prikazuje hromatogram koji predstavlja zavisnost jačine signala od retencionog vremena. Na slici 17 prikazana je šema gasnog hromatografa.



Slika 17. Šema gasnog hromatografa (Castro Vasconcellos i saradnici, 2015)

Kolone koje se koriste u gasnoj hromatografiji se prema dimenzijama i načinu pripreme dele na:

- Punjene kolone: sa dimenzijama od 0,5-3 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm. Izrađene su od bakra ili nerđajućeg čelika u obliku cevi namotane u spiralu. Obložene su sa unutrašnje strane tečnom ili čvrstom stacionarnom fazom; i
- Kapilarne kolone: sa dimenzijama od 50-300 m, unutrašnjeg prečnika 0,25 mm. Kolona je izrađena od nerđajućeg čelika ili stakla, a unutrašnja površina obložena je tankim slojem stacionarne faze.

Detektori koji se najčešće koriste u GC mogu biti: detektor toplotne provodljivosti (eng. Thermal conductivity detector – TCD) čiji se princip rada zasniva na merenju promene toplotne provodljivosti mobilne faze u smeši sa uzorkom, plameno jonizacioni detektor (eng. Flame ionization detector – FID) čiji se princip rada zasniva na uvođenju smeše mobilne gasovite faze sa uzorkom u plamen, što dovodi do jonizacije analizirane komponente. a generisana jonizujuća struja proporcionalna je koncentraciji analizirane komponente iz smeše, i maseni spektrometar (eng. mass spectrometer - MS) sa velikom sposobnošću razlaganja jona različitih masa. MS razdvaja naelektrisane čestice u magnetnom polju prema odnosu mase i naelektrisanja (m/z). Kod FID detekcije dolazi do sagorevanja uzorka u plamenu - destruktivna detekcija, dok je TCD nedestruktivan tip detekcije što mu daje prednost u odnosu na FID detekciju. Za analizu PAU u vodi se najčešće primenjuju MS i FID detektori.

Kuplovanjem masene spektrometrije kao detekcione metode sa gasnom hromatofijom, dobija se analitička tehnika gasna hromatografija sa masenom sepktrometrijom (GC-MS) koja je najviše u upotrebi zbog niskih vrednosti granica detekcije ispitivanih analita, osetljivosti i brzine određivanja. Upotrebom GC moguće je izvršiti proces razdvajanja željenih analita iz smeše uzorka, dok je upotrebom MS moguće izvršiti identifikaciju analita. Svaki MS se sastoji od: sistema za uvođenje uzorka, jonskog izvora, masenog analizatora i detektora.

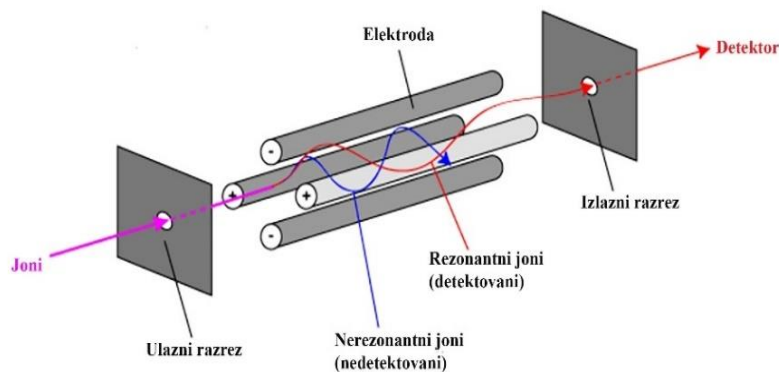
U jonskom izvoru nastaju joni molekula analiziranih analita. U zavisnosti od načina jonizacije razlikuju se:

- Jonizacione tehnike:
 - Jonizacija elektronima (eng. Electron ionization – EI);
 - Hemijska jonizacija (eng. Chemical ionization – CI); i
 - Elektro ili nano elektrosprej jonizacija (eng. Electrospray ionization – ESI; Nano ESI)
- Desorpcione tehnike:
 - Bombardovanje brzim atomima (Fast atom bombardment – FAB);
 - Laserska desorpcija/jonizacija potpomognuta matriksom (eng. Matrix assisted lasser desorptio/ ionization - MALDI);
 - Desorpcija elektrosprej jonizacijom (eng. Desoprtn electropray ionization – DESI); i
 - Direktna analiza u realnom vremenu (eng. Direct analysis in real time).

U masenom analizatoru joni analita koji su nastali u jonskom izvoru se pod dejstvom električnog i/ili magnetnog polja razdvajaju na osnovu odnosa mase i naelektrisanja (m/z). Razlikuju se sledeći maseni analizatori:

- Magnetni analizator sa jednostrukim fokusiranjem;
- Magnetni analizator sa dvostrukim fokusiranjem;
- Analizatori na bazi vremena preletanja (eng. Time of flight – TOF);
- Jonski trap (eng. Ion trap); i
- Kvadrupolni analizator

Za analizu PAU u uzorcima voda najviše je u primeni kvadrupolni analizator. Na slici 18 prikazana je šema kvadrupolnog masenog analizatora. Ovakav tip analizatora sačinjen je od četiri elektrode cilindričnog oblika koje su međusobno paralelne i priključene na izvor naizmjenične struje, pri čemu su dve suprotno orijentisane elektrode sa istim intenzitetom, ali različitim naelektrisanjem. Razdvajanje na osnovu različitih m/z odnosa vrši se promenom napona ili jačine magnetnog polja.



Slika 18. Šema kvadrupolnog masenog analizatora (Argoti, 2008)

U tabeli 9 prikazan je pregled literature najčešće korišćenih tipova detektora pri određivanju PAU u vodi.

Tabela 9. Određivanje PAU gasnom hromatografijom sa različitim tipovima detektora- pregled

Analizirani PAU	Metoda pripreme uzorka	Metoda određivanja	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	RSD [%]	Referenca
16 PAU	USAELLE	GC-MS	0,0005-0,05	0,10-0,18	Temerdashev i saradnici, 2018
16 PAU	SPE	GC-FID	0,024-0,113	< 5.0	Carvalho i saradnici, 2019
16 PAU	SPE	GC-MS	0,002-0,0085	1,2-12,1	Ma i saradnici, 2010
16 PAU	SPE	GC-FID	0,02-0,04	1,15-2,04	Adetunji i saradnici, 2020
8 PAU	MEPS	GC-MS	0,8-8,2	1,0-7,6	Fu i saradnici, 2012
10 PAU	MSPE	GC-MS	0,00038-0,0051	3,1-13,3	Xu i saradnici, 2014
10 PAU	USAEME	GC-FID	0,02-0,05	5,8-14,6	Saleh i saradnici, 2009

USAELLE - ultrazvučna emulzifikaciona ekstrakcija tečno-tečno; USAEME - ultrazvučna emulzifikaciona mikroekstrakcija; (USAEME); MSPE-magnetna ekstrakcija čvrstom fazom

2.12 Validacija analitičkih metoda

Metode koje se koriste u analitičkoj laboratoriji procenjuju se i ispituju sa ciljem utvrđivanja pouzdanosti dobijenih rezultata. Validacijom analitičke metode dokazuje se da je analitička procedura odgovarajuća za predviđenu primenu i ponovljiva od strane drugog analitičara. Tokom sprovođenja validacionih eksperimenata i analize dobijenih rezultata utvrđuju se izvori grešaka koje mogu nastati prilikom izvođenja analize.

Validnost odabrane analitičke metode dokazuje se sprovođenjem validacionih eksperimenata pri čemu se koriste standardi koji pokazuju sličnost sa analiziranim uzorcima. Nakon sprovedenih validacionih eksperimenata vrši se validacija analitičke metode u cilju (Kalra, 2011):

- Razvijanja nove analitičke metode;
- Poboljšanja i prilagođavanja validovane metode novim zahtevima;
- Mogućnosti primene validovane metode u drugoj laboratoriji, od strane drugog analitičara i na drugom instrumentu; i
- Kada je potrebno korigovati validovanu metodu u cilju upotrebe u druge svrhe.

Razvoj nove analitičke metode predstavlja proces odabira tačne procedure za kvalitativno i kvantitativno određivanje odabranog analita u odabranom uzorku i predstavlja proces dokazivanja da je analitička metoda pogodna za širu primenu u laboratorijama u kojima se vrši analiza istih uzoraka i prati prisustvo i količina istog analita. Preduslovi za razvoj analitičke metode su (Bharrati Mirttu i Chauhan, 2015; McDowall, 2005):

- Izbor uzorka za analizu;
- Izbor analita iz uzorka koji se istražuju;
- Referentni standardi; i
- Kalibrisani instrumenti.

Razvoj nove analitičke metode vrši se kada (Swartz i Krull, 1997);

- Ne postoji odgovarajuća metoda za kvalitativnu i kvantitativnu analizu analita iz uzorka od interesa;
- Kada su postojeće metode neekonomične i vreme analize dugo traje;
- Kada su postojeće metode nepouzdana;
- Kada postoji nova instrumentacija ili tehnika pripreme uzorka koje pružaju veću tačnost i preciznost;
- Kada postoji potreba za alternativnom metodom koja bi potvrdila analitičke podatke postojećih metoda;
- Kada je potrebna tačna, precizna i ponovljiva kvantifikacija analita od interesa u tragovima;
- Kada je potrebno smanjiti troškove analize upotrebom jednostavnih procedura;
- Kada je potrebna nova procedura koja se lako primenjuje i postoji mogućnost analize velikog broja uzoraka; i
- Kada je potrebna nova priprema uzoraka kojom je skraćeno vreme analize, smanjena upotreba materijala i količine utrošenog uzorka.

Nova analitička metoda treba detaljno da opisuje korake i tehnike neophodne za obavljanje analize kao što su: način na koji je izvršena priprema uzoraka, priprema standardnih rastvora i uslova rada instrumenata za analizu.

Prilikom validacije nove analitičke metode određuju se sledeći parametri:

- selektivnost
- linearnost
- analitički opseg metode (radno područje)
- preciznost
 - ponovljivost (eng. repeatability)
 - međupreciznost (eng. intermediate precision)
 - reproduktivnost (eng. reproducibility)
- tačnost
- granica kvantifikacije
- granica detekcije
- robusnost
- matriks efekat
- nesigurnost merenja

2.12.1 Selektivnost

Selektivnost predstavlja validacioni parametar kojim se dokazuje da se tačno može odrediti analit u prisustvu interferencija za koje se očekuje da budu prisutne u matriksu uzorka pod definisanim uslovima određivanja (Rao, 2018). Specifičnom metodom smatra se ona metoda kojom se vrši određivanje jednog specifičnog analita. Selektivnom metodom smatra se ona metoda kojom se vrši određivanje više analita istovremeno. Pri određivanju selektivnosti metode potrebno je ispitati uticaj svih komponenata koje mogu dati isti analitički signal kao određivani analit. Određivanje specifičnosti izvodi se dodatkom potencijalnih ometajućih komponenata i utvrđivanjem da li interferencije daju analitički signal.

Selektivnost metode se može proceniti kvalitativno određivanjem indeksa selektivnosti: b_{an}/b_{int} , gde je b_{an} nagib kalibracione krive analita, a b_{int} nagib ometajuće komponente. b_{int} je parametar koji se približno određuje analizom slepe probe kojoj se dodaju potencijalno ometajuće supstance, u odsustvu analita (Thompson i saradnici, 2002). Kod hromatografskih metoda, procena selektivnosti vrši se poređenjem dobijenih hromatograma uzorka sa analitom i slepe probe,

poređenjem hromatograma uzorka koji ne sadrži interferencije i uzorka koji sadrži interferencije pri čemu je odustvo analitičkog signala u oblastima retencionih vremena analiziranih analita dokaz da je metoda selektivna.

Specifičnost metode može se proceniti dodavanjem interferencija u uzorak koji sadrži analit. Procenom prisustva/odsustva analitičkog signala može se utvrditi specifičnost metode. U slučaju hromatografskih metoda, specifičnost zavisi od količine (koncentracije) i može se odrediti za nizak sadržaj (koncentracija) kalibracionih standarda.

2.12.2 Linearnost

Linearnost analitičke metode definiše se kao sposobnost metode da se unutar radnog opsega koncentracije analita dobije linearna zavisnost signala od koncentracije analita. Opseg linearnosti u zavisnosti je od prirode analita i tipa detektora. Linearnost je sposobnost metode da se dobiju direktni rezultati, ili rezultati koje je moguće matematički transformisati tako da budu proporcionalni koncentraciji analita u datom opsegu koncentracija.

U analitičkoj laboratoriji linearnost se određuje merenjem odziva metode za različite unapred izabrane poznate koncentracije analita, standardne serije, konstruisanjem kalibracione prave. Linearnost je potrebno proceniti računski i grafički. Računski se može izvršiti primenom linearne regresije gde se za datu metodu izrazi jednačina prave zavisnosti analitičkog signala (y) od koncentracije analita (x): $y = ax + b$. Iz jednačine prave računa se koeficijent korelacije (r). Nagib prave (a) predstavlja osetljivost analitičke metode. Metoda je osetljivija ukoliko je vrednost nagiba veća jer se za manje promene koncentracije dobija veći signal, i obrnuto. Odsečak prave (b) pokazatelj je sistematske greške. Ukoliko je vrednost $b > 0$, na signal analita utiče matriks uzorka. Ako se efekat matriksa ukloni, a vrednost odsečka je i dalje veća od 0, metoda je opterećena sistematskom greškom. Ukoliko je $b < 0$ metoda je opterećena greškom instrumenta kojim je izvršeno merenje. Metoda nije opterećena greškom ukoliko je $b = 0$. Za koeficijent korelacije kriterijum iznosi: $r \geq 0,99$, a za niske koncentracije analita (analite prisutne u tragovima) je prihvatljiva vrednost $r \geq 0,98$.

Za konstruisanje kalibracione prave potrebno je snimiti zavisnost analitičkog signala za kalibracionu (standardnu) seriju analita. Za validaciju analitičke metode snima se najmanje šest ili više rastvora standardnih koncentracija u minimalno tri ponavljanja. Intervali koncentracija

standardnih rastvora treba da budu najmanje 80 a najviše 120 % od očekivane koncentracije analita u uzorku.

2.12.3 Radno područje analitičke metode

Radno područje metode predstavlja interval koncentracije određivanog jedinjenja i/ili smeše jedinjenja u uzorku u kome se analiza može izvršiti sa određenom preciznošću, tačnošću i linearnošću. Donja granica intervala je granica kvantifikacije, a gornja je koncentracija pri kojoj dolazi do značajnih odstupanja od linearnosti. U radnom području metode, instrument kojim se vrši analiza može pokazivati linearnu, kvadratnu ili logaritamsku zavisnost. Za definisanje radnog područja analitičke metode ne koriste se posebni eksperimenti jer se radno područje može odrediti na osnovu ispitivanja linearnosti, tačnosti i preciznosti metode.

2.12.4 Preciznost

Preciznost analitičke metode predstavlja parametar koji pokazuje slaganje rezultata na osnovu serije merenja istog uzorka izvedenih na isti način pod definisanim uslovima (Bharti Mittu i Chauhan, 2015; ISO, 2004). Eksperimenti preciznosti vrše se na homogenom autentičnom uzorku, dok se postupak merenja izvodi najmanje pet puta. Preciznost analitičke metode izražava se vrednostima standardne devijacije (S), vrednostima relativne standardne devijacije (RSD), i vrednostima varijanse S^2 :

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{Jednačina 1})$$

S - standardna devijacija

x_i – pojedinačna vrednost rezultata merenja analita

\bar{x} - srednja vrednost rezultata merenja

$$RSD (\%) = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \quad (\text{Jednačina 2})$$

RSD - relativna standardna devijacija

S - standardna devijacija

\bar{x} - srednja vrednost rezultata merenja

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad (\text{Jednačina 3})$$

S^2 - varijansa

x_i - pojedinačni vrednost rezultata merenja analita

n - broj merenja

\bar{x} - srednja vrednost rezultata merenja

Preciznost analitičke metode izražava se kao:

- **standardna devijacija ponovljivosti** – predstavlja način izražavanja preciznosti merenja gde dolazi do poklapanja rezultata merenja istog uzorka, istom metodom, od strane istog analitičara u istoj laboratoriji na istom instrumentu u kratkom vremenskom intervalu.
- **standardna devijacija reproduktivnosti** – predstavlja način izražavanja preciznosti u uslovima reproduktivnosti gde dolazi do poklapanja rezultata uzastopnih merenja istog uzorka, istom metodom, od strane drugog analitičara u drugoj laboratoriji na drugoj opremi u dugotrajnom vremenskom periodu;
- **srednje mere preciznosti** – predstavlja način izražavanja preciznosti metode pod promenljivim uslovima gde se merenje istog uzorka, istom metodom u istoj laboratoriji vrši na različitoj opremi od strane drugog analitičara u srednje dugom vremenskom intervalu.

2.12.5 Tačnost (efikasnost)

Tačnost analitičke metode odnosi se na stepen saglasnosti između vrednosti dobijene analitičkom procedurom za određen broj ponavljanja i stvarne vrednosti (ISO, 1994). Tačnost analitičke metode se određuje (Raposo i Ibeli Bianco, 2020):

- Analizom uzorka tačno poznate koncentracije (upotreba sertifikovanog referentnog materijala);
- Upoređivanjem rezultata određivanja sa alternativnom i pouzdanom analitičkom metodom;
- Spajkovanjem/dodavanjem tačno poznate koncentracije u matriks uzorka koji ne sadrži određivani analit/e; i

- Metodom standardnog dodatka.

Tačnost analitičke metode zavisi od načina pripreme uzoraka, koncentracije određivanih analita u uzorku i od matriksa uzorka. Određivanje tačnosti analitičke metode vrši se u najmanje devet merenja (minimalno tri koncentracije i minimalno tri ponavljanja), a računa se kao (ICH, 2005):

$$efikasnost (\%) = \frac{signal (uzorak + dodatak)}{signal (dodatak)} * 100 \quad (Jednačina 4)$$

2.12.6 Granica detekcije

Granica detekcije (eng. Limit of Detection - LOD) analitičke procedure predstavlja najnižu koncentraciju analita koja se može detektovati u uzorku, ali ne i kvantitativno odrediti. Određivanje ovog parametra je važno prilikom analize analita prisutnog u tragovima.

Postoji nekoliko pristupa određivanju LOD:

- Vizuelno – granica detekcije se određuje određivanjem analita tačno poznate koncentracije utvrđivanjem minimalnog nivoa na kojem se analit može pozdano detektovati (važi za neinstrumentalne i instrumentalne metode);
- Na osnovu odnosa signal/šum bazne linije (S/N) – za granicu detekcije se uzima vrednost koncentracija koje daju $S/N = 3/1$ ili $S/N = 2/1$ (primenjuje se kod metoda gde postoji bazna linija); i
- Na osnovu standardne devijacije (S) – granica detekcije se određuje izračunavanjem odnosa standardne devijacije i nagiba kalibracione prave (a) prema formuli:

$$LOD = \frac{3,3 S}{a} \quad (Jednačina 5)$$

S – standardna devijacija dobijena izračunavanjem na osnovu meranja serije slepih proba

a - nagib kalibracione prave

2.12.7 Granica kvantifikacije

Granica kvantifikacije ili limit kvantifikacije (eng. Limit of Quantification, LOQ) definiše se kao najmanja količina analita u analiziranom uzorku koju je moguće kvantitativno odrediti sa prihvatljivom tačnošću i preciznošću pod definisanim uslovima analitičke metode. LOQ se određuje:

- Vizuelno - granica kvantifikacije određuje se određivanjem analita poznate koncentracije i utvrđivanjem minimalnog nivoa na kojem se analit može pouzdano kvantifikovati;
- Upotrebom odnosa S/N - za granicu kvantifikacije uzima se odnos S/N = 10/1; i
- Iz standardne devijacije (S): granica kvantifikacije se određuje iz odnosa S i nagiba kalibracione prave (a) prema formuli:

$$LOQ = \frac{10S}{a} \quad (\text{Jednačina 6})$$

S - standardna devijacija dobijena izračunavanjem na osnovu merenja serije slepih proba

a - nagib kalibracione prave

2.12.8 Robustnost

Robustnost analitičke metode predstavlja sposobnost analitičke metode da zadrži svoje karakteristike pri namernim malim varijacijama u proceduralnim postupcima navedenim u validacionoj dokumentaciji. Kod hromatografskih metoda, primeri varijacija u proceduri uključuju uticaj promene pH vrednosti mobilne faze, promene u sastavu mobilne faze, promena kolone, temperature ili pritska. Ukoliko promena ekperimentalnih uslova ne utiče značajno na rezultate merenja, metoda je u području robustnosti. (Gupta, 2015). Definisanjem varijabli koje značajno utiču na rezultate potrebno je takve varijable strogo kontrolisati pri izvođenju eksperimenata sa validovanim metodama.

2.12.9 Efekat matriksa

Efekat matriksa definiše se kao efekat komponenata sadržanih u uzorku koje mogu ometati određivanje analita. Efekat matriksa može uticati na preciznost određivanja, promenu retencionog

vremena analita ili na povećanje bazne linije. Odabir metode pripreme uzorka u cilju smanjenja efekta matriksa uslovljen je vrstom uzorka. Ukoliko se kao metoda pripreme uzorka primenjuje ekstrakcioni postupak može doći ko-ekstrakcije nečistoća prisutnih u uzorku koje se kod hromatografskih određivanja eluiraju zajedno sa analitom. Pri tome, do pozitivnog efekta matriksa dolazi kada se analitički signal povećava ili u situaciji da dolazi do supresije analitičkog signala javlja se negativan efekta matriksa. Da bi se efekat matriksa izbegao u postupcima pripreme uzoraka neophodno je uvesti korak prečišćavanja dobijenog ekstrakta. Smanjenje efekta matriksa kod hromatografskih određivanja postiže se dodatkom unutrašnjih standarda, kalibracijom u matriksu, uvođenjem faktora korekcije kalibracije i dodavanjem hemijskih jedinjenja koja imaju ulogu protektanta analita od interesa (Zhou i Wang, 2017; Sousa i saradnici, 2012).

2.12.10 Merna nesigurnost

Merna nesigurnost se definiše kao validacioni parametar povezan sa rezultatima određivanja (Thompson i saradnici, 2002) i predstavlja kvantitativan podatak pouzdanosti validovane metode koji pruža podatke pri proceni izbora validovane metode za analizu ili za poređenje rezultata određivanja dobijenih drugim validovanim metodama u različitim laboratorijama i na različitim instrumentima. Mernom nesigurnošću određen je interval u kome se merene vrednosti nalaze sa određenom verovatnoćom. Do nesigurnosti merenja dolazi kada izvor greške nije poznat ili je nemoguće jednoznačno odrediti izvor greške pri merenju, ukoliko ih ima više.

Za izažavanje vrednosti merne nesigurnosti koriste se standardna merna nesigurnost (u) i proširena merna nesigurnost (U). Pojedinačna standardna nesigurnost merenja računa se osnovu standardne devijacije za merenja u minimalno 3 ponavljanja.

Standardna merna nesigurnost se računa kao: (Thompson i saradnici, 2002).

$$u[y(x_1, x_2, \dots)] = \sqrt{\sum_{i=1,n} c_i^2 u(x_i)^2} \quad (\text{Jednačina 7})$$

$y(x_1, x_2, \dots)$ -funkcija nekoliko nezavisnih varijabli x_1, x_2, \dots

c_i -koeficijent osetljivosti

$u(x_i)$ -standardna merna nesigurnost merenja izražena preko standardne devijacije.

$u[y(x_1, x_2, \dots)]$ –funkcija nekoliko zasebno procenjenih nesigurnosti naziva se kombinovana standardna nesigurnost merenja i proširena merna nesigurnost.

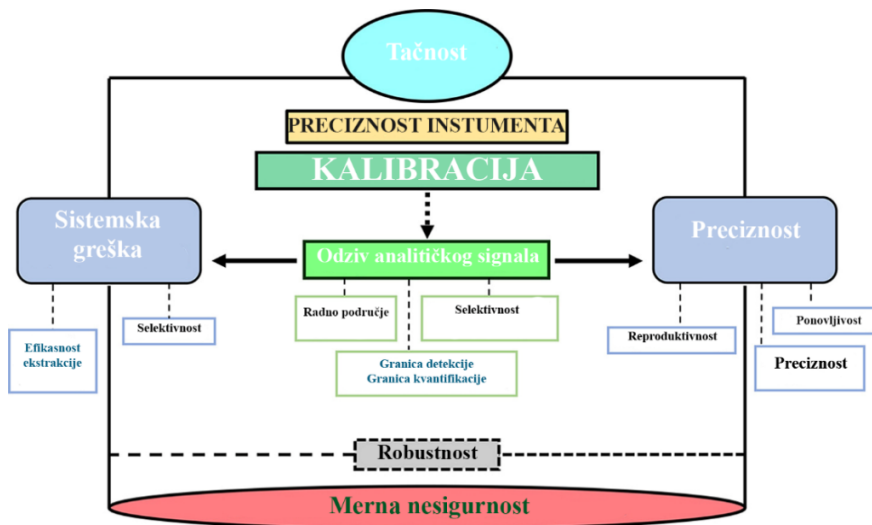
Proširena merna nesigurnost računa se kao:

$$U = ku_c \quad (\text{Jednačina 8})$$

Nakon određivanja standardne nesigurnosti, kombinovana merna nesigurnost dobija se množenjem standardne nesigurnosti faktorom pokrivenosti (eng. coverage factor, k), pri čemu se za k najčešće uzima vrednost 2. Kombinovana merna nesigurnost naziva se još i proširena merna nesigurnost i obično se procenjuje za nivo poverenja 95% (Janska i saradnici, 2006).

2.12.11. Međusobna zavisnost parametara validacije

Cilj svakog analitičkog merenja je dobijanje konzistentnih, pouzdanih i tačnih podataka. Dobro definisan i dokumentovan proces validacije dokazi su da je analitička metoda pogodna za primenu. Validacija analitičke metode je obavezan korak koji se koristi za procenu karakteristika razvijenih novih metoda. Parametri validacije međusobno su povezani i uslovljeni su preciznošću instrumenta, odzivom analitičkog signala i kalibracijom (slika 19).



Slika 19. Zavisnost validacionih parametara (Raposo i Ibelli-Bianco, 2020)

Eksperimentalni deo

3 Eksperimentalni deo

3.1 Hemikalije i reagensi

U tabeli 10 prikazane su upotrebljavane hemikalije i reagensi.

Tabela 10. Hemikalije i reagensi

Hemikalija	Dobavljač
Heksan (HPLC čistoća)	
Acetonitril (HPLC čistoća)	Sigma Aldrich
HCl (ICP čistoća)	
PAU miks (ampula u acetonitrilu 1 µg /mL svakog PAH – a pojedinačno) koji sadrži: naftalen, acenaftilen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo[a]antracen, hrizen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren, indeno[1,2,3-c,d]piren, dibenzo[a,h]antracen, benzo[g,h,i]perilen)	Supelco, Bellefonte, Pennsylvania
Unutrašnji standardi: perilen d ₁₂ fenantren d ₁₀ acenaften d ₁₀	Supelco, Bellefonte, Pennsylvania
Surogat standardi 2-hlorfenol-3,4,5,6-d ₄ 2,4,6-tribromofenol 2-fluorobifenol	Supelco, Bellefonte, Pennsylvania
Dejonizovana voda specifične provodljivosti 0,05 µS cm ⁻¹	

3.2 Aparati i pribor

U toku eksperimentalnog rada korišćeni su sledeći aparati i pribori:

- Triple Quadrupole GC/MS system – Agilent 7000 Series;
- Centrifuga, Humax 14k, Srbija;
- Automatske pipete (Brand GMBH)
- Mikroekstrakcione tube sa koničnim dnom (Sigma corning ®)
- Magnetna mešalica i magnet (DLAB EcoStir)

3.3 Program eksperimentalnog rada

Program eksperimentalnog rada je obuhvatao:

- pripremu novih sorbenata;
- pripremu model uzoraka vode za disperzivnu mikroekstrakciju čvrstom fazom;
- primenu novih sorbenata za pripremu uzoraka vode za analizu primenom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom;
- Optimizaciju i validaciju metode gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom za određivanje 16 prioriternih PAU u uzorcima voda
- Kvantifikaciju PAU metodom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom u model uzorcima voda;
- Pripremu uzoraka rečne vode disperzivnim mikroekstrakcionim postupkom čvrstom fazom uz primenu sorbenata koji su u validacionim eksperimentima pokazali najbolje analitičke parametre i analiza primenom GC-MS

3.4 Priprema novih sorbenata

Sorbenti korišćeni za ekstrakciju PAU iz model i realnih uzoraka vode odabrani su u zavisnosti od prirode analita i uzorka. Za potrebe ovog istraživanja korišćen je prirodni zeolit, klinoptilolit sa preko 90 % sadržaja klinoptilolita nabavljen iz rudnika Zlatikop, Vranje, Srbija.

Termički modifikovan prirodni zeolit, (sa sadržajem klinoptilolita preko 90 %) pripremljen je tako što je zeolitni materijal veličine čestica 0,063 – 0,1 mm ispiran dejonizovanom vodom. Nakon ispiranja i sušenja na 120 °C, klinoptilolitni materijal modifikovan je termički na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600, i 700 °C i trajanju od 3h.

Kiselinsko - termički modifikovan prirodni zeolit, klinoptilolit pripremljen je tako što je klinoptilolitni materijal najpre ispran dejonizovanom vodom u cilju uklanjanja u vodi rastvorenih nečistoća. Nakon ispiranja, klinoptilolit je osušen na temperaturi od 120 °C. Kiselinsko - termičke modifikacije pripremljene su tako što je 5 g klinoptilolita tretirano sa 500 mL hlorovodonične kiseline (0,01, 0,1, 1, 1,5, 3 i 6 mol L⁻¹) u trajanju od 30 min uz konstantno mešanje na magnetnoj mešalici na sobnoj temperaturi, a potom je klinoptilolit proceden i ispiran dejonizovanom vodom do negativne reakcije na hloride. Nakon uklanjanja hloridnih jona i postizanja neutralne sredine

klinoptilolit je termički tretiran na temperaturama 120, 300, 400, 500 , 600 i 700 °C u trajanju od 3 h.

U tabeli 11 prikazani su načini pripreme svake od modifikacija i njihove oznake.

Tabela 11. Načini pripreme modifikacija i njihove oznake

Oznaka modifikacije	Koncentracija HCl (mol · L ⁻¹)	Zapremina HCl (mL)	Količina klinoptilolita (g)	Vreme mešanja (h)	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Temperatura termičkog tretmana (°C)	Oznaka modifikacije	Vreme termičkog tretmana (h)
A	/	/	5	/	120	A1	300	A2	400	A3	500	A4	600	A5	700	A6	3
B	0,01	500	5	3	120	B1	300	B2	400	B3	500	B4	600	B5	700	B6	3
C	0,1	500	5	3	120	C1	300	C2	400	C3	500	C4	600	C5	700	C6	3
D	1	500	5	3	120	D1	300	D2	400	D3	500	D4	600	D5	700	D6	3
E	1,5	500	5	3	120	E1	300	E2	400	E3	500	E4	600	E5	700	E6	3
F	3	500	5	3	120	F1	300	F2	400	F3	500	F4	600	F5	700	F6	3
G	6	500	5	3	120	G1	300	G2	400	G3	500	G4	600	G5	700	G6	3

3.5 Priprema standardnih rastvora policikličnih aromatičnih ugljovodonika

Za pripremu serije standardnih rastvora PAU različitih koncentracija korišćen je standardni rastvor smeše PAU u acetonitrilu, koji sadrži 16 prioriternih PAU (naftalen, acenaftilen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo[a]antracen, hrizen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[a]piren, indeno[1,2,3-c,d]piren, dibenzo[a,h]antracen i benzo[g,h,i]perilen) u ukupnoj koncentraciji $16 \mu\text{g mL}^{-1}$. Svi standardni i radni rastvori čuvani su na 4°C u bočicama od tamnog stakla sa teflonskim zatvaračima do početka eksperimenata. Rastvor smeše unutrašnjih standarda acenaftena d_{10} , fenantrena d_{10} i perilena d_{12} pripremljen je u dihlormetanu i ukupna koncentracija rastvora unutrašnjih standarda iznosila je $30 \mu\text{g mL}^{-1}$. Rastvor surogat standarda 2-hlorfenola-3,4,5,6- d_4 , 2,4,6-tribromofenola i 2-fluorobifenola pripremljen je u acetonitrilu i ukupna koncentracija rastvora surogat standarda je bila $30 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Kalibracione prave analiziranih 16 PAU konstruisane su snimanjem serije standardnih rastvora odmeravanjem standardnog rastvora koji sadrži 16 PAU (pojedinačne koncentracije svakog od PAU u ovom rastvoru iznosile su $1 \mu\text{g mL}^{-1}$) i dodatkom rastvarača n-heksana do određene zapremine. U svaku vijalu dodato je po $100 \mu\text{L}$ rastvora unutrašnjeg standard i $100 \mu\text{L}$ rastvora surogat standarda. Sva merenja su rađena u tri ponavljanja. U tabeli 12. prikazani su postupci pripreme serije standardnih rastvora i koncentracije pojedinačnih i ukupnih PAU koji su korišćeni za konstruisanje kalibracionih pravih.

Tabela 12. Odmerene zapremine standardnog rastvora PAU i n-heksana; pojedinačna i ukupna koncentracija PAU

Redni broj kalibracionog standarda	Zapremina rastvora 16 PAU [μL]	Zapremina rastvarača n-heksana [μL]	Pojedinačna koncentracija PAU u vijali [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Ukupna koncentracija PAU u vijali [$\mu\text{g mL}^{-1}$]
0	0	400	0	0
1	1,25	398,75	0,0021	0,0336
2	2,5	397,5	0,0042	0,0672
3	12,5	387,5	0,0208	0,3328
4	25	375	0,0417	0,6672
5	50	350	0,0833	1,3328
6	75	325	0,1250	2
7	100	300	0,1667	2,6672
8	125	275	0,2083	3,3328

3.6 Priprema model uzoraka voda

Za pripremu model uzoraka vode korišćena je dejonizovana voda. U dejonizovanu vodu zapremine 400 μL i specifične provodljivosti 0,05 $\mu\text{S cm}^{-1}$ dodavan je standardni rastvor koji sadrži 16 PAU – postupak poznat kao spajkovanje. Model uzorci su pripremani dodavanjem različitih količina PAU, tako da je ukupna koncentracija PAU bila 0,5, 1,5 i 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Model uzorcima vode dodavano je 100 μL rastvora smeše surogat standarda koji sadrži 2-hlorfenol-3,4,5,6- d_4 , 2,4,6-tribromofenol i 2-fluorobifenol. Ukupna koncentracija smeše surogat standardnog rastvora u model uzorku bila je 6 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Slepe probe pripremljene su na isti način, ali bez dodavanja rastvora smeše PAU.

3.7 Prikupljanje realnih uzoraka vode

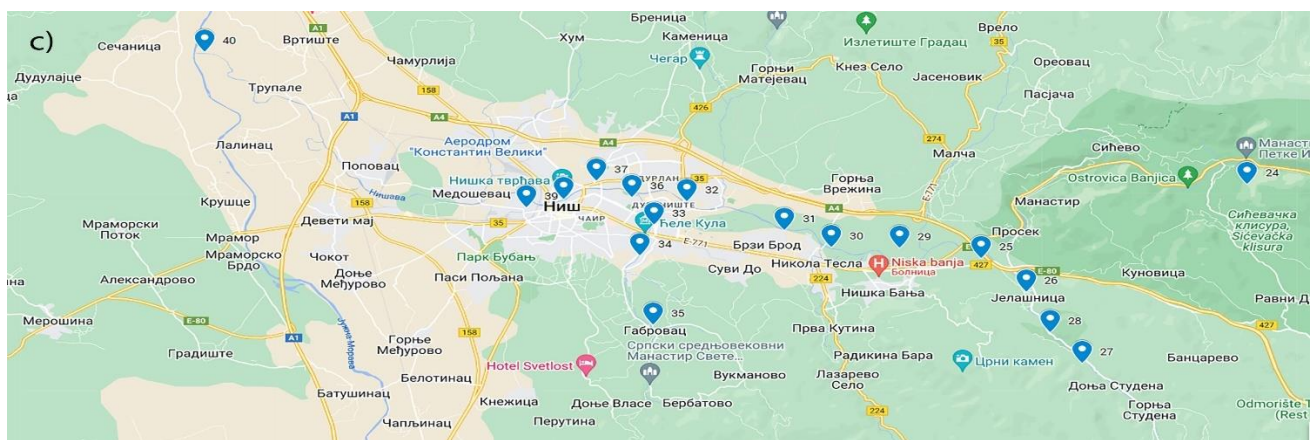
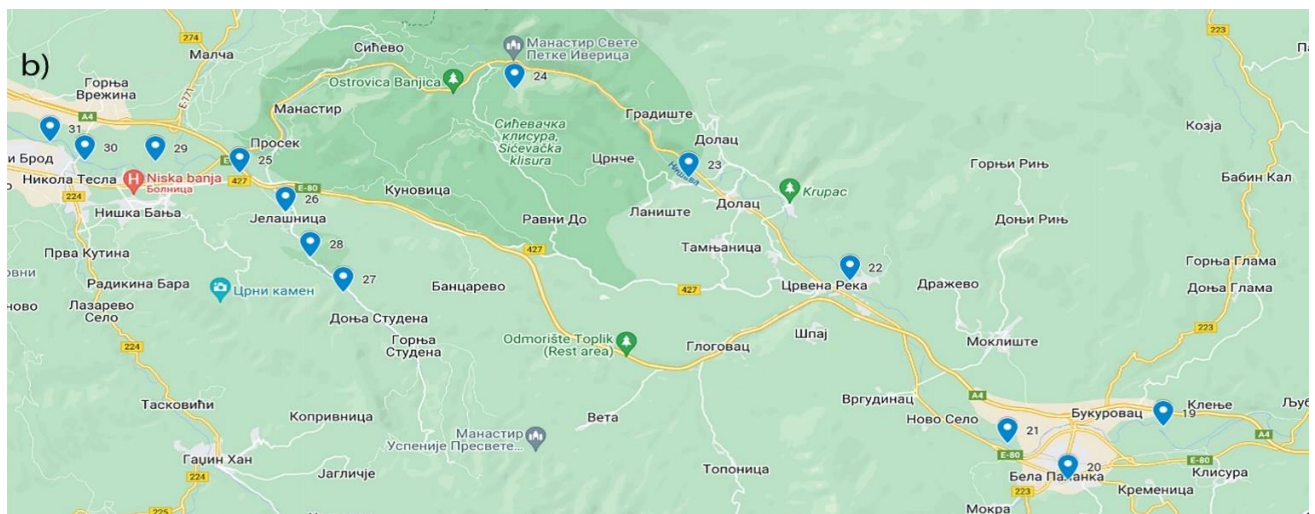
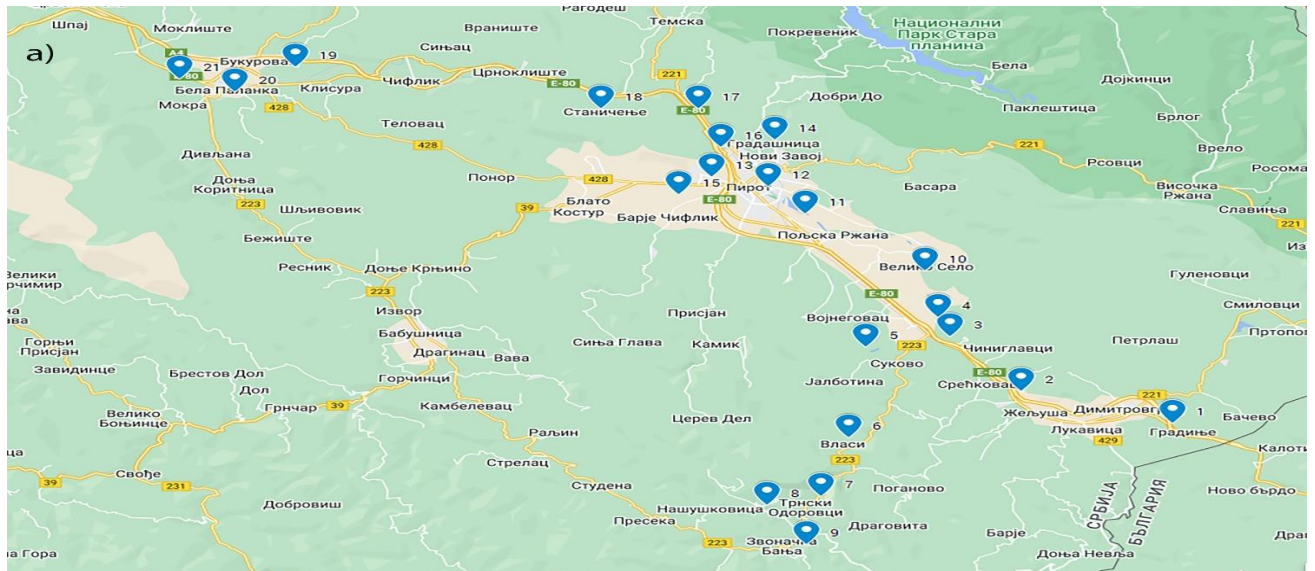
Realni uzorci - uzorci rečne vode prikupljeni su januara 2018. godine na teritoriji jugoistočne Srbije (slika 20) na teritoriji 4 opštine (Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka i Niš). Uzorci reke Nišave i njenih pritoka prikupljeni su na 40 lokacija. Detaljni opisi lokaliteta gde su prikupljeni uzorci prikazani su u tabeli 13. Lokaliteti uzorkovanja prikazani su na mapi (slika 21).



Slika 20. Mapa Srbije sa označenim regionom uzorkovanja

Tabela 13. Opis mesta uzorkovanja

Lokalitet	Opis mesta uzorkovanja
1	Nišava na ulazu u Dimitrovgrad
2	Nišava na izlazu iz Dimitrovgrada
3	Nišava pre ušća reke Jerme
4	Nišava posle ušća reke Jerme
5	Jerma u selu Sukovu
6	Jerma kod Sukovskog manastira
7	Jerma u Trnskim Odorovcima
8	Kusovranska reka 1 km uzvodno od ušća u Jermu
9	Reka Blatasnica kod sela Zvonce
10	Nišava na ulazu u Pirot
11	Nišava kod železničkog mosta u Pirotu
12	Nišava pre ušća Gradašničke reke u Nišavu
13	Nišava posle ušća Gradašničke reke u Nišavu
14	Gradašnička reka iznad Gradašnice
15	Kosturska reka na izlazu iz Pirotu
16	Nišava kod fabrike „Tigar“ u blizini autoputa
17	Nišava kod Žukova
18	Nišava pre ušća reke Temštice
19	Nišava na ulazu u Belu Palanku pre ušća Vrelske reke
20	Nišava posle ušća Vrelske reke kod autobuske stanice Bela Palanka
21	Nišava na izlazu iz Bele Palanke
22	Nišava pre ušća Crvene reke u blizini autoputa
23	Nišava na ulazu u Sićevačku klisuru u blizini kamenoloma
24	Nišava u Sićevačkoj klisuri kod brane Ostrovica
25	Nišava pre ušća reke Studene kod Jelašnice
26	Reka Studena na izlazu iz Jelašnice
27	Reka Studena pre ulaza u selo Jelašnica
28	Kanjon reke Studene
29	Nišava kod Niške Banje
30	Nišava kod Brzog Broda pre ušća Kutinske reke
31	Nišava - Medijana posle ušća Kutinske reke
32	Nišava u Duvaništu
33	Gabrovačka reka kod mosta na Bulevaru Nemanjića
34	Gabrovačka reka kod mosta u blizini Prirodno-matematičkog fakulteta Niš
35	Gabrovačka reka u Gabrovcu
36	Nišava na opštini Medijana u blizini Toplane
37	Nišava kod fabrike „Niteks“
38	Nišava kod Tvrđavskog mosta
39	Nišava kod železnički mosta u Nišu
40	Nišava pre ušća u reku Južnu Moravu



Slika 21. Mapa lokaliteta sa kojih su prikupljeni realni uzorci vode iz reke Nišave i njenih pritoka:
 a) Dimitrovgrad i Pirot; b) Sićevačka klesura i Bela Palanka; c) Niš

3.8 Disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (D- μ -SPE) policikličnih aromatičnih ugljovodonika u vodi

Kao metoda za pripremu uzorka primenjena je disperzivna mikroekstrakcija čvrstom fazom (D- μ -SPE) gde je kao ekstraktant korišćen heksan, a kao disperzer smeša rastvarača acetonitril/voda (1:4 v/v). Odmeravano je po 400 μ L spajkovane dejonizovane vode (koja sadrži PAU u ukupnim koncentracijama 16 PAU od 0,5, 1,5 i 3 μ g mL⁻¹, i mešani surogat standardni rastvor u koncentraciji od 6 μ g mL⁻¹ po model uzorku) u mikroekstrakcione kivete koje sadrže ispitivane sorbente (460 mg). Nakon mućkanja (1 min) i centrifugiranja (6000 rpm) u trajanju od 5 min, voda je uklanjana pipetiranjem i dodavano je 500 μ L ekstraktanta i 100 μ L disperzera. Nakon mućkanja (5 min) i centrifugiranja (6000 rpm) u trajanju od 15 min, ekstrakti (400 μ L) su prebacivani u staklene vijale za GC i dodavano je po 100 μ L rastvora unutrašnjih standarda. Ekstrakti pripremljeni na ovakav način su analizirani gasno-hromatografskom metodom sa masenom spektrometrijom na aparatu Triple Quadrupole GC/MS system – Agilent 7000 Series. Svi eksperimenti rađeni su u tri ponavljanja.

3.9 GC-MS analiza

Snimanje je vršeno na aparatu Triple Quadrupole GC/MS system – Agilent 7000 Series, pod sledećim radnim uslovima (Stankov Jovanović i saradnici 2017):

- Triple Quadrupole GC/MS system - Agilent 7000 Series
- noseći gas - helijum
- temperatura 75 °C prvih 3 minuta a zatim linearno povećanje temperature od 6 °C min⁻¹ do temperature od 300 °C 10 minuta
- pritisak 15.44 psi
- protok gasa 3 mL min⁻¹
- kolona 5 % Fenil metal siloksan - HP-5MS (dimenzije kolone 30 m x 250 μ m x 0.25 μ m).

Snimanje je vršeno prvo u SCAN modu kako bi se odredila retenciona vremena analiziranih komponenti i odredili joni koji će se koristiti za kvantifikaciju (tabela 14). Snimanje je zatim vršeno u SIM modu u cilju kvantifikacije PAU. Za kvantifikaciju svakog pojedinačnog PAU korišćen je softver Mass hunter (Agilent Technologies, SAD).

Tabela 14. Retenciona vremena i odnos m/z kvantifikacionih jona pojedinačnih PAU

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]
Naftalen	11,16	128
Acenaftilen	16,08	152
Acenaften	17,07	152
Fluoren	19,96	165
Fenantren	23,28	178
Antracen	23,65	178
Fluoranten	27,74	202
Piren	28,51	202
Hrizen	33,20	228
Benzo[a]antracen	33,53	228
Benzo[b]fluoranten	37,19	252
Benzo[k]fluoranten	37,29	252
Benzo[a]piren	38,24	252
Indeno[1,2,3-cd]piren	41,75	277
Dibenzo[a,h]antracen	41,79	278
Benzo[g,h,i]perilen	42,40	276

Rezultati i diskusija

4 Rezultati i diskusija

4.1 Optimizacija i validacija disperzivne mikro-ekstrakcije čvrstom fazu

Disperzivna mikro-ekstrakcija čvrstom fazom (D- μ -SPE) policikličnih aromatičnih ugljovodonika iz uzoraka vode zasnovana je na tehnici pripreme uzoraka vode koju su opisali Nuhu i saradnici (2012). D- μ -SPE kao novi tip mikro-ekstrakcije koristi se za koncentrovanje, prečišćavanje i mikro-ekstrakciju analita iz uzoraka vode. Kod ove tehnike pripreme uzoraka, modifikacija klinoptilolita se nalazi u rastvoru uzorka i može se dodati pre ili nakon dodavanja uzorka, te se na taj način postupak koncentracije, prečišćavanja i desorpcije analita sa sorbenta sastoji samo iz mućkanja i centrifugiranja, što ovakvu tehniku pripreme uzoraka vode za analizu PAU odlikuje brzinom, jednostavnošću, robustnošću, ekonomičnošću i sigurnošću.

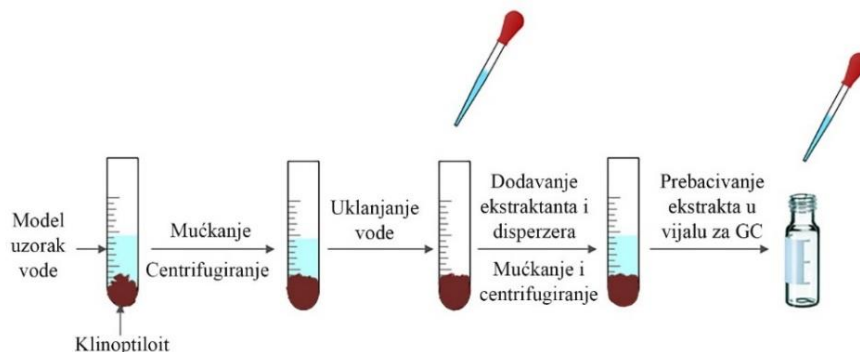
Kao sorbent je primenjivan termički i kiselinsko-termički tretiran prirodni zeolit, sa preko 90% klinoptilolita. Oznake svake od modifikacija su prikazane u tabeli 11.

Ispitivanje načina pripreme sorbenta klinoptilolita na mogućnost primene modifikacija za D- μ -SPE PAU iz vode izvršeno je iz sledećih razloga (Ćirić i saradnici, 2018; Margeta i saradnici, 2013; Vasylechko i saradnici, 2015; Wang i Peng, 2010; Christidis i saradnici, 2003; Wang i saradnici, 2012; Beyer, 2002; Matijašević i saradnici, 2009;):

- Na temperaturi od 300-500 °C klinoptilolit gubi najveću količinu vezane vode čime je omogućeno zadržavanje PAU u mikro-porama;
- Uticajem kiseline na klinoptilolit vrši se uklanjanje nečistoća iz mikro-pora i dekatjonizacija izmenljivih katjona i njihova zamena H⁺ jonima čime je zbog malih dimenzija H⁺ jona omogućena reverzibilna sorpcija PAU;
- Uticajem kiseline dolazi do dealuminacije strukture klinoptilolita što dovodi do otvaranja novih mikro-pora – dolazi do povećavanja mikro-poroznosti;
- Procesom dealuminacije povećavaju se hidrofobne karakteristike klinoptilolita čime je omogućeno reverzibilno vezivanje PAU.

Sve pripremljene modifikacije primenjene su u D- μ -SPE proceduri pripreme uzoraka vode spajkovane u tri različita nivoa koncentracija (0,5, 1,5 i 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Kao ekstraktant korišćen je n-heksan, kao disperzer smeša acetonitril/voda (1:4 v/v). Ekstrakti dobijeni D- μ -SPE tenikom

prebacivani su u GC vijale i dodavano im je po 200 μL unutrašnjeg standardnog miksa za kvantifikaciju primenom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom. Šema izvođenja D- μ -SPE procedure prikazana je na slici 22.



Slika 22. Šema disperzivne mikroekstrakcije čvrstom fazom za određivanje PAU uvodi upotrebom modifikacija klinoptilolita

Optimizacioni ekperimenti sastojali su se u testiranju 42 modifikacije klinoptilolita: 6 termičkih i 36 kiselinsko - termičkih. Termičke modifikacije dobijene su termičkom obradom klinoptilolita na temperaturama 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C. Kiselinsko - termičke modifikacije dobijene su modifikacijom klinoptilolita hlorovodoničnom kiselinom različitih koncentracija (0,01, 0,1, 1, 1,5, 3 i 6 mol L⁻¹) i termičkom obradom na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C. Na taj način dobijeno je 7 grupa modifikacija za koje je vršeno ispitivanje tačnosti procenom efikasnosti. Vrednosti efikasnosti koje se nalaze u intervalu od 70 – 130 % smatraju se analitički prihvatljivim (US EPA, 1996). Rezultati dobijeni ispitivanjem efikasnosti prikazani su tabelarno kao srednja vrednost efikasnosti \pm SD (tabele 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 i 29). Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanjem efikasnosti metode za 7 grupa modifikacija, sorbenti koji su pokazali najbolje vrednosti efikasnosti za 16 određivanih PAU korišćeni su za validacione eksperimente koji su podrazumevali određivanje linearnosti, preciznosti, merne nesigurnosti i granica detekcije i kvantifikacije. Rezultati validacije za sedam najboljih sorbenata prikazani su u tabelama 16, 18, 20, 22, 24, 26 i 28. Sve numeričke vrednosti u tabelama prikazane su prema referenci Taylor (1997).

Kalibracione prave za određivanje pojedinačnih PAU konstruisane su snimanjem serije standardnih rastvora različitih koncentracija. Linearnost metode prikazana je koeficijentom korelacije i jednačinom kalibracione prave za analizirana jedinjenja i određena je snimanjem serije standardnih rastvora gde su koncentracije PAU bile u opsegu od 2,1 do 208,3 $\mu\text{g L}^{-1}$. Kriterijum koeficijenta korelacije je $r \geq 0,99$, dok se za analizu jedinjenja prisutnih u tragovima toleriše vrednost $r \geq 0,98$.

Preciznost metode procenjena je studijom ponovljivosti i izražena je kao relativna standardna devijacija (RSD), koja je određena analizom jednog uzorka, istog dana i od strane istog analitičara pod identičnim uslovima pri čemu su sve analize vršene u tri ponavljanja (Stankov – Jovanović i saradnici, 2017). Postavljen kriterijum za RSD vrednosti je $< 20\%$ (Brito i saradnici, 2002).

Mernom nesigurnošću određen je interval u kome se merene vrednosti nalaze sa određenom verovatnoćom. Pojedinačna standardna nesigurnost merenja izračunata je na osnovu standardne devijacije za merenja izvedena u tri ponavljanja. Rezultati merne nesigurnosti izraženi su kao proširena merna nesigurnost koja se dobija množenjem standardne merne nesigurnosti i faktora pokrivenosti k . Za faktor pokrivenosti se najčešće uzima $k=2$ (Janska i saradnici, 2006). Kriterijum intervala proširene nesigurnosti je $\leq 50\%$ (Santos i saradnici, 2020).

Granica detekcije (LOD) izračunata je kao trostruka vrednost odnosa signal/šum za kalibracioni standard najniže koncentracije. Granica kvantifikacije (LOQ) izračunata je kao desetostruka vrednost odnos signal/šum kalibracionog standarda najniže koncentracije.

Na slikama 23, 24 i 25 prikazani su primeri GC - MS hromatograma ekstrakata dobijenih D- μ -SPE (snimljenih u SIM modu) tehnikom pripreme uzoraka vode spajkovane u tri različite koncentracije i primenom termičke modifikacije klinoptilolita tretiranog na temperaturi od 300 °C (A2 modifikacija). GC - MS hromatogrami ekstrakata (snimljenih u SIM modu) dobijenih D- μ -SPE tehnikom pripreme uzoraka vode spajkovane u tri različite koncentracije i primenom šest kiselinsko - termičkih modifikacija koje su u optimizacionim eksperimentima pokazale najbolje vrednosti efikasnosti (B1, C4, D1, E4, F3 i G4 modifikacije) prikazani su u prilogu (slike 26-31). Na hromatogramima ekstrakata snimljenih u SIM modu pod definisanim uslovima, postignuto je optimalno razdvajanje svih analiziranih jedinjenja, a u oblastima retencionih vremena u kojima se nalaze pikovi koji potiču od analiziranih komponenti nisu uočeni značajni šumovi.

4.1.1 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom termički modifikovanog klinoptilolita na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C

Rezultati dobijeni ispitivanjem efikasnosti disperzivne mikro-ekstrakcije čvrstom fazom i primenom termičkih modifikacija klinoptilolita prikazani su u tabeli 15.

Tabela 15. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC - MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE primenom klinoptilolita termički tretiranog na temperaturama od 120 °C (A1), 300 °C (A2), 400 °C (A3), 500 °C (A4), 600 °C (A5) i 700 (A6) °C kao sorbenta za tri nivoa spajkovanja

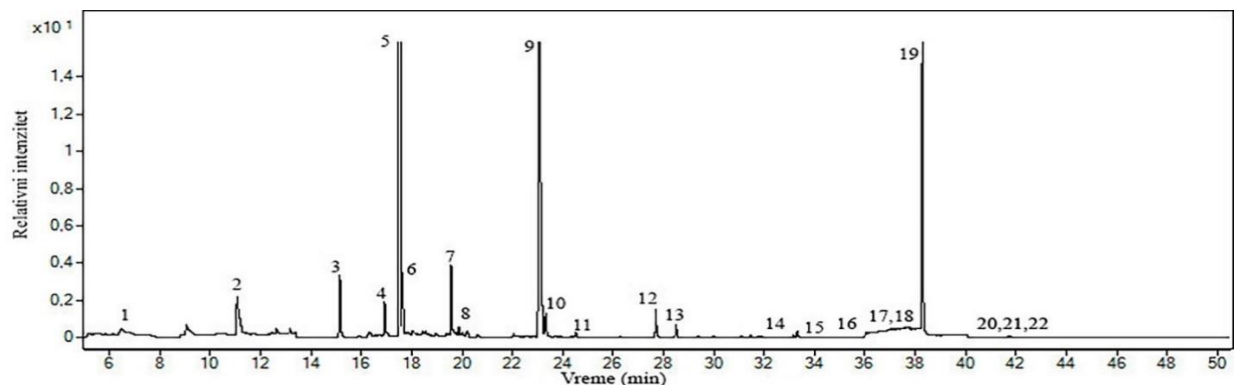
PAU	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	A1 [%]	A2 [%]	A3 [%]	A4 [%]	A5 [%]	A6 [%]
Naftalen	0,5	65 \pm 0	80 \pm 0	90,6 \pm 0,1	56,3 \pm 0,1	87,5 \pm 0,6	66,1 \pm 0,1
	1,5	89,8 \pm 0,3	88,5 \pm 0,8	84 \pm 0	75,0 \pm 0,5	74,0 \pm 0,5	72,1 \pm 0,2
	3	55,0 \pm 0,1	71,5 \pm 0,6	68,1 \pm 0,2	60,3 \pm 0,6	59,9 \pm 0,3	55,1 \pm 0,7
Acenaftilen	0,5	45,5 \pm 0,2	73,1 \pm 0,5	66,7 \pm 0,2	54,9 \pm 0,2	50,4 \pm 0,3	41,1 \pm 0,2
	1,5	65,9 \pm 0,1	93,3 \pm 0,3	81 \pm 1	74,9 \pm 0,7	54,0 \pm 0,5	45,3 \pm 0,5
	3	41,3 \pm 0,3	75,5 \pm 0,2	73,8 \pm 0,8	55 \pm 1	46 \pm 1	43 \pm 1
Acenaften	0,5	63,7 \pm 0,2	83,2 \pm 0,1	84 \pm 0,1	55,83 \pm 0,02	57,9 \pm 0,1	72,4 \pm 0,1
	1,5	87,7 \pm 0,3	88 \pm 1	85,6 \pm 0,4	83,5 \pm 0,2	76,2 \pm 0,4	57,9 \pm 0,1
	3	66,0 \pm 0,2	75,13 \pm 0,05	58 \pm 2	59,9 \pm 0,3	65,6 \pm 0,4	66,8 \pm 0,6
Fluoren	0,5	67,3 \pm 0,2	87,5 \pm 0,5	92,2 \pm 0,4	93,9 \pm 0,1	72,5 \pm 0,5	67,3 \pm 0,4
	1,5	97,1 \pm 0,2	88 \pm 1	86,1 \pm 0,4	85,0 \pm 0,4	82,7 \pm 0,7	57,2 \pm 0,4
	3	66,7 \pm 0,1	73,36 \pm 0,05	67,9 \pm 0,2	64,7 \pm 0,2	61,3 \pm 0,7	52 \pm 1
Fenantren	0,5	104,4 \pm 0,4	129,1 \pm 0,8	92,5 \pm 0,1	96,2 \pm 0,3	95,13 \pm 0,05	82,7 \pm 0,5
	1,5	106 \pm 2	86 \pm 2	85,5 \pm 0,1	89,8 \pm 0,4	94,0 \pm 0,4	73,1 \pm 0,4
	3	68,5 \pm 0,5	80,4 \pm 0,5	71,2 \pm 0,4	64,4 \pm 0,8	69 \pm 1	73 \pm 1
Antracen	0,5	43,7 \pm 0,3	70,8 \pm 0,3	67,1 \pm 0,2	47,5 \pm 0,1	52 \pm 1	52 \pm 1
	1,5	72,4 \pm 1,1	93,3 \pm 0,4	95 \pm 2	74,5 \pm 0,2	53,8 \pm 0,9	57,3 \pm 0,6
	3	47 \pm 1	101 \pm 2	99 \pm 3	73 \pm 1	78,8 \pm 0,3	65,5 \pm 0,3
Fluoranten	0,5	97,38 \pm 0,05	132,0 \pm 0,3	118,1 \pm 0,4	83,6 \pm 0,3	106,4 \pm 0,3	93,6 \pm 0,4
	1,5	100,5 \pm 0,2	116 \pm 1	108 \pm 1	131 \pm 1	122 \pm 1	66,7 \pm 0,8
	3	72 \pm 1	96 \pm 1	82 \pm 1	84 \pm 2	102 \pm 2	73,4 \pm 0,9
Piren	0,5	62,2 \pm 0,1	97,7 \pm 0,4	78,7 \pm 0,1	66,88 \pm 0,05	42,0 \pm 0,2	64,9 \pm 0,5
	1,5	88 \pm 1	66,9 \pm 0,9	86,1 \pm 0,4	81,4 \pm 0,4	60,54 \pm 0,03	49,8 \pm 0,6

PAU	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	A1 [%]	A2 [%]	A3 [%]	A4 [%]	A5 [%]	A6 [%]
	3	65,6 \pm 0,2	63,5 \pm 0,4	61,2 \pm 0,2	68 \pm 2	63 \pm 2	51 \pm 1
Hrizen	0,5	70,8 \pm 0,5	117,3 \pm 0,2	113,1 \pm 0,5	94,6 \pm 0,3	88,8 \pm 0,3	43,1 \pm 0,2
	1,5	74,2 \pm 0,8	89,84 \pm 0,08	88,1 \pm 0,4	78,8 \pm 0,4	71,9 \pm 0,3	42,4 \pm 0,3
	3	100,2 \pm 0,7	111,6 \pm 0,4	83,4 \pm 0,3	63,7 \pm 0,8	68,6 \pm 0,6	51,6 \pm 0,3
Benzo[a] antracen	0,5	48,29 \pm 0,07	77,47 \pm 0,05	87,6 \pm 0,1	64,9 \pm 0,1	54 \pm 0	51,9 \pm 0,2
	1,5	71,4 \pm 0,4	88 \pm 1	84,9 \pm 0,5	77,0 \pm 0,5	68,1 \pm 0,3	43,3 \pm 0,5
	3	61,3 \pm 0,1	103,5 \pm 0,1	84,7 \pm 0,6	74,7 \pm 0,2	67 \pm 1	60,6 \pm 0,3
Benzo[a] piren	0,5	56,6 \pm 0,3	77,9 \pm 0,1	105,7 \pm 0,2	64,4 \pm 0,1	57,9 \pm 0,1	67,1 \pm 0,6
	1,5	80,6 \pm 0,9	95,4 \pm 0,4	102,8 \pm 0,3	88,3 \pm 0,2	65,1 \pm 0,9	75,8 \pm 1,3
	3	58,3 \pm 0,7	96,3 \pm 0,8	100,8 \pm 0,4	92 \pm 2	86,4 \pm 1,2	108,3 \pm 0,3
Benzo[b] fluoranten	0,5	67,4 \pm 0,7	108,2 \pm 0,5	97,2 \pm 0,1	65,9 \pm 0,2	68,2 \pm 0,2	62,8 \pm 0,1
	1,5	77 \pm 1	117,2 \pm 0,9	112 \pm 1	92,7 \pm 0,1	86,1 \pm 0,1	70,2 \pm 0,4
	3	55,90 \pm 0,05	112,3 \pm 0,6	98,5 \pm 0,7	83 \pm 3	85,4 \pm 0,3	79 \pm 1
Benzo[k] fluoranten	0,5	88,9 \pm 0,6	129,8 \pm 0,3	116,3 \pm 0,3	90,5 \pm 0,3	89,9 \pm 0,4	101,7 \pm 0,5
	1,5	75,5 \pm 0,3	98,1 \pm 0,9	102,1 \pm 0,4	89,8 \pm 0,4	91,7 \pm 0,5	87 \pm 1
	3	74,6 \pm 0,1	86,8 \pm 0,4	86 \pm 0	62,6 \pm 0,5	62 \pm 1	78,5 \pm 0,5
Indeno [1,2,3-cd] piren	0,5	63,8 \pm 0,1	93,95 \pm 0,07	105,4 \pm 0,5	95,5 \pm 0,5	73,64 \pm 0,01	70,0 \pm 0,1
	1,5	65,6 \pm 0,3	87,6 \pm 0,2	117,4 \pm 0,4	69,6 \pm 0,4	59,9 \pm 0,3	84,5 \pm 0,1
	3	67 \pm 2	116 \pm 1	107,6 \pm 0,1	64,7 \pm 0,6	86 \pm 2	89,2 \pm 0,8
Dibenzo[a,h] antracen	0,5	91,5 \pm 0,3	119,1 \pm 0,2	95,8 \pm 0,1	111,3 \pm 0,1	94 \pm 1	129,5 \pm 0,5
	1,5	76,4 \pm 0,3	89,5 \pm 0,1	105,5 \pm 0,4	102,8 \pm 0,5	68,8 \pm 0,5	84,8 \pm 0,1
	3	63,6 \pm 0,5	91,7 \pm 0,7	88,8 \pm 0,2	101 \pm 1	70,4 \pm 0,2	117,70 \pm 0,1
Benzo[g,h,i] perilen	0,5	60,5 \pm 0,2	88,7 \pm 0,4	101,6 \pm 0,7	93,2 \pm 0,2	84,2 \pm 0,3	74,4 \pm 0,3
	1,5	64,7 \pm 0,1	104,4 \pm 0,2	91,7 \pm 0,7	94,2 \pm 0,4	80,3 \pm 0,8	83,3 \pm 0,4
	3	51,53 \pm 0,01	83 \pm 0	67,16 \pm 0,01	69,30 \pm 0,04	65 \pm 0	64,60 \pm 0,01

Poređenjem vrednosti efikasnosti za sve PAU i različite nivoe spajkovanja, dolazi se do zaključka da su modifikacije klinoptilolita pripremljene na temperaturama od 300 °C (A2) i 400 °C (A3) pokazale najbolje vrednosti efikasnosti. Termičkim tretmanom klinoptilolita do temperature od 300 °C ne dolazi do promene u strukturi, dok zagrevanjem klinoptilolita na temperaturama od 350-550 °C dolazi do delimičnog razaranja kristalne strukture (Vasylechko i saradnici, 2003). Termičkom obradom klinoptilolita u temperaturnom intervalu od 300-500 °C gubi se najveća količina vode (Vasylechko i saradnici, 2015) što dovodi do promene teksture i

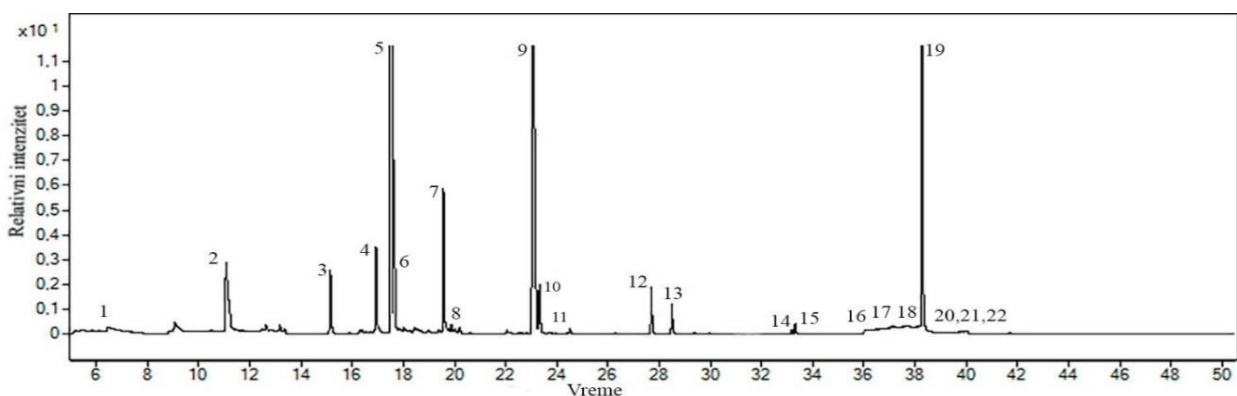
specifične površine i povećanja adsorpcione efikasnosti, odnosno mogućnosti vezivanja PAU za sorbent. Sa povećanjem temperature tretmana klinoptilolita na temperaturama većim od 400 °C povećava se stepen razaranja kristalne strukture klinoptilolita koji je termički stabilan do 800 °C (Sprynskyy i saradnici, 2010; Armbruster i saradnici, 2001). U slučaju primene modifikacija dobijenih termičkom obradom klinoptilolita na temperaturama većim od 400 °C zbog narušavanja kristalne strukture, vrednosti efikasnosti su niže od 70 % za neke PAU. Može se zaključiti da je obrada klinoptilolita na temperaturama od 300 i 400 °C (A2 i A3 modifikacije) optimalna za ekstrakciju PAU iz vode. S obzirom da je razlika u vrednostima efikasnosti za A2 i A3 modifikaciju zanemarljiva, za validacione eksperimente izabrana je modifikacija A2 koja je pripremljena termičkim tretmanom klinoptilolita na nižoj temperaturi (300 °C) iz ekonomskih razloga i postizanja boljih vrednosti efikasnosti lakih PAU u odnosu na primenu A3 modifikacije. Primenom A2 modifikacije kao sorbenta kod svih lakih PAU i svih teških PAU osim fluorantena pri nivou spajkovanja 0,5 µg mL⁻¹ (132,0±0,3 %) i pirena pri nivoima spajkovanja 1,5 i 3 µg mL⁻¹ (66,9±0,9 i 63,5±0,4 %) postignut je odgovarajući kriterijum efikasnosti. Vrednosti efikasnosti dobijene primenom ove modifikacije bile su u intervalu od 63,5±0,4 (piren) do 132,0±0,3 % (fluoranten). Dobijeni rezultati ispitivanjem efikasnosti u saglasnosti su sa rezultatima dobijenim od strane Nuhu i saradnika (2012) pri određivanju PAU u vodi D-µ-SPE-GC-FID metodom koji su u proceduri pripreme uzoraka koristili CaCO₃ kao sorbent.

Na slikama 23, 24 i 25 prikazani su GC – MS hromatogrami snimljeni u SIM modu ekstrakata dobijenih disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit termički modifikovan na temperaturi od 300 °C (modifikacija A2) za sva tri nivoa spajkovanja.



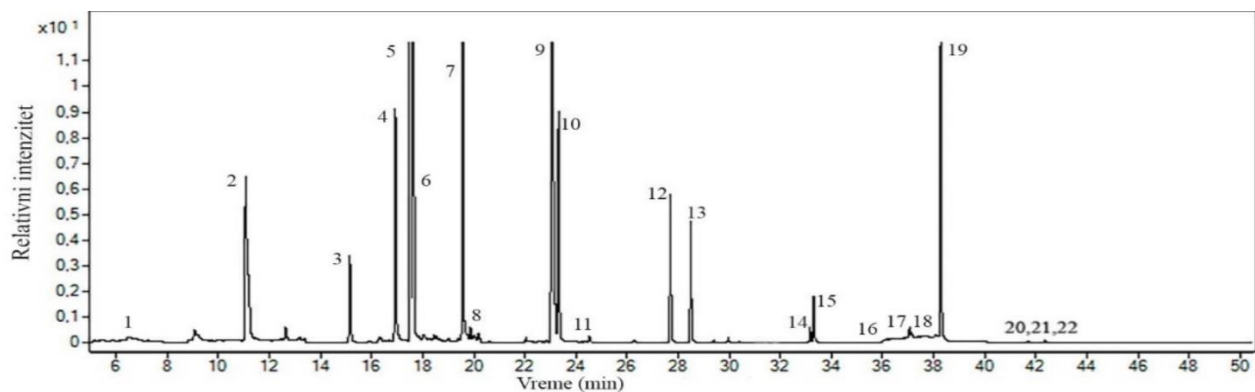
Slika 23. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom za nivo spajkovanja od $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan na $300 \text{ }^\circ\text{C}$ (modifikacija A2).

1. 2-hlorfenol-3,4,5,6- d_4 (surogat standard), 2. naftalen, 3. 2-fluorobifenol (surogat standard), 4. acenaftilen, 5. acenaften d_{10} (unutrašnji standard), 6. acenaften, 7. 2,4,6-tribromofenol (surogat standard), 8. fluoren, 9. fenantren d_{10} (unutrašnji standard), 10. fenantren, 11. antracen, 12. fluoranten, 13. piren, 14. hrizen, 15. benzo[a]antracen, 16. benzo[b]fluoranten, 17. benzo[k]fluoranten, 18. benzo[a]piren, 19. perilen d_{12} (unutrašnji standard), 20. indeno[1,2,3-cd] piren, 21. dibenzo[a,h]antracen, 22. benzo[g,h,i]perilen



Slika 24. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom za nivo spajkovanja od $1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan na $300 \text{ }^\circ\text{C}$ (modifikacija A2).

1. 2-hlorfenol-3,4,5,6- d_4 (surogat standard), 2. naftalen, 3. 2-fluorobifenol (surogat standard), 4. acenaftilen, 5. acenaften d_{10} (unutrašnji standard), 6. acenaften, 7. 2,4,6-tribromofenol (surogat standard), 8. fluoren, 9. fenantren d_{10} (unutrašnji standard), 10. fenantren, 11. antracen, 12. fluoranten, 13. piren, 14. hrizen, 15. benzo[a]antracen, 16. benzo[b]fluoranten, 17. benzo[k]fluoranten, 18. benzo[a]piren, 19. perilen d_{12} (unutrašnji standard), 20. indeno[1,2,3-cd] piren, 21. dibenzo[a,h]antracen, 22. benzo[g,h,i]perilen



Slika 25. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom za nivo spajkovanja od $3 \mu\text{g mL}^{-1}$ gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan na $300 \text{ }^\circ\text{C}$ (modifikacija A2):

1. 2-hlorfenol-3,4,5,6- d_4 (surogat standard), 2. naftalen, 3. 2-fluorobifenol (surogat standard), 4. acenaftilen, 5. acenaften d_{10} (unutrašnji standard), 6. acenaften, 7. 2,4,6-tribromofenol (surogat standard), 8. fluoren, 9. fenantren d_{10} (unutrašnji standard), 10. fenantren, 11. antracen, 12. fluoranten, 13. piren, 14. hrizen, 15. benzo[a]antracen, 16. benzo[b]fluoranten, 17. benzo[k]fluoranten, 18. benzo[a]piren, 19. perilen d_{12} (unutrašnji standard), 20. indeno[1,2,3-cd]piren, 21. dibenzo[a,h]antracen, 22. benzo[g,h,i]perilen

Pri datim uslovima snimanja postignuto je optimalno razdvajanje svih analiziranih komponenti. U oblastima retencionih vremena gde se nalaze pikovi analiziranih jedinjenja ne postoje šumovi.

Parametri validacije metode prikazani su u tabeli 16.

Tabela 16. Analitički parametri validacije D- μ -SPE – GC-MS analize prioriternih PAU u uzorcima vode, primenom termički modifikovanog klinoptilolita (300 °C) kao sorbenta

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]
Laki PAU	Naftalen	11,16	$y=11,39*x$	0,99	0,03	0,02	0,01	0,02
	Acenaftilen	16,08	$y=6,49*x$	0,98	6,49	0,59	0,26	0,78
	Acenaften	17,07	$y=7,99*x$	0,99	1,26	0,13	0,05	0,14
	Fluoren	19,96	$y=6,59*x$	0,98	5,68	0,61	0,27	0,81
	Fenantren	23,28	$y=3,95*x$	0,99	4,76	0,93	0,67	2,04
	Antracen	23,65	$y=2,30*x$	0,98	4,19	0,37	0,45	1,38
Teški PAU	Fluoranten	27,74	$y=1,07*x$	0,99	1,85	0,30	0,80	2,42
	Piren	28,51	$y=1,81*x$	0,98	3,46	0,42	0,66	2,00
	Hrizen	33,20	$y=0,82*x$	0,99	1,82	0,26	0,92	2,17
	Benzo[a]antracen	33,53	$y=1,19*x$	0,99	0,63	0,06	0,15	0,44
	Benzo[b]fluoranten	37,19	$y=1,33*x$	0,99	1,04	0,09	0,19	0,56
	Benzo[k]fluoranten	37,29	$y=0,71*x$	0,98	3,94	0,53	0,72	2,18
	Benzo[a]piren	38,24	$y=5,01*x$	0,97	2,09	0,33	0,19	0,58
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,75	$y=0,90*x$	0,97	0,69	0,08	0,25	0,76
	Dibenzo[a,h]antracen	41,79	$y=1,15*x$	0,99	1,88	0,28	0,69	2,10
	Benzo[g,h,i]perilen	42,40	$y=1,65*x$	0,99	3,90	0,43	0,74	2,24

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona;

Linearnost metode predstavljena je jednačinama kalibracionih pravih i koeficijentima korelacije čije su vrednosti bile u odgovarajućem intervalu za sve određivane PAU osim za benzo[a]piren i indeno[1,2,3-cd]piren ($r = 0,97$).

Preciznost metode bila je u saglasnosti sa odgovarajućim kriterijumom za preciznost analitičke metode. Dobijene RSD vrednosti u intervalu od 0,03 (naftalen) do 6,49 % (acenaftilen) u saglasnosti su sa RSD vrednostima dobijenim od strane Nuhu i saradnika (2012) pri određivanju PAU u vodi GC-MS metodom analize gde je kao tehnika pripreme uzoraka primenjena D- μ -SPE, a kao sorbent je korišćen CaCO_3 .

Merna nesigurnost izražena kao proširena merna nesigurnost bila je u granicama odgovarajućeg kriterijuma, a vrednosti proširene merne nesigurnosti bile su između 0,02 % (naftalen) i 0,93 % (fenantren).

Vrednosti granica detekcije bile su u opsegu od 0,01 (naftalen) do 0,92 $\mu\text{g L}^{-1}$ (hrizen). Granice kvantifikacije bile su u intervalu od 0,02 (naftalen) do 2,42 $\mu\text{g L}^{-1}$ (fluoranten). Dobijene

LOD i LOQ vrednosti u saglasnosti su sa rezultatima dobijenim od strane Abboud i saradnika (2018) za D- μ -SPE-GC-MS analizu PAU u vodi gde je kao sorbent korišćen kalcijum alginat.

4.1.2 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog klinoptilolita (0,01 mol L⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

Rezultati dobijeni ispitivanjem efikasnosti prikazani su u tabeli 17.

Tabela 17. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC - MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE gde su kao sorbenti primenjene modifikacije pripremljene tretmanom klinoptilolita 0,01 mol L⁻¹ HCl i na različitim temperaturama: 120 °C (B1), 300 °C (B2), 400 °C (B3), 500 °C (B4), 600 °C (B5) i 700 (B6) °C

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	B1 [%]	B2 [%]	B3 [%]	B4 [%]	B5 [%]	B6 [%]
Naftalen	0,5	106 \pm 3	88 \pm 7	86 \pm 3	82 \pm 13	82 \pm 3	89 \pm 4
	1,5	80 \pm 2	59 \pm 11	67 \pm 5	66 \pm 10	62,4 \pm 0,7	68 \pm 5
	3	85 \pm 1	80 \pm 2	67 \pm 2	61 \pm 2	58 \pm 7	74 \pm 4
Acenaftilen	0,5	95 \pm 7	76 \pm 6	87 \pm 10	84 \pm 8	90 \pm 6	102 \pm 9
	1,5	88 \pm 2	50 \pm 3	58 \pm 9	64 \pm 4	62,0 \pm 0,7	84,7 \pm 0,3
	3	86,9 \pm 0,5	80 \pm 6	54 \pm 1	70 \pm 3	79 \pm 3	69 \pm 6
Acenaften	0,5	114 \pm 3	117 \pm 8	111 \pm 8	98 \pm 9	79 \pm 8	104 \pm 2
	1,5	85 \pm 6	79 \pm 10	80 \pm 9	93 \pm 6	90 \pm 5	103 \pm 12
	3	119 \pm 7	84 \pm 4	84 \pm 3	89 \pm 4	73 \pm 4	95 \pm 1
Fluoren	0,5	102 \pm 1	113 \pm 1	112 \pm 11	117 \pm 6	123 \pm 7	129 \pm 4
	1,5	97 \pm 9	77 \pm 7	76 \pm 5	95 \pm 7	91 \pm 1	106 \pm 5
	3	129 \pm 1	80 \pm 3	94 \pm 10	111 \pm 3	79 \pm 7	98 \pm 9
Fenantren	0,5	109 \pm 8	80 \pm 4	80 \pm 7	75 \pm 9	71 \pm 5	76 \pm 2
	1,5	82 \pm 4	61 \pm 8	58 \pm 6	67 \pm 8	57 \pm 1	66 \pm 6
	3	113 \pm 2	67,5 \pm 0,8	82 \pm 8	108,1 \pm 0,5	76 \pm 7	85 \pm 3
Antracen	0,5	112 \pm 9	134 \pm 7	137 \pm 9	129 \pm 5	122 \pm 9	130 \pm 4
	1,5	106 \pm 7	88 \pm 7	88 \pm 1	113 \pm 4	98 \pm 1	114 \pm 7
	3	117,9 \pm 0,7	115 \pm 1	120 \pm 1	120 \pm 5	124 \pm 6	139 \pm 3
Fluoranten	0,5	121 \pm 2	91 \pm 4	94 \pm 3	104 \pm 8	94 \pm 6	106 \pm 1
	1,5	97 \pm 5	63 \pm 8	70 \pm 5	103 \pm 10	84 \pm 3	104 \pm 9
	3	101 \pm 8	88,6 \pm 0,2	90 \pm 4	101 \pm 2	83 \pm 7	94 \pm 2
Piren	0,5	106 \pm 5	83 \pm 4	89 \pm 8	97 \pm 6	88 \pm 7	99 \pm 2
	1,5	69 \pm 7	65 \pm 7	111 \pm 4	102 \pm 11	81,2 \pm 0,7	90 \pm 9

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	B1 [%]	B2 [%]	B3 [%]	B4 [%]	B5 [%]	B6 [%]
Hrizen	3	102±10	79±2	78±2	102±1	105±8	94±2
	0,5	105±10	86±2	89±1	106±5	69±5	87±6
	1,5	85±7	64±5	63±3	123±5	89±1	118±4
Benzo[a]antracen	3	119±4	104±3	94±2	124±10	90±6	84±4
	0,5	77±9	71±5	74±7	70±3	63±2	63±7
	1,5	56±8	56±8	57±3	70±2	50±1	83±5
Benzo[a]piren	3	80±8	50±4	58,4±0,8	59±5	57±10	61±11
	0,5	108±1	99±3	105±9	108±3	114±4	108±4
	1,5	101±8	104±1	102±7	95±7	101±2	102±11
Benzo[b]fluoranten	3	103±4	100±1	100±2	98,1±0,3	98±2	100±2
	0,5	102±5	90±6	91±7	95±7	92±6	83±6
	1,5	95±7	94±6	64±9	79,6±0,3	62±4	67±5
Benzo[k]fluoranten	3	96±12	105±10	95±5	58±5	56±11	81±3
	0,5	94±7	87±3	89±8	82±2	87±0	56±6
	1,5	92±3	91±3	82±5	66±1	58±3	52±10
Indeno [1,2,3-cd]piren	3	111±6	60±6	59±3	66±7	69±5	42±12
	0,5	115±2	111±4	94±3	104±8	94±6	106±1
	1,5	86±1	79±10	80±2	92±6	90±5	103±12
Dibenzo[a,h]antracen	3	112±1	80±3	94±4	111±3	79±7	88±9
	0,5	94±7	87±3	89±8	82±2	87±0	56±6
	1,5	95±7	94±6	54±9	79,6±0,3	62±4	57±5
Benzo[g,h,i]perilen	3	112±4	88,6±0,2	90±4	101±2	83±7	74±2
	0,5	92±6	85±2	92±1	87±5	82±3	91±5
	1,5	96±4	78±6	67±11	66±3	62,4±0,7	68±5
	3	95±1	84±4	84±3	89±3	73±4	91±7

Modifikacija klinoptilolita upotrebom HCl dovodi do uklanjanja nečistoća iz pora klinoptilolita pri čemu dolazi do dekatjonizacije izmenljivih katjona - dolazi do izmene metalnih katjona H^+ jonima iz kiseline i povećanja otvora kanala u klinoptilolitu - povećavanja specifične površine (Wang i Peng, 2010; Christidis i saradnici, 2003; Margeta i saradnici, 2013). Klinoptilolit se karakteriše kao materijal koji ima visoku stabilnost prema dejstvu jakih kiselina pri čemu zadržava silicijumsku strukturu. U reakciji klinoptilolita i HCl oslobađa se AlCl_3 (dealuminacija), a povećavaju se hidrofobne karakteristike, specifična površina i dolazi do povećavanja mikroporoznosti u strukturi što za rezultat ima reverzibilnu sorpciju PAU. Upotrebom niske koncentracije kiseline ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) i niske temperature obrade ($120 \text{ }^\circ\text{C}$) za pripremu sorbenta

dobijen je jeftin sorbent čijom primenom u D- μ -SPE pri analizi PAU iz vode se postižu najbolje vrednosti efikasnosti iz ove grupe sorbenata. Vrednosti efikasnosti primenom ove modifikacije bile su u saglasnosti sa odgovarajućim kriterijumom efikasnosti i u granicama od 56 ± 8 % (benzo[a]antracen) do 129 ± 1 % (fluoren). Ovakve vrednosti efikasnosti u saglasnosti su sa rezultatima Xia i saradnika (2018) za D- μ -SPE-HPLC-DAD metodu analize PAU i primeni Fe₃O₄ kao sorbenta za pripremu uzoraka voda. Na višim temperaturama obrade kiselinom modifikovanog klinoptilolita zabeležene su lošije vrednosti efikasnosti. Zbog svega navedenog, optimalna temperatura, kada se za pripremu sorbenta koristi 0,01 mol L⁻¹ HCl u reakciji sa klinoptilolitom je 120 °C - B1 modifikacija. Ova modifikacija korišćena je za dalje validacione eksperimente.

Analitički parametri validacije prikazani su u tabeli 18.

Tabela 18. Analitički parametri validacije D- μ -SPE – GC-MS analize PAU dobijenim analizom ekstrakata pripremljeni upotrebom sorbenta koji je pripremljen modifikacijom hlorovodoničnom kiselinom 0,01 mol L⁻¹ i termički tretiran na temperaturi od 120 °C (B1).

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione krive	r	RSD [%]	U [%]	LOD [μg L ⁻¹]	LOQ [μg L ⁻¹]	
Laki PAU	Naftalen	11,065	128	y=12,264*x	0,98	1,35	1,92	0,45	1,35
	Acenaftilen	16,926	152	y=7,207*x	0,98	2,14	2,30	0,91	2,76
	Acenaften	17,633	152	y=8,867*x	0,99	4,85	6,90	2,22	6,74
	Fluoren	19,565	165	y=7,318*x	0,98	8,28	9,97	3,89	11,79
	Fenantren	23,321	178	y=4,390*x	0,99	2,98	4,60	2,99	9,07
	Antracen	23,323	178	y=2,554*x	0,97	9,17	7,67	8,58	25,99
	Fluoranten	27,699	202	y=1,885*x	0,97	3,81	5,48	8,31	25,19
	Piren	28,502	202	y=2,007*x	0,98	6,09	8,03	11,43	34,63
	Hrizen	33,173	228	y=0,880*x	0,97	6,47	7,57	24,58	74,49
	Benzo[a]antracen	33,315	228	y=2,143*x	0,98	7,30	9,20	12,27	37,18
	Benzo[b]fluoranten	37,815	252	y=1,427*x	0,97	8,88	7,01	14,03	42,52
Teški PAU	Benzo[k]fluoranten	36,311	252	y=0,770*x	0,98	6,82	8,43	31,29	94,83
	Benzo[a]piren	38,281	252	y=5,728*x	0,98	3,38	3,83	1,91	5,80
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,586	277	y=1,004*x	0,97	9,82	9,82	27,95	84,71
	Dibenzo[a,h]antracen	41,746	278	y=1,295*x	0,96	6,40	8,43	18,61	56,41
	Benzo[g,h,i]perilen	42,335	276	y=1,761*x	0,97	4,98	4,98	8,09	24,51

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r – koeficijent korelacije

Koeficijenti korelacije, kao pokazatelji linearnosti, bili su u okviru postavljenog kriterijuma za većinu određivanih PAU. Koeficijenti korelacije koji su odstupali od zahtevanog kriterijuma su zabeleženi kod antracena, fluorantena, hrizena, benzo[b]fluorantena, indeno[1,2,3-cd]pirena i benzo[g,h,i]perilena (0,97) i dibenzo[a,h]antracena (0,96).

Vrednosti preciznosti merenja izražene kao RSD (%) bile su u opsegu 1,35 % (naftalen) do 9,82 % (indeno[1,2,3-cd]piren) i bile su odgovarajućem intervalu preciznosti. Dobijene RSD vrednosti slažu se sa rezultatima koje su dobili Xia i saradnici, 2018 pri analizi PAU iz vode D- μ -SPE -HPLC-DAD (upotrebom Fe₃O₄ kao sorbenta pri pripremi uzoraka vode).

Merna nesigurnost izražena proširenom mernom nesigurnošću bila je u opsegu od 1,92 % (naftalen) do 9,82 % (indeno[1,2,3-cd]piren). Sve vrednosti proširene merne nesigurnosti bile su u odgovarajućem intervalu.

Najniža granica detekcije zabeležena je za naftalen i iznosila je 0,45 $\mu\text{g L}^{-1}$, dok je najveća vrednost granice detekcije iznosila 27,95 $\mu\text{g L}^{-1}$ za indeno[1,2,3-cd]piren. Granice kvantifikacije bile su opsegu od 1,35 $\mu\text{g L}^{-1}$ za naftalen do 94,83 $\mu\text{g L}^{-1}$ za benzo[k]fluoranten. Vrednosti granica detekcije i kvantifikacije bile su veće u odnosu na dobijene vrednosti od strane Xia i saradnici, 2018 pri analizi PAU iz vode D- μ -SPE -HPLC-DAD (upotrebom Fe_3O_4 kao sorbenta pri pripremi uzoraka).

4.1.3 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC- MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog klinoptilolita (0,1 mol L⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

Optimizacija metode D- μ -SPE-GC-MS izvršena je primenom sorbenata pripremljenih modifikacijom klinoptilolita 0,1 mol L⁻¹ HCl i termički tretiranog na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C.

Razultati dobijeni procenom efikasnosti metode prikazani su u tabeli 19 kao srednja vrednost efikasnosti \pm SD.

Tabela 19. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC - MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE metode gde su primenjeni sorbenti bili klinoptilolitne modifikacije pripremljene modifikacijom klinoptilolita 0,1 mol L⁻¹ HCl i na različitim temperaturama: 120 °C (C1), 300 °C (C2), 400 °C (C3), 500 °C (C4), 600 °C (C5) i 700 °C (C6).

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	C1 [%]	C2 [%]	C3 [%]	C4 [%]	C5 [%]	C6 [%]
Naftalen	0,5	77 \pm 4	74 \pm 3	88 \pm 2	92 \pm 3	92 \pm 3	89 \pm 4
	1,5	68 \pm 3	59 \pm 1	57 \pm 1	66 \pm 3	62,4 \pm 0,7	68 \pm 3
	3	85 \pm 1	80 \pm 2	57 \pm 2	61 \pm 2	60 \pm 2	74 \pm 3
Acenaftilen	0,5	96 \pm 4	76 \pm 3	58 \pm 2	96 \pm 2	80 \pm 4	67 \pm 1
	1,5	88 \pm 2	60 \pm 3	48 \pm 3	64 \pm 3	62,1 \pm 0,7	84,7 \pm 0,3
	3	87,0 \pm 0,5	80 \pm 4	54 \pm 1	70 \pm 3	69 \pm 3	63 \pm 1
Acenaften	0,5	79 \pm 1	107 \pm 3	111 \pm 7	117,9 \pm 0,6	79 \pm 8	104 \pm 2
	1,5	76 \pm 8	79 \pm 2	80 \pm 5	92 \pm 1	90 \pm 5	103 \pm 1
	3	90 \pm 7	84 \pm 2	84 \pm 3	89 \pm 1	73 \pm 4	95 \pm 1
Fluoren	0,5	67 \pm 4	113 \pm 1	112 \pm 2	117 \pm 2	123 \pm 7	131 \pm 4
	1,5	80 \pm 4	77 \pm 3	76 \pm 4	95 \pm 2	91 \pm 1	106 \pm 4
	3	85 \pm 1	80 \pm 3	94 \pm 2	111 \pm 3	79 \pm 2	88 \pm 3

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	C1 [%]	C2 [%]	C3 [%]	C4 [%]	C5 [%]	C6 [%]
Fenantren	0,5	83±2	90±4	80±6	75±4	71±4	76±2
	1,5	58±5	61±2	59±6	67±3	57±1	66±5
	3	75±2	67,6±0,8	82±4	98,1±0,5	76±4	85±2
Antracen	0,5	75±1	57±2	92±5	129±4	122±2	129±4
	1,5	80±3	71±2	88±1	113±3	98±1	114±3
	3	99±6	86±1	120±2	99±1	89±1	115±3
Fluoranten	0,5	73±5	91±4	94±3	104±3	94±6	106±1
	1,5	93±1	68±3	60±2	103±1	84±3	103±2
	3	107±1	88,6±0,2	90±3	101±1	83±4	94±2
Piren	0,5	86±5	83±4	89±3	97±2	88±7	99±2
	1,5	64±2	69±2	96±2	102±1	81,2±0,7	90±3
	3	82±5	79±2	78±2	102±1	125±3	94±2
Hrizen	0,5	55±3	86±2	89±1	106±5	69±5	77±2
	1,5	63±4	64±3	63±3	122±5	89±1	71±4
	3	58±4	84±3	94±2	124±4	90±5	84±3
Benzo[a]antracen	0,5	77±2	71±2	60±2	69±3	63±2	63±7
	1,5	56±8	58±3	47±3	68±2	50±1	83±5
	3	80±3	61±2	44,4±0,8	64±4	57±2	61±1
Benzo[a]piren	0,5	75±5	99±2	105±3	108±3	114±4	80±5
	1,5	78±2	104±1	102±3	95±1	101±2	78±2
	3	80±2	100±1	100±2	98,1±0,3	98±2	100±2
Benzo[b]fluoranten	0,5	102±5	90±1	91±2	95±2	91±1	103±1
	1,5	95±3	94±2	63±3	79,6±0,3	62±3	57±3
	3	96±2	105±2	95±4	58±1	56±1	71±3
Benzo[k]fluoranten	0,5	94±7	87±3	89±8	82±2	72±3	56±6
	1,5	91±3	91±3	82±5	66±1	48±3	52±10
	3	99±3	60±4	59±3	66±3	49±3	42±12
Indeno [1,2,3-cd]piren	0,5	115±4	91±3	94±3	104±8	94±2	106±1
	1,5	76±1	79±1	80±2	92±6	90±5	103±2
	3	97±3	80±3	94±2	111±3	79±2	88±3
Benzo[g,h,i]perilen	0,5	65±4	87±3	89±3	82±2	87±1	56±6
	1,5	95±7	94±3	63±4	79,6±0,3	62±3	57±5
	3	100±7	88,6±0,2	90±3	101±2	83±3	74±2
Dibenzo[a,h]antracen	0,5	63±4	84±2	92±1	87±5	82±3	91±5
	1,5	96±4	78±5	67±1	66±3	62,4±0,7	68±5
	3	95±1	84±4	84±3	89±3	73±4	91±7

Ukoliko se poveća koncentracija primenjene HCl za modifikaciju klinoptilolita sa 0,01 na 0,1 mol L⁻¹, a temperature obrade ostanu nepromenjene, dobijaju se 6 novih sorbenata. Njihovom primenom u D- μ -SPE tehnici pripreme uzoraka spajkovane vode za GC - MS analizu PAU, određena je tačnost metode. Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se da je optimalna temperatura kiselinom modifikovanog klinoptilolita 500 °C (C4 modifikacija). Primenom ove modifikacije adekvatna efikasnost postignuta je za tri laka PAU (acenaften, fluoren i antracen) i šest teških PAU (fluoranten, piren, hrizen, benzo[a]piren, indeno[1,2,3-cd]piren i benzo[g,h,i]perilen). Vrednosti efikasnosti primenom ove modifikacije bile su u intervalu od 58 \pm 1 % (benzo[b]fluoranten) do 129 \pm 4 % (antracen). Dobijene vrednosti efikasnosti bile su niže u odnosu na rezultate dobijene od strane Nuhu i saradnika (2014) za D- μ -SPE - GC - FID analizu PAU iz uzoraka vode gde je kao sorbent korišćen CaCO₃.

Tabela 20. Analitički parametri validacije metode D- μ -SPE – GC-MS analize dobijenim analizom ekstrakata gde je pri pripemi uzoraka primenjen klinoptilolit modifikovan 0,1 mol L⁻¹ HCl i termički tretiran na temperaturi od 500 °C (C4 modifikacija)

PAU	Rt [min]	Kvanti fikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione krive	r	RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	
Laki PAU	Naftalen	11,056	128	$y=12,264*x$	0,98	2,35	3,35	0,78	2,36
	Acenaftilen	16,909	152	$y=7,208*x$	0,97	2,15	2,31	0,92	2,77
	Acenaften	17,617	152	$y=8,667*x$	0,99	0,49	0,69	0,23	0,69
	Fluoren	19,55	165	$y=7,224*x$	0,98	5,66	6,81	2,70	8,17
	Fenantren	23,201	178	$y=7,329*x$	0,99	6,73	10,39	4,05	12,28
	Antracen	23,307	178	$y=2,639*x$	0,99	6,44	5,66	6,13	18,56
	Fluoranten	27,687	202	$y=1,900*x$	0,98	6,42	9,24	13,89	42,10
Teški PAU	Piren	28,483	202	$y=1,970*x$	0,97	5,26	6,93	10,05	30,46
	Hrizen	33,302	228	$y=0,917*x$	0,99	4,93	5,77	17,99	54,51
	Benzo[a]antracen	33,452	228	$y=2,132*x$	0,98	2,75	3,46	4,64	14,07
	Benzo[b]fluoranten	37,124	252	$y=1,427*x$	0,96	4,39	3,46	6,94	21,02
	Benzo[k]fluoranten	37,724	252	$y=0,786*x$	0,99	6,54	8,08	29,40	89,08
	Benzo[a]piren	38,079	252	$y=5,494*x$	0,98	2,04	2,31	1,20	3,64
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,61	276	$y=0,981*x$	0,96	9,24	9,24	26,92	81,59
	Dibenzo[a,h]antracen	41,787	278	$y=1,284*x$	0,99	1,75	2,31	5,14	15,58
Benzo[g,h,i]perilen	42,381	276	$y=1,762*x$	0,97	5,66	5,66	9,18	27,81	

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r – koeficijent korelacije

Linearnost metode je izražena jednačinama kalibracionih pravih i koeficijentima korelacije (r). Koeficijenti korelacije bili su veći od 0,98 za većinu određivanih PAU osim za acenaftilen, piren, benzo[g,h,i]perilen (0,97) i benzo[b]fluoranten i indeno[1,2,3-cd]piren (0,96).

Preciznost metode koja je izražena RSD vrednostima bile su u saglasnosti sa odgovarajućim kriterijumom RSD vrednosti za analizu niskih koncentracija analita i bile su u opsegu od 0,49 % (acenaften) do 6,73 % (fenantren). Dobijene RSD u saglasnosti su sa rezultatima dobijenim od strane Nascimento i saradnika (2019) pri D- μ -SPE-GC-MS analizi PAU u vodi gde je kao sorbent korišćen C18.

Proširene merne nesigurnosti (U) bile su u opsegu od 0,69 % (acenaften) do 10,39 % (fenantren). Sve dobijene vrednosti proširene nesigurnosti bile su u okviru odgovarajućeg kriterijuma.

Najniža granica detekcije zabeležena je za acenaften (0,23 $\mu\text{g L}^{-1}$), dok je najveća vrednost granice detekcije iznosila za benzo[k]fluoranten (29,40 $\mu\text{g L}^{-1}$). Granice kvantifikacije bile su u

opsegu od 0,69 $\mu\text{g L}^{-1}$ (acenaften) do 89,08 $\mu\text{g L}^{-1}$ (benzo[k]fluoranten). Vrednosti granica detekcija i kvantifikacija bile su veće u odnosu na dobijene vrednosti od strane Nascimento i saradnika (2019).

4.1.4 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka za GC-MS analizu PAU iz vode upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (1 mol L^{-1} HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

Rezultati dobijeni procenom efikasnosti metode za 6 različito pripremljenih sorbenata prikazani su u tabeli 21 kao srednja vrednost efikasnosti \pm SD.

Tabela 21. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC-MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE fazom gde su primenjeni sorbenti bili klinoptilolitne modifikacije pripremljene tretmanom sa 1 mol L^{-1} hlorovodonične kiseline i na različitim temperaturama: 120 °C (D1), 300 °C (D2), 400 °C (D3), 500 °C (D4), 600 °C (D5) i 700 (D6) °C

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	D1 [%]	D2 [%]	D3 [%]	D4 [%]	D5 [%]	D6 [%]
Naftalen	0,5	100 \pm 2	110 \pm 2	119 \pm 2	84 \pm 4	121,2 \pm 0,6	76 \pm 3
	1,5	78,9 \pm 0,8	83 \pm 4	90,0 \pm 0,5	94 \pm 2	86 \pm 2	53,4 \pm 0,5
	3	81 \pm 1	81 \pm 1	79,7 \pm 0,7	66,8 \pm 0,2	131,9 \pm 0,4	51,9 \pm 0,2
Acenaftilen	0,5	72 \pm 3	76 \pm 1	81 \pm 4	46 \pm 1	39 \pm 1	47,0 \pm 0,7
	1,5	51 \pm 2	51 \pm 6	60,2 \pm 0,5	41,46 \pm 0,05	35,6 \pm 0,5	37,8 \pm 0,2
	3	64 \pm 2	51,1 \pm 0,8	55 \pm 4	38,1 \pm 0,7	50 \pm 1	36,3 \pm 0,1
Acenaften	0,5	115 \pm 4	96 \pm 2	124 \pm 1	82 \pm 2	78,8 \pm 0,1	85,8 \pm 0,8
	1,5	87 \pm 3	94 \pm 6	92,5 \pm 0,1	85,55 \pm 0,03	75,4 \pm 0,2	74,0 \pm 0,2
	3	100 \pm 1	90 \pm 1	98,02 \pm 0,03	74 \pm 1	115 \pm 1	72,4 \pm 0,1
Fluoren	0,5	105 \pm 1	109 \pm 3	94,5 \pm 0,6	95,1 \pm 0,2	118 \pm 0,3	72 \pm 3
	1,5	99 \pm 1	92 \pm 6	96 \pm 2	89,3 \pm 0,5	111 \pm 2	54,6 \pm 0,2
	3	105,1 \pm 0,6	88 \pm 2	92 \pm 2	68,5 \pm 0,6	101 \pm 1	52,7 \pm 0,5
Fenantren	0,5	108 \pm 2	90,2 \pm 0,2	103,3 \pm 0,9	78 \pm 2	92 \pm 1	63 \pm 1
	1,5	85 \pm 2	64 \pm 3	79 \pm 2	66,3 \pm 0,5	67,4 \pm 0,7	48 \pm 1
	3	100,9 \pm 0,4	79 \pm 2	82 \pm 1	56,0 \pm 0,6	87,9 \pm 0,1	48,0 \pm 0,1
Antracen	0,5	102 \pm 2	86,2 \pm 0,1	109,2 \pm 0,8	112,2 \pm 0,9	90 \pm 2	110 \pm 3
	1,5	117 \pm 3	119 \pm 2	117 \pm 4	116,5 \pm 0,8	101 \pm 2	81 \pm 3
	3	114,78 \pm 0,06	116 \pm 3	131,23 \pm 0,01	98,1 \pm 0,5	114,1 \pm 0,7	84,1 \pm 0,2
Fluoranten	0,5	88 \pm 1	119,7 \pm 0,5	119,1 \pm 0,1	128 \pm 5	118 \pm 3	61,5 \pm 0,3

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	D1 [%]	D2 [%]	D3 [%]	D4 [%]	D5 [%]	D6 [%]
	1,5	109,0 \pm 0,9	114 \pm 2	117 \pm 4	94 \pm 3	87 \pm 1	71 \pm 1
	3	107,9 \pm 0,7	118 \pm 2	118 \pm 2	86 \pm 1	111 \pm 2	72,73 \pm 0,5
	0,5	118 \pm 2	98,9 \pm 0,1	79,7 \pm 0,8	74 \pm 3	61,2 \pm 0,5	57 \pm 2
Piren	1,5	71 \pm 1	67 \pm 2	63 \pm 1	51,49 \pm 0,02	56,0 \pm 0,4	43 \pm 1
	3	86 \pm 3	65,8 \pm 0,3	73 \pm 3	50,1 \pm 1	71,3 \pm 0,1	45,7 \pm 0,6
Hrizen	0,5	105 \pm 2	69 \pm 4	91,7 \pm 0,2	115 \pm 2	106 \pm 4	59,1 \pm 0,3
	1,5	114 \pm 1	101 \pm 1	58,2 \pm 0,5	105 \pm 3	87 \pm 1	42,9 \pm 0,8
	3	98 \pm 1	95 \pm 1	57 \pm 1	88,9 \pm 0,3	85 \pm 4	51 \pm 2
Benzo[a]antracen	0,5	70 \pm 2	71 \pm 2	36,5 \pm 0,8	55 \pm 2	76 \pm 7	76 \pm 4
	1,5	56 \pm 3	61 \pm 1	26 \pm 2	46 \pm 1	67 \pm 8	54 \pm 5
	3	59,2 \pm 0,9	58 \pm 2	32,6 \pm 0,6	47 \pm 4	58 \pm 3	55 \pm 1
Benzo[a]piren	0,5	99 \pm 1	115,4 \pm 0,9	119 \pm 1	91 \pm 3	77 \pm 4	92 \pm 1
	1,5	96,50 \pm 0,02	99,1 \pm 0,2	93,5 \pm 0,5	92,3 \pm 0,4	101 \pm 2	92,9 \pm 0,1
	3	102,3 \pm 0,6	118,1 \pm 0,5	106,5 \pm 0,1	91,3 \pm 0,3	95 \pm 1	97 \pm 3
Benzo[b]fluoranten	0,5	60 \pm 1	46 \pm 1	46 \pm 1	42 \pm 1	42,1 \pm 0,1	45 \pm 2
	1,5	48,7 \pm 0,2	64 \pm 1	49 \pm 3	51 \pm 2	50,9 \pm 0,7	54 \pm 2
	3	57,5 \pm 0,4	48,6 \pm 0,4	70,4 \pm 0,3	56,2 \pm 0,3	65 \pm 1	40,8 \pm 0,1
Benzo[k]fluoranten	0,5	79,1 \pm 0,1	66 \pm 2	46 \pm 2	59 \pm 1	41,8 \pm 0,4	81 \pm 2
	1,5	59,2 \pm 0,4	89,3 \pm 0,7	58 \pm 2	68 \pm 2	57 \pm 1	62,7 \pm 0,7
	3	66,7 \pm 0,5	84 \pm 4	60,98 \pm 0,05	64,4 \pm 0,6	33 \pm 1	63,8 \pm 0,3
Indeno [1,2,3-cd]piren	0,5	55,8 \pm 0,2	76,6 \pm 0,8	68 \pm 1	72 \pm 2	74 \pm 5	87 \pm 8
	1,5	50,3 \pm 1	64 \pm 2	54,2 \pm 0,9	67,3 \pm 0,7	54,1 \pm 0,5	58 \pm 3
	3	55 \pm 1	52 \pm 3	57 \pm 1	55 \pm 1	90,9 \pm 0,6	60 \pm 2
Dibenzo[a,h]antracen	0,5	70 \pm 2	58 \pm 2	65,0 \pm 0,8	68 \pm 2	65 \pm 1	65 \pm 3
	1,5	63 \pm 2	76,3 \pm 0,6	77 \pm 2	106 \pm 4	72 \pm 2	87 \pm 2
	3	78 \pm 3	100 \pm 2	85 \pm 2	110 \pm 1	79,5 \pm 0,2	94 \pm 1
Benzo[g,h,i]perilen	0,5	74,7 \pm 0,8	62 \pm 2	69,8 \pm 0,5	54 \pm 3	115 \pm 1	73 \pm 1
	1,5	60,37 \pm 0,07	72 \pm 2	109 \pm 3	60 \pm 6	106 \pm 2	72 \pm 0,5
	3	68 \pm 2	88,93 \pm 0,01	105 \pm 1	72 \pm 3	117,1 \pm 0,7	101 \pm 1

Ukoliko se za pripremu sorbenta primeni 1 mol L⁻¹ HCl, a temperature termičke obrade ostaju iste, optimalna temperatura obrade kiselinom modifikovanog klinoptilolita je 120 °C (D1) za postizanje odgovarajuće efikasnosti pri analizi PAU iz vode spajkovane u tri različite koncentracije. Upotrebom 1 mol L⁻¹ HCl za modifikaciju klinoptilolita Tsitsishvili i saradnici

(1992) dokazali su da se gubi veliki deo tetraedarski vezanog aluminijuma. Na taj način povećane su hidrofobne karakteristike površine klinoptilolita, povećani su otvori pora u klinoptilolitu, a zbog znatno manjih dimenzija H^+ omogućena je reverzibilna sorpcija nepolarnih PAU kao sorbata prilikom pripreme uzoraka što je uslovalo postizanje odgovarajuće efikasnosti. Primenom D1 modifikacije kao sorbenta odgovarajuća efikasnost postignuta je za 5 lakih PAU (naftalen, acenaften, fluoren, fenantren i antracen) i 4 teška PAU (fluoranten, hrizen, piren i benzo[a]piren), a vrednosti efikasnosti bile su u intervalu od $48,7 \pm 0,2$ % (benzo[b]fluoranten) do 118 ± 2 % (piren). Na višim temperaturama obrade kiselinom modifikovanog klinoptilolita zbog razaranja kristalne strukture smanjene su adsorpcione karakteristike (Vasylechko i saradnici, 2003) što je uslovalo da se primenom modifikacija D2-D7 kao sorbenata u D- μ -SPE tehnici pripreme uzoraka spajkovane vode dobijaju vrednosti efikasnosti niže od 70 %.

D1 modifikacija primenjena je za validacione eksperimente. Analitički parametri validacije prikazani su u tabeli 22.

Tabela 22. Analitički parametri validacije metode D- μ -SPE – GC-MS analize dobijeni analizom ekstrakata gde je pri pripremi uzoraka primenjena soberbens pripremljen modifikacijom klinoptilolita 1 mol L⁻¹ hlorovodoničnom kiselinom i termički tretiran na temperaturi od 120 °C primenjeni sorbent (D1 modifikacija)

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	RSD [%]	Uc [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]
Laki PAU	Naftalen	11,054	y=12,102*x	0,98	1,89	2,69	0,63	1,92
	Acenaftilen	16,905	y=7,465*x	0,99	1,38	1,48	0,57	1,72
	Acenaften	17,710	y=9,078*x	0,99	1,99	2,83	0,89	2,70
	Fluoren	19,543	y=7,318*x	0,98	2,52	3,03	1,18	3,59
	Fenantren	23,201	y=4,494*x	0,99	0,16	0,24	0,16	0,47
	Antracen	23,299	y=2,639*x	0,99	0,01	0,10	0,10	0,32
Teški PAU	Fluoranten	27,676	y=1,900*x	0,97	0,41	0,59	0,89	2,71
	Piren	28,475	y=2,058*x	0,99	0,09	0,11	0,16	0,48
	Hrizen	33,157	y=0,917*x	0,99	4,01	4,69	14,62	44,30
	Benzo[a]antracen	33,295	y=2,215*x	0,99	1,60	2,02	2,60	7,88
	Benzo[b]fluoranten	37,047	y=1,347*x	0,97	1,36	1,07	2,28	6,90
	Benzo[k]fluoranten	37,139	y=0,766*x	0,98	0,90	1,11	4,15	12,57
	Benzo[a]piren	38,099	y=5,804*x	0,98	2,02	2,29	1,13	3,42
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,564	y=1,043*x	0,99	0,98	0,98	2,68	8,13
	Dibenzo[a,h]antracen	41,769	y=1,284*x	0,99	4,47	5,89	13,11	39,73
	Benzo[g,h,i]perilen	42,484	y=1,761*x	0,97	2,17	2,17	3,53	10,68

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r - korelacionni koeficijent

Koeficijenti korelacije su za većinu određivanih PAU bili veći od 0,98 dok su za fluoranten, benzo[b]fluoranten i benzo[g,h,i]perilen iznosili 0,97.

Preciznost metode bila je u okviru odgovarajućeg kriterijuma preciznosti pri čemu su RSD vrednosti bile najniže za antracen (0,01 %), fenantren (0,16 %), piren (0,09 %), dok su najveće vrednosti RSD zabeležene za hrizen (4,01 %) i dibenzo[a,h]antracen (4,47 %). RSD vrednosti u saglasnosti su RSD vrednostima dobijenim od strane Galan-Cano i saradnika (2011) prilikom D- μ -SPE - GC-MS određivanja PAU u vodi uz primenu C18 kao sorbenta.

Vrednosti proširene nesigurnosti bile su u opsegu od 0,10 % (antracen) do 5,89 % za (dibenzo[a,h]antracen), što je u saglasnosti sa kriterijumom za proširenu mernu nesigurnost.

Granice detekcije bile su najniže za antracen (0,10 $\mu\text{g L}^{-1}$), fenantren (0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$) i piren (0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$) a najviše za hrizen (14,62 $\mu\text{g L}^{-1}$) i dibenzo[a,h]antracen (13,11 $\mu\text{g L}^{-1}$). Granice kvantifikacije bile su najniže za antracen (0,32 $\mu\text{g L}^{-1}$), fenantren (0,47 $\mu\text{g L}^{-1}$) i piren (0,47 $\mu\text{g L}^{-1}$).

¹), dok su najviše vrednosti iznosile 44,30 $\mu\text{g L}^{-1}$ (hrizen) i 39,73 $\mu\text{g L}^{-1}$ (dibenzo[a,h]antracen). Dobijene vrednosti granica detekcije i kvantifikacije bile su veće u odnosu na Reyes-Gallardo i saradnika (2014) za D- μ -SPE - UPLC-DAD analizu PAU i upotrebu najlona 6 kao sorbenta.

4.1.5 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (1,5 mol L⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

Optimizacioni eksperimenti su podrazumevali ispitivanje tačnosti metode procenom efikasnosti. Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 23.

Tabela 23. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE gde su primenjeni sorbenti bili klinoptilolitne modifikacije pripremljene modifikacijom 1,5 mol L⁻¹ HCl i na različitim temperaturama: 120 °C (E1), 300 °C (E2), 400 °C (E3), 500 °C (E4), 600 °C (E5) i 700 (E6) °C.

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	E1 [%]	E2 [%]	E3 [%]	E4 [%]	E5 [%]	E6 [%]
Naftalen	0,5	114±1	102,1±0,2	104±1	111±2	99,8±0,6	103,9±0,5
	1,5	102±4	99±2	112±2	124±2	96,5±0,3	108±5
	3	92±4	89±2	105,5±0,8	121,9±0,2	101±1	125±4
Acenaftilen	0,5	86±2	90±2	87±1	95±2	96±9	90±0,9
	1,5	66±3	62±2	61±1	101±5	77±0,1	61±4
	3	91±1	90±2	89±1	110±2	88±2	87±2
Acenaften	0,5	127±2	116±1	136±1	134±3	140±2	134±1
	1,5	97±3	95±3	105±1	101±4	118±1	101±4
	3	88±4	99±2	109±3	119,7±0,7	103±2	117±1
Fluoren	0,5	98±1	106±1	115±2	118±2	118±4	98±5
	1,5	86±0,7	99,7±0,3	98±1	102±4	100,7±0,3	111±4
	3	91±2	93±1	100±1	102±1	104±6	116±7
Fenantren	0,5	117±5	106±2	108±1	108±1	107±2	119±1
	1,5	95±3	88±1	89±1	119±2	99±2	106±2
	3	93±2	87,2±0,8	99±2	101±3	102±2	113±2
Antracen	0,5	94±3	99,4±0,7	101,5±0,2	111,9±0,9	97,0±0,3	88,8±0,9
	1,5	105±4	118±1	119±1	126±2	104±3	94,3±0,7
	3	103±2	99,9±0,5	116±2	113±1	103±4	89,2±0,7
Fluoranten	0,5	101±3	103±2	107±2	116±1	105±3	90,8±0,9
	1,5	64±1	89±3	95±1	102±3	99±4	73±4

PAH	Nivo spajkovanja [µg mL ⁻¹]	E1 [%]	E2 [%]	E3 [%]	E4 [%]	E5 [%]	E6 [%]
Piren	3	74±6	97,9±0,7	109±6	107±1	92,6±0,5	90±2
	0,5	60±3	81,7±0,2	106±1	112±2	88±1	84,4±0,1
	1,5	87,8±0,7	80±5	85±1	114±4	88±2	90±2
Hrizen	3	82,0±0,2	91±1	104±3	119±1	108,8±0,8	102±5
	0,5	112±3	73,24±0,02	103±2	110±2	96±2	91±1
	1,5	76±2	89±1	94±2	99,4±0,5	95±1	89±3
Benzo[a] antracen	3	79±7	113±3	104,1±0,5	120±1	111±5	115±4
	0,5	69±6	63±2	89±5	104±2	96±3	70±4
	1,5	76±2	90±4	90±5	90±2	94±4	80,9±0,3
Benzo[a]piren	3	48±2	57,65±0,04	98±2	91,2±0,8	104±1	95±5
	0,5	107±8	103±3	105±4	118,9±0,9	100±6	95,8±0,2
	1,5	94±2	99±5	115,1±0,7	90±4	95,3±0,7	97,2±0,1
Benzo[b] fluoranten	3	93±4	72±1	79,5±0,2	91±1	72,2±0,2	71±2
	0,5	65±4	93±10	78,1±0,9	111,3±0,2	99±3	68±3
	1,5	94,4±0,6	81±11	71,4±0,1	107,1±0,7	96,1±0,2	79±5
Benzo[k] fluoranten	3	87±4	86±8	56,3±0,1	100,6±0,2	97±1	81,47±0,05
	0,5	83,0±0,1	68±9	85±3	96,8±0,4	95,2±0,8	88±3
	1,5	76,1±0,1	102±7	69±1	94±1	71±5	92±4
Indeno [1,2,3-cd] piren	3	99,2±0,5	90,0±0,8	85±1	107±3	76±1	94±4
	0,5	101±3	85,92±6	77,5±0,1	106±2	75±1	76,1±0,1
	1,5	77±1	60,8±0,3	86,6±0,3	90±2	72,1±0,3	62±2
Dibenzo[a,h] antracen	3	68,8±0,1	75±4	86,7±0,5	89,2±0,3	66,7±0,1	74,4±0,3
	0,5	57,2±0,2	73,2±0,1	58±1	82,2±0,7	53±7	66±4
	1,5	78±1	64±1	41,1±0,2	88±3	47±1	71±1
Benzo[g,h,i] perilen	3	56±1	57,3±0,3	42±2	92±2	64±3	56±1
	0,5	76±4	86±5	62±2	119±1	68±4	71±5
	1,5	54±3	63±2	93±3	96±1	76±4	56,8±0,2
	3	51,7±0,5	61,1±0,1	71±3	93,8±0,2	65±6	53±4

Ukoliko se poveća koncentracija HCl od 1 do 1,5 mol L⁻¹ za modifikaciju klinoptilolita a temperature obrade ostanu iste, dobija se šest novih kiselinsko-termičkih modifikacija. Njihovom primenom u optimizacionim eksperimentima dobijene su znatno bolje vrednosti efikasnosti u odnosu na grupe sorbenata dobijenih modifikacijom sa HCl nižih koncentracija od 1,5 mol L⁻¹. Ovakve razlike u efikasnosti mogu se objasniti izraženijim stepenom dealuminacije pri većoj

koncentraciji kiseline usled čega se povećava Si/Al odnos pa su izraženija hidrofobna svojstva površine klinoptilolita (Jiang i saradnici, 2018; Wang i saradnici, 2019) pri čemu se ostvaruje bolja interakcija sa nepolarnim molekulima (Kuwahara i saradnici, 2012), u ovom slučaju reverzibilna sorpcija nepolarnih PAU jedinjenja, samim tim dobijaju se dobre vrednosti efikasnosti. Usled delovanja HCl koncentracije $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ na klinoptilolit postiže se uklanjanje nečistoća iz pora klinoptilolita i pored procesa dealuminacije proces dekatjonizacije doprinosi povećanju otvora pora i dolazi do povećavanja mikro-poroznosti samim tim i do povećavanja specifične površine (Tomazović i saradnici, 1996). Usled procesa dekatjonizacije, zbog male veličine H^+ na izmenljivim mestima omogućena je neometana difuzija i lakih i većih molekula teških PAU kao sorbata. Na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem efikasnosti modifikacija koja je pokazala najbolje vrednosti tretirana je na temperaturi od $500 \text{ }^\circ\text{C}$. Na temperaturi obrade HCl kiselinom modifikovanog klinoptilolita od $500 \text{ }^\circ\text{C}$ dokazano je od strane Vasylechko i saradnika (2003) da je najveća zapremina pora u strukturi, dok pri višim temperaturama dolazi do smanjenja zapremine pora. Nakon detaljne analize rezultatata dobijenih ispitivanjem efikasnosti, ustanovljeno je da je optimalna temperatura obrade hlorovodoničnom kiselinom (koncentracije $1,5 \text{ mol L}^{-1}$) modifikovanog klinoptilolita $500 \text{ }^\circ\text{C}$ - E4 modifikacija za pripremu uzoraka vode za određivanje PAU.

Vrednosti efikasnosti PAU primenom ove modifikacije bile su u intervalu od $82,2 \pm 0,7 \%$ (dibenzo[a,h]antracen) do $134 \pm 3 \%$ (acenaften). Vrednosti efikasnosti bile su u skladu sa efikasnostima dobijenim od strane Nascimento i saradnika (2019) pri D- μ -SPE-GC-MS analizi PAU gde je pri pripremi uzoraka primenjivan C18 kao sorbent za pripremu uzoraka voda. Modifikacija E4 iskorišćena je za validaciju metode. Analitički parametri validacije metode prikazani su u tabeli 23.

Tabela 23. Analitički parametri validacije metode D- μ -SPE – GC-MS analize PAU dobijenih analizom ekstrakata primenom sorbenta pripremljenog modifikacijom klinoptilolita 1,5 mol L⁻¹ i termički tretiranog na 500 °C (E4 modifikacija)

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]
Laki PAU	Naftalen	10,995	$y=12,657*x$	0,99	0,14	0,20	0,14	0,45
	Acenaftilen	16,844	$y=7,208*x$	0,97	1,96	2,49	0,99	3,00
	Acenaften	17,553	$y=8,667*x$	0,99	0,58	0,81	0,27	0,81
	Fluoren	19,48	$y=7,531*x$	0,99	1,13	1,34	0,51	1,54
	Fenantren	23,226	$y=4,390*x$	0,99	2,79	3,26	2,12	6,42
	Antraceni	23,232	$y=2,554*x$	0,98	0,87	1,14	1,28	3,88
Teški PAU	Fluoranti	27,597	$y=1,967*x$	0,98	1,39	1,72	2,50	7,57
	Piren	28,393	$y=2,058*x$	0,99	1,26	1,74	2,42	7,34
	Hrizen	33,062	$y=0,917*x$	0,99	1,10	1,54	4,78	14,50
	Benzo[a]antraceni	33,205	$y=2,215*x$	0,99	0,89	0,94	1,21	3,66
	Benzo[b]fluoranti	36,948	$y=1,483*x$	0,99	1,46	1,54	2,96	8,97
	Benzo[k]fluoranti	37,033	$y=0,779*x$	0,99	0,22	0,25	0,93	2,83
	Benzo[a]piren	37,976	$y=5,490*x$	0,99	3,09	3,83	2,00	6,05
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,424	$y=1,043*x$	0,99	0,37	0,38	1,04	3,16
Dibenzo[a,h]antraceni	41,561	$y=1,284*x$	0,99	2,00	2,11	4,70	14,25	
Benzo[g,h,i]perilen	42,201	$y=1,761*x$	0,97	0,18	0,20	0,32	0,97	

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r – koeficijent korelacije

Koeficijenti korelacije, kao pokazatelji linearnosti metode, su za sve određivane PAU bili $\geq 0,98$ osim za acenaftilen i benzo[g,h,i]perilen za koje su iznosili 0,97.

Preciznost metode, izražena kao relativna standardna devijacija (RSD), bila je u granicama odgovarajućeg kriterijuma preciznosti. RSD vrednosti bile su u opsegu od 0,14 % (naftalen) do 3,09 % (benzo[a]piren). Dobijene RSD vrednosti bile su niže od RSD vrednosti Reyes-Gallardo i saradnika (2014) za D- μ -SPE - UPLC-DAD analize PAU u vodi (gde je kao sorbent korišćen MNP-najlon 6 pri pripremi uzoraka vode) i niže od RSD vrednosti Nascimento i saradnika (2019) za D- μ -SPE-GC-MS analizu PAU u vodi (gde je kao sorbent korišćen C18).

Vrednosti proširene nesigurnosti bile su u opsegu od 0,20 % (naftalen i benzo[g,h,i]perilen) do 3,83 % za benzo[a]piren. Dobijene vrednosti proširene nesigurnosti zadovoljile su odgovarajući kriterijum za nesigurnost merenja.

Najniže LOD zabeležene su za naftalen (0,14 $\mu\text{g L}^{-1}$) i acenaften (0,27 $\mu\text{g L}^{-1}$) dok su najveće bile za hrizen (4,78 $\mu\text{g L}^{-1}$) i dibenzo[a,h]antraceni (4,70 $\mu\text{g L}^{-1}$). Najniže vrednosti LOQ

bile su 0,45 $\mu\text{g L}^{-1}$ (naftalen) i 0,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ (acenaftilen), dok su najveće bile za hrizen (14,50 $\mu\text{g L}^{-1}$) i dibenzo[a,h]antracen (14,25 $\mu\text{g L}^{-1}$). Dobijene LOD i LOQ vrednosti u skladu su sa rezultatima koje su dobili Liu i saradnici (2009) pri MSPE-GC-MS (upotrebom C18 kao sorbenta).

4.1.6 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog kllinoptilolita (3 mol L^{-1} HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

U optimizacionim eksperimentima ispitivana je efikasnost metode. Dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 25.

Tabela 25. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijenih GC-MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE gde su primenjeni sorbenti bili klinoptilolitne modifikacije pripremljene modifikacijom sa 3 mol L^{-1} HCl na temperaturama: 120 °C (F1), 300 °C (F2), 400 °C (F3), 500 °C (F4), 600 °C (F5) i 700 (F6) °C.

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	F1 [%]	F2 [%]	F3 [%]	F4 [%]	F5 [%]	F6 [%]
Naftalen	0,5	116 \pm 2	102,2 \pm 0,3	105,7 \pm 0,9	105 \pm 1	104 \pm 2	102 \pm 2
	1,5	74 \pm 5	93,1 \pm 0,4	115 \pm 1	105,23 \pm 0,05	95 \pm 7	95 \pm 1
	3	75 \pm 3	77,4 \pm 0,8	92 \pm 1	122,1 \pm 0,3	96 \pm 6	132 \pm 2
Acenaftilen	0,5	55 \pm 2	66,4 \pm 0,8	58,6 \pm 0,1	78,2 \pm 0,6	49,9 \pm 0,3	49,9 \pm 0,4
	1,5	50 \pm 2	58,0 \pm 0,3	66,9 \pm 0,4	72,8 \pm 0,3	67 \pm 2	69,7 \pm 0,2
	3	58 \pm 2	55,9 \pm 0,5	62,7 \pm 0,1	81 \pm 1	61 \pm 2	68,7 \pm 0,2
Acenaften	0,5	88 \pm 2	134 \pm 1	115 \pm 1	107 \pm 8	120 \pm 3	105,3 \pm 0,4
	1,5	83 \pm 3	102,1 \pm 0,3	119,5 \pm 0,6	126 \pm 3	118 \pm 3	129,3 \pm 0,2
	3	92 \pm 3	94 \pm 1	106,1 \pm 0,9	100,3 \pm 0,2	97,5 \pm 0,4	95,6 \pm 0,9
Fluoren	0,5	86,3 \pm 0,7	103 \pm 2	101 \pm 2	118,2 \pm 0,4	90 \pm 4	104 \pm 2
	1,5	100 \pm 1	105,2 \pm 0,6	118 \pm 2	100,1 \pm 0,5	90 \pm 3	125,52 \pm 0,01
	3	84 \pm 2	79 \pm 1	89,1 \pm 0,3	93 \pm 4	96 \pm 4	92 \pm 1
Fenantren	0,5	105 \pm 1	123 \pm 0,7	98,0 \pm 0,6	88,4 \pm 0,7	84 \pm 2	103,6 \pm 0,9
	1,5	76 \pm 2	81,9 \pm 0,7	86,8 \pm 0,7	77,1 \pm 0,2	76,9 \pm 0,2	94,7 \pm 0,9
	3	77,9 \pm 0,7	68,3 \pm 0,5	74,3 \pm 0,1	83,3 \pm 0,8	82,83 \pm 0,04	84,2 \pm 0,1
Antracen	0,5	110 \pm 4	106 \pm 3	98 \pm 1	110 \pm 2	103 \pm 4	108 \pm 2
	1,5	105,2 \pm 0,9	110 \pm 2	119 \pm 1	115,5 \pm 0,9	114 \pm 6	116 \pm 2
	3	111 \pm 1	117,9 \pm 0,9	129,0 \pm 0,5	119,0 \pm 0,8	118,7 \pm 0,2	122,6 \pm 0,1
Fluoranten	0,5	119 \pm 3	122,3 \pm 0,7	95 \pm 2	86 \pm 2	88 \pm 1	115 \pm 3
	1,5	104,3 \pm 0,2	93,8 \pm 0,3	101 \pm 1	89 \pm 6	110,7 \pm 0,4	120,2 \pm 0,1

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	F1 [%]	F2 [%]	F3 [%]	F4 [%]	F5 [%]	F6 [%]
	3	103 \pm 3	85,1 \pm 0,5	95 \pm 2	69,2 \pm 0,9	122 \pm 10	111,7 \pm 0,5
Piren	0,5	69 \pm 1	58 \pm 2	44,4 \pm 0,4	48 \pm 4	47 \pm 3	51 \pm 1
	1,5	49 \pm 1	51 \pm 1	55,9 \pm 0,5	54 \pm 1	58 \pm 2	63,8 \pm 0,5
	3	54 \pm 1	49 \pm 0,4	54,4 \pm 0,1	55,45 \pm 0,01	66 \pm 1	64,6 \pm 0,3
Hrizen	0,5	71 \pm 3	73,9 \pm 0,9	61,4 \pm 0,5	24 \pm 1	75 \pm 5	46 \pm 2
	1,5	47 \pm 3	54 \pm 2	43 \pm 1	20,7 \pm 0,1	47 \pm 2	31,4 \pm 0,9
	3	52 \pm 3	55 \pm 2	46 \pm 2	19,3 \pm 0,1	53,6 \pm 0,7	38,9 \pm 0,6
Benzo[a]antracen	0,5	66,7 \pm 0,1	54 \pm 3	42 \pm 4	71,1 \pm 0,5	66 \pm 6	58 \pm 1
	1,5	46,9 \pm 0,2	39 \pm 1	38 \pm 2	38 \pm 1	48 \pm 1	47,1 \pm 0,4
	3	45 \pm 6	36,03 \pm 0,02	28 \pm 10	39,2 \pm 0,5	46 \pm 5	45 \pm 1
Benzo[a]piren	0,5	98 \pm 1	99,7 \pm 0,3	99 \pm 3	93 \pm 6	88 \pm 3	101 \pm 1
	1,5	96,9 \pm 0,3	103,7 \pm 0,3	83 \pm 4	111,6 \pm 0,7	110 \pm 2	107 \pm 2
	3	97,6 \pm 0,7	97,5 \pm 0,3	107,3 \pm 0,4	99,7 \pm 0,7	102,2 \pm 0,1	100 \pm 1
Benzo[b]fluoranten	0,5	24 \pm 1	85 \pm 5	69 \pm 2	37 \pm 1	44 \pm 1	42 \pm 2
	1,5	36,8 \pm 0,2	59 \pm 1	48 \pm 2	38,7 \pm 0,8	48 \pm 1	49 \pm 2
	3	36,8 \pm 0,2	54,2 \pm 0,9	52,9 \pm 0,4	56,6 \pm 0,2	54 \pm 2	54,4 \pm 0,7
Benzo[k]fluoranten	0,5	29,1 \pm 0,1	55 \pm 5	41 \pm 2	29,6 \pm 0,9	33,9 \pm 0,9	42 \pm 2
	1,5	36,8 \pm 0,2	58 \pm 1	38 \pm 2	38 \pm 1	37,4 \pm 0,2	47,1 \pm 0,4
	3	36 \pm 1	53,5 \pm 0,4	34,9 \pm 0,8	33,6 \pm 0,1	35 \pm 1	38 \pm 1
Indeno [1,2,3-cd]piren	0,5	63 \pm 7	54 \pm 3	45 \pm 2	31 \pm 2	49 \pm 6	55 \pm 3
	1,5	55 \pm 4	62 \pm 5	56 \pm 1	24,3 \pm 0,8	43 \pm 3	55 \pm 1
	3	61 \pm 1	50 \pm 0,6	64 \pm 6	35,4 \pm 0,1	61,4 \pm 0,1	46 \pm 2
Dibenzo[a,h]antracen	0,5	66 \pm 1	74,8 \pm 0,2	76 \pm 3	46,1 \pm 0,5	65 \pm 1	47 \pm 6
	1,5	74 \pm 3	65,2 \pm 0,8	98,2 \pm 0,5	53,6 \pm 0,8	81,5 \pm 0,7	97 \pm 3
	3	101 \pm 2	56,1 \pm 0,9	87 \pm 7	47,9 \pm 0,5	95,0 \pm 0,5	91 \pm 2
Benzo[g,h,i]perilen	0,5	121 \pm 6	108,06 \pm 0,05	96 \pm 3	118 \pm 5	101 \pm 6	111 \pm 2
	1,5	106 \pm 2	124,2 \pm 0,7	116 \pm 2	128 \pm 6	124 \pm 2	97,0 \pm 0,9
	3	94,8 \pm 0,1	105 \pm 2	94,8 \pm 0,4	89 \pm 3	107 \pm 1	93,2 \pm 0,3

Kada se koncentracija HCl poveća sa 1,5 na 3 mol L⁻¹ za modifikaciju klinoptilolita uz zadržane temperature obrade, primećuje se da se primenom svih 6 dobijenih modifikacija u D- μ -SPE pripreme uzoraka dobijaju niže vrednosti efikasnosti PAU naročito većih molekula PAU. Ovakva promena u vrednostima efikasnosti objašnjava se povećanim stepenom dealuminacije uz izgradnju većeg broja Si-O-Si veza na dealuminisanim mestima što uslovljava smanjenje pora u strukturi klinoptilolita (Tomazović i saradnici, 1996). Na taj način stepen reverzibilne sorpcije

PAU je manji nego u slučaju primene $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ za modifikaciju klinoptilolita. Primenom svih testiranih modifikacija postignuta je adekvatna efikasnost većeg broja lakih PAU (naftalena, acenaftena, fluorena, fenantrena, antracena) i samo tri teška PAU (fluorantena, benzo[a]pirena i benzo[g,h,i]perilena) za sva tri nivoa spajkovanja. Upotrebom modifikacije pripremljenom termičkim tretmanom na $400 \text{ }^\circ\text{C}$ nakon kiselinske modifikacij (F3) ciljane efikasnost je postignuta za sve lake PAU osim acenaftilena, i za 4 teška PAU, i to: fluoranten, benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antracen i benzo[g,h,i]perilen, a dobijene vrednosti efikasnosti bile su u intervalu od $28 \pm 10 \%$ (benzo[a]antracen) do $129 \pm 0,5 \%$ (antracen). Ova modifikacija pokazala je nabolje vrednosti efikasnosti i upotrebljena je za validacione eksperimente. Analitički parametri validacije prikazani su u tabeli 26.

Tabela 26. Analitički parametri validacije D- μ -SPE-GC-MS analize dobijeni analizom ekstrakata primenom sorbenta pripremljenog modifikacijom 3 mol L⁻¹ i termički tretiranog na 400 °C (F3 modifikacija)

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]
Laki PAU	Naftalen	10,995	y=12,264*x	0,98	0,81	0,99	0,23	0,70
	Acenaftilen	16,844	y=7,459*x	0,99	0,10	0,07	0,06	0,16
	Acenaften	17,553	y=8,867*x	0,99	1,21	1,61	0,52	1,58
	Fluoren	19,480	y=7,318*x	0,98	2,31	2,69	1,05	3,19
	Fenantren	23,226	y=4,171*x	0,99	0,64	0,72	0,49	1,49
	Antracen	23,232	y=2,639*x	0,98	1,18	1,34	1,45	4,40
Teški PAU	Fluoranten	27,597	y=1,900*x	0,98	2,54	2,77	4,17	12,64
	Piren	28,393	y=2,007*x	0,97	0,78	0,40	0,57	1,74
	Hrizen	33,062	y=0,878*x	0,97	0,80	0,63	2,04	6,17
	Benzo[a]antracen	33,205	y=2,132*x	0,98	9,70	4,71	6,32	19,14
	Benzo[b]fluoranten	36,948	y=1,427*x	0,96	3,01	3,45	6,91	20,94
	Benzo[k]fluoranten	37,033	y=0,766*x	0,98	3,35	2,70	10,07	30,52
	Benzo[a]piren	37,976	y=5,730*x	0,98	2,78	2,70	1,35	4,08
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,424	y=1,043*x	0,97	3,87	2,00	5,49	16,64
	Dibenzo[a,h]antracen	41,561	y=1,229*x	0,97	8,64	3,56	8,29	25,12
	Benzo[g,h,i]perilen	42,201	y=1,647*x	0,97	3,46	3,84	6,67	20,20

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r - koeficijent korelacije

Koeficijenti korelacije, kao pokazatelji linearnosti metode, bili su u opsegu od 0,96 benzo[b]fluoranten do 0,99.

Vrednosti RSD bile su u opsegu od 0,1 % (acenaftilen) do 9,7 % (benzo[a]antracen) čime je postignut odgovarajući kriterijum za preciznost metode. RSD vrednosti u skladu su sa vrednostima koje su dobili Xu i saradnici (2014) za MSPE-GC-MS određivanje PAU u vodi uz primenu Fe₃O₄ kao sorbenta.

Vrednosti U bile su u opsegu od 0,07 % za acenaftilen do 4,71 % za benzo[a]antracen i nalazile su se u granicama kriterijuma propisanog za nesigurnost merenja

Najniža LOD metode zabeležena je za acenaftilen (0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$) i naftalen (0,23 $\mu\text{g L}^{-1}$) dok su najveće vrednosti LOD za benzo[k]fluoranten (10,07 $\mu\text{g L}^{-1}$) i dibenzo[a,h]antracen (8,29 $\mu\text{g L}^{-1}$). LOQ vrednosti bile su najniže za acenaftilen (0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$) i naftalen (0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$) dok su za benzo[k]fluoranten (30,52 $\mu\text{g L}^{-1}$) i dibenzo[a,h]antracen (25,12 $\mu\text{g L}^{-1}$) bile visoke. Dobijene LOD i LOQ vrednosti bile su veće u odnosu na LOD i LOQ vrednosti Xia i saradnika (2018) pri D- μ -SPE - HPLC-DAD za analizu PAU u vodi i primenu Fe₃O₄ kao sorbenta.

4.1.7 Optimizacija i validacija D- μ -SPE tehnike pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU upotrebom hemijsko - termički modifikovanog klintoptilolita (6 mol L⁻¹ HCl i temperature od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C)

Rezultati dobijeni procenom efikasnosti metode prikazani su u tabeli 27.

Tabela 27. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC-MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE gde su primenjeni sorbenti bili klinoptilolitne modifikacije pripremljene modifikacijom sa 6 mol L⁻¹ HCl i na temperaturama od: 120 °C (G1), 300 °C (G2), 400 °C (G3), 500 °C (G4), 600 °C (G5) i 700 (G6) °C.

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	G1 [%]	G2 [%]	G3 [%]	G4 [%]	G5 [%]	G6 [%]
Naftalen	0,5	99,8 \pm 0,5	112,1 \pm 0,7	120 \pm 4	108 \pm 7	105 \pm 1	103,6 \pm 0,4
	1,5	85 \pm 6	119,9 \pm 0,3	114 \pm 3	119 \pm 2	105,2 \pm 0,1	115 \pm 3
	3	78,5 \pm 0,3	105 \pm 4	116 \pm 2	126 \pm 2	112,1 \pm 0,3	130,0 \pm 0,3
Acenaftilen	0,5	48,4 \pm 0,9	48 \pm 4	58 \pm 1	78 \pm 1	61 \pm 2	56 \pm 2
	1,5	46 \pm 2	61,5 \pm 0,4	65,6 \pm 0,1	79,3 \pm 0,8	72,8 \pm 0,3	64 \pm 3
	3	50,4 \pm 0,1	71 \pm 3	77,2 \pm 0,4	75 \pm 2	81 \pm 1	71,85 \pm 0,05
Acenaften	0,5	109,1 \pm 0,5	119,8 \pm 0,7	115 \pm 4	107 \pm 2	116 \pm 2	93,7 \pm 0,1
	1,5	96,1 \pm 0,6	118,3 \pm 0,1	116,7 \pm 0,6	123 \pm 2	116 \pm 3	122 \pm 2
	3	92 \pm 1	126 \pm 6	118 \pm 2	119 \pm 2	117,3 \pm 0,2	123,0 \pm 0,2
Fluoren	0,5	84,62 \pm 0,02	112,8 \pm 0,2	107 \pm 6	122 \pm 4	118,2 \pm 0,4	111,4 \pm 0,8
	1,5	90 \pm 1	112 \pm 7	121 \pm 8	116 \pm 3	100,0 \pm 0,5	115 \pm 6
	3	81,5 \pm 0,2	112 \pm 6	126,41 \pm 0,05	112 \pm 3	93 \pm 5	112,5 \pm 0,2
Fenantren	0,5	105 \pm 2	93 \pm 7	99 \pm 3	101 \pm 1	88,4 \pm 0,7	111 \pm 1
	1,5	75 \pm 2	79 \pm 2	81,28 \pm 0,04	100 \pm 4	67,1 \pm 0,2	72,9 \pm 0,2
	3	79,0 \pm 0,3	76 \pm 3	83,4 \pm 0,8	82 \pm 2	83,3 \pm 0,8	73,43 \pm 0,02
Antracen	0,5	96 \pm 3	99 \pm 1	101 \pm 5	107 \pm 2	96 \pm 2	101 \pm 6
	1,5	111 \pm 3	116 \pm 4	109,9 \pm 0,2	113 \pm 7	115,5 \pm 0,9	124 \pm 2
	3	101,3 \pm 0,7	122 \pm 6	105 \pm 1	113 \pm 3	118,9 \pm 0,8	127,1 \pm 0,1
Fluoranten	0,5	130 \pm 4	80 \pm 6	98 \pm 3	93,47 \pm 0,04	86 \pm 2	114 \pm 4
	1,5	84,4 \pm 0,8	91 \pm 6	98,3 \pm 0,6	115 \pm 5	89 \pm 6	89,3 \pm 0,7
	3	81 \pm 2	103 \pm 3	114 \pm 2	111 \pm 4	69,2 \pm 0,9	95,2 \pm 0,2
Piren	0,5	47,9 \pm 0,1	41,1 \pm 0,3	44 \pm 3	41,5 \pm 0,7	48 \pm 4	51,8 \pm 0,1
	1,5	41,8 \pm 0,3	51,7 \pm 0,8	53,79 \pm 0,03	67 \pm 2	54 \pm 1	47 \pm 3
	3	44,8 \pm 0,8	60 \pm 2	66,1 \pm 0,8	64,0 \pm 0,8	55,4 \pm 0,1	59,1 \pm 0,5

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	G1 [%]	G2 [%]	G3 [%]	G4 [%]	G5 [%]	G6 [%]
Hrizen	0,5	40±5	33±6	27,8±0,6	27,1±0,1	24±1	33±2
	1,5	25,1±0,9	22±5	19,3±0,6	28±0,7	20,7±0,1	38±1
	3	29±2	25±2	28±6	29,7±0,1	19,5±0,3	24,8±0,9
Benzo[a]antracen	0,5	36,6±0,6	32±4	35,3±0,7	37±1	55,1±0,5	41,0±0,9
	1,5	26,9±0,2	34±1	34±1	42±1	38±1	32±4
	3	28,4±0,8	37,5±0,6	39±4	30,5±0,1	39,2±0,5	27,9±0,3
Benzo[a]piren	0,5	111±3	101,2±0,6	95±5	107±5	93±6	101±3
	1,5	97±1	107±1	112±1	116±1	119±9	112±1
	3	101,1±0,4	105±3	106±2	112,1±0,4	92,6±0,7	116±8
Benzo[b]fluoranten	0,5	51,1±0,4	54±2	55±1	59,4±0,2	67±1	54,16±0,03
	1,5	63±2	66,2±0,2	56,7±0,3	56±5	58,2±0,9	59±2
	3	85,6±0,3	90±1	84,7±0,2	77,1±0,1	80,1±0,2	80,62±0,01
Benzo[k]fluoranten	0,5	48±2	32±3	45,9±0,9	24,9±0,7	65±1	41±3
	1,5	28,9±0,3	24,5±0,1	24,53±0,04	28±10	40,4±0,7	28,6±0,5
	3	35,5±0,1	36,1±0,4	27,2±0,8	32,5±0,2	42,4±0,1	33,5±0,1
Indeno[1,2,3-cd]piren	0,5	31,2±0,5	33±1	35±5	42±8	31±2	36±1
	1,5	29±1	37±1	36,3±0,4	39±1	24,3±0,8	24,2±0,4
	3	26±3	38±2	39±2	35,9±0,1	35,4±0,1	27,1±0,2
Dibenzo[a,h]antracen	0,5	52±4	46±1	44,9±0,7	65±1	46,1±0,5	48±2
	1,5	48±1	49,8±0,4	44±3	45,3±0,5	52,8±0,7	61±1
	3	53,5±0,5	72,2±0,6	50±2	41,6±0,6	47,9±0,5	56,2±0,1
Benzo[g,h,i]perilen	0,5	119±5	81±3	89±5	81,3±0,7	118±5	126±6
	1,5	115±2	117±3	119,4±0,6	122,9±0,6	117±7	120,0±0,5
	3	99,0±0,8	119,5±0,4	117,4±0,9	105,26±0,2	89±3	91,2±0,1

Kada se primeni najveća koncentracija (6 mol L^{-1}) HCl za modifikaciju klinoptilolita dobijene vrednosti efikasnosti ukazuju da sa povećanjem koncentracije od $1,5 - 6 \text{ mol L}^{-1}$ dolazi do smanjivanja vrednosti efikasnosti što se može objasniti razaranjem kristalne strukture klinoptilolita usled dejstva visoke koncentracije HCl što dovodi do smanjivanja broja i zapremine pora, odnosno adsorpcione efikasnosti, naročito teških PAU čiji molekuli su veći u odnosu na molekule lakih PAU. Sorbenti pripremljeni na ovaj način se ne mogu pouzdano koristiti pri pripremi uzoraka vode za analizu PAU. Primenom svih sorbenta željena efikasnost dobijena za lake PAU bila je za: naftalen, acenaften, fluoren, antracen i za teške PAU: fluoranten, benzo[a]piren i

benzo[g,h,i]perilen dok su vrednosti efikasnosti preostalih PAU bile znatno niže od 70 %. Modifikacija koja se izdvojila kao najbolja u pogledu efikasnosti bila je modifikacija termički obrađena na 500 °C nakon kiselinskog tretmana. Vrednosti efikasnosti primenom ove modifikacije bile su u intervalu od 24,9±0,7 % (benzo[k]fluoranten) do 126±2 % (naftalen). Ova modifikacija iskorišćena je za proces validacije metode. Analitički parametri validacije metode prikazani su u tabeli 28.

Tabela 28. Analitički parametri validacije metode D- μ -SPE – GC-MS analize dobijeni analizom ekstrakata gde je primenjeni sorbent klinoptilolit modifikovan 6 mol L⁻¹ (G4 modifikacija)

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	RSD [%]	Uc [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	
Laki PAU	Naftalen	10,988	128	y=12,264*x	0,98	2,97	4,11	0,96	2,90
	Acenaftilen	18,84	152	y=7,207*x	0,98	2,52	1,70	0,67	2,04
	Acenaften	17,541	152	y=8,867*x	0,99	3,11	4,14	1,34	4,05
	Fluoren	19,479	165	y=7,318*x	0,98	5,77	7,13	2,78	8,43
	Fenantren	23,228	178	y=4,390*x	0,99	2,93	3,36	2,19	6,63
	Antracen	23,236	178	y=2,639*x	0,99	4,97	5,78	6,25	18,95
	Fluoranten	27,592	202	y=1,900*x	0,98	3,24	3,65	5,50	16,66
Teški PAU	Piren	28,388	202	y=2,058*x	0,99	7,88	4,00	5,56	16,85
	Hrizen	33,228	228	y=0,880*x	0,97	2,33	0,75	2,43	7,36
	Benzo[a]antracen	33,319	228	y=2,215*x	0,99	1,95	0,79	1,03	3,11
	Benzo[b]fluoranten	36,959	252	y=1,427*x	0,96	4,79	5,28	10,57	32,03
	Benzo[k]fluoranten	37,047	252	y=0,779*x	0,99	6,12	1,07	3,93	11,89
	Benzo[a]piren	37,968	252	y=5,493*x	0,99	1,96	1,04	0,54	1,64
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,458	276	y=1,043*x	0,99	13,79	5,53	15,16	45,93
	Dibenzo[a,h]antracen	41,610	278	y=1,229*x	0,97	1,64	0,85	1,98	5,99
Benzo[g,h,i]perilen	42,329	276	y=1,829*x	0,99	6,07	6,23	9,74	29,52	

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r - koeficijent korelacije

Koeficijenti korelacije, kao pokazatelji linearnosti metode, bili su $\geq 0,98$ za sve analizirane PAU osim za hrizen i dibenzo[a,h]antracen (0,97) i za benzo[b]fluoranten (0,96).

RSD se nalazila u opsegu od 1,64 % (dibenzo[a,h]antracen) do 13,29 % za indeno[1,2,3-cd]piren čime je postignuta adekvatna preciznost metode. RSD vrednosti uporedivi su sa rezultatima koje su dobili Nuhu i saradnici (2012) za D- μ -SPE-GC-FID analizu PAU i primenu CaCO₃ kao sorbenta za pripremu uzoraka vode.

Vrednosti proširene nesigurnosti bile su u opsegu od 0,75 % (hrizen) do 7,13 % (fluoren) čime je postignut odgovarajući kriterijum za nesigurnost merenja.

Najniže LOD su zabeležene za benzo[a]piren ($0,54 \mu\text{g L}^{-1}$) i acenaftilen ($0,67 \mu\text{g L}^{-1}$), dok su najviše zabeležene za indeno[1,2,3-cd]piren ($15,16 \mu\text{g L}^{-1}$) i benzo[b]fluoranten ($10,57 \mu\text{g L}^{-1}$). Najniže vrednosti LOQ registrovane su za benzo[a]piren ($1,64 \mu\text{g L}^{-1}$), acenaftilen ($2,04 \mu\text{g L}^{-1}$), dok su za indeno[1,2,3-cd]piren, ($45,93 \mu\text{g L}^{-1}$), benzo[b]fluoranten ($32,03 \mu\text{g L}^{-1}$) i benzo[g,h,i]perilen ($29,52 \mu\text{g L}^{-1}$) bile najveće. LOD i LOQ vrednosti bile su veće u odnosu na istraživanje Nascimento i saradnika (2019) pri D- μ -SPE - GC-MS analizi PAU i primeni C18 kao sorbenta za pripremu uzoraka vode.

4.1.8 Optimizacija mase sorbenta za disperzivnu mikroekstrakciju čvrstom fazom

Nakon optimizacionih i validacionih eksperimenta gde su ispitivane termičke modifikacije (ukupno 6) i kiselinsko - termičke modifikacije (ukupno 36), kiselinsko - termička modifikacija klinoptilolita (E4) pripremljena dejstvom $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ HCl na klinoptilolit i termički tretirana na temperaturi od $500 \text{ }^\circ\text{C}$ pokazala je najbolje analitičke karakteristike u D- μ -SPE tehnici pripreme uzoraka voda za GC-MS analizu PAU dok je sa povećanjem koncentracije kiseline od $1,5 - 6 \text{ mol L}^{-1}$ za pripremu sorbenta zabeleženo smanjivanje vrednosti efikasnosti. Pri optimizaciji i validaciji masa sorbenata koja je bila primenjivana u D- μ -SPE bila je 460 mg (Ćirić i saradnici, 2018). U cilju smanjenja upotrebe mase sorbenta, ispitana je efikasnost metode za mase od 100 i 200 mg primenjenog sorbenta za analizu spajkovanih uzoraka voda u tri nivoa koncentracija. Ekstrakti pripremljeni na ovaj način analizirani su GC-MS metodom.

Tačnost metode procenjena je računanjem efikasnosti za svaki od 16 prioriternih PAU za tri nivoa spajkovanja model uzoraka voda ($0,5, 1,5$ i $3 \mu\text{g mL}^{-1}$) gde je u D- μ -SPE proceduri pripreme uzoraka primenjeno 100 mg (E4-100), odnosno 200 mg (E4-200) modifikacije E4 pri čemu su sva određivanja izvedena u tri ponavljanja. (tabela 29).

Tabela 29. Efikasnost određivanja 16 prioriternih PAU dobijena GC-MS analizom ekstrakata nakon D- μ -SPE gde je primenjena količina od 100 i 200 mg sorbenta pripremljenog modifikacijom klinoptilolita primenom 1,5 mol L⁻¹ HCl i termički tretiranog na 500 °C

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Efikasnost [%] E4 ₁₀₀	Efikasnost [%] E4 ₂₀₀
Naftalen	0,5	95 \pm 1	104 \pm 2
	1,5	117 \pm 4	118,4 \pm 0,5
	3	101 \pm 3	108,9 \pm 0,5
Acenaftilen	0,5	98 \pm 5	102 \pm 2
	1,5	72 \pm 1	92 \pm 1
	3	103 \pm 0	90 \pm 1
Acenaften	0,5	83 \pm 3	104 \pm 2
	1,5	62,2 \pm 0,7	99 \pm 4
	3	64,1 \pm 0,6	85,6 \pm 0,6
Fluoren	0,5	91 \pm 1	117 \pm 4
	1,5	98,8 \pm 0,3	98 \pm 3
	3	95 \pm 1	101 \pm 1
Fenantren	0,5	105 \pm 1	117 \pm 3
	1,5	111 \pm 5	111 \pm 3
	3	100,6 \pm 0,2	104 \pm 2
Antracen	0,5	119 \pm 1	95 \pm 4
	1,5	111,5 \pm 0,3	111 \pm 3
	3	121,7 \pm 0,3	108 \pm 6
Fluoranten	0,5	116 \pm 1	105 \pm 1
	1,5	97 \pm 7	119 \pm 6
	3	118,5 \pm 0,3	99,9 \pm 0,9
Piren	0,5	124 \pm 4	89 \pm 2
	1,5	117,2 \pm 0,4	108,0 \pm 0,5
	3	108,8 \pm 0,9	123 \pm 1
Hrizen	0,5	111 \pm 2	100 \pm 2
	1,5	111 \pm 7	110 \pm 6
	3	111 \pm 5	102 \pm 4
Benzo[a]antracen	0,5	97 \pm 2	83 \pm 1
	1,5	95 \pm 2	81,1 \pm 0,8
	3	107 \pm 4	97 \pm 1
Benzo[a]piren	0,5	107 \pm 4	99 \pm 3
	1,5	98 \pm 2	100 \pm 4
	3	75 \pm 3	82,3 \pm 0,6
Benzo[b]fluoranten	0,5	85 \pm 3	79 \pm 2
	1,5	99 \pm 3	89 \pm 1

PAH	Nivo spajkovanja [$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Efikasnost [%] E4 ₁₀₀	Efikasnost [%] E4 ₂₀₀
	3	100 \pm 1	86 \pm 2
Benzo[k]fluoranten	0,5	95 \pm 5	96 \pm 4
	1,5	88 \pm 1	108 \pm 1
	3	66 \pm 3	108 \pm 2
Indeno[1,2,3-cd]piren	0,5	86 \pm 7	93 \pm 3
	1,5	55 \pm 1	104 \pm 3
	3	68 \pm 2	80 \pm 1
Dibenzo[a,h]antracen	0,5	53 \pm 2	82 \pm 2
	1,5	76 \pm 3	87 \pm 3
	3	65 \pm 3	69 \pm 1
Benzo[g,h,i]perilen	0,5	73 \pm 9	90 \pm 3
	1,5	59,1 \pm 0,4	78 \pm 2
	3	50,4 \pm 0,2	92,6 \pm 0,6

Primenom 200 mg sorbenta postignuta je odgovarajuća efikasnost za sva analizirana jedinjenja. Vrednosti efikasnosti bile su u intervalu od 69 \pm 1 % za dibenzo[a,h]antracen (nivo spajkovanja 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$) do 123 \pm 1 za piren (nivo spajkovanja od 3 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Primenom 100 mg sorbenta adekvatna efikasnost postignuta je za pet lakih PAU - naftalen, acenaftilen, fluoren, fenantren i antracen i šest teških PAU, i to: fluoranten, piren, hrizen, bezo[a]antracen, benzo[a]piren i benzo[b]fluoranten za sva tri nivoa spajkovanja. Vrednosti efikasnosti bile su u opsegu od 50,4 \pm 0,2 % (benzo[g,h,i]perilen) do 124 \pm 4 % (piren).

Validacioni parametri metode prikazani su u Tabeli 30.

Tabela 30. Analitički parametri validacije D- μ -SPE – GC-MS analize dobijenih analizom ekstrakata gde je primenjeni sorbent klinoptilolit modifikovan sa 1,5 mol L⁻¹ HCl i termički tretiran na temperaturi od 500 °C - 100 i 200 mg

PAU	Rt [min]	Kvantifikacioni jon [m/z]	Jednačina kalibracione prave	r	100 mg sorbenta				200 mg sorbenta				
					RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	RSD [%]	U [%]	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	
Laki PAU	Naftalen	10,995	128	$y=12,657*x$	0,99	6,70	0,59	0,14	0,43	2,40	0,20	0,05	0,16
	Acenaftilen	16,844	152	$y=7,208*x$	0,97	13,22	1,10	0,47	1,42	1,83	0,15	0,06	0,20
	Acenaften	17,553	152	$y=8,667*x$	0,99	8,45	0,72	0,25	0,77	1,58	0,14	0,05	0,14
	Fluoren	19,48	165	$y=7,531*x$	0,99	16,92	1,75	0,74	2,23	2,46	0,25	0,11	0,32
	Fenantren	23,226	178	$y=4,390*x$	0,99	19,50	1,88	1,22	3,69	2,78	0,27	0,17	0,53
	Antracen	23,232	178	$y=2,554*x$	0,98	19,14	1,56	1,88	5,70	3,85	0,30	0,36	1,09
Teški PAU	Fluoranten	27,597	202	$y=1,967*x$	0,98	11,70	1,01	0,77	2,34	1,22	0,11	0,08	0,24
	Piren	28,393	202	$y=2,058*x$	0,99	7,84	0,57	0,88	2,65	2,22	0,16	0,25	0,75
	Hrizen	33,062	228	$y=0,917*x$	0,99	15,20	1,25	4,37	13,23	1,60	0,13	0,46	1,39
	Benzo[a]antracen	33,205	228	$y=2,215*x$	0,99	13,23	0,90	1,29	3,91	1,31	0,09	0,13	0,39
	Benzo[b]fluoranten	36,948	252	$y=1,483*x$	0,99	8,39	0,68	0,39	1,18	3,08	0,25	0,14	0,43
	Benzo[k]fluoranten	37,033	252	$y=0,779*x$	0,99	18,50	1,20	2,67	8,09	7,28	0,47	1,05	3,18
	Benzo[a]piren	37,976	252	$y=5,490*x$	0,99	18,70	1,47	5,93	17,98	4,29	0,34	1,36	4,13
	Indeno[1,2,3-cd]piren	41,424	276	$y=1,043*x$	0,99	19,92	1,51	4,61	13,97	3,01	0,23	0,70	2,11
	Dibenzo[a,h]antracen	41,561	278	$y=1,284*x$	0,99	10,98	0,72	1,24	3,75	5,99	0,39	0,67	2,04
	Benzo[g,h,i]perilen	42,201	276	$y=1,761*x$	0,97	15,27	1,12	2,76	8,35	3,27	0,24	0,59	1,79

x - relativni intenzitet signala; y - koncentracija analita; m/z - odnos mase i naelektrisanja jona; r - koeficijent korelacije

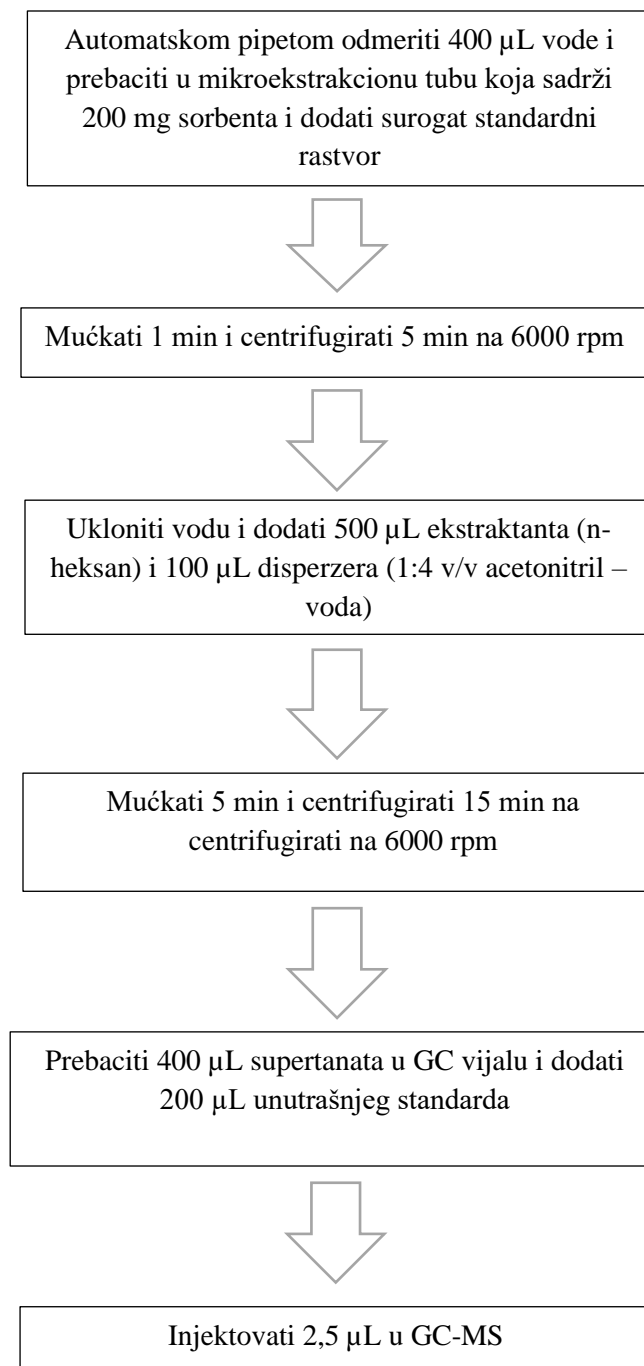
Koeficijent korelacije, kao pokazatelj linearnosti metode, bio je $\geq 0,98$ za sve određivane PAU osim za acenaftilen i benzo[g,h,i]perilen za koje je iznosio 0,97.

Preciznost predložene analitičke metode iskazana je preko RSD (%). Vrednosti RSD za E4₁₀₀ bile su u intervalu od 6,70 % (naftalen) do 19,92 % (indeno[1,2,3-cd]piren). Vrednosti RSD za E4₂₀₀ bile su u intervalu od 1,22 % (fluoranten) do 7,28 % (benzo[k]fluoranten). RSD za metodu gde je korišćeno 200 mg sorbenta su niže u odnosu na vrednosti za metodu analize gde je masa sorbenta bila 100 mg. Može se zaključiti da je preciznost metode veća ukoliko se pri proceduri koristi 200 mg sorbenta. Dobijene vrednosti RSD za obe mase sorbenta bile su u granicama odgovarajućeg kriterijuma preciznosti.

Vrednosti proširene nesigurnosti bile su od 0,57 % (piren) do 1,88 % (fenantren), kada je u procesu pripreme uzoraka korišćeno 100 mg sorbenta, dok su za primenu 200 mg sorbenta vrednosti proširene nesigurnosti bile niže u odnosu na mernu nesigurnost gde je korišćeno 100 mg sorbenta, i bile su u granicama od 0,11 % (fluoranten) do 0,47 % (benzo[k]fluoranten). Za obe primenjene mase sorbenta zadovoljen je postavljen kriterijum za nesigurnost merenja.

Za metodu određivanja PAU gde je upotrebljeno 100 mg sorbenta LOD vrednosti bile su od 0,14 $\mu\text{g L}^{-1}$ (naftalen) do 5,93 $\mu\text{g L}^{-1}$ (benzo[a]piren). LOD vrednosti pri određivanju PAU gde je upotrebljeno 200 mg sorbenta bile su od 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ (naftalen i acenaften) do 1,36 $\mu\text{g L}^{-1}$ (benzo[a]piren). LOQ vrednosti za masu sorbenta od 100 mg sorbenta primenjenu u pripremi uzoraka bile su u opsegu od 0,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ (naftalen) do 17,98 $\mu\text{g L}^{-1}$ (benzo[a]piren). LOQ vrednosti PAU gde je masa korišćenog sorbenta bila 200 mg bile su u rasponu od 0,16 $\mu\text{g L}^{-1}$ (naftalen) do 4,13 $\mu\text{g L}^{-1}$ (benzo[a]piren).

Poređenjem analitičkih parametra za metodu gde je korišćeno 460 mg i 200 mg sorbenta zaključuje se da je neznatno veća preciznost merenja za metodu gde je kao sorbent primenjeno 460 mg, dok su vrednosti nesigurnosti, granice detekcije i granice kvantifikacije znatno niže za metodu gde je primenjeno 200 mg sorbenta. Nakon svih optimizacionih i validacionih eksperimenata utvrđeno je da je sorbent mase 200 mg pripremljen modifikacijom hlorovodoničnom kiselinom (1,5 mol L⁻¹) i termički tretiran na temperaturi od 500 °C pokazao najbolje analitičke parametre validacije metode i predložen je za primenu u D- μ -SPE PAU iz realnih uzoraka vode. Na slici 44 predložena je šema metode analize PAU u uzorcima vode.



Slika 44. Šema optimizovane i validovane D- μ -SPE metode predložene za pripremu uzoraka vode i analizu PAU primenom GC-MS

4.2. Analiza realnih uzoraka

Nakon optimizacije i validacije metode analizirani su realni uzorci voda reke Nišave i njenih pritoka. Uzorci rečne vode su prikupljeni na ulazu i izlazu iz svakog grada, u ruralnim i urbanim oblastima, pri čemu su uzimani i uzorci pritoka Nišave. Uzorci u urbanim lokalitetima uzimani su pored prometnih saobraćajnica, toplana i naseljenih mesta koja za grejanje koriste fosilna goriva jer je pretpostavljeno da postoji zagađenje policikličnim aromatičnim ugljovodonicima na ovim mestima. Lokaliteti uzorkovanja planirani su tako da se uzorci uzimaju pre i posle uliva pritoka u Nišavu da bi se video doprinos svake pritoke u ukupnom opterećenju policikličnim aromatičnim ugljovodonicima u Nišavi. Mapa lokacija uzorkovanja vode i njenih pritoka prikazana je na slici 21. Prikupljeni uzorci voda pripremljeni su D- μ -SPE tehnikom primenom 200 mg kiselinsko - termički modifikovanog klinoptilolita (dobijenog modifikacijom hlorovodoničnom kiselinom 1,5 mol L⁻¹ i termički tretiranog na temperaturi od 500 °C). Ekstrakti uzoraka analizirani su GC - MS metodom. Rezultati analize prikazani su u tabeli 31.

Najveće koncentracije PAU u reci Nišavi i njenim pritokama zabeležene su za grad Niš, potom za grad Pirot, Belu Palanku i Dimitrovgrad. Ovakav redosled ukupnih PAU na teritoriji gradova je očekivan zbog toga što su veći gradovi više opterećeni potencijalnim izvorima emisije PAU kao što su: prometne saobraćajnice, toplane, individualna ložišta i industrijske aktivnosti.

Količina PAU u svim analiziranim uzorcima bila je u rasponu od 6,47±0,04 do 33,6±0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ukoliko se uporede ukupne koncentracije PAU u analiziranim uzorcima sa teritorije Dimitrovgrada, Pirota, Bele Palanke i Niša, može se uočiti sličnost dobijenih ukupnih koncentracija sa ukupnim koncentracijama PAU dobijenim od strane Ardag i saradnika (2011) koji su određivali PAU u reci Menderes u Turskoj pri čemu su uzorke prikupljali na lokalitetima blizu industrijske zone. Oni su odredili ukupnu koncentraciju 13 analizarnih PAU u rasponu od 1,8 - 24,9 $\mu\text{g L}^{-1}$. Guo i saradnici (2012) određivali su PAU iz 7 rečnih slivova reke Basin u Kini, pri čemu su ukupne koncentracije 15 određivanih PAU bile u opsegu od 3,09 do 38,139 $\mu\text{g L}^{-1}$. Znatno veće količine PAU pronađene su od strane Adenija i saradnika (2019), pri analizi Bufalo reke u Južnoj Africi. Koncentracije PAU prikazane u njihovom istraživanju bile su u rasponu od 14,91 do 206 $\mu\text{g L}^{-1}$. Oni visoke koncentracije PAU u reci pripisuju urbanoj sredini sa prometnim saobraćajnicama duž toka reke kao i izlivanju ulja iz brodova i čamaca.

Tabela 31. Koncentracije policikličnih aromatičnih ugljovodonika u analiziranim uzorcima vode izražene kao srednja vrednost ± standardna devijacija ($\mu\text{g L}^{-1}$)

Redni broj lokaliteta uzorkovanja	Naftalen	Acenafilen	Acenaften	Fluoren	Fenantren	Antracen	Fluoranten	Piren	Hzizen	Benzo[a]antracen	Benzo[b]fluoranten	Benzo[k]fluoranten	Benzo[a]piren	Indeno[1,2,3-cd]piren	Dibenzo[a,h]antracen	Benzo[g,h,i]perilen	Σ_{16} PAU
1	1,2±0,1	0,5±0,3	1,2±0,9	4,7±0,6	0,8±0,3	1,6±0,4	0,6±0,1	n.d.	n.d.	n.d.	0,72±0,01	1,35±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,7±0,2
2	1,9±0,4	0,9±0,9	1,4±0,2	2,9±0,9	n.d.	n.d.	0,64±0,06	0,78±0,05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,5±0,2
3	2,6±0,8	3,1±0,3	0,5±0,2	2,5±0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,70±0,09
4	2,4±0,3	3,2±0,2	0,6±0,2	3,7±0,3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	9,90±0,06
5	2,0±0,5	2,9±0,4	0,6±0,2	2,4±0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,90±0,08
6	4,3±0,5	3,3±0,7	0,7±0,1	1,02±0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	9,32±0,08
7	1,5±0,2	3,1±0,3	0,73±0,05	1,14±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,47±0,04
8	1,4±0,4	3,31±0,07	0,76±0,08	1,2±0,1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,67±0,04
9	2,42±0,08	3,2±0,3	0,7±0,2	2,08±0,06	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,4±0,2
10	1,3±0,6	2,6±0,6	0,9±0,2	0,9±0,1	0,5±0,1	n.d.	0,95±0,05	1,25±0,01	1,41±0,02	0,8±0,4	n.d.	0,91±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,5±0,1
11	0,69±0,05	3,4±0,4	0,82±0,03	0,90±0,04	n.d.	n.d.	0,85±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,66±0,03
12	0,7±0,2	3,3±0,3	0,75±0,05	1,3±0,1	0,6±0,1	n.d.	1,03±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,53±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,21±0,05
13	2,6±0,7	2,1±0,4	0,27±0,04	1,53±0,03	n.d.	n.d.	0,85±0,04	0,93±0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,28±0,08
14	1,6±0,6	3,1±0,6	0,46±0,01	1,44±0,01	0,56±0,04	n.d.	0,66±0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,82±0,08
15	7,3±0,6	3,5±0,2	0,37±0,02	4,64±0,08	0,60±0,01	n.d.	0,61±0,06	1,21±0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	18,23±0,06

Redni broj lokališeta uzorkovanja	Naftalen	Acenaftilen	Acenaften	Fluoren	Fenantren	Antracen	Fluoranten	Piren	Hrizen	Benzo[a]antracen	Benzo[b]fluoranten	Benzo[k]fluoranten	Benzo[a]piren	Indeno[1,2,3-cd]piren	Dibenzo[a,h]antracen	Benzo[g,h,i]perilen	Σ_{16} PAU
16	3,8±0,6	3,9±0,1	1,7±0,2	9,7±0,3	1,06±0,08	1,2±0,6	1,3±0,1	1,81±0,02	2,51±0	1,9±0,6	1,25±0,01	3,51±0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	33,6±0,2
17	1,9±0,1	3,3±0,2	1,2±0,3	3,46±0,03	0,85±0,07	n.d.	0,78±0,01	0,98±0,01	1,87±0	1,0±0,1	0,59±0,01	2,43±0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	18,36±0,05
18	1,08±0,06	2,5±0,9	0,69±0,07	1,28±0,02	0,59±0,06	n.d.	0,91±0,04	0,98±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,03±0,07
19	1,3±0,1	3,02±0,08	0,73±0,04	0,90±0,03	n.d.	n.d.	0,58±0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6,53±0,02
20	0,68±0,02	3,1±0,4	0,78±0,03	1,42±0,08	0,55±0,03	n.d.	0,86±0,04	0,85±0	n.d.	0,82±0,05	0,74±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	9,8±0,04
21	1,8±0,4	3,3±0,8	0,77±0,08	0,72±0,02	n.d.	n.d.	0,93±0,05	0,84±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,36±0,09
22	0,83±0,04	3,1±0,7	0,82±0,05	1,01±0,02	n.d.	n.d.	0,66±0,02	0,67±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,09±0,05
23	0,88±0,05	3,1±0,2	0,95±0,04	1,74±0,09	n.d.	n.d.	0,69±0,08	0,70±0,01	n.d.	0,63±0,05	0,63±0,01	1,89±0,09	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,21±0,04
24	1,24±0,05	3,3±0,1	0,77±0,06	1,13±0,02	n.d.	n.d.	0,58±0,08	0,65±0,01	n.d.	n.d.	0,67±0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,34±0,02
25	1,7±0,2	3,2±0,7	0,66±0,04	2,2±0,6	n.d.	n.d.	n.d.	0,86±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,6±0,1
26	0,70±0,01	3,18±0,6	0,79±0,04	2,08±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	0,83±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,58±0,04
27	1,5±0,7	2,9±0,5	0,85±0,05	1,6±0,8	n.d.	n.d.	0,59±0,02	0,71±0,05	n.d.	0,75±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,9±0,13
28	1,6±0,3	3,2±0,8	3,2±0,3	5,6±0,5	n.d.	1,5±0,3	n.d.	n.d.	n.d.	0,91±0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	16,0±0,1
29	0,9±0,1	3,2±0,6	0,8±0,2	1,2±0,2	0,55±0,06	n.d.	0,60±0,01	0,65±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	0,62±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	8,52±0,08
30	2,9±0,8	3,2±0,3	0,83±0,07	1,6±0,2	n.d.	n.d.	0,77±0,09	0,77±0,02	n.d.	0,88±0,01	0,68±0,01	1,17±0,06	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,8±0,1
31	2,7±0,3	3,3±0,7	2,4±0,3	1,34±0,04	n.d.	n.d.	0,57±0,01	0,56±0,01	n.d.	1,2±0,4	0,91±0,01	1,52±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	14,5±0,1
32	0,74±0,04	2,92±0,5	0,92±0,03	1,3±0,1	n.d.	n.d.	0,64±0,01	0,75±0,02	n.d.	n.d.	0,58±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,85±0,04
33	0,68±0,01	3,05±0,07	1,05±0,01	1,3±0,2	n.d.	n.d.	0,69±0,01	n.d.	n.d.	0,98±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,75±0,02

Redni broj lokaliteta uzorkovanja	Naftalen	Acenaftilen	Acenaften	Fluoren	Fenantren	Antracen	Fluoranten	Piren	Hzizen	Benzo[a]antracen	Benzo[b]fluoranten	Benzo[k]fluoranten	Benzo[a]piren	Indeno[1,2,3-cd]piren	Dibenzo[a,h]antracen	Benzo[g,h,i]perilen	Σ_{16} PAU
34	0,71±0,03	2,5±0,4	0,90±0,05	2,33±0,08	n.d.	n.d.	0,76±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	7,20±0,04
35	0,75±0,03	3,0±0,6	1,41±0,09	2,60±0,05	n.d.	n.d.	0,58±0,01	n.d.	n.d.	0,83±0,01	0,72±0	0,79±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,68±0,05
36	2,8±0,3	2,94±0,05	1,24±0,09	1,9±0,2	0,55±0,02	n.d.	0,62±0,01	n.d.	n.d.	0,90±0,01	n.d.	0,71±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,66±0,04
37	0,70±0,07	3,1±0,1	0,99±0,01	1,91±0,01	n.d.	n.d.	0,63±0,01	0,85±0,01	n.d.	0,64±0,01	0,76±0,02	1,62±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11,20±0,02
38	3,05±0,03	3,4±0,9	0,58±0,01	1,27±0,07	n.d.	n.d.	0,79±0,01	0,98±0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	10,07±0,07
39	4,3±0,5	3,4±0,4	0,46±0,05	2,1±0,2	0,61±0,09	n.d.	1,17±0,01	1,16±0,06	n.d.	1,19±0,01	0,98±0,01	2,11±0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	17,48±0,08
40	8,7±0,6	3,70±0,03	0,68±0,02	1,28±0,02	0,58±0,06	n.d.	1,29±0	1,38±0,01	n.d.	0,64±0	0,85±0,01	2,24±0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	21,34±0,05

Brojevima od 1-40 predstavljeni su lokaliteti uzorkovanja (slika 21)

Najveća koncentracija ukupnih PAU dobijena je analizom uzorka reke Nišave prikupljenog u blizini autoputa i industrijske zone u Pirotu (16) i iznosila je $33,6 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$. Visoke koncentracije ukupnih PAU dobijene su i analizom uzoraka 15 i 17 ($18,23 \pm 0,06$ i $18,36 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$). Uzorak na lokalitetu 15 prikupljen je na izlazu iz Pirota, dok se lokalitet uzorkovanja 17 nalazi nizvodno od lokaliteta sa najvećom ukupnom koncentracijom PAU.

Najmanje koncentracije ukupnih PAU određene su u reci Jermi u selu Trnski Odorovci (7) ($6,47 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$), i Kusovranskoj reci (8) ($6,67 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$). Iako je u uzorcima 7 i 8 pronađena najmanja koncentracija ukupnih PAU u odnosu na preostale analizirane uzorke, koncentracija PAU u ovim uzorcima bila je veća u odnosu na ukupnu koncentraciju PAU u Raba reci u Mađarskoj (Nagy i saradnici, 2013) i Evoikos zaliva u Grčkoj (Triantafyllaki i saradnici, 2005).

Analizom uzorka reke Nišave uzetog na ulazu u Dimitrovgrad (1), ukupna koncentracija određenih PAU iznosila je $12,7 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, dok je analizom uzorka reke Nišave prikupljenog na izlazu iz grada (2), ukupna količina PAU iznosila $8,5 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$. Dobijeni rezultati analize uzorka 1 i uzorka 2 pokazali su suprotno od očekivanog, a ovakva razlika u rezultatima može se objasniti jačim vezivanjem teških PAU za rečne sedimente kao i visokom frekvencijom saobraćaja na ulazu u grad. Analizom uzoraka Nišave pre ušća (3) i posle ušća reke Jerme (4) u Nišavu koncentracija se povećala sa $8,70 \pm 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$ na $9,90 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$. Dobijeni rezultati analize PAU u Nišavi na području Dimitrovgrada bili su veći u odnosu na analizu PAU Žute reke u Kini (Liu i saradnici, 2020; Wang i saradnici, 2015; Sun i saradnici, 2009), a niži u odnosu na analizu PAU Teme Harbour reke u Gani (Gorleku i saradnici, 2014) i reka severnog Tajlanda (Saiburi, Pattani, Thepba i Sungai Golok reke) (Hajisamoh, 2013).

Analizom uzorka reke Nišave prikupljenog na ulazu u grad Pirot (10) ukupna koncentracija PAU iznosila je $11,5 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, dok je u uzorku pritoke Nišave - Kosturske Reke na izlazu iz Pirota (15) određena ukupna koncentracija PAU iznosila $18,23 \pm 0,06 \mu\text{g L}^{-1}$. Ovakva razlika u ukupnim koncentracijama PAU u analiziranim rekama je očekivana, i može se objasniti povećanom emisijom PAU poreklom iz saobraćaja u blizini lokaliteta uzorkovanja, a prolaskom kroz grad reka se može kontaminirati PAU nastalim sagorevanjem fosilnih i čvrstih goriva koja se koriste za grejanje. Doprinos pritoka na području Pirota ispitivan je analizom uzorka reke Nišave pre uliva Gradašničke reke (12), određena ukupna koncentracija PAU ($8,21 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$) bila je veća u odnosu na uzorak (13) nakon ulivanja Gradašničke reke ($8,28 \pm 0,08 \mu\text{g L}^{-1}$). Koncentracije

PAU u uzorcima na području Pirota bile su slične kao vrednosti dobijene pri analizi Menderes reke u Turskoj (Ardag i saradnici, 2011) i Brzustowka reke u Poljskoj (Kabzinski i saradnici, 2002), dok su bile veće od ukupne koncentracije PAU za reku Misisipi u Americi (Zhang i saradnici, 2007), reku Limpopo u Južnoj Africi (Nekhavambe i saradnici, 2014), Tiber u Italiji (Petrolecco i saradnici, 2010), Sijene u Francuskoj (Fernandes i saradnici, 1997) i Baha Bianca reku u Argentini (Arias i saradnici, 2009).

Analizom uzorka reke Nišave prikupljenog na ulazu u Belu Palanku (19) ukupna koncentracija PAU iznosila je $6,53 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ dok je očekivano veća ukupna koncentracija dobijena analizom uzorka reke Nišave prikupljenog na izlazu iz Bele Palanke (21) $8,36 \pm 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$. Doprinos pritoka na području ovog grada ispitivan je analizom uzoraka pre i posle ušća Vrelske i Crvene reke pri čemu je zaključeno da su pritoke doprinosile povećanju ukupne koncentracije. Ukoliko se uporede dobijene vrednosti ukupnih koncentracija PAU sa vrednostima iz literature, zaključuje se da je analizom uzoraka na području Bele Palanke koncentracija ukupnih PAU bila veća u odnosu na analizu PAU u Malliakos zalivu u Grčkoj (Triantafyllaki i saradnici, 2005), Gao - Ping reke u Tajvanu (Doong i saradnici, 2003) ali su bile niže od koncentracije PAU u Mvudi reci u Južnoj Africi (Edokpayi i saradnici, 2016).

Analizom uzorka reke Nišave, prikupljenog kod Niške Banje (29) na ulazu u Niš, ukupna koncentracija PAU iznosila je $8,52 \pm 0,08 \mu\text{g L}^{-1}$. Analizom uzorka reke Nišave, prikupljenog na izlazu iz Niša pre neposrednog ulivanja Nišave u Južnu moravu (40), ukupna koncentracija PAU iznosila je $21,34 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ i bila je znatno veća nego na ulazu u Niš čime je dokazano da se prolaskom kroz urbanu sredinu reka Nišava kontaminira PAU jedinjenjima. Analizom uzoraka Nišave pre ušća (30) i posle ušća Kutinske reke (31) ukupna koncentracija se povećala sa $12,8 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ na $14,5 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$, čime je dokazano da i na području Niša pritoke doprinose povećanju ukupne koncentracije PAU. Sve vrednosti ukupnih koncentracija PAU dobijene analizom uzoraka na području Niša bile su veće u odnosu na reku York u Americi (Countway i saradnici, 2003), reku Kor u Iranu (Kafilzadeh i saradnici, 2011), reku Nil u Egiptu (Badawy i Embaby, 2010) i Tripui reku u Brazilu (Brum i Netto, 2009).

U svim analiziranim uzorcima zabeleženo je prisustvo naftalena, acenaftilena, acenaftena i fluorena dok su koncentracije benzo[a]pirena, indeno[1,2,3-cd]pirena, dibenzo[a,h]antracena i benzo[g,h,i]perilena bile ispod granice detekcije metode. Najveća pojedinačna koncentracija

registrovana je za fluoren, a vrednosti njegovih koncentracija bile su u granicama od $0,72 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ (21) do $9,7 \pm 0,3$ (16). Visoka koncentracija zabeležena je i za naftalen čije su koncentracije bile u granicama od $0,68 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ (20 i 33) do $8,7 \pm 0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ (40). Svetska zdravstvena organizacija propisuje maksimalno dozvoljenu koncentraciju od $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ za svaki od 16 prioriternih PAU za površinske vode (WHO, 1996). Koncentracije detektovanih PAU u svim uzorcima voda bile su veće od propisanih i smatraju se zagađenim. US-EPA propisuje maksimalnu dozvoljenu koncentraciju od $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ za benzo[a]antracen, $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ za benzo[a]piren, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten i hrizen, $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ za dibenzo[a,h]antracen i $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ za indeno[1,2,3-c,d]piren kao dokazano kancerogenih i potencijalno kancerogenih jedinjenja (ATSDR, 2008). Koncentracije potencijalno kancerogenih benzo[a]antracena, benzo[b]fluorantena, benzo[k]fluorantena i hrizena, detektovanih u analiziranim uzorcima, bile su veće od dozvoljenih koncentracija za površinske vode te se i prema ovoj regulativi zaključuje da su analizirane vode zagađene. Prema nacionalnom institutu za životnu sredinu u Holandiji, na osnovu dvadeset petogodišnje studije o uticaju PAU na slatku vodu kao deo životne sredine i akvatične organizme (RIVM, 2012), propisani su ekotoksikološki limiti (Tabela 4). Prema ovoj regulativi sve dobijene vrednosti koncentracija teških PAU bile su veće od dozvoljenih. Vrednosti koncentracija lakih PAU naftalena, acenaftilena, acenaftena, fluorena i fenantrena bile su niže dok su koncentracije antracena, u uzorcima u kojima je detektovan, bile veće od eko-toksikoloških limita.

Prisustvo lakih PAU u svim analiziranim uzorcima bilo je veće odnosu na teške PAU što se može pripisati slabijoj rastvorljivosti teških PAU u vodi i njihovim jačim vezivanjem za rečne sedimente u odnosu na lake PAU. Ukupne koncentracije lakih i teških PAU ($\mu\text{g L}^{-1}$) i procentualni doprinos koncentracija lakih i teških PAU u odnosu na ukupnu koncentraciju PAU u svakom od uzoraka prikazani su u tabeli 32. Uzorci prikupljeni na lokalitetima od 3-9 nisu sadržavali teške PAU jer se nalaze na mestima na kojima je manje drumskog saobraćaja, odnosno ovo područje je najmanje opterećeno emisijom PAU.

Tabela 32. Ukupne koncentracije lakih i teških PAU ($\mu\text{g L}^{-1}$) i njihov procentualni udeo u uzorcima rečne vode

Redni broj uzoraka	Koncentracija lakih PAU [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Koncentracija teških PAU [$\mu\text{g L}^{-1}$]	Laki PAU [%]	Teški PAU [%]
1	10,0±0,4	2,67±0,01	78,9	21,1
2	7,1±0,4	1,42±0,01	83,3	16,7
3	8,7±0,2	0	100,0	0
4	9,9±0,2	0	100,0	0
5	7,9±0,2	0	100,0	0
6	9,3±0,2	0	100,0	0
7	6,5±0,1	0	100,0	0
8	6,7±0,1	0	100,0	0
9	8,4±0,1	0	100,0	0
10	6,2±0,3	5,32±0,05	53,8	46,2
11	5,81±0,09	0,85±0	87,2	12,8
12	6,6±0,1	1,56±0	81,0	19,0
13	6,5±0,2	1,78±0,01	78,5	21,5
14	7,2±0,2	0,66±0	91,6	8,4
15	16,4±0,2	1,82±0,01	90,0	10,0
16	21,4±0,3	12,28±0,08	63,5	36,5
17	10,7±0,1	7,65±0,02	58,3	41,7
18	6,1±0,2	1,89±0,01	76,5	23,5
19	5,95±0,04	0,58±0	91,1	8,9
20	6,53±0,09	3,27±0,01	66,6	33,4
21	6,6±0,2	1,77±0,01	78,8	21,2
22	5,8±0,1	1,33±0	81,2	18,8
23	6,67±0,06	4,54±0,02	59,5	40,5
24	6,44±0,04	1,90±0,01	77,2	22,8
25	7,8±0,3	0,86±0	90,0	10,0
26	6,7±0,1	0,83±0	89,1	10,9
27	6,8±0,3	2,05±0,01	77,0	23,0
28	15,1±0,4	0,91±0	94,3	5,7
29	6,6±0,2	1,87±0,01	78,1	21,9
30	8,5±0,2	4,27±0,02	66,6	33,4
31	9,7±0,2	4,76±0,05	67,2	32,8
32	5,9±0,1	1,97±0	74,8	25,2
33	6,08±0,05	1,67±0	78,5	21,5
34	6,44±0,09	0,76±0	89,4	10,6
35	7,8±0,1	2,92±0	72,7	27,3
36	9,4±0,1	2,23±0	80,9	19,1
37	6,7±0,03	4,5±0,01	59,8	40,2
38	8,3±0,2	1,77±0	82,4	17,6
39	10,9±0,2	6,61±0,01	62,2	37,8
40	14,9±0,1	6,4±0,01	70,0	30,0

Ukupna koncentracija određenih lakih PAU, izražena procentualno, bila je u opsegu od 53,8-100 %. Slične vrednosti dobijene su analizom uzoraka vode na sadržaj PAU od strane Manolija i saradnika (2000) koji su analizirali površinske vode u severnoj Grčkoj i pronašli da je količina lakih PAU u analiziranim uzorcima bila 85,2 %. U uzorcima od 3-9, 14, 15, 19 i 28 količina PAU iznosila je od 90-100 %. U 20 od ukupno 40 uzoraka količina PAU bila je veća od 80 %, a u 32 uzorka od 40 količina lakih PAU bila je veća od 70 %. Cao i saradnici (2005) pri analizi površinskih voda Tanjina u Kini odredili su lake PAU u količini 95,9 %, Kafilzadeh i saradnici (2011), analizom uzoraka reke Kor reke u Iranu odredili su sadržaj lakih PAU u iznosu od 81,6 % i Trianrafyllaki i saradnici (2005) prilikom analize uzoraka Maliakos zaliva u Grčkoj ustanovili su da je sadržaj lakih PAU 75,0 %. U svim analiziranim uzorcima reke Nišave i njenih pritoka određene su veće ukupne koncentracije lakih u odnosu na teške PAU što se objašnjava boljim rastvaranjem lakih PAU u vodi, odnosno jačim vezivanjem teških PAU za čvrstu materiju. Na osnovu dobijenih rezultata koji su upoređeni sa zvaničnim propisima i rezultatima analize rečne (zalivske) vode drugih autora, može se zaključiti da je reka Nišava svojim kompletnim tokom kroz Srbiju zagađena policikličnim aromatičnim ugljovodonicima, pri čemu je predominantno zagađenje izazvano sadržajem lakih policikličnih aromatičnih ugljovodonika.

Izvod

5 Izvod

Među mnogobrojnim zagađivačima koji se mogu nalaziti u vodi, perzistentni organski zagađivači, gde se ubrajaju i policiklični aromatični ugljovodonici (PAU), predstavljaju veliku opasnost po životnu sredinu zbog njihovih toksičnih, potencijalno toksičnih i bioakumulativnih osobina, te je njihove koncentracije potrebno pratiti u svim delovima životne sredine, naročito u vodi, odakle mogu putem lanca ishrane, ili direktno dospeti do ljudi. Praćenje koncentracija PAU postiže se primenom postojećih ili razvojem novih analitičkih metoda. Težnja za razvijanjem novih analitičkih metoda, koje su tačne, precizne, ponovljive, selektivne a ujedno i ekonomične je stalno prisutna kod analitičara. Razvoj novih analitičkih metoda za analizu PAU, kao vrlo prisutne grupe perzistentnih organskih zagađivača u svim delovima životne sredine je od velike važnosti. Kako gotovo sve analitičke metode zahtevaju pripremu uzoraka za analizu, treba se koncentrisati na usavršavanje baš tih tehnika. Mikro-ekstrakcione procedure sve više postaju popularne kao tehnike pripreme uzoraka jer su brže, jednostavnije, efikasnije, ekonomičnije i mogu biti automatizovane. U okviru ove doktorske disertacije opisana je optimizacija i validacija disperzivne mikro-ekstrakcije čvrstom fazom (D- μ -SPE) kao tehnike pripreme uzoraka vode za analizu PAU primenom gasne hromatografije - masene spektrometrije. D- μ -SPE tehnika pripreme uzoraka vode predstavlja novi tip mikro-ekstrakcije koji se odlikuje brzinom, jednostavnošću, robustnošću, ekonomičnošću i sigurnošću i koju je moguće, uz upotrebu odgovarajućeg sorbenta, primeniti za mikro-ekstrakciju PAU iz uzoraka voda.

Razvijanje nove analitičke metode realizovano je u sledećim etapama:

- Pripremljeni su novi sorbenti na bazi prirodnog zeolita, klinoptilolita za primenu u tehnici pripreme uzoraka vode disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom;
 - Termičkom modifikacijom; i
 - Kiselinsko termičkom modifikacijom
- Optimizacioni eksperimenti podrazumevali su određivanje tačnosti metode izražene kao efikasnost. Primenjeno je ukupno 42 modifikacije klinoptilolita i to: šest termički modifikovanog klinoptilolita na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C, i 36

kiselinsko termički modifikovanog klinoptilolita gde je kao kiselina za modifikaciju korišćena hlorovodonična kiselina različitih koncentracija (0,01, 0,1, 1, 1,5, 3, 6 mol L⁻¹). Nakon modifikacije klinoptilolita kiselinom u različitim koncentracija modifikacije su termički tretirane na temperaturama od 120, 300, 400, 500, 600 i 700 °C;

- Na osnovu optimizacionih eksperimenata utvrđeno je koji sorbenti su pokazali najbolje vrednosti efikasnosti i oni su korišćeni za validaciju metoda. Primenom sorbenta koji je pripremljen upotrebom 1,5 mol L⁻¹ za modifikaciju klinoptilolita koji je termički obrađen na 500 °C (E4 modifikacija) dobijene su najbolje validacione karakteristike;
- Optimizovana je masa E4 modifikacije sorbenta;
- Optimizovana i validovana metoda je primenjena za analizu PAU realnih uzoraka vode reke Nišave u njenom kompletnom toku kroz Srbiju, kao i njenih pritoka na teritoriji opština Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka i Niš.

Najbolje vrednosti efikasnosti od ukupno 42 testirana sorbenta dobijene su primenom modifikacije pripremljene tretmanom 1,5 mol L⁻¹ hlorovodoničnom kiselinom i termički tretiranom na 500 °C. Optimizacijom mase sorbenta zaključeno je da je primenom 200 mg sorbenta postignuta zahtevana analitička efikasnost u intervalu od 70-130 % za sva analizirana jedinjenja. Vrednosti efikasnosti bile su u intervalu od 69±1 (dibenzo[a,h]antracen) do 123±1 % (piren). Granice detekcije bile su u opsegu od 0,05 µg L⁻¹ (naftalen i acenaften) do 1,36 µg L⁻¹ (benzo[a]piren). Granice kvantifikacije bile su u opsegu od 0,14 µg L⁻¹ (acenaften) do 4,13 µg L⁻¹ (benzo[a]piren). Vrednosti preciznosti merenja bile su u intervalu od 1,22 % (fluoranten) do 7,28 % za benzo[k]fluoranten. Vrednosti merne nesigurnosti bile su u opsegu od 0,11 % (fluoranten) do 0,47 % (benzo[k]fluoranten).

Optimizacionim i validacionim eksperimentima utvrđeno je da se primenom 200 mg sorbenta (pripremljenog modifikacijom klinoptilolita 1,5 mol L⁻¹ i termički tretiranog na 500 °C) u disperzivnoj mikroekstrakciji čvrstom fazom dobijaju najbolji analitički parametri i ova procedura je korišćena za analizu realnih uzoraka vode Nišave i njenih pritoka na teritoriji četiri opštine - Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka i Niš.

U svim analiziranim uzorcima rečne vode su bili prisutni naftalen, acenaften, acenaften i fluoren. Ukupna koncentracija PAU varirala je u zavisnosti od mesta uzorkovanja i bila je u opsegu od 6,47±0,04 µg L⁻¹ do 33,6±0,2 µg L⁻¹ pri čemu je zaključeno da su analizirane pritoke Nišave

doprinosile povećanju ukupne koncentracije PAU u Nišavi. Analizom uzoraka prikupljenih na ulazu i izlazu iz Pirota, Bele Palanke i Niša, ukupna koncentracija PAU bila je povećana što je potvrdilo da se proticanjem reke kroz veća naseljena mesta, ukupna zagađenost PAU jedinjenjima povećava. Dobijene pojedinačne i ukupne koncentracije PAU bile su veće od dozvoljenih granica koje propisuju zvanični propisi i može se smatrati da je reka Nišava u svom toku kroz Srbiju kontaminirana policikličnim aromatičnim ugljovodonicima od kojih su se u svim analiziranim uzorcima nalazili laki PAU u većoj koncentraciji u odnosu na teške PAU.

Summary

6 Summary

Among various pollutants that can be present in water, persistent organic pollutants, including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), represent the greatest danger for environment due to their toxic, potentially toxic and bioaccumulative properties. Their concentration should be monitored in all parts of the environment, especially in water, from where they can reach humans via the food chain or directly. Monitoring of PAH concentration is achieved by applying existing or developing new analytical methods. The intention to develop new analytical methods, which are accurate, precise, repeatable, selective and at the same time economical, is constantly present among analysts. The development of new analytical methods for the analysis of PAHs, as a very spread group of persistent organic pollutants in all parts of the environment, is of great importance. As almost all analytical methods require the preparation of samples for analysis, it is necessary to concentrate on perfecting those techniques. Microextraction procedures are becoming increasingly popular as sample preparation techniques because they are faster, simpler, more efficient, economical and can be automated. Microextraction procedures are becoming increasingly popular as sample preparation techniques that are faster, simpler, efficient, economical, and can be automated. This doctoral dissertation describes the optimization and validation of dispersive micro-solid phase extraction (D- μ -SPE) of water samples for PAHs analysis using gas chromatography-mass spectrometry. The D- μ -SPE technique represents a new type of microextraction that is characterized by speed, simplicity, robustness, cheapness, and safety, and with the use of a suitable sorbent, can be applied for the microextraction of PAHs from water samples. In the D- μ -SPE sample preparation technique, new sorbents based on natural zeolite, clinoptilolite, were used.

The development of the new analytical method was carried out in the following stages:

- New sorbents for use in dispersive micro-solid phase extraction as water samples pretreatment technique based on natural zeolite, clinoptilolite were prepared as;
- Thermal modifications; and
- Acid - thermal modifications
- Optimization experiments involved determining the accuracy of the method expressed as efficiency. A total of 42 modifications of clinoptilolite were applied: six thermally

modified clinoptilolite at temperatures of 120, 300, 400, 500, 600 and 700 °C, and 36 acid - thermal modified clinoptilolite with hydrochloric acid in different concentrations (0.01, 0.1, 1, 1.5, 3, 6 mol L⁻¹). After the modification of clinoptilolite with acid in different concentrations, the modifications were thermally treated at temperatures of 120, 300, 400, 500, 600 and 700 °C;

- Analyzing the results of optimization experiments, it was determined which sorbents showed the best efficiency values and they were used for method validations. The best validation characteristics were obtained for sorbent prepared using 1.5 mol L⁻¹ for the modification of clinoptilolite that was thermally treated at 500 °C (E4 modification);
- The mass of the E4 modification sorbent was optimized; and
- The optimized and validated method was applied for PAHs analysis of real water samples of the river Nisava and its tributaries in Serbia in the territory of the cities Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka and Nis.

The best efficiency values from 42 total tested sorbents were obtained using modifications prepared treating clinoptilolite with 1.5 mol L⁻¹ hydrochloric acid and thermally treated at 500 °C. Mass of the applied sorbent was optimized and it was concluded that the required analytical efficiency (70-130 %) was achieved with the use of 200 mg of sorbent for all analyzed compounds except for dibenzo[a,h]anthracene at the spiking level of 3 µg mL⁻¹ whose value was close to 70 % and amounted 69±1 %. Efficiency values ranged from 69±1 (dibenzo[a,h]anthracene) to 123±1 % (pyrene). Detection limits ranged from 0.05 µg L⁻¹ (naphthalene and acenaphthene) to 1.36 µg L⁻¹ (benzo[a]pyrene). Quantification limits ranged from 0.14 µg L⁻¹ (acenaphthene) to 4.13 µg L⁻¹ (benzo[a]pyrene). The precision values ranged from 1.22 % (fluoranthene) to 7.28 % for benzo[k]fluoranthene. The measurement uncertainty values ranged from 0.11 % (fluoranthene) to 0.47 % (benzo[k]fluoranthene).

Through optimization and validation experiments the best analytical parameters were obtained by using 200 mg of sorbent (prepared by modifying clinoptilolite 1.5 mol L⁻¹ and thermally treated at 500 °C) in dispersive micro-solid phase extraction and this procedure was used for the analysis of real water samples of Nisava and its tributaries on the territory of four cities (Dimitrovgrad, Pirot, Bela Palanka and Nis) in Serbia.

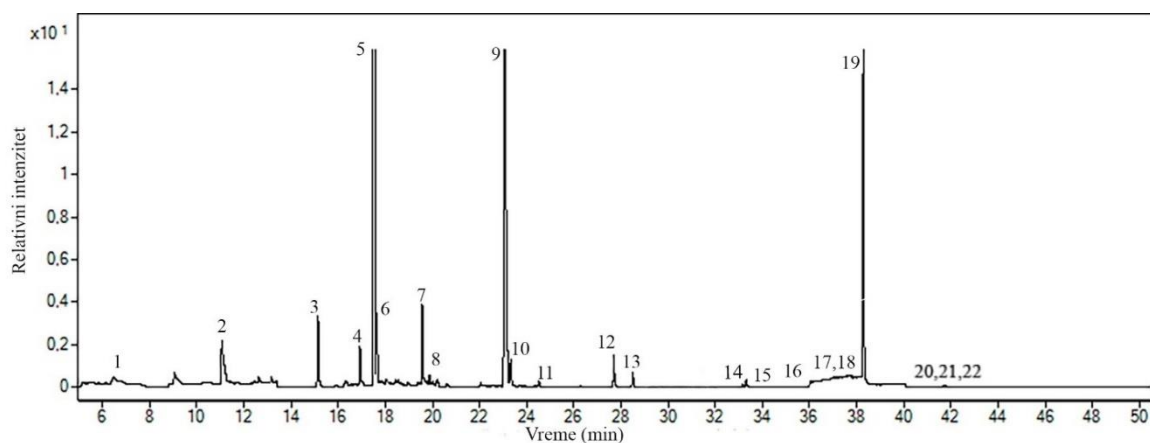
Naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene and fluorene were determined in all analysed samples. The total PAHs concentration varied depending on the sampling site and ranged from $6.47 \pm 0,04$ - $33.6 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, where tributaries of Nisava contributed to the increase of total PAHs concentration. The samples collected at the exit of Pirot, Bela Palanka and Nis showed higher total PAHs concentration than analysed samples at the entrance in those cities which confirmed increasing of PAHs pollution in Nisava river by flowing through bigger urban areas. The obtained individual and total concentration of PAHs were higher than the permissible limits determined by official regulations and it can be considered that the river Nisava in Serbia is contaminated with PAHs, where light PAHs were predominantly present in all of analysed samples.

Prilog

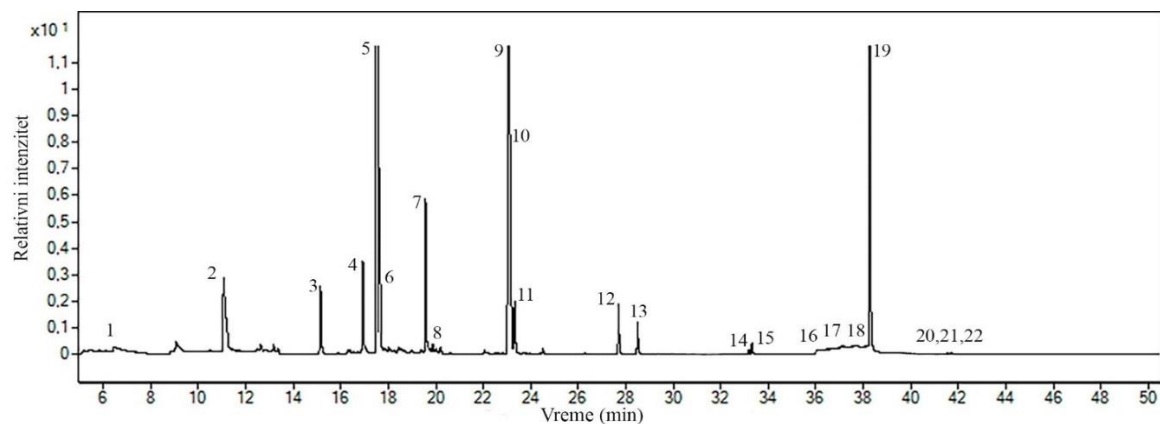
7 Prilog

Za sve slike važe brojčane oznake od 1-22 se odnose na sledeća jedinjenja:

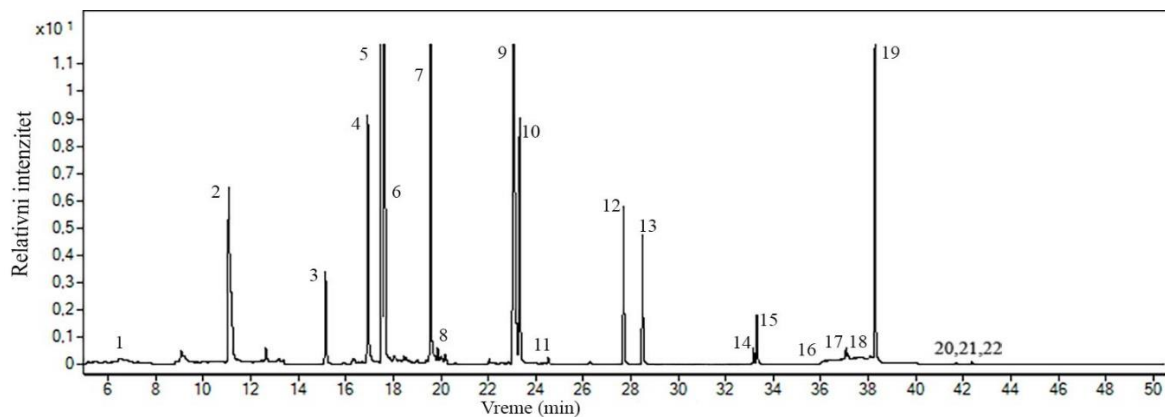
1. 2-hlorfenol-3,4,5,6-d₄ (surogat standard), 2. naftalen, 3. 2-fluorobifenol (surogat standard), 4. acenaftilen, 5. acenaften d₁₀ (unutrašnji standard), 6. acenaften, 7. 2,4,6-tribromofenol (surogat standard), 8. fluoren, 9. fenantren d₁₀ (unutrašnji standard), 10. fenantren, 11. antracen, 12. fluoranten, 13. piren, 14. hrizen, 15. benzo[a]antracen, 16. benzo[b]fluoranten, 17. benzo[k]fluoranten, 18. benzo[a]piren, 19. perilen d₁₂ (unutrašnji standard), 20. indeno[1,2,3-cd]piren, 21. dibenzo[a,h]antracen, 22. benzo[g,h,i]perilen



a)



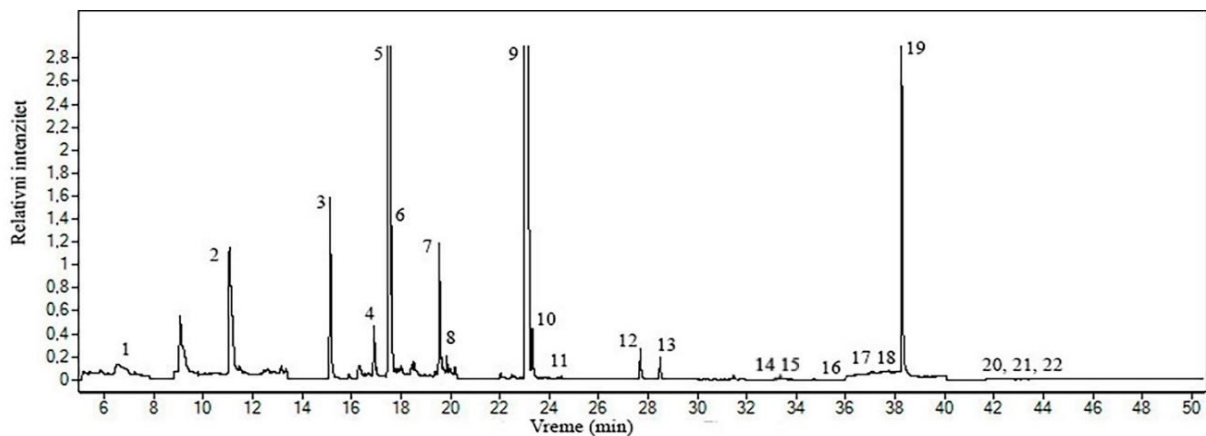
b)



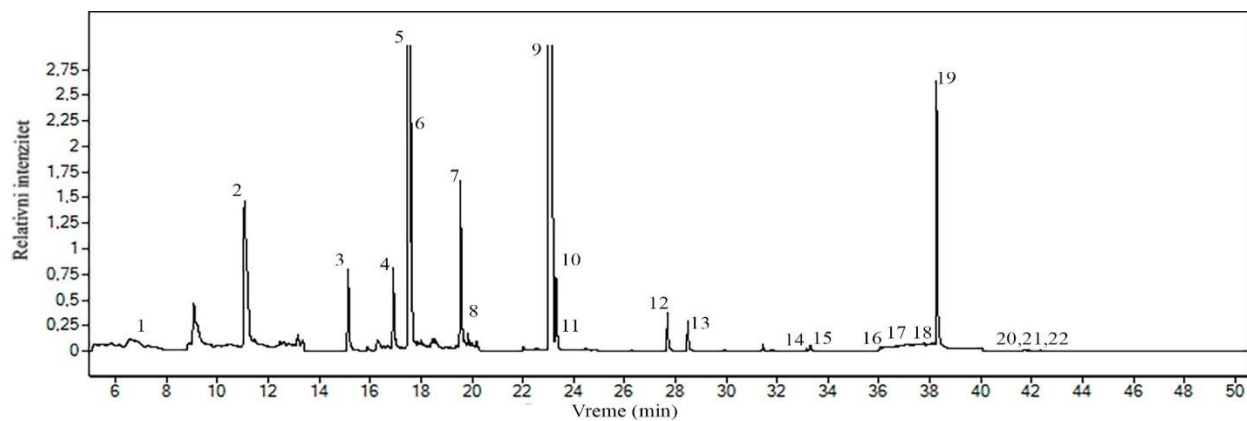
c)

Slika 26. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan 0,01 mol L⁻¹ HCl i termički tretiran na temperaturi od 120 °C (B1 modifikacija)

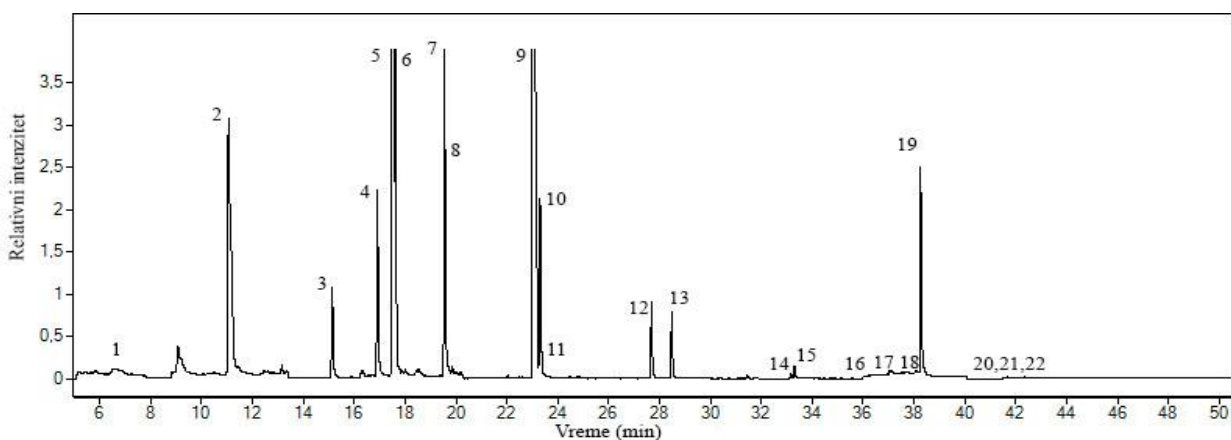
- a) nivo spajkovanja od 0,5 µg mL⁻¹
- b) nivo spajkovanja od 1,5 µg mL⁻¹
- c) nivo spajkovanja od 3 µg mL⁻¹



a)



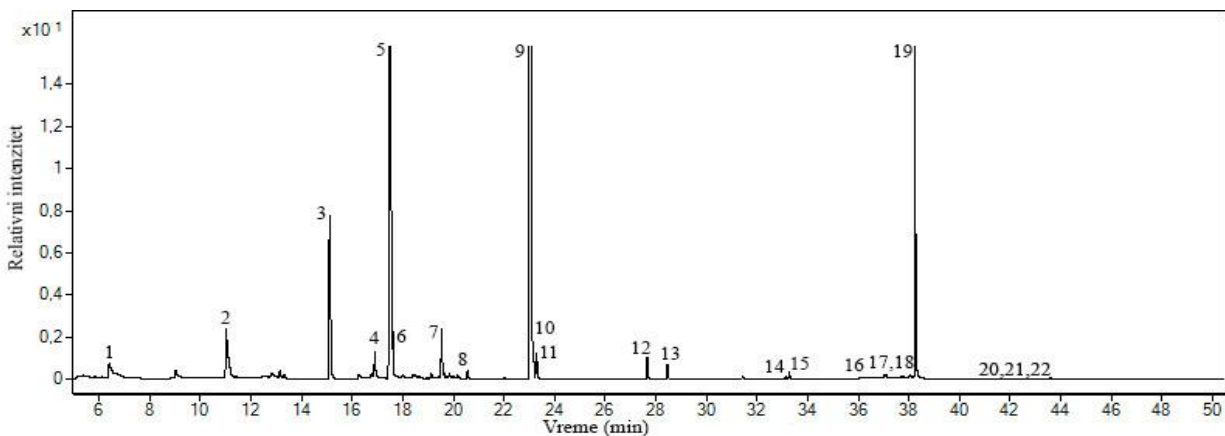
b)



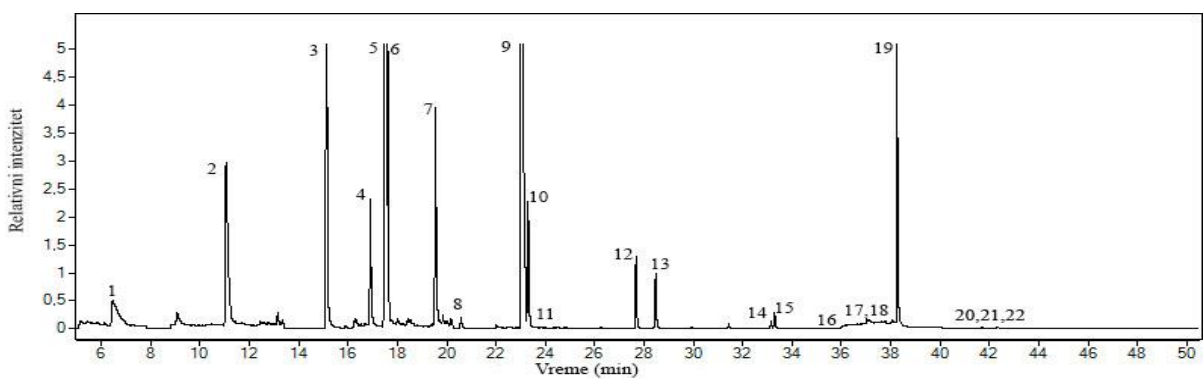
c)

Slika 27. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit kiselinsko – termički modifikovan upotrebom $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ HCl na temperaturi od $500 \text{ }^\circ\text{C}$ (C4 modifikacija)

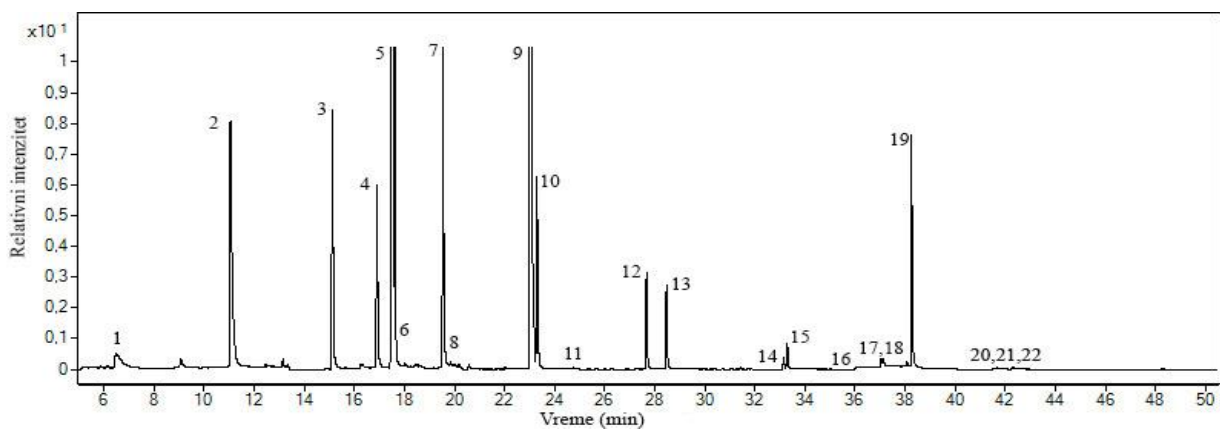
- a) nivo spajkovanja od $0,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- b) nivo spajkovanja od $1,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- c) nivo spajkovanja od $3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$



a)



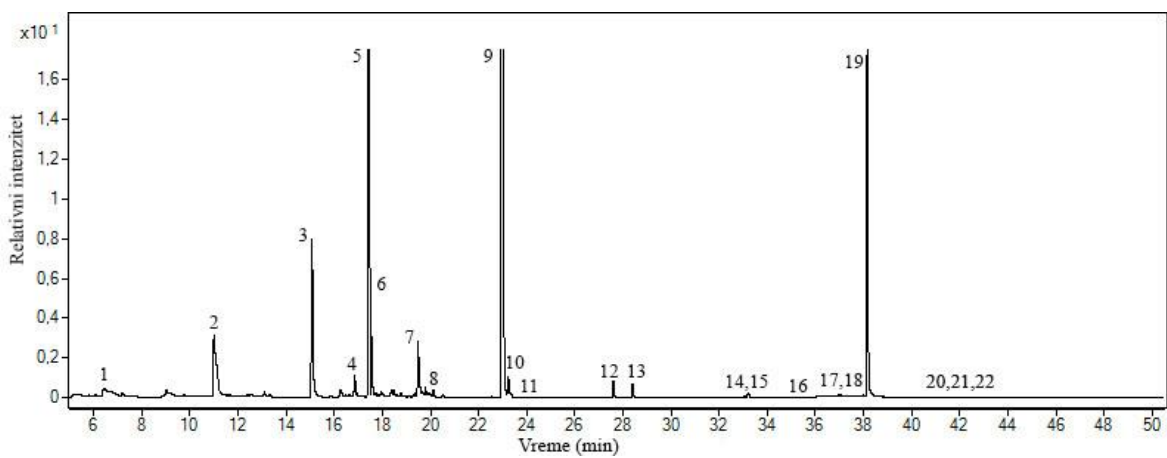
b)



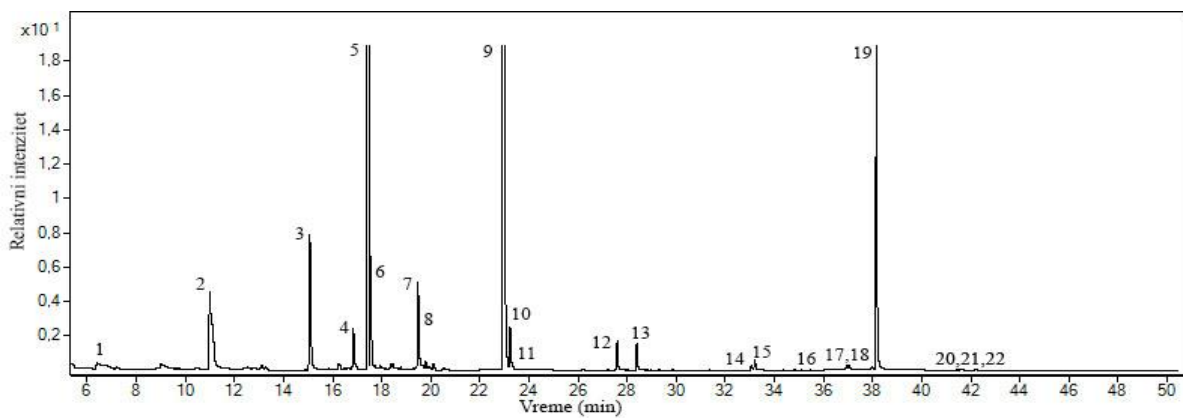
c)

Slika 28. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan sa 1 mol L^{-1} HCl i termički tretiran na $120 \text{ }^\circ\text{C}$ (D1 modifikacija)

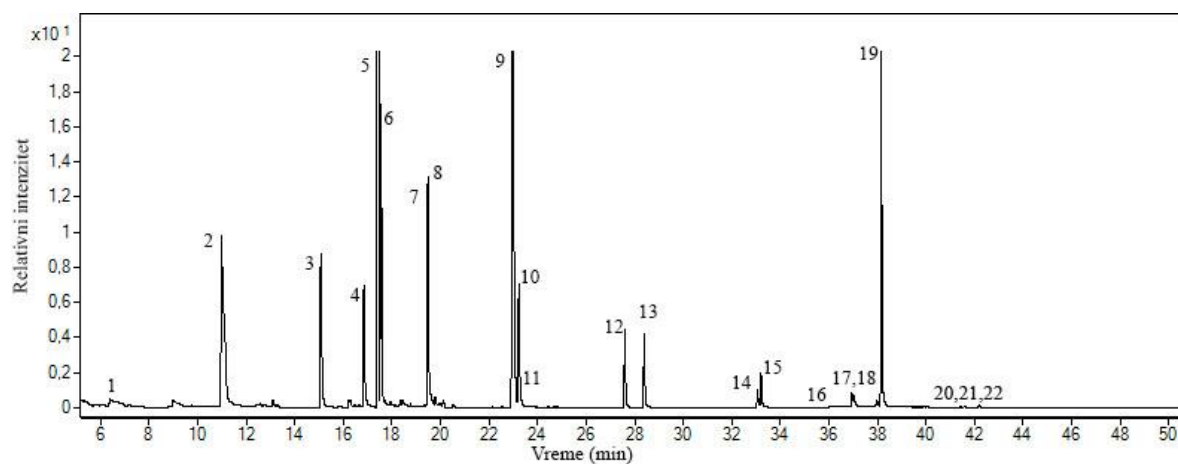
- a) nivo spajkovanja od $0,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- b) nivo spajkovanja od $1,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- c) nivo spajkovanja od $3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$



a)



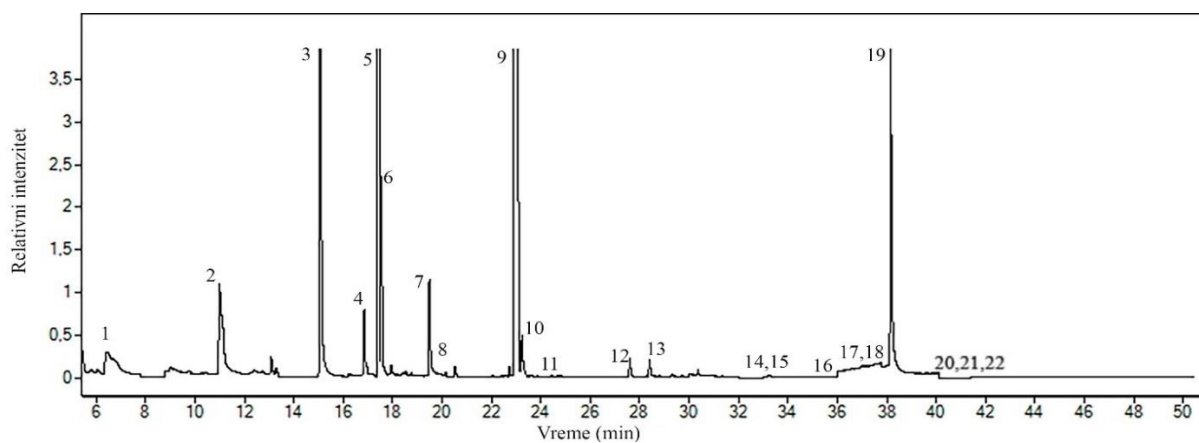
b)



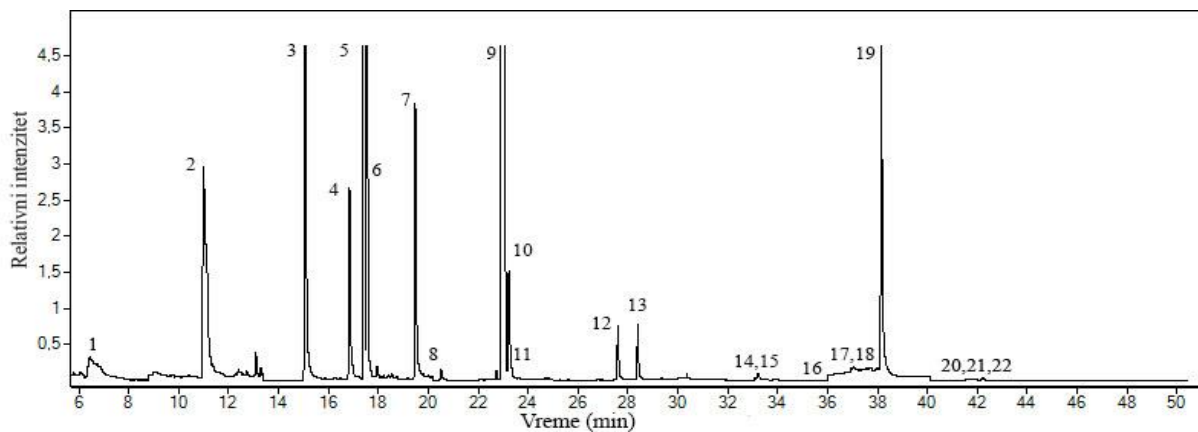
c)

Slika 29. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan 1,5 mol L⁻¹ HCl na temperaturi od 500 °C (E4 modifikacija)

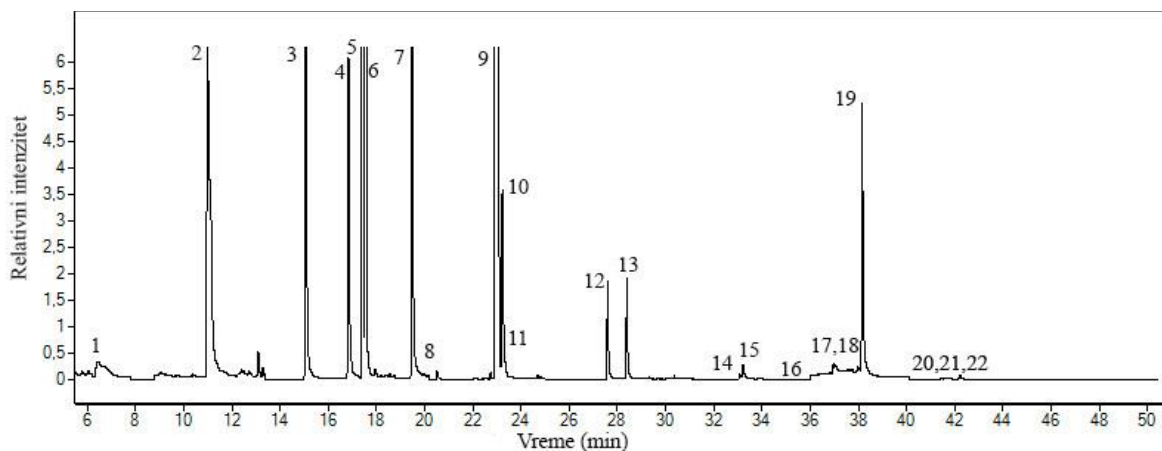
- a) nivo spajkovanja od 0,5 µg mL⁻¹
- b) nivo spajkovanja od 1,5 µg mL⁻¹
- c) nivo spajkovanja od 3 µg mL⁻¹



a)



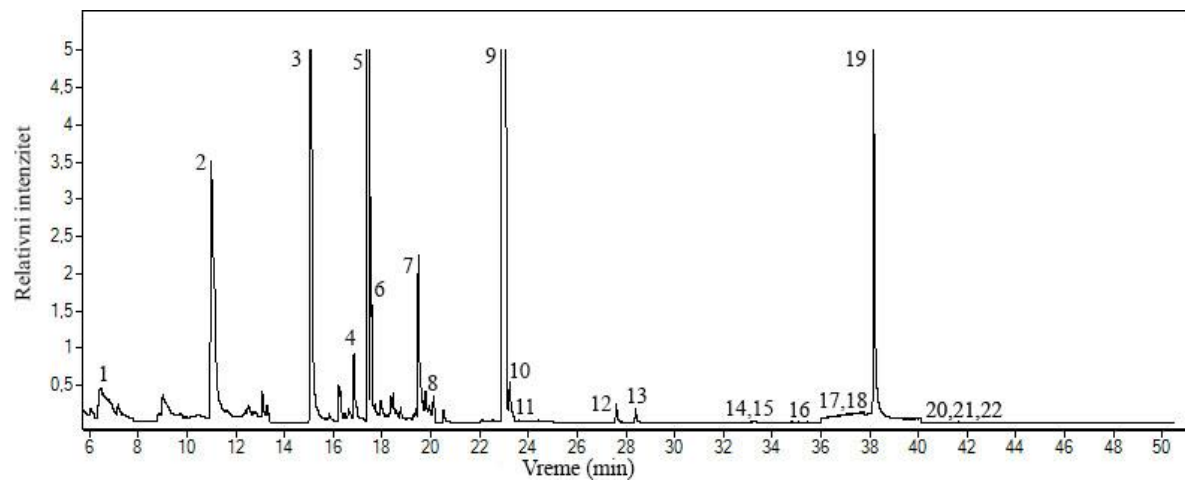
b)



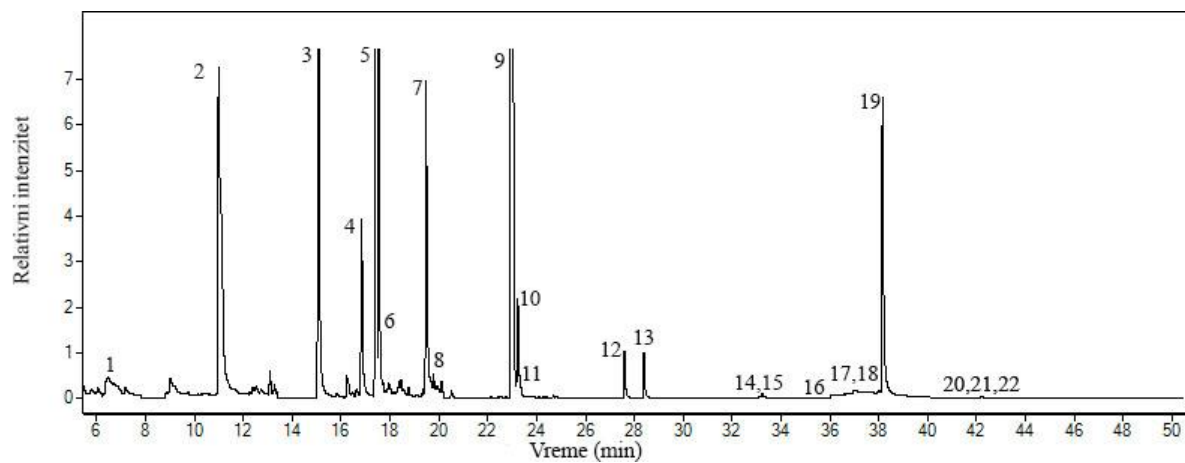
c)

Slika 30. GC - MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen klinoptilolit modifikovan sa 3 mol L^{-1} i termički tretiran na temperaturi od $400 \text{ }^\circ\text{C}$ (F3 modifikacija)

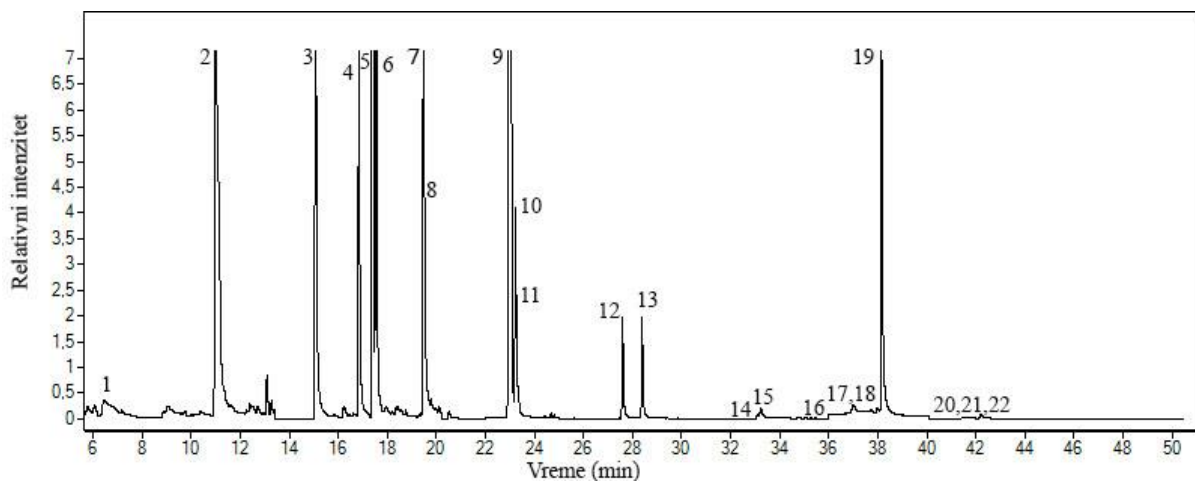
- a) nivo spajkovanja od $0,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- b) nivo spajkovanja od $1,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- c) nivo spajkovanja od $3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$



a)



b)



c)

Slika 31. GC – MS hromatogram dobijen snimanjem ekstrakta uzorka pripremljenog disperzivnom mikroekstrakcijom čvrstom fazom gde je kao sorbent primenjen modifikacija klinoptilolita pripremljena upotrebom 6 mol L^{-1} i termički tretirana na temperaturi od $500 \text{ }^\circ\text{C}$ (G4 modifikacija)

- a) nivo spajkovanja od $0,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- b) nivo spajkovanja od $1,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$
- c) nivo spajkovanja od $3 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$

Reference

8 Reference

Abboud, A. S., Sanagi, M. M., Ibrahim, W. A. W., Keyon, A. S. A., Aboul - Enein, H. Y., (2018). Calcium alginate-caged multiwalled carbon nanotubes dispersive micro solid phase extraction combined with gas chromatography-flame ionization detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatographic Science*, 56 (2):177–186.

Abdel-Rehim, M., (2004). New trend in sample preparation: On-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications. *Journal of Chromatography B*, 801(2), 317–321. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2003.11.042>

Abdel-Rehim, M., (2010). Recent advances in microextraction by packed sorbent for Bioanalysis. *Journal of Chromatography A*, 1217 (16), 2569–2580. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.053>

Abdel-Rehim, M., (2011). Microextraction by packed Sorbent (meps): A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 701 (2), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.05.037>

Abdel-Rehim, M., Zeneca, A., (2003). Application: Syringe for solid phase microextraction. *Current Patents Gazette*. WO 03019149, 77.

Abdel-Shafy, H. I., Mansour, M. S. M., (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25 (1), 107–123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) biologic exposure indices (BEI) Cincinnati. OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists; 2005.

Achten, C., Andersson, J. T., (2015). Overview of polycyclic aromatic compounds (PAC). *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35(2-4), 177–186. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.994071>

Adeniji, A. O., Okoh, O. O., Okoh, A. I., (2019). Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Water and Sediment of Buffalo River Estuary, South Africa and Their Health Risk Assessment.

Archives of Environmental Contamination and Toxicology 76, 657–669
<https://doi.org/10.1007/s00244-019-00617-w>

Adetunji A. A., Beatrice O. O., Olatunde S. O., Olalekan S. F., Vanessa A. J., Reinette G. S., (2020). Occurrence of pahs in water samples of the Diep River, South Africa. Water SA, 46 (1), 80-93. <https://doi.org/10.17159/wsa/2020.v46.i1.7888>

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), (1995). Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. U.S. Department of Health and Human Services.

Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR), (2008). Encyclopedia of Global Health. <https://doi.org/10.4135/9781412963855.n24>

Ahmadi, M., Haghighi, M., Kahforoushan, D., (2017). Influence of active phase composition (Mn, Ni, $Mn_{mn} \times Nni_{10-x}$) on catalytic properties and performance of clinoptilolite supported nanocatalysts synthesized using ultrasound energy toward abatement of toluene from polluted air. Process Safety and Environmental Protection, 106, 294–308. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.06.029>

Akkanen, J., Tuikka, A., Kukkonen, J.V.K., (2012). On the borderline of dissolved and particulate organic matter: partitioning and bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. Ecotoxicology and Environmental Safety, 78, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.11.010>

Akvan, N., Azimi, G., Parastar, H., (2019). Chemometric assisted determination of 16 PAHs in water samples by ultrasonic assisted emulsification microextraction followed by fast high-performance liquid chromatography with Diode Array Detector. Microchemical Journal, 150, 104056. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104056>

Al-Agroudy, N., Soliman Y. A., Hamed, M. A., Zaghloul G. Y., (2017). Distribution of PAHs in water, sediments samples of Suez Canal during 2011. Journal of Aquatic Pollution and Toxicology.1 (1):1-10

Anastassiades, M., (2006), CRL-SRM 1st Joint CRL Workshop, Stuttgart. http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/srm/1stws2006_lecture_anastassiades_quechers.pdf

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., Schenck, F. J., (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC international*, 86 (2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>

Ardag, H., Ozel, M. Z., Sen, A., (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons in water from the Menderes River, Turkey. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(2), 221–225. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0199-x>

Arey, J., Atkinson, R., (2003). Photochemical reactions of PAH in the atmosphere, in: P.E.T. Douben (Ed.), *PAHs: an ecotoxicological perspective*, John Wiley and Sons Ltd, New York, pp. 47–63.

Argoti, D., (2008). Liquid chromatography-mass spectrometry for the detection and characterization of DNA na biomarkers and reactive metabolites: A dissertation (dissertation). Northeastern University, Boston, MA.

Arias, A. H., Spetter, C. V., Freije, R. H., Marcovecchio, J. E., (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, mussels (*Brachidontes* sp., *tagelus* sp.) and fish (*Odontesthes* sp.) from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85 (1), 67-81. <https://doi:10.1016/j.ecss.2009.06.008>

Armbruster, T., (2001). Clinoptilolite-Heulandite: Applications and basic research. *Studies in Surface Science and Catalysis*, 13–27. [https://doi.org/10.1016/s0167-2991\(01\)81183-6](https://doi.org/10.1016/s0167-2991(01)81183-6)

Arthur, C. L., Pawliszyn, J., (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers, *Analytical Chemistry*, 62, 2145-2148.

Ayuso, E. A., Sancheza, A.G., Querol. A.G., (2003). Purification of metal electroplating waste waters using zeolites, *Water Research* , 37, 4855–4862. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.08.009>

Azevedo, D., de Gerchon, E., Reis, E. O., (2004). Monitoring of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in water from Paraíba do sul river, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15 (2), 292–299. <https://doi.org/10.1590/s0103-50532004000200021>

Badawy, M. I., Embaby, M. A., (2010). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water in Egypt. *Desalination*, 251 (1-3), 34-40. <https://doi:10.1016/j.desal.2009.09.148>

Baerlocher, C. H., H. McCusker, L. B., D. H. Olson., D. H., (2007). Atlas of zeolite framework types, Sixth edition, Radarweg 29, PO Box 211, 1000 AE Amsterdam, The Netherlands, Linacre House, Jordan HILL, Oxford, UK

Baltussen, E., David, F., Sandra, P., Janssen, H.G., Cramers, C. A., (1998). Retention model for sorptive extraction–thermal desorption of aqueous samples: Application to the automated analysis of pesticides and polyaromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of Chromatography A*, 805 (1-2), 237–247. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(98\)00011-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(98)00011-9)

Baltussen, E., Sandra, P., David, F., Cramers, C., (1999). Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *Journal of Microcolumn Separations*, 11 (10), 737–747. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1520-667x\(1999\)11:10<737::aid-mcs7>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1520-667x(1999)11:10<737::aid-mcs7>3.0.co;2-4)

Barrer, V. R. M., (1978). *Zeolites and Clay Minerals as Sorbents and Molecular Sieves*, Academic Press, London.

Bekki, K., Takigami, H., Suzuki, G., Tang, N., Hayakawa, K., (2009). Evaluation of toxic activities of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives using in vitro bioassays. *Journal of Health Science*, 55 (4), 601–610. <https://doi.org/10.1248/jhs.55.601>

Beltran, F. J., Ovejero, G., Garcia-Araya, J. F., Rivas, J., (1995). Oxidation of polynuclear aromatic hydrocarbons in water. 2. UV radiation and ozonation in the presence of UV radiation. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 34 (5), 1607–1615. <https://doi.org/10.1021/ie00044a013>

Beyer, H. K., (2002). *Dealumination Techniques for Zeolites, Molecular Sieves*, Vol. 3, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Beyer, J., Jonsson, G., Porte, C., Krahn, M. M., Ariese, F., (2010). Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A Review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30 (3), 224–244. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.08.004>

Bharti Mittu, A. C., Chauhan, P., (2015). Analytical Method Development and validation: A concise review. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*, 06 (01). <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000233>

Bispo, J. R. L., Navickiene S., Dórea, H. S., (2011). Dórea HS .Method validation for SPE applied to determination of PAH in petroliferous industry effluent water. *American Journal of Analytical Chemistry.*; 2, 971-978. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2006.06.002>

Borai, E. H., Harjula, R., Malinen, L., PaaJanen, A., (2009). Efficient removal of cesium from low-level radioactive liquid waste using natural and impregnated zeolite minerals, *Journal of Hazardous Materials*, 172, 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.07.033>

Boveri, M., Márquez-Álvarez, C., Laborde, M. Á., Sastre, E., (2006). Steam and acid dealumination of mordenite. *Catalysis Today*, 114 (2-3), 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2006.01.012>

Breck, D. W., (1974). X. Zeolite molecular sieve structure in *Chemistry and Use*, Wiley Interscience, New York.

Breck, D. W., (1997). *Zeolite Molecular Sieves, Structure, Chemistry and Use*, John Wiley & Sons New York, USA

Brito., N. M., Amarante., O. P. J., Polese L., Santos T. C. R., Ribeiro M. L., (2002). Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação, *Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente* 12, 155–168. <https://doi.org/10.5380/pes.v13i0.3173>

Brum, D. M., Netto, A. D., (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Tripuí River, Ouro Preto, MGg, Brazil. *Journal of Hazardous Materials*, 165 (1-3), 447-453. <https://doi:10.1016/j.jhazmat.2008.10.015>

Bruzzoniti, M. C., Fungi, M., Sarzanini, C., (2010). Determination of EPA's priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking waters by solid phase extraction-HPLC. *Analytical Methods*, 2 (6), 739. <https://doi.org/10.1039/b9ay00203k>

Cao Z., Wang Y., Mab Y., Xua Z., Shi G., Zhuang Y., Zhua T., (2005). Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in reclaimed water and surface water of Tianjin, China. *Journal of Hazardous Materials A*, 122, 51-59. <https://10.1155/2012/403615>

Carey, W., Bish, D. L., (1996). Equilibrium in the clinoptilolite - H₂O system, *Amer. Mineral.* 81, 952-962

Carvalho, F. I. M., Dantas Filho, H. A., Dantas, K. G. F., (2019). Simultaneous determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in groundwater by GC-FID after solid-phase extraction. *SN Applied. Science.* 1, 804. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0839-z>

Casado, N., Gañán, J., Morante-Zarcelo, S., Sierra, I., (2020). New Advanced Materials and sorbent-based microextraction techniques as strategies in sample preparation to improve the determination of natural toxins in food samples. *Molecules*, 25 (3), 702. <https://doi.org/10.3390/molecules25030702>

Casado-Carmona, F. A., Alcudia-León, M., del, Lucena, R., Cárdenas, S., Valcárcel, M., (2016). Magnetic nanoparticles coated with Ionic liquid for the extraction of endocrine disrupting compounds from waters. *Microchemical Journal*, 128, 347–353. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.05.011>

Castillo, J. M., Silvestre-Albero, J., Rodriguez-Reinoso, F., Vlugt, T. J., i Calero, S., (2013). Water adsorption in hydrophilic zeolites: Experiment and simulation. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15 (40), 17374-17382. <https://doi.org/10.1039/c3cp52910j>

Chen, B., Xuan, X., Zhu, L., Wang, J., Gao, Y., Yang, K., Shen, X., Lou, B., (2004). Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface waters, sediments and soils of Hangzhou City, China. *Water Research*, 38 (16), 3558–3568. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.05.013>

Chen, H. W., (2004). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid-phase microextraction and liquid chromatography. *Analytical Sciences: The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 20, 1383-1388.

Cheong Y.W., Wong K.L., Ooi B.S., Ling T.C., Khoerunnisa F., Ng E.P. (2020). Effects of synthesis parameters on crystallization behavior of k-mer zeolite and its morphological properties on catalytic cyanoethylation reaction. *Crystals*, 10, 64. <https://doi.org/10.3390/cryst10020064>

Chibani, S., Chebbi, M., Lebègue, S., Bučko, T., Badawi, M., (2016). A DFT investigation of the adsorption of iodine compounds and water in H-, Na-, Ag-, and Cu- mordenite. *The Journal of Chemical Physics*, 144 (24), 244705. <https://doi.org/10.1063/1.4954659>

Chisvert, A., Cárdenas, S., Lucena, R., (2019). Dispersive micro-solid phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.12.005>

Christidis, G., (2003). Chemical and thermal modification of natural heu-type zeolitic materials from Armenia, Georgia and Greece. *Applied Clay Science*, 24(1-2), 79–91. [https://doi.org/10.1016/s0169-1317\(03\)00150-9](https://doi.org/10.1016/s0169-1317(03)00150-9)

Collins, J. F., Brown, J. P., Alexeeff, G. V., Salmon, A. G., (1998). Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 28 (1), 45–54. <https://doi.org/10.1006/rtph.1998.1235>

Countway R.,E., Dickhut R., M., Canuel E.,A., (2003) Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) distributions and associations with organic matter in surface waters of the York River, VA Estuary. *Organic Geochemistry*, 34, 209-224. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00162-6](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00162-6)

Csicsery, S., (1986). Catalysis by shape selective zeolites-science and technology. *Pure and Applied Chemistry*, 58(6), 841-856. <https://doi.org/10.1351/pac198658060841>

Cvetkovic, J. S., Mitic, V. D., Stankov Jovanovic, V. P., Dimitrijevic, M. V., Petrovic, G. M., Nikolic-Mandic, S. D., i Stojanovic, G. S., (2016). Optimization of the QuEChERS extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Methods*, 8 (7), 1711–1720. <https://doi.org/10.1039/c5ay03248b>

Czaplicki, S., (2013). Chromatography in bioactivity analysis of compounds. *Column Chromatography*. <https://doi.org/10.5772/55620>

Ćirić, S., Mitić, V., Jovanović, S., Ilić, M., Nikolić, J., Stojanović, G., i Stankov Jovanović, V., (2018). Dispersive micro-solid phase extraction of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons from water by using thermally treated clinoptilolite, and their quantification by GC-MS. *Microchimica Acta*, 185, (12). <https://doi.org/10.1007/s00604-018-3091-0>

Dawadi, S., Thapa, R., Modi, B., Bhandari, S., Timilsina, A. P., Yadav, R. P., Aryal, B., Gautam, S., Sharma, P., Thapa, B. B., Aryal, N., Aryal, S., Regmi, B. P., Parajuli, N., (2021). Technological advancements for the detection of antibiotics in food products. *Processes*, 9 (9), 1500. <https://doi.org/10.3390/pr9091500>

de Castro Vasconcellos, P., da Rocha, G. O., Caramão, E. B., Machado, M. E., Krause, L. C., (2015). Chromatographic techniques for organic analytes. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 267–309. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2015.09.009>

de Maagd, P. G.J., ten Hulscher, D. T. E. M., van den Heuvel, H., Opperhuizen, A., Sijm, D. T. H. M., (1998). Physicochemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons: Aqueous solubilities, n-octanol/water partition coefficients, and Henry's Law Constants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17 (2), 251. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1998\)017<0251:ppopah>2.3.co;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1998)017<0251:ppopah>2.3.co;2)

de Sousa, F. A., Guido Costa, A. I., de Queiroz, M. E., Teófilo, R. F., Neves, A. A., de Pinho, G. P., (2012). Evaluation of matrix effect on the GC response of eleven pesticides by PCA. *Food Chemistry*, 135 (1), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.063>

Devi, N. L., Yadav, I. C., Shihua, Q., Dan, Y., Zhang, G., Raha, P., (2016). Environmental carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in soil from Himalayas, India: Implications for spatial distribution, sources apportionment and risk assessment. *Chemosphere*, 144, 493–502. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.062>

Di Toro, D. M., McGrath, J. A., Hansen, D. J., (2000). Technical basis for narcotic chemicals and polycyclic aromatic hydrocarbon criteria. I. Water and tissue. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (8), 1951–1970. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190803>

Djurovic, R., (2011). Solid phase microextraction (SPME) in determination of pesticide residues in soil samples. *Pesticidi i Fitomedicina*, 26 (3), 177–184. <https://doi.org/10.2298/pif1103177d>

Dong, C.D., Chen, C.F., Chen, C.W., (2012). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in industrial harbor sediments by GC-MS. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9 (6), 2175–2188. <https://doi.org/10.3390/ijerph9062175>

Dong, J., Xia, X., Wang, M., Xie, H., Wen, J., Bao, Y., (2016). Effect of recurrent sediment resuspension-deposition events on bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environments. *Journal of Hydrology*, 540, 934–946. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2016.07.009>

Doong R. A., Lin Y. T., (2004). Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminations in surface sediments and water from Gao-ping River, Taiwan. *Water Research*, 38, 1733-1744. <https://10.1016/j.watres.2003.12.042>

Doula, M. K., (2006). Removal of Mn²⁺ ions from drinking water by using clinoptilolite and a clinoptilolite - Fe oxide system. *Water Research*, 40 (17), 3167–3176. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.07.013>

Edokpayi J. N., Odiyo J.O., Popoola O.E., Msagati T. A. M., (2016). Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rivers, sediments and wastewater effluents in Vhembe District, South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13, 387. <https://10.3390/ijerph13040387>

El-Alawi, Y. S., McConkey, B. J., George Dixon, D., Greenberg, B. M., (2002). Measurement of short - and long -term toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons using luminescent bacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51 (1), 12–21. <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2108>

El-Beqqali, A., Kussak, A., Abdel-Rehim, M., (2006). Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1114 (2), 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.024>

Emami Moghaddam, S. A., Harun, R., Mokhtar, M. N., Zakaria, R., (2018). Potential of zeolite and algae in biomass immobilization. *BioMed Research International*, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2018/6563196>

Endo, S., Yoshimura, M., Kumata, H., Uchida, M., Yabuki, Y., Nakata, H., (2020). Reduced bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments impacted by carbon

manufacturing plant effluent: Evaluation by ex situ passive sampling method. *Environmental Pollution*, 256, 113448. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113448>

Environmental risk limits for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). (n.d.). Retrieved August 7, 2022, from <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/607711007.pdf>

EPA Method 8270D (1998) (SW-846): Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), Revision 4.

EPA procedure 8310 (1986) Polycyclic aromatic hydrocarbons.

European Council, (1998). Council Directive 98/83/EC, of 3 November 1998, on the Quality of Water Intended for Human Consumption. L 330/32. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:31998L0083>

Faraji, H., Husain, S. W., Helalizadeh, M., (2011). β -cyclodextrin-bonded silica particles as novel sorbent for stir bar sorptive extraction of phenolic compounds. *Journal of Chromatographic Science*, 49 (6), 482–487. <https://doi.org/10.1093/chrscl/49.6.482>

Fernandes, M., Sicre, M., Boireau, A., Tronczynski, J., (1997). Polyaromatic Hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 34 (11), 857-867. [https://doi:10.1016/s0025-326x\(97\)00063-5](https://doi:10.1016/s0025-326x(97)00063-5)

Fu, P. P., Xia, Q., Sun, X., Yu, H., (2012). Phototoxicity and environmental transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)—light-induced reactive oxygen species, lipid peroxidation, and DNA damage. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 3 (1), 1-41. <https://doi:10.1080/10590501.2012.653887>

Fu, S., Fan, J., Hashi, Y., Chen, Z., (2012). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples using online microextraction by packed sorbent coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 94, 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.03.010>

Galán-Cano, F., Lucena, R., Cárdenas, S., Valcárcel, M., (2011). Direct coupling of dispersive micro-solid phase extraction and thermal desorption for sensitive gas chromatographic analysis. *Analytical Methods*, 3 (4), 991. <https://doi.org/10.1039/c1ay05033h>

Garcia-Basabe, Y., Rodriguez-Iznaga, I., de Menorval, L.C., Llewellyn, P., Maurin, G., Lewis, D. W., Binions, R., Autie, M., i Ruiz-Salvador, A. R., (2010). Step - wise dealumination of natural clinoptilolite: Structural and physicochemical characterization. *Microporous and Mesoporous Materials*, 135 (1-3), 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.07.008>

Gorleku M. A., Carboo D., Palm L. M. N., Quasie W. J., Armah A. K., (2014). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in marine waters and sediments at the Tema Harbour, Ghana. *Academia Journal of Environmental Sciences*, 2 (7), 108-115. <https://10.15413/ajes.2014.0112>

Grce, M., Pavelić, K., (2005). Antiviral properties of clinoptilolite. *Microporous and Mesoporous Materials*, 79 (1-3), 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2004.10.039>

Guo, G. H., Wu, F. C., He, H. P., Zhang, R. Q., Li, H. X., Feng, C. L., (2012). Distribution characteristics and ecological risk assessment of pahs in surface waters of China. *Science China Earth Sciences*, 55 (6), 914–925. <https://doi.org/10.1007/s11430-012-4434-z>

Gupta; P. C., (2015). Method Validation of Analytical Procedures; *PharmaTutor*, 3 (1); 32-39

Haapea, P., Tuhkanen, T., (2006). Integrated treatment of PAH contaminated soil by soil washing, ozonation and biological treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 136 (2), 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.12.033>

Hajisamoh A., (2013). Pollution levels of 16 priority PAHs in the major rivers of Southern Thailand. *Research and Reviews. Journal of Chemistry*, 2 (1):7-11.

Hauser, B., Popp, P., Bauer, C., (2002). Semiautomated stir bar sorptive extraction (SBSE) in combination with HPLC-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Global Analytical Solutions*, 1-5.

Hinshaw, J. V., (2003). Solid-phase microextraction. *LCGC*, 22 (1), 32-34.

Hisamuddin, N. H., Jalaludin, J. (2022). Children’s exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs): A review on urinary 1-hydroxypyrene and associated health effects. *Reviews on Environmental Health*, -. <https://doi:10.1515/reveh-2021-0013>

HMSO, (1985). The determination of 6 specific PAHs. Materials for the examination of waters and associated materials, Her Majesty's Stationery Office, London

Honda, M., Suzuki, N., (2020). Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17 (4), 1363. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041363>

Horwitz, W., (2003). Validation: an invisible component of measurement. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Huang, X. D., Dixon, D. G., Greenberg, B. M., (1993). Impacts of UV radiation and photomodification on the toxicity of pahs to the higher plant Lemna Gibba (duckweed). Environmental Toxicology and Chemistry, 12 (6), 1067. [https://doi.org/10.1897/1552-8618\(1993\)12\[1067:iourap\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1897/1552-8618(1993)12[1067:iourap]2.0.co;2)

Inglezakis, V. J., Zorpas, A. A., (2012). Handbook of natural zeolites. Bentham Science.

Inglezakis, V.J., Zorpas, A.A., (2012). Handbook of Natural Zeolites, eISBN: 978-1-60805-261-5, ISBN: 978-1-60805- 446-6

International Agency for Research on Cancer (IARC), (2010). Some non - heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.

International Organization for Standardization (ISO), ISO 5725, (1994). Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results Part 1: General Principles and Definitions, pp. 1e17. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:5725:-1:ed-1:v1:en>

ISO procedure 1799, (2002). Water quality - determination of 15 PAHs in water by HPLC with fluorescence detection.

Jánská, M., Tomaniová, M., Hajšlová, J., Kocourek, V., (2006). Optimization of the procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in fish tissue: estimation of measurements uncertainty. Food Additives and Contaminants, 23(3), 309– 325. <https://doi.org/10.1080/02652030500401207>

Jiang, N., Shang, R., Heijman, S. G. J., Rietveld, L. C., (2018). High - silica zeolites for adsorption of organic micro - pollutants in water treatment: A Review. *Water Research*, 144, 145–161. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.07.017>

Jiao, L., Zheng, G. J., Minh, T. B., Richardson, B., Chen, L., Zhang, Y., Yeung, L. W., Lam, J. C. W., Yang, X., Lam, P. K. S., Wong, M. H., (2009). Persistent toxic substances in remote lake and coastal sediments from Svalbard, Norwegian Arctic: Levels, sources and fluxes. *Environmental Pollution*, 157 (4), 1342–1351. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.030>

João Ramalhosa, M., Paíga, P., Morais, S., Delerue-Matos, C., Prior Pinto Oliveira, M. B., (2009). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: Evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method. *Journal of Separation Science*, 32 (20), 3529–3538. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900351>

Jovanovic, M., Rajic, N., Obradovic, B., (2012). Novel kinetic model of the removal of divalent heavy metal ions from aqueous solutions by natural clinoptilolite. *Journal of Hazardous Materials*, 233-234, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.06.052>

Kabziński, A. K. M., Cyran, J., Juszczak, R., (2002). Determination of Polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Łódź. *Polish Journal of Environmental Studies*, 11(6), 695-706.

Kafilzadeh F., Shiva A. H., Malekpour R., (2011). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water and sediments of the Kor River, Iran. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 10 (1), 01-07.

Kalra, K., (2011). Method development and validation of Analytical Procedures. *Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas*. <https://doi.org/10.5772/19894>

Kamens, R. M., Guo, Z., Fulcher, J. N., Bell, D. A., (1988). The influence of humidity, sunlight, and temperature on the daytime decay of polyaromatic hydrocarbons on atmospheric soot particles. *Environmental Science and Technology*, 22(1), 103-108. <https://doi:10.1021/es00166a012>

Kao, T. H., Chen, S., Huang, C. W., Chen, C. J., Chen, B. H., (2014). Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in kindling-free-charcoal grilled meat products in Taiwan. *Food and Chemical Toxicology*, 71, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.05.033>

Karyab, H., Yunesian, M., Nasser, S., Mahvi, A.H., Ahmadkhaniha, R., Rastkari, N., Nabizadeh, R., (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water of Tehran, Iran. *Journal of Environmental. Health Science and. Engineering.*, 11, 25. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-11-25>

Kasic, V., Mihajlovic, S., Zivotic, D., Simic, V., Stojanovic, J., Sekulic, Z., Kragovic, M., (2018). Characterization of the zeolitic tuff from the “Igrös-vidojevici” deposit regarding geological and technological aspects. *Chemical Industry*, 72 (1), 29–37. <https://doi.org/10.2298/hemind170428015k>

Kataoka, H., (2003). New trends in sample preparation for clinical and pharmaceutical analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22 (4), 232–244. [https://doi.org/10.1016/s0165-9936\(03\)00402-3](https://doi.org/10.1016/s0165-9936(03)00402-3)

Kawaguchi, M., Ito, R., Saito, K., Nakazawa, H., (2006). Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40 (3), 500–508. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.08.029>

Khalili-Fard, V., Ghanemi, K., Nikpour, Y., Fallah-Mehrjardi, M., (2012). Application of sulfur microparticles for solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sea water and wastewater samples. *Analytica Chimica Acta*, 714, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.065>

Khezeli, T., Daneshfar, A., (2017). Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and Nano Sorbents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 89, 99–118. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.004>

Kim, D., Kumfer, B. M., Anastasio, C., Kennedy, I. M., Young, T. M., (2009). Environmental aging of polycyclic aromatic hydrocarbons on soot and its effect on source identification. *Chemosphere*, 76 (8), 1075-1081. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2009.04.031>

King, J. A., James, Readman, W. John, Zhou, L., (2003). Application of solid-phase microextraction (SPME) to the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environmental Geochemistry and Health*, 25, 69-75.

Kocot, K., Zawisza, B., Margu, E., Queralt, I., Hidalgo, M., Sitko, R., (2013). Dispersive micro solid-phase extraction using multiwalled carbon nanotubes combined with portable total-reflection X-ray fluorescence spectrometry for the determination of trace amounts of PbB and CdD in water samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 28 (5), 736. <https://doi.org/10.1039/c3ja50047k>

Kolahgar, B., Hoffmann, A., Heiden, A. C., (2002). Application of stir bar sorptive extraction to the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 963 (1-2), 225–230. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00361-8](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00361-8)

Krawczyk, M., Stanis, E., (2016). Ultrasound-assisted dispersive micro solid-phase extraction with nano-tio₂ as adsorbent for the determination of Mercury species. *Talanta*, 161, 384–391. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.071>

Kumar B., Verma V. K., Gaur R., Kumar S., Sharma C. S., Akolkar A. B., (2014). Validation of HPLC method for determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in waste water and sediments. *Advances in Applied Science Research*, 5(1), 201-209

Kuwahara, Y., Aoyama, J., Miyakubo, K., Eguchi, T., Kamegawa, T., Mori, K., Yamashita, H., (2012). TiO₂ photocatalyst for degradation of organic compounds in water and air supported on highly hydrophobic FAU zeolite: Structural, sorptive, and photocatalytic studies. *Journal of Catalysis*, 285 (1), 223–234. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2011.09.03>

Lagan, A., Bacaloni, A., De Leva, I., Faberi, A., Fago, G., Marino, A., (2002). Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters. *Analytica Chimica Acta*, 462 (2), 187–198. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(02\)00351-3](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(02)00351-3)

Lagarda, M. J., Garca - Llatas, G., Farr, R., (2006). Analysis of phytosterols in foods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (5), 1486–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.052>

Lam, S. H. E., (2016). How much pesticides are in your food? – Sample preparation in a nutshell. <https://chembites.org/2016/11/14/how-much-pesticides-are-in-your-foodsample-preparation-in-a-nutshell/>

Lei, P., Zhang, H., Shan, B., Zhang, B., (2016). Distribution, diffusive fluxes, and toxicity of heavy metals and pahs in pore water profiles from the northern bays of Taihu Lake. *Environmental Science and Pollution Research*, 23 (21), 22072–22083. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7467-6>

Li, R., Hua, P., Zhang, J., Krebs, P., (2020). Characterizing and predicting the impact of vehicular emissions on the transport and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental multimedia. *Journal of Cleaner Production*, 271, 122591. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122591>

Li, Y., Li, L., Yu, J., (2017). Applications of zeolites in sustainable chemistry. *Chem*, 3 (6), 928–949. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.10.009>

Lima, A. da, Heleno, F. F., Afonso, R. J., Coutrim, M. X., (2015). Determination of pahs in surface waters from the Doce and Piracicaba rivers in Brazil. *Journal of Water Resource and Protection*, 07 (05), 422–429. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2015.75034>

Liu, Y., Bu, Q., Cao, H., Zhang, H., Liu, C., He, X., Yun, M., (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water from Wuhai and Lingwu sections of the Yellow River: Concentrations, sources, and ecological risk. *Journal of Chemistry*, 2020, 1-8. <https://doi:10.1155/2020/8458257>

Liu, Y., Li, H., Lin, J., (2009). Magnetic solid-phase extraction based on octadecyl functionalization of monodisperse magnetic ferrite microspheres for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 77(3), 1037–1042. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.08.013>

Lord, H., Pawliszyn, J., (2000). Evolution of solid-phase microextraction technology. *Journal of Chromatography A*, 885 (1-2), 153–193. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00535-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00535-5)

Lucci, P., Pacetti, D., Nunez, O., G., N., (2012). Current trends in sample treatment techniques for environmental and food analysis. *Chromatography - The Most Versatile Method of Chemical Analysis*. <https://doi.org/10.5772/47736>

Ma, J., Xiao, R., Li, J., Yu, J., Zhang, Y., Chen, L., (2010). Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples by solid-phase extraction using multi-walled carbon nanotubes as adsorbent coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217 (34), 5462–5469. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.06.060>

Madureira, T. V., Velhote, S., Santos, C., Cruzeiro, C., Rocha, E., Rocha, M. J., (2014). A step forward using Quechers (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) based extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry - levels of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in wild and commercial mussels. *Environmental Science and Pollution Research*, 21 (9), 6089–6098. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2510-y>

Manoli E, Samara C, Konstantinou I, i Albanis T. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. *Chemosphere*, 41, 1845-1855 [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00134-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00134-X)

Marcé, R. M., Borrull, F., (2000). Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 273–290. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(00\)00428-3](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00428-3)

Margeta, K., Mutavdžić Pavlović D., Ašperger D., Ukić, Š., (2009). *Analitička kemija u zaštiti okoliša, Zaštita okoliša i regionalni razvoj-iskustva i perspektive*, S. Tišma, S. Maleković, (ur.), Zagreb, Institut za međunarodne odnose, Zagreb, 243-265.

Margeta, K., Zabukovec, N., Siljeg, M., Farkas, A., (2013). Natural zeolites in water treatment – how effective is their use. *Water Treatment*. <https://doi.org/10.5772/50738>

Martinez, E., Gros, M., Lacorte, S., Barceló, D., (2004). Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and Mussels. *Journal of Chromatography A*, 1047 (2), 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.003>

- Mateos, R., Oliveira, C. M., Díez-Pascual, A. M., Vera-López, S., San Andrés, M. P., da Silva, R. J. N., (2020). Impact of recovery correction or subjecting calibrators to sample preparation on measurement uncertainty: PAH determinations in waters. *Talanta*, 207, 120274. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120274>
- Matijasevic, S., Dakovic, A., Iles, D., Milicevic, S., (2009). Adsorption of uranyl ion on acid-modified zeolitic mineral clinoptilolite. *Chemical Industry*, 63 (5), 407–414. <https://doi.org/10.2298/hemind0905407m>
- McDowall, R. D., (2005). Effective and practical risk management options for computerised system validation. *The Quality Assurance Journal*, 9 (3), 196–227. <https://doi.org/10.1002/qaj.339>
- Meier, W.M., Olson, D.H., (1987). *Atlas of Zeolite Structure Types*, 2nd rev. Edn., Butterworths, London, 127-137, 149
- Meunier, F. C., Verboekend, D., Gilson, J. P., Groen, J. C., Pérez-Ramírez, J., (2012). Influence of crystal size and probe molecule on diffusion in hierarchical ZSM-5 zeolites prepared by desilication. *Microporous and Mesoporous Materials*, 148 (1), 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2011.08.002>
- Meyer, V. R., (2010). *Practical High Performance Liquid Chromatography*. 5. Aufl. Chichester, WILEY.
- Ming, D. W., Mumpton, F. A., (2018). *Zeolites in soils*. SSSA Book Series, 873–911. <https://doi.org/10.2136/sssabookser1.2ed.c18>
- Misaelides, P., Godelitsas, A., Link, F., Baumann, H., (1996). Application of the $^{27}\text{Al}(\text{p},\gamma)^{28}\text{Si}$ nuclear reaction to the characterization of the near-surface layers of acid-treated HEU-type zeolite crystals. *Microporous Materials*, 6 (1), 37–42. [https://doi.org/10.1016/0927-6513\(95\)00088-7](https://doi.org/10.1016/0927-6513(95)00088-7)
- Moein, M. M., Abdel-Rehim, A., Abdel-Rehim, M., (2015). Microextraction by packed sorbent (meps). *Trends in Analytical Chemistry*, 67, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.12.003>
- Mol, H. G. J., Janssen, H.G. M., Cramers, C. A., Vreuls, J. J., Brinkman, U. A. T., (1995). Trace level analysis of micropollutants in aqueous samples using gas chromatography with on-line

sample enrichment and large volume injection. *Journal of Chromatography A*, 703 (1-2), 277–307. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00169-n](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00169-n)

Monaco, D., Chianese, E., Riccio, A., Delgado-Sanchez, A., Lacorte, S., (2017). Spatial distribution of heavy hydrocarbons, pahs and metals in polluted areas. the case of “galicia”, Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 121 (1-2), 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.003>

Motsi, T., Rowson, N.A., Simmons, M. J. H., (2009). Adsorption of heavy metals from acid mine drainage by natural zeolite, *International Journal of Minerology Process.* 92 (2009) 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.minpro.2009.02.005>

Müller, M., Harvey, G., Prins, R., (2000). Comparison of the dealumination of zeolites beta, mordenite, ZSM-5 and ferrierite by thermal treatment, leaching with oxalic acid and treatment with SiCl₄ by ¹H, ²⁹Si and ²⁷Al MAS NMR. *Microporous and Mesoporous Materials*, 34 (2), 135–147. [https://doi.org/10.1016/s1387-1811\(99\)00167-5](https://doi.org/10.1016/s1387-1811(99)00167-5)

Mumpton, F.A., (1960). *American Mineralogist*. 45, 351–369.

Mumpton, F.A., (1999). La roca magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry, *Proceeding of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 96, 3463-3470. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3463>

Nagy, A. S., Szabó, J., Vass, I., (2013). Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of the Raba River, Hungary. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(10), 1190-1200. <https://doi:10.1080/10934529.2013.776455>

Nascimento, M. M., Olímpio da Rocha, G., Bittencourt de Andrade, J., (2019). Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters. *Talanta*, 204, 776–791. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.061>

Neary, K., Boving, T. B., (2011). The fate of the aqueous phase polycyclic aromatic hydrocarbon fraction in a detention pond system. *Environmental Pollution*, 159(10), 2882-2890. <https://doi:10.1016/j.envpol.2011.04.046>

Nekhavambe T.J., van Ree T., Fatoki O.S., (2014) Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rivers, surface runoff, and sediments in and around Thohoyandou, Limpopo Province, South Africa. *Water SA*, 40 (3), 415-425. <http://dx.doi.org/10.4314/wsa.v40i3.4>

Nikolaou, A., Kostopoulou, M., Lofrano, G., Meric, S., (2009). Determination of PAHs in marine sediments: Analytical methods and environmental concerns, *Global NEST Journal* 11, 391- 405 <https://doi.org/10.30955/gnj.000662>

Nollet L., (2005). *Chromatographic Analysis of the Environment*. CRC Press; Boca Raton, Florida, USA.

Nuhu, A. A., Basheer, C., Shaikh, A. A., Al-Arfaj, A. R., (2012). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using nanoporous material prepared from waste avian egg shell. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2012/305691>

Ochiai, N., Sasamoto, K., David, F., Sandra, P., (2018). Recent developments of Stir Bar sorptive extraction for food applications: Extension to polar solutes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (28), 7249–7255. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02182>

Pabalan, R. T., i Bertetti, F. P. (2001). Cation-exchange properties of natural zeolites. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 45 (1), 453–518. <https://doi.org/10.2138/rmg.2001.45.14>

Pan, D., Chen, C., Yang, F., Long, Y., Cai, Q., Yao, S., (2011). Titanium wire-based SPE coupled with HPLC for the analysis of pahs PAHs in water samples. *The Analyst*, 136(22), 4774. <https://doi.org/10.1039/c1an15435d>

Patrolecco, L., Ademollo, N., Capri, S., Pagnotta, R., Polesello, S., (2010). Occurrence of priority hazardous pahs in water, suspended particulate matter, sediment and common eels (*Anguilla Anguilla*) in the urban stretch of the River Tiber (Italy). *Chemosphere*, 81(11), 1386-1392. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.027>

Pawliszyn, J., (1997). *Solid phase microextraction theory and practice*. New York: WileyVCH

Pitigoi, D., (2022). An Overview of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Formulation Science & Bioavailability* 6 (1), 117.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) - US EPA. (n.d.). Retrieved August 7, 2022, from https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-04/documents/walter_atsdr_pahs.pdf

Popp, P., Bauer, C., Wennrich, L., (2001). Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Analytica Chimica Acta*, 436 (1), 1–9. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(01\)00895-9](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(01)00895-9)

Qin, N., He, W., Kong, X. Z., Liu, W. X., He, Q.-S., Yang, B., Wang, Q. M., Yang, C., Jiang, Y. J., Jorgensen, S.E., (2014). Distribution, partitioning and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water–SPM–sediment system of Lake Chaohu, China. *Science of The Total Environment*, 496, 414–423. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.045>

Rajabi, M., Moghadam, A. G., Barfi, B., Asghari, A., (2016). Air - assisted dispersive micro - solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using a magnetic graphitic carbon nitride nanocomposite. *Microchimica Acta*, 183 (4), 1449–1458. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1780-0>

Rami, K., Stephane, L. F., Jan, T. A., Karyn, L. M., Helene, B., (2012). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and alkylated derivatives from sea water using solid phase microextraction (SPME) gas chromatography mass spectrometry (GC/MS). *Proceeding of the Thirty-fifth AMOP technical seminar on environmental contamination and response*. Canada, Ottawa, 928-940.

Rao, T. N., (2018). Validation of analytical methods. *Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72087>

Raposo, F., Ibelli - Bianco, C., (2020). Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. *Trends in Analytical Chemistry*, 129, 115913. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115913>

Ravindra, K., Wauters, E., Van Grieken, R., (2008). Variation in particulate pahs levels and their relation with the transboundary movement of the Air Masses. *Science of The Total Environment*, 396 (2-3), 100–110. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.02.018>

Reháková, M., Čuvanová, S., Dzivák, M., Rimár, J., i Gaval'ová, Z. (2004). Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the Clinoptilolite Type. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 8 (6), 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.cossms.2005.04.004>

Rengarajan, T., Rajendran, P., Nandakumar, N., Lokeshkumar, B., Rajendran, P., Nishigaki, I. (2015). Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5 (3), 182–189. [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(15\)30003-4](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(15)30003-4)

Reuhs, B. L., (2017). High-performance liquid chromatography. *Food Science Text Series*, 213–226. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_13

Reyes - Gallardo, E. M., Lucena, R., Cárdenas, S., Valcárcel, M., (2014). Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive micro solid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. *Journal of Chromatography A*, 1345, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.033>

Rodríguez-Fuentes, G., Barrios, M. A., Iraizoz, A., Perdomo, I., Cedré, B., (1997). Enterex: Anti - diarrheic drug based on purified natural clinoptilolite. *Zeolites*, 19 (5-6), 441–448. [https://doi.org/10.1016/s0144-2449\(97\)00087-0](https://doi.org/10.1016/s0144-2449(97)00087-0)

Rykowska, I., Wasiak, W., (2013). Advances in stir bar sorptive extraction coating: A Review. *Acta Chromatographica*, 25 (1), 27–46. <https://doi.org/10.1556/achrom.25.2013.1.13>

Sabaté, J., Bayona, J. M., Solanas, A. M., (2001). Photolysis of pahs in aqueous phase by UV irradiation. *Chemosphere*, 44 (2), 119–124. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00208-3](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00208-3)

Sadowska - Rociak, A., Surma, M., i Ciešlik, E., (2013). Comparison of different modifications on Quechers sample preparation method for pahs determination in black, green, red and White Tea. *Environmental Science and Pollution Research*, 21 (2), 1326–1338. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2022-1>

Saleh, A., Yamini, Y., Faraji, M., Rezaee, M., Ghambarian, M., (2009). Ultrasound - assisted emulsification microextraction method based on applying low density organic solvents followed by gas chromatography analysis for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. *Journal of chromatography. A*, 1216 (39), 6673–6679. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.00>

Sanches, S., Leitão, C., Penetra, A., Cardoso, V. V., Ferreira, E., Benoliel, M. J., Crespo, M. T. B., Pereira, V. J., (2011). Direct photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water sources. *Journal of Hazardous Materials*, 192 (3), 1458–1465. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.065>

Sandra, P., Tienpont, B., Vercammen, J., Tredoux, A., Sandra, T., David, F., (2001). Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine. *Journal of Chromatography A*, 928 (1), 117–126. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)01113-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)01113-x)

Santana Rodríguez, J. J., Padrón Sanz, C., (2000). Fluorescence techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine environment: An overview. *Analisis*, 28 (8), 710–717. <https://doi.org/10.1051/analisis:2000280710>

Santoyo Treviño M. J., Zarazúa S., Płotka - Wasylka J., (2022). Nanosorbents as Materials for Extraction Processes of Environmental Contaminants and Others. *Molecules*, 27 (3), 1067. <https://10.3390/molecules27031067>

Sargenti, S. R., McNair, H. M., (1998). Comparison of solid-phase extraction and supercritical fluid extraction for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water. *Journal of Microcolumn Separations*, 10 (1), 125–131. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1520-667x\(1998\)10:1<125::aid-mcs16>3.0.co;2-2](https://doi.org/10.1002/(sici)1520-667x(1998)10:1<125::aid-mcs16>3.0.co;2-2)

Schmidt, K., Podmore, I., (2015). Solid phase microextraction (SPME) method development in analysis of Volatile Organic Compounds (VOCs) as potential biomarkers of cancer. *Journal of Molecular Biomarkers i Diagnosis*, 06 (06). <https://doi.org/10.4172/2155-9929.1000253>

Shi, J., Yang, Z., Dai, H., Lu, X., Peng, L., Tan, X., Shi, L., Fahim, R., (2018). Preparation and application of modified zeolites as adsorbents in wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 2017 (3), 621–635. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.249>

Shia, W.Y., Shaoa, H.B., Li, H., Shaoa, M.A., Dua, S., (2009). Progress in the remediation of hazardous heavy metal-polluted soils by natural zeolite, *Journal of Hazardous Materials*, 170, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.09>

Sidheswaran, P., Bhat, A. N., (1997). Impact of zeolitic water content on exchange of calcium ions, *Thermochimica Acta*, 298, 55-58.

Skoog D. A., West D. M., Holler F. J., (1999). *Osnove analitičke kemije*, 6. izd. engl., 1. izd. hrv., Školska knjiga Zagreb, 645-699

Song, J., Kong, H., i Jang, J., (2011). Adsorption of heavy metal ions from aqueous solution by polyrhodanine-encapsulated magnetic nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 359 (2), 505–511. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.04.034>

Sopian, N. A., Jalaludin, J., (2017). The Application of Biomarker in Determining Genotoxic Potential of Polyaromatic Hydrocarbon Exposure among children. *Annals of Tropical Medicine and Public Health*. 10, 533.

Sprynskyy, M., Golembiewski, R., Trykowski, G., Buszewski, B. Ł., (2010). Heterogeneity and hierarchy of Clinoptilolite porosity. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 71 (9), 1269–1277. <https://doi.org/10.1016/j.jpics.2010.05.006>

Stanisz, E., Krawczyk-Coda, M., (2017). ZnO nanoparticles as an adsorbent in ultrasound-assisted dispersive micro solid-phase extraction combined with high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry for determination of trace germanium in food samples. *Microchemical Journal*, 132, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.01.018>

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Ćirić, S., Ilić, M., Nikolic, J., Dimitrijević, M., Stojanović, G., (2017). Optimized ultrasonic extraction for the determination of polyaromatic hydrocarbons by gas chromatography - mass spectrometry. *Analytical Letters*, 50 (15), 2491–2504. <https://doi.org/10.1080/00032719.2017.1293677>

Stankov-Jovanovic, V., Pecev, T., Mitic, V., Perović, J., Jovanovic, B., (2003). Natural zeolite application in textile water treatment, *Journal of Environmental protection and Ecology* 4, No 3, 700-703.

Stogiannidis, E., Laane, R., (2014). Source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons by using their molecular indices: An overview of possibilities. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 49–133. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10638-0_2

Stucki G., Alexander M., (1987). Role of dissolution rate and solubility in biodegradation of aromatic compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 292–297.

Sun, J., Wang, G., Chai, Y., Zhang, G., Li, J., Feng, J., (2009). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Henan reach of the Yellow River, Middle China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1614–1624. <https://doi:10.1016/j.ecoenv.2008.05.010>

Sun, X., Tan, J., Ding, H., Tan, X., Xing, J., Xing, L., Zhai, Y., Li, Z., (2018). Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by annular platform-supported Ionic liquid-based headspace liquid-phase microextraction. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2018, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2018/3765682>

Surma, M., Sadowska-Rociak, A., Cieřlik, E., (2014). The application of D-SPE in the Quechers method for the determination of pahs in food of animal origin with GC–Ms Detection. *European Food Research and Technology*, 238 (6), 1029–1036. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2181-4>

Swadesh, J.K., (2000). *HPLC: Practical and Industrial Applications*, Second Edition (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420042665>

Swartz, M.E., Krull, I.S., (1997). *Analytical Method Development and Validation*, Marcel Dekker, Inc., New York.

Taylor, J. R., (1997). *The study of uncertainties in physical measurements* (2nd edition). Sausalito CA: University Science Books.

Temerdashev, Z. A., Musorina, T. N., Kiseleva, N. V., Eletskaa, B. D., Chervonnaya, T. A., (2018). Gas chromatography – mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water. *Journal of Analytical Chemistry*, 73 (12), 1154–1161. <https://doi.org/10.1134/s1061934818120109>

Thompson, M., Ellison, S. L., Wood, R., (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74 (5), 835–855. <https://doi.org/10.1351/pac200274050835>

Tomašević-Čanović, M., Daković, A., Rottinghaus, G., Matijašević, S., Đuričić, M., (2003). Surfactant modified zeolites - new efficient adsorbents for Mycotoxins. *Microporous and Mesoporous Materials*, 61 (1-3), 173–180. [https://doi.org/10.1016/s1387-1811\(03\)00365-2](https://doi.org/10.1016/s1387-1811(03)00365-2)

Tomazović, B., Čeranić, T., i Sijarić, G., (1995). The properties of the NH₄-clinoptilolite. part 1. *Zeolites*, 16 (4), 301–308. [https://doi.org/10.1016/0144-2449\(95\)00118-2](https://doi.org/10.1016/0144-2449(95)00118-2)

Tomazović, B., Čeranić, T., Sijarić, G., (1996). The properties of the NH₄-clinoptilolite. part 2. *Zeolites*, 16(4), 309–312. [https://doi.org/10.1016/0144-2449\(95\)00117-4](https://doi.org/10.1016/0144-2449(95)00117-4)

Tomečková, V., Reháková, M., Mojžišová, G., Magura, J., Wadsten, T., Zelenáková, K., (2012). Modified natural clinoptilolite with quercetin and quercetin dihydrate and the study of their anticancer activity. *Microporous and Mesoporous Materials*, 147 (1), 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2011.05.031>

Triantafyllaki S, Dassenakis M., (2005). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by high performance liquid chromatography with photodiode array and fluorescence detection. In: *Proceedings of the 9th international conference on environmental science and technology*; 1-3 September, Rhodes Island, Greece, 939-944

Tsitsishvili G, Andronikashvili T, Kirov G, Filizova L., (1992). *Natural Zeolites*. Ellis Horwood, New York. <https://doi.org/10.1002/gj.3350290217>

Tuikka, A. I., Leppänen, M. T., Akkanen, J., Sormunen, A. J., Leonards, P. E. G., van Hattum, B., van Vliet, L. A., Brack, W., Smedes, F., i Kukkonen, J. V. K., (2016). Predicting the bioaccumulation of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in benthic animals in sediments. *Science of The Total Environment*, 563-564, 396–404. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.110>

U.S. EPA. *Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and

Development, Office of Health and Environmental Assessment, Washington, DC, EPA/600/R-93/089 (NTIS PB94116571).

Valdés, H., Tardón, R. F., i Zaror, C. A., (2012). Role of surface hydroxyl groups of acid-treated natural zeolite on the heterogeneous catalytic ozonation of methylene blue contaminated waters. *Chemical Engineering Journal*, 211-212, 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.09.069>

Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), ICH Harmonised Tripartite guidelines, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use, 2005; 10.

Vasylechko, V. O., Gryshchouk G. V., Zakordonskiy V. P., Vyviurska O., Pashuk A. V., (2015). A solid-phase extraction method using Transcarpathian clinoptilolite for preconcentration of trace amounts of terbium in water samples. *Chemistry Central Journal*, 9, 45. <https://doi.org/10.1186/s13065-015-0118-z>

Vasylechko, V. O., Gryshchouk, G. V., Kuz'ma, Y. B., Zakordonskiy, V. P., Vasylechko, L. O., Lebedynets, L. O., i Kalytovs'ka, M. B., (2003). Adsorption of cadmium on acid-modified Transcarpathian Clinoptilolite. *Microporous and Mesoporous Materials*, 60(1-3), 183–196. [https://doi.org/10.1016/s1387-1811\(03\)00376-7](https://doi.org/10.1016/s1387-1811(03)00376-7)

Veltman, K, Huijbregts, M. A. J., Rye, H., Hertwich, E. G., (2012). Including impacts of particulate emissions on marine ecosystems in life cycle assessment: The case of offshore oil and gas production. *Integrated Environmental Assessment Management* 7: 678–686. <https://doi.org/10.1002/ieam.1269>

Verbruggen E. M. J., (2012). Environmental risk limits for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for direct aquatic, benthic, and terrestrial toxicity. Bilthoven (NL): National Institute for Public Health and the Environment. RIVM Report 607711007/2012. 339.

Wan Ibrahim, W. A., Abdul Keyon, A. S., Prastomo, N., Matsuda, A., (2011). Synthesis and characterization of polydimethylsiloxane-cyanopropyltriethoxysilane-derived hybrid coating for stir bar sorptive extraction. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 59(1), 128–134. <https://doi.org/10.1007/s10971-011-2470-3>

Wang, C., Leng, S., Guo, H., Cao, L., Huang, J., (2019). Acid and alkali treatments for regulation of hydrophilicity/hydrophobicity of natural zeolite. *Applied Surface Science*, 478, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.01.263>

Wang, S., Peng, Y., (2010). Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal*, 156 (1), 11–24. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.10.029>

Wang, S., Sheng, Y., Feng, M., Leszczynski, J., Wang, L., Tachikawa, H., Yu, H., (2007). Light-induced cytotoxicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons on the US EPA priority pollutant list in human skin HaCaT keratinocytes: Relationship between phototoxicity and excited state properties. *Environmental Toxicology*, 22(3), 318–327. <https://doi.org/10.1002/tox.20241>

Wang, W. Y., Zhang, J., Li, X. F., Li, Y. X., Hou, H., Wang, L. Q., Li, F. S., (2015). Characteristics and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons pollution in water of Xi'an outskirt regions. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 33(5), 201-206.

Wang, X., Ozdemir, O., Hampton, M. A., Nguyen, A. V., i Do, D. D., (2012). The effect of zeolite treatment by acids on sodium adsorption ratio of coal seam gas water. *Water Research*, 46 (16), 5247–5254. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.006>

Wang, Y., Wang, S., Niu, H., Ma, Y., Zeng, T., Cai, Y., Meng, Z., (2013). Preparation of polydopamine coated fe₃o₄ nanoparticles and their application for enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, 1283, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.01.110>

Weitkamp, J., (2000). Zeolites and catalysis, *Solid State Ionics*, 131, 175-188.

WHO, (1998). Polynuclear aromatic hydrocarbons. In: *Guidelines for drinking-water quality*, 2nd ed. Vol. 2. Health criteria and other supporting information. Geneva, World Health Organization, pp. 123- 152.

Wolska, L., (2008). Determination (monitoring) of PAHs in Surface Waters: Why an operationally defined procedure is needed. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(7), 2647–2652. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2173-y>

- Xia, L., Liu, L., Dou, Y., Guo, L., Li, G., Sun, Z., i You, J., (2018). A stable mesoporous metalorganic framework as highly efficient sorbent of dispersive micro solid phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by HPLC. *Journal of Separation Science*, 41 (23), 4331–4339. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800775>
- Xiao, W., Shao, Y., (2017). Study of kinetics mechanism of PAHs photodegradation in solution. *Procedia Earth and Planetary. Science*,. 17, 348–351.
- Xu, S.N., Zhao, Q., He, H.B., Yuan, B.-F., Feng, Y.-Q., Yu, Q. W., (2014). Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water based on magnetite nanoparticles/polypyrrole magnetic solid-phase extraction. *Analytical. Methods*, 6 (17), 7046–7053. <https://doi.org/10.1039/c4ay01171f>
- Yang, J., Qadeer, A., Liu, M., Zhu, J. M., Huang, Y. P., Du, W. N., Wei, X. Y., (2019). Occurrence, source, and partition of pahs, PCBS, and ocps in the multiphase system of an urban lake, Shanghai. *Applied Geochemistry*, 106, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2019.04.023>
- Yang, Z., Feng, J., Niu, J., Shen, Z., (2008). Release of polycyclic aromatic hydrocarbons from Yangtze river sediment cores during periods of simulated resuspension. *Environmental Pollution*, 155 (2), 366–374. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.11.007>
- Yoo, M., Lee, S., Kim, S., Kim, S., Seo, H., Shin, D., (2013). A comparative study of the analytical methods for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood by high performance liquid chromatography with Fluorescence Detection. *International Journal of Food Science and & Technology*, 49 (6), 1480–1489. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12463>
- Zakaria, M. P., Takada, H., Tsutsumi, S., Ohno, K., Yamada, J., Kouno, E., Kumata, H., (2002). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic pahs. *Environmental Science & Technology*, 36 (9), 1907–1918. <https://doi.org/10.1021/es011278+>
- Zambonin, C. G., (2003). Coupling solid-phase microextraction to liquid chromatography. A Review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375 (1), 73–80. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1623-1>

Zhang S., Q., Darisaw S., Ehie O., Wang G., (2007). Simultaneous quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Mississippi river water, in New Orleans, Louisiana, USA. *Chemosphere*; 66, 1057-1069. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.06.067>

Zhang, Y., Lu, Y., Xu, J., Yu, T., Zhao, W., (2011). Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons from Lake Taihu, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 87(1), 80–85. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0292-1>

Zhou, Q., Gao, Y., (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography. *Analytical Methods*, 6 (8), 2553. <https://doi.org/10.1039/c3ay42254b>

Zhou, W., Yang, S., Wang, P. G., (2017). Matrix effects and application of matrix effect factor. *Bioanalysis*, 9 (23), 1839–1844. <https://doi.org/10.4155/bio-2017-0214>

Zieliński, M., Zielińska, M., Dębowski, M., (2015). Ammonium removal on zeolite modified by ultrasound. *Desalination and Water Treatment*, 57 (19), 8748–8753. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1024750>

Biografija

9 Biografija

Slobodan Ćirić rođen je u Pirotu 22.09.1990. godine. Osnovnu i srednju školu završio je u Pirotu sa odličnim uspehom. Osnovne akademske studije na departmanu za hemiju Prirodno - matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu, upisao je 2009. a završio 2012. godine sa prosečnom ocenom 8,27. Master akademske studije na departmanu za hemiju Prirodno -matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu, upisao je 2012. a završio je 2014. Godine sa prosečnom ocenom 9,37. Master rad pod nazivom: „Određivanje organskih zagađivača u uzorcima iz životne sredine“ odbranio je sa ocenom 10. Doktorske akademske studije na departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu upisao je 2014. godine i položio sve programom predviđene ispite sa prosečnom ocenom 10.

- Od 2014-2018 bio je stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.
- 2016. godine izabran je u zvanje istraživač - pripravnik.
- 2019. godine izabran je u zvanje istraživač - saradnik.

Kao stipendista Ministarstva prosvete nauke i tehnološkog razvoja bio je angažovan na projektu „Razvoj i karakterizacija novog biosorbenta za prečišćavanje prirodnih i otpadnih voda” (evidencionni broj projekta TR-34008 - rukovodilac dr Aleksandar Bojić). Kao istraživač - saradnik bio je angažovan na projektu “Razvoj novih i poboljšanje postojećih elektrohemijskih, spektroskopskih i protočnih (FIA) metoda za praćenje kvaliteta životne sredine” (evidencionni broj projekta OI-172051 - rukovodilac dr Vesna Stankov Jovanović).

Angažovan je u izvođenju praktične nastave na departmanu za hemiju, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Nišu iz sledećih predmeta:

- Analitička hemija 1, u toku školske 2015/16 na Osnovnim akademskim studijama;
- Analitička hemija 3, u toku školske 2016/17, 2019/20, 2020/21. 2021/2022 na Osnovnim akademskim studijama;
- Analitička hemija 2, u toku školske 2020/21, 2021/22; 2022/23
- Odabrana poglavlja volumetrijske analize u toku školske 2016/17, 2020/21 na Osnovnim akademskim studijama; i

- Savremene optičke metode analize u toku školske 2015/16, 2016/17, 2017/18 i 2018/19, 2019/20, 2020/21 godine na Master akademskom studijskom programu Hemija
- Savremene instrumentalne metode analize u toku školske 2021/22 i 2022/23 na Master akademskim studijama Primenjena hemija sa osnovama menadžmenta

10 Bibliografija

M21 - radovi objavljeni u vrhunskom međunarodnom časopisu

Ćirić, S., Mitić, V., Jovanović, S., Ilić, M., Nikolić, J., Stojanović, G., Jovanović, V. S. (2018). Dispersive micro-solid phase extraction of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons from water by using thermally treated clinoptilolite, and their quantification by GC-MS. *Microchimica Acta*, 185 (12).

Mitic, V., Ilic, M., Dimitrijevic, M., Cvetkovic, J., Ćiric, S., Stankov-Jovanovic, V., (2016) Chemometric characterization of peach, nectarine and plum cultivars according to phenolic content and antioxidant activity, *Fruits*, 71 (1), 57-56.

M22 - Radovi u istaknutom međunarodnom časopisu

Piperopoulos, E., Calabrese, L., Jovanovic, V. S., Nikolic, J., Ćiric, S., Milone, C., and Proverbio, E., (2022). Bentonite-PDMS composite foams for oil spill recovery: Sorption performance and kinetics. *Journal of Applied Polymer Science*, 139 (41).

M - 23 Radovi u međunarodnom časopisu

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Ćirić, S., Ilić, M., Nikolić, J., Dimitrijević, M., Stojanović, G., (2017). Optimized Ultrasonic Extraction for the Determination of Polyaromatic Hydrocarbons by Gass Chromatography-Mass Spectrometry, *Analytical Letters*, 50 (15), 2491-2504. (M23, zahvalnica projektu 172047)

M - 33 Radovi sa međunarodne konferencije štampani u celini

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Ilić, M., Jovanović, S., **Ćirić, S.**, Stojanović, G., (2018). Primena disperzivne mikroekstrakcije čvrstom fazom kao tehnike pripreme uzoraka za GC – MS analizu PAU u vodi, XXIII savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, 364-369.

Ćirić, S., Stankov Jovanović V., Mitić, V., Ilić, M., Jovanović, S., Stojanović, G., (2018). Primena novih sorbenata u d- μ -spe tehnici pripreme uzoraka za GC – MS analizu PAU u vodi, XXIII savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, 240-245.

Ilić, M., Mitić, V., Marković, M., **Ćirić, S.**, Tošić, S., Stojanović, G., Stankov Jovanović, V., (2018). Određivanje sadržaja mikro i makro elemenata u lekovitoj biljci *Seseli pallasii* Besser, XXIII savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, 293-298.

Smiljić, M., Stankov-Jovanović, V., **Ćirić, S.**, Stamenković, N., Ilić, M., Jakšić, T., Živić, N., Stamenković, S., Marković, M., (2018). Sadržaj pigmenata hloroplasta u lekovitoj biljci *Teucrium chamaedrys* sa sanirane deponije rudarsko metalurško hemijskog kombinata “Trepča”, XXIII savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, 358-363.

Dimitrijević, M., Mitić, V., Nikolić, J., Ilić, M., **Ćirić, S.**, Stojanović, G., Stankov Jovanović, V., (2019). Bioakumulacija teških metala u odabranim vrstama gljiva, XXIV savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova , 377-382.

Nikolić, J., Mitić, V., Dimitrijević, D., **Ćirić, S.**, Ilić, M., Stojanović, G., Stankov Jovanović, V., (2019). Određivanje sadržaja teških metala u uzorcima zemljišta sa teritorije grada Niša – hemometrijski pristup, XXIV savetovanje o biotehnologiji, Zbornik radova, 337-343.

M - 53 Radovi u časopisu od nacionalnog značaja

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Cvetković, J., Ilić, M., **Ćirić, S.**, Nikolić-Mandić, S., Stojanović, G., (2015). An innovative approach to environmental sample preparation for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by GC-MS using new sorbents in QUECHERS technique, *Safety Engineering*, 5 (1), 1-7.

M34 - saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

Mitić, V., Dimitrijević, D., Nikolić, J., Čirić, S., Mutić, J., (2019). ICP-MS assessment of essential and toxic metal/elements levels in wild edible mushroom species *Butyriboletus regius* and *Butyriboletus fechtneri*, 1st FoodEnTwin Workshop “Food and Environmental -Omics”, Belgrade.

Nikolić, J., Čirić, S., Dimitrijević, M., Jovanović, S., Mitić, V., Stojanović, G., Stankov Jovanović, V., (2019). Optimization of the coffee samples preparations for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography – mass spectrometry Conference: 1st FoodEnTwin Workshop “Food and Environmental -Omics”, Belgrade,

M53 - Radovi u časopisu od nacionalnog značaja

Dimitrijević, M., Miladinović D., Čirić, S., Krstić, N., Nikolić, J., Mitić, V., Stankov Jovanović, V., (2021). Elemental and morphological features of thermally modified clinoptilolite as an efficient sorbent for benzo(a)pyrene extraction from water preceding GC-MS analysis, *Chemia Naissensis*, Vol 3, Issue 1, 1-27

Nikolić, J., Mitić, V., Dimitrijević, M., Ilić, Čirić, S., Stankov Jovanović, V., (2019). Mineral composition of soil from urban area of Niš – chemometric approach, *Chemia Naissensis*, Vol 2, Issue 1 114-133.

Čirić, S., Mitić, V., Nikolić, J., Ilić, M., Dimitrijević, M., Simonović, S., Stankov Jovanović, V., (2018). Recent developments in sorbent based water samples treatments prior GC-MS analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Chemia Naissensis*, Vol 1, Issue 1, 93-123, vol.1 93-123.

M63 - Rad sa konferencije od nacionalnog značaja štampan u izvodu

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Čirić, S., Nikolić, J., Dimitrijević M., Ilić, M., (2021), Antioksidativne karakteristike biljke *Artemisia scoparia*, Prvo savetovanje o lekovitom i

samoniklom jestivom bilju, Istraživačko društvo „Babin nos“, Institut za šumarstvo Beograd, 72-73.

Marković, M., Stankov Jovanović, V., Smiljić, M., Ilić, M., Mitić, V., Čirić, S., Nikolić, J., (2021). The heavy metal and chloroplast pigment content in invasive plant species *Erigeron canadensis* on mining waste deposits of lead zinc mine „Trepča”, 11th Weed Science Congress and Symposium on Herbicides and Growth Regulators.

Stankov Jovanović, V., Mitić, V., Marković, M., Ilić, M., Rančić, S., Čirić, S., Nikolić, J., (2021). Potential use of invasive species *Xanthium italicum* as a metal accumulator in bioremediation, 11th Weed Science Congress and Symposium on Herbicides and Growth Regulators, Weed Science Society of Serbia.

11 Izjave o autorstvu

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

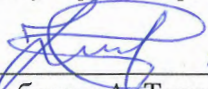
**РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НОВЕ АНАЛИТИЧКЕ МЕТОДЕ ЗА ПРИПРЕМУ
УЗОРАКА ВОДЕ ЗА КВАНТИФИКАЦИЈУ ПОЛИЦИКЛИЧНИХ АРОМАТИЧНИХ
УГЉОВОДОНИКА ПРИМЕНОМ ГАСНЕ ХРОМАТОГРАФИЈЕ - МАСЕНЕ
СПЕКТРОМЕТРИЈЕ**

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 11.10.2022

Потпис аутора дисертације:


Слободан А. Ћирић

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**


**РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НОВЕ АНАЛИТИЧКЕ МЕТОДЕ ЗА ПРИПРЕМУ
УЗОРАКА ВОДЕ ЗА КВАНТИФИКАЦИЈУ ПОЛИЦИКЛИЧНИХ АРОМАТИЧНИХ
УГЉОВОДОНИКА ПРИМЕНОМ ГАСНЕ ХРОМАТОГРАФИЈЕ - МАСЕНЕ
СПЕКТРОМЕТРИЈЕ**

НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, 11.10.2022.

Потпис аутора дисертације:



Слободан А. Ћирић

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

РАЗВОЈ И ВАЛИДАЦИЈА НОВЕ АНАЛИТИЧКЕ МЕТОДЕ ЗА ПРИПРЕМУ УЗОРАКА ВОДЕ ЗА КВАНТИФИКАЦИЈУ ПОЛИЦИКЛИЧНИХ АРОМАТИЧНИХ УГЉОВОДНИКА ПРИМЕНОМ ГАСНЕ ХРОМАТОГРАФИЈЕ - МАСЕНЕ СПЕКТРОМЕТРИЈЕ

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

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

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

У Нишу, 11.10.2022.

Потпис аутора дисертације:



Слободан А. Ћирић