



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Ozren Grozdanić

RASPODJELA I SPECIJACIJA METALA U TRAGOVIMA U PULSKOM ZALJEVU

DOKTORSKI RAD

Mentor:
dr. sc. Dario Omanović

Zagreb, 2024.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Ozren Grozdanić

DISTRIBUTION AND SPECIATION OF TRACE METALS IN PULA BAY

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:
dr. Dario Omanović

Zagreb, 2024

Ponajprije zahvaljujem Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Istarske županije i Službi za zdravstvenu ekologiju na čelu s ravnateljem Aleksandrom Stojanovićem, dr. med. odnosno voditeljicom Ninom Grbac, mag. ing. preh. tehn. na ukazanom povjerenju i bezrezervnoj podršci za vrijeme studija i izrade doktorske disertacije.

Posebno zahvaljujem dr. sc. Dariju Omanoviću na savjetima i uloženom vremenu tijekom izrade ovog rada. Hvala na podijeljenom znanju i vještinama. Veliko hvala i dr. sc. Ana-Mariji Cindrić na pomoći, potpori i ljubaznosti u svakoj fazi studija i izrade ovog rada.

Hvala kolegicama i kolegama s NZZJZIŽ na podršci, bodrenju, savjetima, strpljenju i pomoći. Posebno zahvaljujem Željku Stipiću, dipl. ing. na početnoj ideji, konstruktivnim razgovorima i instrukcijama tijekom vraćanja instrumenta za elektrokemijska mjerena u život te analizama OOU. Najveće hvala kolegici Ivi Finderle, mag. nutr. na pomoći pri uzorkovanju i mjerjenjima, uvijek veoma konstruktivnim razgovorima, razmjeni ideja i mišljenja, uslugama recenziranja i dizajniranja vizualnog identiteta.

Ogromno hvala dragom Ivici Perkoviću na tehničkoj podršci u kritičnim trenucima. Kad god je zatrebao kapetan broda, ronilac ili dobar savjet, on je bio tu i na razini zadatka.

Neizmjerno hvala mojoj obitelji na strpljenju i podršci tijekom ovih godina.

*Mojim curama
i onima koji su uvijek vjerovali u mene iako nekih više nema*

Sadržaj

SAŽETAK.....	XI
ABSTRACT	XIII
§ 1. UVOD	1
1.1. Ciljevi i svrha istraživanja.....	2
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Metali u okolišu.....	3
2.1.1. Terminologija	3
2.1.2. Elementi rijetkih zemalja	5
2.1.3. Metali u prirodnim vodama.....	8
2.1.4. Metali u morskoj vodi.....	8
2.1.5. Metali u sedimentu.....	11
2.2. Specijacija, frakcionacija i bioraspoloživost metala u prirodnim vodama i sedimentu.....	13
2.2.1. Specijacija i frakcionacija	13
2.2.2.1 Eksperimentalna specijacijska analiza.....	14
2.2.2.2 Specijacijska i frakcionacijska analiza upotrebom računalnih programa.....	14
2.2.2. Frakcionacija u vodenim medijima.....	16
2.2.3. Frakcionacija u uzorcima sedimenta.....	17
2.2.4. Bioraspoloživost.....	18
2.3. Određivanje elemenata u tragovima.....	19
2.3.1. Elektrokemijske metode.....	19
2.3.1.1 Anodna voltametrija otapanja	20
2.3.1.1 Katodna voltametrija otapanja	21
2.3.2. Tehnike atomske apsorpcijske spektrometrije	22
2.3.2.1 Inhibitori ionizacije i modifikatori	23
2.3.2.2 Korekcija signala	24
2.3.2.3 Karakteristične mase i koncentracije	25
2.3.3. Spektrometrija masâ uz induktivno spregnutu plazmu	25
2.3.4. Ostale metode	27
2.4. Metode pripreme uzorka za analizu metala u tragovima u uzorcima morske vode i sedimenta	29
2.4.1. Priprema uzorka morske vode	29
2.4.2. Priprema krutih uzorka	33
2.5. Određivanje elemenata rijetkih zemalja.....	37
2.5.1. Određivanje elemenata rijetkih zemalja u uzorcima vodâ	38
2.5.2. Određivanje elemenata rijetkih zemalja u krutim uzorcima	40
2.6. Difuzijski gradijenți u tankom filmu (DGT)	40

2.6.1. Princip metode	40
2.6.2. Građa uzorkivača DGT.....	41
2.6.3. Vrste uzorkivača DGT.....	43
2.6.4. Određivanje koncentracije analita.....	43
2.7. Procjena rizika	45
2.7.1. Procjena rizika za živi svijet u morskoj vodi.....	45
2.7.2. Procjena rizika za morski sediment.....	48
§ 3. MATERIJALI I METODE	50
3.1. Područje istraživanja.....	50
3.2. Kemikalije.....	52
3.3. Instrumenti i oprema	54
3.4. Priprema i čišćenje ambalaže i posuđa.....	56
3.5. Uzorkovanje	57
3.5.1. Sezonsko uzorkovanje morske vode.....	57
3.5.2. Uzorkovanje sedimenta	60
3.5.3. Uzorkovanje morske vode metodom DGT.....	61
3.5.4. Uzorci morske vode za pretkoncentraciju na kelirajućim smolama.....	63
3.6. Priprema uzoraka za analizu.....	63
3.6.1. Priprema uzoraka morske vode	63
3.6.1.1 Uzorci sezonskih uzorkovanja.....	63
3.6.1.2 Priprema eluata DGT	64
3.6.2. Priprema uzoraka sedimenta	65
3.6.2.1 Uzorci za određivanje ukupnih koncentracija elemenata.....	65
3.6.2.2 Uzorci za određivanje bioraspoložive frakcije u sedimentu	66
3.6.3. Pretkoncentracija uzoraka na kelirajućoj smoli Nobias Chelate-PA1	67
3.6.4. Određivanje potencijalno bioraspoložive frakcije na kelirajućoj smoli Chelex-100.....	69
3.7. Analitičke metode	70
3.7.1. Voltametrijsko određivanje koncentracije metala u tragovima	70
3.7.2. Određivanje koncentracija elemenata u tragovima metodom ICP-MS	72
3.7.2.1 Eluati DGT	72
3.7.2.2 Određivanje elemenata nakon pretkoncentracije na koloni.....	72
3.7.2.3 Bioraspoloživa frakcija elemenata u uzorcima sedimenta.....	73
3.7.3. Određivanje koncentracija elemenata tehnikama atomske apsorpcijske spektrometrije	74
3.7.3.1 Određivanje koncentracije elemenata tehnikom ETAAS	74
3.7.3.2 Određivanje koncentracije metala tehnikom FAAS	74
3.7.3.3 Određivanje koncentracije Hg tehnikom CVAAS	75
3.7.4. Određivanje otopljenog organskog ugljika.....	75
3.8. Postupak modeliranja specijacije	75
3.9. Obrada podataka	76
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA.....	79
4.1. Raspodjela i frakcionacija metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva	80

<i>4.1.1. Fizikalno-kemijski parametri morske vode i otopljeni organski ugljik.....</i>	<i>80</i>
<i>4.1.2. Prostorno-vremenska raspodjela metala u tragovima</i>	<i>82</i>
<i>4.1.3. Frakcionacija metala u tragovima u morskoj vodi</i>	<i>93</i>
<i>4.1.4. Pretkoncentracija na kelirajućoj smoli Nobias Chelate-PAI.....</i>	<i>95</i>
4.1.4.1 Razrada metode određivanja lantanoida, Y i elemenata u tragovima	95
4.1.4.2 Koncentracije elemenata u tragovima i elemenata rijetkih zemalja.....	99
<i>4.1.5. Usporedba koncentracijâ dobivenih voltametrijski i metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije</i>	<i>105</i>
<i>4.1.6. Bioraspoloživa (DGT) frakcija metala u tragovima u morskoj vodi.....</i>	<i>109</i>
<i>4.1.7. Frakcionacija metala u tragovima smolom Chelex-100 i usporedba s metodom DGT.....</i>	<i>118</i>
4.2. Specijacija metala u tragovima u moru Pulskog zaljeva	120
4.3. Raspodjela i frakcionacija elemenata u sedimentu Pulskog zaljeva	126
<i>4.3.1. Razrada metode određivanja koncentracija elemenata u uzorcima sedimenta</i>	<i>126</i>
<i>4.3.2. Koncentracije elemenata u sedimentu Pulske luke</i>	<i>129</i>
<i>4.3.3. Određivanje koncentracija elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulske luke.....</i>	<i>145</i>
4.3.3.1 Razrada metode	145
4.3.3.2 Koncentracije elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulskog zaljeva	148
<i>4.3.4. Utjecaj bentičkog fluksa.....</i>	<i>152</i>
<i>4.3.5. Bioraspoloživa frakcija elemenata u sedimentu</i>	<i>153</i>
4.4. Procjene rizika.....	162
<i>4.4.1. Procjena rizika za živi svijet u morskoj vodi</i>	<i>162</i>
4.4.1.1 Usporedba sa standardima kakvoće vode	162
4.4.1.2 Procjena rizika na temelju frakcije DGT	167
<i>4.4.2. Procjena rizika za sediment.....</i>	<i>168</i>
4.4.2.1 Indeksi geoakumulacije	168
4.4.2.2 Usporedba sa standardima kakvoće sedimenta	170
4.4.2.3 Procjena rizika na temelju udjela bioraspoložive frakcije	173
§ 5. ZAKLJUČAK	175
§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ	180
§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	185
§ 8. ŽIVOTOPIS.....	XV



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

RASPODJELA I SPECIJACIJA METALA U TRAGOVIMA U PULSKOM ZALJEVU

Ozren Grozdanić

Nastavni zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Nazorova 23, 52100 Pula
Institut Ruđer Bošković, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb

Istraživanje morske vode i sedimenta Pulskog zaljeva je dalo uvid u vrijednosti koncentracije, frakcionaciju i specijaciju elemenata u tragovima (ET) i REE. Ukupne koncentracije ET su određene metodama voltametrije otapanja, AAS i ICP-MS. Bioraspoložive koncentracije određene su metodom difuzijskih gradijenata u tankom filmu (DGT) te s pomoću kelirajuće smole Chelex-100. Razvijen je i sustav pretkoncentracije ET na smoli Nobias Chelate-PA1 koji se do sada nije koristio u RH, a dobivene koncentracije su usporedive s voltametrijskim mjerjenjima. Koncentracije Zn, Pb i Cu u morskoj vodi značajno rastu od referentne točke prema unutarnjem zaljevu, kao i koncentracije elemenata u sedimentu (izuzev Mn). Koncentracije REE (od 0,09 ng/L (Tb) do 24,2 ng/L (Y)) su prvi podaci za obalno more hrvatskog dijela Jadranskog mora. Prosječni udjeli frakcije DGT u otopljenoj frakciji kreću se od 34 % (Cu) do 92 % (Cd), a rezultati su usporedivi s modelnim podacima (Visual MINTEQ) i vrijednostima bioraspoložive frakcije dobivenih na smoli Chelex-100.

(200+XV stranica, 53 slike, 50 tablica, 435 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: bioraspoloživost / Chelex-100 / DGT / ICP-MS / metali / Nobias Chelate-PA1 / REE

Mentor: dr. sc. Dario Omanović, znanstveni savjetnik u trajnom izboru, Institut Ruđer Bošković

Rad prihvaćen: 6. studenoga 2024. godine

Ocjenzitelji:

1. prof. dr. sc. Sanda Rončević
2. izv. prof. dr. sc. Hana Fajković
3. dr. sc. Sladana Strmečki Kos, viši znanstveni suradnik



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

DISTRIBUTION AND SPECIATION OF TRACE METALS IN PULA BAY

Ozren Grozdanić

Teaching Institute of Public Health of the Istrian Region, Nazorova 23, 52100 Pula
Ruđer Bošković Institute, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb

The study of seawater and sediments of the Pula Bay provided insight into concentrations, fractionation and speciation of trace elements (TE) and REE. Total TE concentrations were determined by stripping voltammetry, AAS and ICP-MS. Bioavailable concentrations were determined by diffusion gradients in a thin films (DGT) and chelating resin Chelex-100. A TE preconcentration system on Nobias Chelate-PA1 resin, which has not been used in Croatia so far, was also developed, and the obtained concentrations are comparable to voltammetric measurements. Zinc, Pb and Cu concentrations in seawater increase significantly from the reference point towards the inner bay, as do the concentrations of elements in the sediment (except Mn). The REE concentrations (from 0.09 ng/L (Tb) to 24.2 ng/L (Y)) are the first data for the Croatian Adriatic coastal sea. The DGT fraction ranges from 34% (Cu) to 92% (Cd), and the results are comparable to model data (Visual MINTEQ) and bioavailable fraction values obtained on Chelex-100 resin.

(200+XV pages, 53 figures, 50 tables, 435 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: bioavailability / Chelex-100 / DGT / ICP-MS / metals / Nobias Chelate-PA1 / REE

Supervisor: Dr. Dario Omanović, Senior Research Advisor, Ruđer Bošković Institute

Thesis accepted: 6th November 2024

Reviewers:

1. Dr. Sanda Rončević, Professor
2. Dr. Hana Fajković, Associate professor
3. Dr. Slađana Strmečki Kos, Senior Research Associate

§ 1. UVOD

Elementi u tragovima su u prirodnim sustavima prisutni u koncentracijama nižim od $10 \mu\text{mol} / \text{kg}$, a u morskoj vodi je donja granica koncentracija ove skupine elemenata reda veličine fmol / kg .¹ Ova se skupina tvari često naziva *teškim metalima*. Iako se radi o izrazu koji je u svakodnevnoj upotrebi i to s tendencijom ukazivanja na potencijalnu opasnost koju ove tvari predstavljaju, Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (engl. *International union for pure and applied chemistry*, IUPAC) preporučuje njegovo izbjegavanje.² Neki elementi u tragovima imaju važne uloge u metabolizmima živih bića, dok drugi djeluju toksično. Nisu biorazgradivi i akumuliraju se u organizmima. Skupinu elemenata rijetkih zemalja čine lantanoidi, itrij i skandij. Ovi se elementi mogu smatrati mikroonečišćujućim tvari, tj. novim onečišćujućim tvarima (engl. *emerging contaminants*) prvenstveno radi izostanka monitoringa njihovih koncentracija u okolišu iako su poznati neki od njihovih štetnih učinaka, dok je njihovo određivanje moguće samo opremom i metodama koje nude niske granice detekcije.^{3,4}

Pojam specijacije se najčešće u znanstvenim radovima poistovjećuje s frakcionacijom, a neki autori ovaj pojam čak smatraju širim od pojma frakcionacije.⁵ Stoga se često terminologija u upotrebi ne podudara s preporukama organizacije IUPAC.^{6,7} Specijacija i frakcionacija elemenata su veoma važne u utvrđivanju bioraspoloživosti jer ona ovisi o obliku u kojem je određeni element prisutan te o njegovoj koncentraciji.⁸ Uz eksperimentalne i računalne specijacijske analize, potencijalno bioraspoloživa frakcija može se odrediti i *in-situ*, metodom difuzijskih gradijenata u tankom sloju (DGT). Računalni programi mogu simulirati specijacijske analize na temelju poznatih vrijednosti fizikalno-kemijskih i kemijskih parametara, a dobivene vrijednosti mogu pomoći pri validaciji i interpretaciji eksperimentalno dobivenih podataka.

Metode i tehnike analize elemenata u uzorcima iz okoliša su brojne. U posljednje vrijeme se vrlo često koristi spektrometrija masâ uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS). Uz nenadmašnu brzinu istovremenog određivanja velikog broja elemenata te visoku osjetljivost, neke od mana ove tehnike su ekonomski prirode te nemogućnost direktnog mjerjenja koncentracija u uzorcima kao što je morska voda. Direktnu analizu bez potrebe za razrjeđivanjem ili drugom obradom uzorka morske vode omogućuju

elektrokemijske metode. Radi se o dovoljno osjetljivim i ekonomski prihvatljivim metodama, no broj analita je ograničen i analize su sporije u odnosu na ICP-MS. Atomska apsorpcija i emisijska spektrometrija (AAS i AES) dugi su niz godina bile najčešće tehnike za analizu uzorka iz okoliša. Tehnikama kao što su AAS s elektrotermičkom ili plamenom pobudom (ETAAS, odnosno FAAS) nije moguće direktno analizirati uzorce morske vode, no dovoljno su robusne i osjetljive za analizu velikog broja elemenata u geološkim materijalima (tla, sedimenti, stijene i dr.). Radi se o relativno ekonomičnim tehnikama kod kojih nije moguće istovremeno određivanje više elemenata pa opširnije analize uzorka iziskuju dulje vrijeme. Neke od tehnika atomske spektrometrije još su uvijek veoma čest izbor analize koncentracija Hg u uzorcima različitih matrica.

Geografska konfiguracija Pulskog zaljeva čini istraživanje područje izvrsnom prirodnom lukom. Zbog toga je dugi niz godina zaljev služio u obrambene svrhe te kao mjesto intenzivnih antropogenih (industrijskih) aktivnosti. Sve do nedavno je značajan dio obale zaljeva bio zatvoren za javnost. Do danas je pristup poluotoku Muzil ograničen, dok se na sjevernoj obali bivši vojni prostori pretvaraju u objekte za turističke namjene. Iako su u zaljevu evidentni brojni potencijalni izvori elemenata u tragovima, podaci o njihovim koncentracijama i oblicima u ovom dijelu Jadrana vrlo su oskudni, posebice za morskou vodu. Sediment je ovdje potencijalno izdašan rezervoar metalja.

1.1. Ciljevi i svrha istraživanja

Ciljevi ovog doktorskog rada su: (i) razraditi metode pripreme i određivanja koncentracija elemenata u tragovima i elemenata rijetkih zemalja (lantanoida i itrija) u morskoj vodi i sedimentu, a koje uključuju nove metode pretkoncentracije uzorka, (ii) odrediti koncentracije, raspodjelu i specijaciju elemenata u morskoj vodi i sedimentu Pulskog zaljeva, (iii) razviti novu metodu određivanja bioraspoložive frakcije elemenata u morskoj vodi, (iv) odrediti bioraspoložive frakcije u morskoj vodi i sedimentu, (v) usporediti rezultate dobivene različitim načinima uzorkovanja i analitičkim metodama i (vi) procijeniti rizik za okoliš i zdravlje ljudi na temelju dobivenih podataka.

Svrha ovog rada je razviti nove i razraditi postojeće analitičke metode određivanja elemenata u okolišnim matricama te njima istražiti raspodjelu i specijaciju elemenata u Pulskom zaljevu.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Metali u okolišu

2.1.1. Terminologija

Kad se radi o klasifikaciji metala u okolišu, u literaturi se koristi više pojmove, ali najčešće se susreću dva: *teški metali* i *metali (elementi) u tragovima* (engl. *trace metals*, *trace elements*). Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća, termin *teški metali* se koristio nedosljedno i za grupu kemijskih elemenata koji su biološki i industrijski važni. Neki od problema proizašlih iz upotrebe izraza *teški metali* su:²

- elementi na koje se misli nisu uvijek metali, nego i polumetali (As, Te) i nemetali (Se);
- izraz se koristi za potencijalno toksične i ekotoksične elemente, ali i za elemente s vrlo toksičnim i ekotoksičnim svojstvima;
- u nekim slučajevima se ovaj izraz odnosi na klasifikaciju elemenata prema gustoći, negdje prema relativnoj atomskoj masi ili atomskom broju, dok je kod nekih vezan uz pojmove onečišćenja i toksičnosti;
- kod klasifikacije prema toksičnosti, izraz uključuje metale čije određene kemijske vrste imaju štetna svojstva za živi svijet, dok druge nemaju.

Radi se o izrazu koji je u literaturi učestao, ali često bez jasnog objašnjenja što točno podrazumijeva. Stoga i Međunarodna unija za čistu i primijenjenu kemiju (IUPAC) preporučuje izbjegavanje korištenja izraza *teški metali*, kojeg bi trebala zamijeniti klasifikacija na osnovi nekog kemijskog svojstva zajedničkog određenom broju elemenata.² Ipak, radi se o izrazu koji je u svakodnevnoj upotrebni. Termin se koristi s tendencijom ukazivanja na potencijalnu opasnost koju predstavljaju ove tvari i sinonim je za elemente koji štetno djeluju na zdravlje.

Elementi se u prirodnim vodama mogu podijeliti u četiri skupine: (i) otopljeni atmosferski plinovi, (ii) mikronutrijenti ili hranjive soli (ionski oblici koji sadrže N i P i neophodni su za rast morskih organizama), (iii) makrokonstituenti (elementi s koncentracijama višim od 1 ppm (1 mg / kg)) i (iv) mikrokonstituenti (elementi koncentracija nižih od 1 ppm, a koji ne spadaju u neku od ranije navedenih skupina).⁹ Podjelu na mikrokonstituente i makrokonstituente s granicom od 1 ppm priznaje i IUPAC. Koncentracija

od 10 $\mu\text{mol} / \text{kg}$ čini granicu između elemenata u tragovima s jedne strane i ostalih mikrokonstituenata i makrokonstituenata s druge strane. U morskoj vodi je donja granica koncentracija elemenata u tragovima reda veličine fmol / kg.¹

Klasifikacija metala koja može biti od pomoći u procjeni interakcije s raznim ligandima pa posredno i kod procjene labilnosti kompleksa, odnosno bioraspoloživosti jest podjela na metale (metalne ione) tipa A i tipa B. Ova se podjela temelji na činjenici da se metalni ioni ponašaju kao Lewisove baze (elektron akceptor) pa su, grubo rečeno, jake Lewisove baze svrstane u tip A, a slabe u tip B.^{2,10} Uz dvije *osnovne* grupe, postoji i grupa prijelaznih elemenata (iona) koji imaju svojstva oba tipa. Neki autori navode i prikladnost ovakve podjele u biologiji, toksikologiji i znanosti o okolišu.¹¹

Kad su metalni ioni u pitanju, u tip A se mogu svrstati metalni ioni s elektronskom konfiguracijom plemenitog plina i niske polarizabilnosti, tj. mogućnosti deformacije valentne elektronske ljudske. Među njih, uz ostale, spadaju: H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} i Al^{3+} . Ovi kationi najčešće vežu F i O iz liganda (ponekad se koristi i engl. *oxygen-seeking ions*)¹², ne reagiraju s ligandima na koje bi se trebali vezati preko S ili N te snažno privlače molekule vode. Tvore relativno topljive taloge s OH^- , CO_3^{2-} i PO_4^{3-} .¹⁰

Metalni ioni tipa B su između ostaloga: Cu^+ , Ag^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} i Sn^{2+} . Radi se o ionima koji imaju 10 ili 12 elektrona u valentnoj ljudski, odnosno čiji broj elektrona odgovara Ni^0 (28), Pd^0 (46) ili Pt^0 (68). Oni tvore kompleksne spojeve s ligandima na koje se vežu preko I, S ili N (engl. *nitrogen-sulphur-seeking ions*), pa jače vežu NH_4^+ i CN^- od, primjerice, OH^- te I^- i Cl^- od F^- .¹² Tvore netopljive sulfide i topljive komplekse sa S^{2-} i HS^- , koje živi organizmi teško izlučuju pa dolazi do njihove akumulacije i potencijalno toksičnog djelovanja.^{2,10}

U skupinu prijelaznih metalnih iona spadaju ioni s jednim do devet elektrona u valentnoj ljudsci koja nije sferično simetrična: V^{2+} , Cr^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Ti^{3+} , V^{3+} , Cr^{3+} , Mn^{3+} , Fe^{3+} i Co^{3+} . Stabilnost kompleksnih spojeva koje neki od njih tvore opada u Irving-Williamsovom nizu: $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Mn}^{2+}$.¹⁰

Pojam *toksičnih*, odnosno *ekotoksičnih* metala se često upotrebljava u sličnom značenju kao termin *teški metali* s tim da se uglavnom odnosi na metale s poznatim štetnim učincima na žive organizme. Međutim, ova klasifikacija nije uvijek prikladna budući da svaka tvar može biti otrov ako je prisutna u koncentracijama iznad određene granice, a neki od

elemenata (metala) koji se svrstavaju u ovu skupinu su i esencijalni u niskim koncentracijama (Cu, Zn, Cr, Mn, Co).

2.1.2. Elementi rijetkih zemalja

Skupinu elemenata rijetkih zemalja (engl. *rare-earth elements*, REE) čini 15 lantanoida (La, Ce, Pr, Nb, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb i Lu), Y i Sc. Itrij i Sc se uključuju u ovu skupinu radi sličnih kemijskih svojstava s lantanoidima. Prometij (Pm) je radioaktivni element koji nastaje isključivo u nuklearnim reakcijama te nema prirodno stabilnih izotopa.¹³ Bez obzira na naziv koji je zadržan radi tradicije, ovi elementi nisu rijetki u prirodi, već su raspršeni te se rijetko koncentriraju u ekonomski iskoristiva ležišta. Najrjeđeg lantanida, Lu, ima primjerice više od Ag, Au i Hg u litosferi. Lantan i Ce su najrasprostranjeniji, u koncentracijama višima od Co, Mo i Sn te u redu veličine koncentracija Cu i Pb.¹⁴⁻¹⁶

Elementi rijetkih zemalja se dijele na lake (engl. *light rare earths*, LREE, od La do Eu) i teške (engl. *heavy rare earths*, HREE, od Gd do Lu). Neki autori odvajaju i srednje teške REE (engl. MREE, od Eu do Dy). Podjela je nastala prema sličnostima u elektronskim konfiguracijama: elementi LREE imaju od 0 do 7 nesparenih elektrona, dok HREE imaju jedan ili više parova sparenih elektrona u valentnoj ljusci, a priznaje je i IUPAC.^{17,18} Odlikuju ih svojstva magnetizma, luminiscencije i elektrokemijska aktivnost. Uz Ga, Ge, In, Nb, Ta, Te i platinsku skupinu elemenata (Ir, Os, Pd, Pt, Rh i Ru), četrnaest elemenata rijetkih zemalja (La, Ce, Pr, Nb, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb, Lu) spada u skupinu tehnološki-kritičnih elemenata (engl. *technology-critical elements*, TCE) radi njihove uloge u modernim tehnologijama i smanjene dostupnosti u odnosu na potražnju.^{19,20} Koriste se u industriji telekomunikacija, računarstvu, medicini, industriji oružja, u katalizi, za legiranje metala, u proizvodnji baterija za hibridne i električne automobile, u proizvodnji trajnih magneta, gnojiva, ekrana i leća, LED rasvjete, štednih žarulja i dr.^{21,22}

Koncentracije ovih elemenata u pojedinim dijelovima okoliša i njihov učinak na živi svijet su relativno neistraženi radi izazova u pogledu analitičkog određivanja, ali i zbog nedostatka interesa iako postoje naznake o njihovom štetnom djelovanju.²³⁻²⁶ Ipak, poznato je da se akumuliraju u vodenim organizmima i da imaju štetno djelovanje na ljudsko zdravlje.²⁷⁻³² Elementi rijetkih zemalja se mogu smatrati mikroonečišćivalima, tj. novim onečišćujućim tvarima (engl. *emerging contaminants*) budući da se ne prate u okolišu, bioti ni ljudskom tijelu, mehanizmi njihovog toksičnog djelovanja nisu dovoljno istraženi, njihovo

određivanje nije dijelom redovitih programa monitoringa okoliša, a mogu se odrediti samo opremom koja omogućava niske granice detekcije.^{3,4}

Elementi rijetkih zemalja podliježu Oddo-Harkinsovom pravilu prema kojem su elementi s parnim atomskim brojevima zastupljeniji u Sunčevom sustavu od onih s neparnim. Zbog toga se kod grafičkih prikaza koncentracijâ ovih elemenata kao funkcije atomskog broja ili ionskog radijusa pojavljuje izlomljena linija (*cik-cak* uzorak), što otežava interpretaciju podataka. Pritom je Ce prisutan u najvišim koncentracijama.³³ Stoga se dobiveni podaci često normaliziraju u odnosu na neki prirodni referentni materijal (npr. Masuda, 1962).³⁴ Normalizacijom se *izglađuju* podaci o raspodjeli elemenata rijetkih zemalja čime se pojednostavljuje tumačenje rezultata, omogućava se usporedba rezultata iz različitih matrica i olakšava se identifikacija te kvantifikacija anomalija u dobivenim koncentracijama ovih elemenata, kako je objašnjeno kasnije. Nadalje, očekivane koncentracije elemenata rijetkih zemalja se nakon normalizacije mogu interpolirati ili ekstrapolirati iz dobivenog modela koji također daje informacije o kvaliteti mjerjenja.^{21,35}

Na odabir najprikladnijeg sredstva za normalizaciju utječe nekoliko čimbenika kao što su ciljevi istraživanja i geografski položaj. Za normalizaciju se najčešće koriste podaci iz šejlova i hondrita. Šejl predstavlja prosječni sastav gornje kontinentalne kore i obično se koriste u studijama geokemije okoliša i oceana. Hondriti, koji odražavaju globalni sastav Zemlje, često se koriste u magmatskim, geokemijskim i kozmokemijskim istraživanjima.¹⁸

U literaturi se nalaze rezultati normalizacije podataka prema različitim sustavima, no najčešće se koriste podaci o sastavu postarhejskog australskog šejla (engl. *Post-Archean Australian Shale*, PAAS). Ovaj sustav podataka je predložen 1976. godine te dopunjeno 1989. i 2012. godine.³⁶⁻³⁸ Noviji podaci su generalno u skladu s prvotnim, uz stvarno izmjerene koncentracije Tm i Lu koje su ranije bile procijenjene, dok se nešto više izmjerene koncentracije ostalih elemenata pripisuju poboljšanoj točnosti novih analitičkih metoda i tehnika (Tablica 1). Sustav PAAS je korišten za razne matrice, uključujući sedimente, tla, slatke i morske vode te biološke uzorkе.

Tablica 1. Koncentracije REE u različitim sustavima za normalizaciju PAAS (u mg / kg)

ELEMENT	PAAS (1976.) ³⁶	PAAS (1989.) ³⁷	PAAS (2012.) ³⁸
Y	28	27	27,31
La	38	38,2	44,56
Ce	80	79,6	88,25
Pr	8,9	8,83	10,15
Nd	32	33,9	37,32
Sm	5,6	5,55	6,884
Eu	1,1	1,08	1,215
Gd	4,2	4,66	6,043
Tb	0,77	0,774	0,8914
Dy	4,4	4,68	5,325
Ho	1	0,991	1,053
Er	2,9	2,85	3,075
Tm	0,5	0,405	0,451
Yb	2,8	2,82	3,012
Lu	0,5	0,433	0,4386

Određivanje i normalizacija koncentracija elemenata rijetkih zemalja omogućuju izračunavanje anomalija na temelju kojih se mogu izvući zaključci o frakcionacijskim procesima ovih elementima, kao i njihovim antropogenim izvorima. Za izračunavanje se najčešće koriste linearne ekstrapolacije ili interpolacije koncentracijâ *susjednih* elemenata u periodnom sustavu elemenata ili se niz koncentracija smatra geometrijskim. Anomalije se najčešće računaju za Ce, Eu i Gd. Anomalije Ce i Eu mogu dati vrijedne informacije o uvjetima oksičnosti i frakcionaciji, dok je Gd u fokusu radi šire upotrebe u medicini. Vrijednosti više od 1 označavaju pozitivne, niže od 1 negativne anomalije, a za spomenute elemente se anomalije mogu izračunaju prema sljedećim izrazima:

$$La^* = \frac{La_N}{Pr_N \cdot \left(\frac{Pr_N}{Nd_N} \right)^2} \quad (1)$$

$$Ce^* = \frac{Ce_N}{Pr_N \cdot \frac{Pr_N}{Nd_N}} \quad (2)$$

$$Eu^* = \frac{Eu_N}{0,67 \cdot Sm_N + 0,33 \cdot Tb_N} \quad (3)$$

$$Gd^* = \frac{Gd_N}{0,67 \cdot Tb_N + 0,33 \cdot Sm_N} \quad (4)$$

gdje * označava anomaliju elementa, a indeks N normaliziranu koncentraciju.^{21,39} Na temelju vrijednosti Gd^* i koncentracije u odabranom sustavu normalizacije (npr. Gd_{PAAS}) može se izračunati koncentracija Gd iz antropogenih izvora (Gd_{ant}):⁴⁰

$$Gd_{ant} = (Gd_N - \frac{Gd_N}{Gd^*}) \cdot Gd_{PAAS} \quad (5)$$

2.1.3. Metali u prirodnim vodama

Metali se ispuštaju u Zemljinu atmosferu vulkanskom aktivnošću, procesima izgaranja i tijekom odvijanja industrijskih i metalurških procesa. Atmosfera je, uz tlo i sediment, glavni izvor metala u tragovima u prirodnim vodama, a ključan je medij prijenosa metala u tragovima u vodene ekosustave udaljene od antropogenog izvora.⁴¹ Značajni prirodni izvori metala u tragovima u prirodnim vodama su i vulkanske i geotermalne aktivnosti.¹

Ljudsko djelovanje značajno utječe na tokove tvari pa tako i metala u tragovima. Kad se govori o prirodnim vodama, najznačajniji antropogeni izvori metala su ispusti otpadnih voda i otjecanje vodâ iz urbanih područja. Ostali izvori uključuju promet, otpad, industriju, poljoprivredu, rudarstvo itd.⁴²

Metali se u prirodnim vodama mogu nalaziti u obliku slobodnih iona, u anorganskim ili organskim kompleksima, adsorbitani na koloidnim ili čvrstim česticama te u krutim česticama (u kristalnim rešetkama u talogu).¹⁰ Na koncentraciju i raspodjelu metala i polumetala u vodi utječe više faktora kao što su: jačina veze u kompleksnim spojevima koje tvore, tendencija stvaranja spojeva s prirodnom organskom tvari, topljivost njihovih hidroksida, karbonata i drugih anorganskih spojeva, sklonost adsorpciji na čvrste organske i anorganske čestice i sklonost apsorpciji od strane živih organizama (uloga u biološkoj aktivnosti).⁴³

2.1.4. Metali u morskoj vodi

Koncentracije metala u morskoj vodi se nalaze u rasponu od 15 redova veličine: od Na (0,5 mol / kg) do Ir (0,5 fmol / kg), dok je specijacija veoma slična specijaciji metala u slatkim vodama uz značajniji udio kompleksa koje neki metali tvore s kloridnom ionom.^{1,10}

Metali kao što su Cd, Cu, Pb i Zn iz prirodnih izvora čine manji udio ukupne količine tih elemenata u atmosferi. To su elementi koji se u atmosferi vežu za krute čestice i relativno se lako iz nje uklanjaju suhim ili mokrim taloženjem. Tako, između ostalog, dospijevaju i u morski okoliš. Od početka industrijskog napretka, globalni ciklusi nekih elemenata (Cd, Cu,

Hg, Pb i Zn) su značajno promijenjeni, odnosno njihove koncentracije u atmosferi su više nego što su bile ranije.⁴³ Unos metala u tragovima u morski okoliš može se odvijati ispiranjem iz tla, erozijom stijena, magmatskim procesima (hidrotermalni izvori), resuspenzijom iz sedimenta i mineralnom prašinom iz atmosfere. Metali u tragovima se iz morske vode uklanjuju biološkom aktivnošću ili pasivnim uklanjanjem nakon taloženja ili vezanja za žive organizme ili čestice. U predindustrijsko doba ovaj način uklanjanja bio je dovoljan za održavanje ravnoteže. Iz velikog dijela čestica se potom metali oslobađaju u vodenom stupcu ili u površinskom sedimentu. Sediment je najčešće krajnja destinacija elemenata u tragovima.^{1,43,44}

Metali u tragovima koje nalazimo u relativno uskom intervalu koncentracija (npr. Mo, W, Cs, Rb, V, U) uglavnom su prisutni u obliku oksianiona ili jednostruko nabijenih kationa, dok su oni čiji su intervali koncentracija najširi (Fe, Zn i Cd) najčešće uključeni u glavne biogeokemijske cikluse, a u relativno velikim količinama ih asimilira i fitoplankton.¹

Razlikujemo tri vrste vertikalne raspodjele elemenata u vodenom stupcu oceana. Uz karakteristične profile koncentracija, navedene tipove raspodjele razlikuje i vrijeme zadržavanja (engl. *residence time*). Ono se definira kao ukupna masa otopljenog elementa u moru podijeljena s izlaznom masom po jedinici vremena. Vrijeme zadržavanja je povezano s jačinom vezanja na čvrste čestice pa elementi s duljim vremenom zadržavanja ne stupaju u značajne interakcije s čvrstom tvari i obrnuto.⁴⁵

Prvu vrstu vertikalne raspodjele (engl. *conservative distribution*) pokazuju elementi koji imaju konstantnu koncentraciju od površine do dna vodenog stupca. Najčešće se radi o elementima viših koncentracija (makrokonstituenti u prvom redu) i nereaktivnim elementima, tj. elementima koje nemaju afinitet prema čvrstим česticama. Primjer elemenata s ovom vrstom raspodjele su: Na, Mg, Ca, K, Sr, B, Mo, Sb, W, Rh, Cs i Rb. Metali u tragovima koji pokazuju ovakvu raspodjelu su najčešće prisutni kao oksianioni (MoO_4^{2-} , WO_4^{2-} i RhO_4^{2-}) ili jednostruko nabijeni kationi (Cs^+ , Rb^+). Općenito vrijedi da, što je viša koncentracija određenog metala u moru, on pokazuje manje varijacije u koncentraciji duž vodenog stupca, kao i duže vrijeme zadržavanja.^{2,43}

Drugu vrstu raspodjele (engl. *nutrient distribution*) pokazuju elementi čija koncentracija raste od površine prema dnu vodenog stupca kao posljedica primarne proizvodnje i adsorpcije na biogene čestice u fotičkoj zoni i njihove remineralizacije pri većim dubinama (kao kod nutrijenata). Primjer elemenata s ovom vrstom raspodjele su: Zn, Cd, Ba i Ag. Pronađeni su i

relativno jednostavni odnosi između koncentracija nekih metala s ovakvom vertikalnom raspodjelom raspodjelom i koncentracija nekih nutrijenata. Primjer toga su korelacija koncentracijâ Zn s H_4SiO_4 ili Cd s PO_4^{3-} i NO_3^- , iako, primjerice, Cd nema biološku ulogu u funkciji morskih organizama.⁴⁶ Područje naglog porasta koncentracije metala naziva se nutriklinom i može se nalaziti u zoni između 500 i 1000 metara dubine. Vrijeme zadržavanja elemenata s drugom vrstom vertikalne raspodjele u vodenom stupcu je kraće u odnosu na elemente čija je koncentracija konstantna od površine do dna vodenog stupca i kreće se u intervalu od nekoliko tisuća do sto tisuća godina.^{9,43}

Treću vrstu vertikalne raspodjele (engl. *scavenged distribution*) pokazuju elementi čija koncentracija opada od površine prema dnu vodenog stupca radi uspostavljanja redoks ravnoteže ili vezanja na organske ili anorganske čestice (engl. *scavenging*). Primjer elemenata s takvom vertikalnom raspodjelom su Al, Pb i Co. Karakterizira ih jaka interakcija s krutim česticama i kratko vrijeme zadržavanja (od oko 100 do 1000 godina). Horizontalne raspodjele ovih elemenata pokazuju da su im koncentracije najviše na mjestu gdje ulaze u morsku vodu (ušća rijeka, mjesta slijeganja prašine, uz sediment ili hidroermalne otvore).¹

Tablica 2. Osnovni podaci o raspodjeli nekih metala (prva, druge ili treća vrsta odnosno složena raspodjela) i najčešće anorganske specije u otopljenoj frakciji^{43,47}

ELEMENT	VRSTA VERTIKALNE RASPODJELE	NAJČEŠĆA ANORGANSKA SPECIJA
Zn	druga vrsta, pokazuje korelaciju s H_4SiO_4	Zn^{2+}
Cd	druga vrsta, pokazuje korelaciju s PO_4^{3-} i NO_3^-	$CdCl_x^{(2-x)}$, $x = 1-4$
Pb	treća vrsta	$PbCO_3$
Cu	složena (kombinacija druge i treće vrste), tj. rast koncentracije do dna ili do određene dubine	$CuCO_3$
Ni	druga vrsta	Ni^{2+}
Co	treća vrsta, može pokazati minimum ispod površine vode ako su koncentracije Zn niske	Co^{2+}
Fe	složena (kombinacija druge i treće vrste), tj. rast koncentracije do određene dubine	$Fe(OH)_x^{3-x}$, $x = 2,3$
Mn	složena, tj. modificirana treća vrsta, može pokazati maksimum ispod površine ako je razina O_2 niska	Mn^{2+}

Ipak, neki elementi koji imaju važnu ulogu u funkcioniranju živog svijeta u morskoj vodi, radi visokih koncentracija (puno viših od potreba organizama) pokazuju prvu vrstu raspodjele

(npr. Ca i Mo). Drugi pak imaju složenu ili hibridnu raspodjelu koje su uzrokovane procesima karakterističnima za dvije ili više *osnovnih* vertikalnih raspodjela. Tako su koncentracije Cu i Fe niže uz površinu (nutrijenti) te uz dno (precipitacija), dok u vodenom stupcu dolazi do njihove remineralizacije. S druge strane, u vodama niže primarne proizvodnje i višeg unosa prašine Fe može pokazivati elemente treće vrste raspodjele.¹

2.1.5. Metali u sedimentu

Kvantitativni podaci o uklanjanju nekih metala (Cd, Cu, Pb i Zn) iz morske vode, kao i podaci o brzini sedimentacije čestica na koje su ovi metali vezani se u literaturi značajno razlikuju. Pretpostavlja se, primjerice, da 90 % količine ovih elemenata koja u morski okoliš dospije iz hidrotermalnih izvora završi u sedimentu. Također je poznato da oko 50 % Cd koji dospije u morski okoliš sedimentira, iako povećanje brzine sedimentacije ne prati i povećanje unosa tog metala u morsku vodu iz drugih izvora. Olovo se brzo uklanja iz morske vode sedimentacijom krutih čestica na koje se lako veže.⁴³

Metali se talože u sediment iz vode i otapaju se iz njega u tijelo vode. Analiza porne vode (u kojoj koncentracije metala mogu biti više od onih u vodi iznad sedimenta) može dati više informacija o tom toku, odnosno bentičkom fluksu.^{1,48,49} Uz kemijske interakcije pojedinih kemijskih vrsta, bentički fluks može ovisiti i o koncentracijskom gradijentu određene vrste na površini sedimenta. Također, oslobađanje nekih metala može biti usporedno s vezanjem drugih na sediment, ali i posljedica reduksijskih i oksidacijskih procesa.^{48,49}

Metali mogu dospjeti u sediment procesima taloženja, adsorpcije na krute čestice ili kompleksiranjem s anorganskim i organskim ligandima.⁴³ Krute čestice na koje se metali vežu mogu biti agregati (anorganske čestice u kojima prevladavaju molekulske sile), aglomerati (organske ili anorganske čestice u kojima su tvari povezane površinskim silama) i flokule (čestice biogene prirode u kojima prevladavaju elektrokemijske sile).⁵⁰ Radi se najčešće o mineralima gline, željezovim ili manganovim oksidima, hidroksidima ili oksihidroksidima ili organskoj tvari, no mogu biti i unutar kristalne strukture silikata.^{51,52} Stoga se sediment sastoji od većeg broja faza: organske tvari, oksida, hidroksida, odnosno oksihidroksida, karbonata, sulfida i alumosilikata. Raspodjela ovih faza u masi sedimenta ovisi o vrijednosti pH, redoks potencijalu, uvjetima sedimentacije, prirodi i koncentraciji prisutnih liganada te salinitetu (ponajprije u estuarijima, odnosno područjima gdje postoji gradijent saliniteta).⁵³⁻⁵⁶ S druge strane, raspodjela metala u sedimentu ovisi i o specifičnim lokacijama, odnosno starosti

sedimenta budući da starenjem sedimenta metali imaju tendenciju prelaska u stabilnije faze.^{57,58}

O vrijednosti pH ovisi raspodjela iona između otopljenih i čvrstih faza jer se povišenjem vrijednosti pH smanjuje kompeticija H⁺ iona pa se tako favorizira adsorpcija metala.⁵⁴ Na vrijednost pH utječe niz procesa, od kojih mnogi ovise o redoks potencijalu.⁵⁹

Redoks potencijal se može definirati kao mjeru dostupnosti elektrona, a njegova vrijednost može poslužiti za procjenu stabilnosti i dostupnosti različitih metala u sedimentu. Promjena redoks potencijala od visokih prema niskim vrijednostima odgovara snižavanju koncentracije kisika u sedimentu, odnosno promjeni iz aerobnih u anaerobne uvjete.⁵² Obzirom na koncentraciju prisutnog kisika, stupac sedimenta se može podijeliti u tri zone: oksičnu, suboksičnu i anoksičnu, kako je prikazano u Tablici 3.⁶⁰

Tablica 3. Zone u sedimentu, pripadajući procesi i pojednostavljene kemijske reakcije prikazane kao degradacija organske tvari⁶⁰

ZONA	PROCESI	REAKCIJA
oksična	oksidacija organske tvari	$\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
suboksična	redukcija NO ₃ ⁻ te Fe i Mn oksida / hidroksida	$5(\text{CH}_2\text{O}) + 4\text{NO}_3^- \rightarrow 2\text{N}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{CH}_2\text{O} + 3\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{MnO}_2 \rightarrow 2\text{Mn}^{2+} + 4\text{HCO}_3^-$ $\text{CH}_2\text{O} + 7\text{CO}_2 + 4\text{Fe(OH)}_3 \rightarrow 4\text{Fe}^{2+} + 8\text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2\text{O}$
anoksična	redukcija sulfata, metanogeneza, acetogeneza, fermentacija	$2(\text{CH}_2\text{O}) + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 2\text{HCO}_3^-$ $4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$ $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ \rightarrow 2\text{CO}_2 + \text{HS}^- + 2\text{H}_2$ $4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$ $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ $4\text{H}_2 + 2\text{CO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2 + \text{H}^+$

Budući da je dubina penetracije kisika u priobalnim morima obično niža od 10 cm, suboksična zona podrazumijeva dio sedimenta u kojem su koncentracije kisika i sulfida niske te se oksidacija vrši redukcijom nitrata te željezovih i manganovih oksida i hidroksida⁶¹⁻⁶³. Vrijednosti redoks potencijala oksidiranog sedimenta su uglavnom pozitivne (do +400 mV prema SHE), a radi se o materijalu smeđe do maslinastozelene boje (od minerala Fe viših oksidacijskih brojeva), dok je sediment u kojem vladaju reduktivski uvjeti crne ili smeđe boje

(od željezovih sulfida) i uglavnom negativnih vrijednosti redoks potencijala (do -200 mV prema SHE).⁶⁰ U sedimentu se Cd, Ni i Zn vjerojatno jače vežu na sulfide, dok Hg i Cu tvore jednakojake veze i s organskom tvari.⁴³ Stoga će, primjerice, povišenjem redoks potencijala u anaerobnih uvjetima doći do oslobođanja ovih metala oksidacijom sulfida. Time će se oslobođiti H^+ ioni čime se snižava vrijednost pH i dolazi do sekundarnog otpuštanja metala.^{51,64} U oksidativnim uvjetima će Fe i Mn biti prisutni u obliku oksida, hidroksida, odnosno oksihidroksida, gdje je Fe trovalentno, a Mn trovalentan ili četverovalentan. Redukcijom će ovi metali prijeći u otopljenu fazu kao Fe^{2+} i Mn^{2+} te se eventualno ponovno taložiti kao sulfidi, karbonati ili fosfati.⁶⁵ Uz navedene, metali na čije geokemijske cikluse utječe redoks potencijal su i As, Cr, Pb, Mo i U.⁶⁶

Metali koji su u visokim koncentracijama prisutni u Zemljinoj kori (Fe, Mn, Si, Al) u morskom sedimentu stvaraju okside, a na njih se iz molekula vode vežu hidroksilne skupine. Mnogi metali mogu koprecipitirati sa Fe i Mn te u sedimentu biti adsorbirani na hidroksidne i oksihidroksidne slojeve koje ti metali čine.⁶⁷ Željezovi oksidi, hidroksidi i oksihidroksidi nastaju u oksičnim uvjetima i mogu biti na površini drugih minerala ili kao zasebni kristali.⁶⁸ Reaktivniji od njih su najčešće amorfni oksihidroksidi Mn koji nastaju ponajprije u oksičnim uvjetima i na površini anorganskih ili biogenih čestica, a za razliku od Fe, oksidacija Mn je vjerojatno biološki kontroliran proces.^{65,69,70} Fenomen stvaranja tih struktura i vezanja metala za njih ovisi o pH, o čijoj vrijednosti ovisi i količina metala koji se može vezati.⁴⁵ Hidroksidi, odnosno oksihidroksidi su uz organsku tvar najvažniji ligandi metala u sedimentima vodenih sustava.^{71,72} Terigena smjesa polimera organskih kiselina, uglavnom humične i fulvične, koja čini većinu morskog sedimenta tvori stabilne komplekse s ionima metala i njihovim oksidima, hidroksidima i oksihidroksidima.^{73,74} Za razliku od oksida, hidroksida i oksihidroksida metala, ova organska smjesa sadrži različite funkcionalne skupine, radi čega je reaktivna u širem području vrijednosti pH.⁷² Uz to, njena reaktivnost raste smanjenjem veličine čestica, no s vremenom se uslijed njezine degradacije vezani metali mogu remobilizirati.^{72,75,76}

2.2. Specijacija, frakcionacija i bioraspoloživost metala u prirodnim vodama i sedimentu

2.2.1. Specijacija i frakcionacija

Pojam specijacije se u znanstvenim radovima najčešće poistovjećuje s frakcionacijom, a neki autori pojmu *specijacija* smatraju širim od frakcionacije.⁵ Oba se pojma pri istraživanju bioraspoloživosti koriste za kvalitativno i kvantitativno određivanje kemijskih vrsta koje

mogu proći kroz staničnu membranu. Međutim, IUPAC predlaže razlikovanje četiri izraza vezana uz kemijske vrste (specije):^{6,7}

- **kemijska specija** (engl. *chemical species*) – određen oblik elementa definiran izotopnim sastavom, elektronskim i oksidacijskim stanjem i / ili strukturom kompleksa ili molekule,
- **specijacija** (engl. *speciation*) – raspodjela određenog elementa između određenih kemijskih vrsta u određenom sustavu,
- **specijacijska analiza** (engl. *speciation analysis*) – analitički postupak čiji je cilj identifikacija i / ili kvantitativno mjerjenje jedne ili više kemijskih vrsta u uzorku,
- **frakcionacija** (engl. *fractionation*) – klasifikacija određenog analita ili grupe analitâ u uzorku prema fizikalnim i kemijskim svojstvima.

2.2.2.1 Eksperimentalna specijacijska analiza

Među metodama koje se najčešće koriste i mogu dati informaciju o specijaciji i frakcionaciji metala u tragovima u morskom okolišu su ponajprije voltametrijske metode: adsorptivna katodna voltametrija otapanja s kompetitivnom izmjenom iona (engl. *competitive ligand exchange – adsorptive cathodic stripping voltammetry*, CLE-AdCSV) i anodna voltametrija otapanja (engl. *anodic stripping voltammetry*, ASV). U specijaciji značajnu ulogu imaju i vezani sustavi koji kombiniraju metode pripreme, razdvajanja i detekcije kao što su: spektrometrija masâ uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS), tekućinska kromatografija (LC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), kapilarna elektroforeza (CE), plinska kromatografija (GC), atomska fluorescencijska spektrometrija (AFS) i druge. Neki primjeri vezanih sustava su: LC-ICP-MS, CE-ICP-MS, GC-ICP-MS, LC-AFS i dr., no koristi se i niz drugih metoda.^{8,77-79} Koriste se i različite vrste ekstrakcija i ionska izmjena.⁸⁰⁻⁸²

Uz navedene analitičke metode, specijacija i frakcionacija su moguće i pri samom uzorkovanju, npr. korištenjem pasivnih uzorkivača kao kod metode difuzijskog gradijenta u tankom sloju (metode DGT) upotreboom gelova (smola) koje akumuliraju samo određene kemijske specije (metoda je detaljnije opisana u poglavlju 2.6).

2.2.2.2 Specijacijska i frakcionacijska analiza upotrebom računalnih programa

Računalni programi za modeliranje specijacije mogu na temelju poznatih, ulaznih podataka o osnovnim fizikalno-kemijskim svojstvima i kemijskom sastavu vode (npr. pH, ionska jakost, koncentracije ili aktiviteti pojedinih tvari, koncentracija organskog ugljika) simulirati

specijaciju pojedinog metala. Usporedba s rezultatima mjerena vezanim tehnikama analize ili metodama uzorkovanja koje se koriste za specijaciju, može pomoći pri interpretaciji mjerena i validiranju podataka prikupljenih mjerenjem, ali i onih dobivenih modeliranjem. Najčešće korištene platforme za modeliranje su *Visual MINTEQ* (vMINTEQ; Jon Petter Gustafsson, www.vminteq.com) i *Windermere Humic Aqueous Model* (WHAM; UK Centre for Ecology and Hydrology, www.ceh.ac.uk/data/software-models/windermere-humic-aqueous-model-wham). U primjeni je čest i *Chemical Equilibria in Aquatic Systems* (CHEAQS; Wilko Verweij, www.cheaqs.eu) također baziran na modelu WHAM za modeliranje interakcije metala i prirodne organske tvari. Računalni programi vMINTEQ i CHEAQS su besplatni programi dostupni na internetu: www.vminteq.com, odnosno www.cheaqs.eu.

Osim za specijacijsku analizu u prirodnim vodama, program vMINTEQ se može koristiti i za izračune ravnotežâ u procesima otapanja, titracije, isparavanja, ukoncentriravanja i dr. Za interakcije metala s organskom tvari može koristiti modele NICA-Donnan i *Stockholm Humic Model* (SHM).^{83,84} Oba se modela temelje na ionu huminske kiseline, a češće se koristi model NICA-Donnan. U ovom se modelu kombiniraju model neidealne kompetitivne adsorpcije (engl. *non-ideal competitive adsorption*, NICA) i Donnanov model nespecifičnih (kulonovskih) veza. Model predviđa vezanje kationa za čestice humične kiseline preko negativno nabijenih funkcionalnih skupina na površini čestica (preuzeto iz modela NICA) i nespecifično vezanje djelovanjem Coulombovih sila između iona i čestice humične kiseline unutar koje, iako je električki neutralna, dolazi do uspostave Donnanovog potencijala. Za razliku od ranije razvijenih modela, model NICA-Donnan u obzir uzima heterogenost adsorpcijskih veza (funkcionalnih skupina), kompeticiju više kemijskih vrsta i elektrostatske interakcije, a dobro slaganje s eksperimentalnim podacima pokazuje u širokom intervalu vrijednosti pH i koncentracija slobodnih iona elemenata. Osnovna prednost modela NICA-Donnan jest uključivanje glavnih iona (Na^+ i Ca^{2+}) u specijacijsku analizu. Glavni ioni ne stvaraju jake veze s organskom tvari, ali mogu imati značajan utjecaj na vezanje drugih iona kroz kompeticiju i elektrostatičke efekte.⁸³

Više se autora bavilo usporedbom modelnih i eksperimentalnih podataka o specijaciji. Primjerice, predviđanja koncentracije slobodnog (otopljenog) Cu i anorganski vezanog Cu su bila viša od onih određenih voltametrijski što se pripisuje jakom vezanju Cu i organske tvari, dok su rezultati za Zn pokazali dobro slaganje modelnih podataka, frakcije DGT i voltametrijski određenih koncentracija u filtriranim uzorcima.⁸⁵ Istraživanje je provedeno na

uzorcima prirodnih, slatkih voda, a korišteni su WHAM, vMINTEQ i SHM modeli, odnosno pripadajući računalni programi. U drugom je istraživanju, također na uzorcima slatke, prirodne vode usporedba potencijalno bioraspoloživih koncentracija Cd, Cu, Ni i Pb dobivenih metodom DGT s modelnim predviđanjima (WHAM i vMINTEQ) isto tako pokazala relativno dobra slaganja za Cu, ali i za Pb i Cd, dok je frakcija DGT za Ni bila niža od predviđene modelima.⁸⁶ Dobra slaganja eksperimentalnih rezultata primjene metode DGT i modelnih predviđanja se mogu naći i za druge elemente (npr. Al, Fe, Co i Mn) kombinirajući različite načine frakcionacije, računalne programe i modele.⁸⁷ Međutim, neka ispitivanja na uzorcima morske i estuarijskih voda pokazala su dobra slaganja za neke elemente, no ne i za Cu i Pb (predviđene vrijednosti su niže od frakcije DGT). Ona su ukazala na to da pretpostavljene vrijednosti ulaznih podataka (fizikalno-kemijski parametri, udio pojedinih organskih tvari i dr.) mogu značajno utjecati na rezultate modelnih predviđanja.^{88,89} Slični su rezultati i zaključci izvedeni iz nekih istraživanja slatke prirodne i porne vode, posebno ako se radi o sustavima pod antropogenim utjecajem.^{90,91} Frakcije DGT za Al, Cu, Pb i Zn su redovito relativno niske u usporedbi s odgovarajućim frakcijama dobivenima računalnim programima. Kreću se od 3 % udjela u ukupnim koncentracijama za Pb do 50 % za Al, što ukazuje na dominaciju inertnih (organskih) specija ili vezanja ovih elemenata na krute čestice u uzorcima morske vode.^{86,87,92}

2.2.2. Frakcionacija u vodenim medijima

Metale u tragovima u prirodnim vodama nalazimo u različitim fazama (frakcijama): čestičnoj, koloidnoj i otopljenoj.⁹³ Frakcionacija je u uzorcima vode najčešće operativna, odnosno određena veličinom pora filtra kroz koji se uzorak filtrira. Koncentracije metala u nefiltriranim uzorcima u tom se slučaju smatraju ukupnima, dok se analizom filtrata dobivaju koncentracije otopljene (ili ukupno otopljene) frakcije. Najčešće korišteni filteri u ovu svrhu su oni veličine pora 0,45 µm i 0,22 µm, a tako određena otopljena frakcija može biti samo indikator bioraspoloživosti.⁹⁴ Koloidnim česticama smatraju se čestice čija je minimalno jedna dimenzija duljine između 1 nm i 1 µm. Molekulska masa čestica veličine 1 nm je približno 1 kDa.⁹⁵⁻⁹⁷

Uobičajenom filtracijom uzorka dio koloidnih čestica dospijeva u filtrat. One utječu na raspodjelu metala u vodenom okolišu jer se radi o organskim i anorganskim tvarima (aglomeratima, agregatima i flokulama) za koje elementi u tragovima imaju različite afinitete vezanja. Na organsku tvar se mogu vezati ioni Zn, Pb, Cd, Cu, Ni, Co i Fe, dok se na

hidrokside i oksihidrokside Fe i Mn na površini koloidnih čestica adsorbiraju ioni As, Pb i Zn.⁹⁸⁻¹⁰¹ Iako navedeni oksidi ovako mogu ukloniti potencijalno opasne elemente iz vodenog stupca, taloženjem rastu njihove koncentracije u sedimentu što može dovesti do krivih zaključaka o antropogenom utjecaju na sastav sedimenta.¹⁰² S druge strane, radi kompetitivnosti glavnih iona u prirodnim vodama može doći i do izdvajanja metala iz koloida (npr. kod stvaranja stabilnih kompleksa Cd s Cl⁻).¹⁰³⁻¹⁰⁵

Glavna načela raspodjele metala u tragovima u vodenom stupcu su dobro poznata: otopljene frakcije metala s pretežno drugom vrstom raspodjele (*nutrient distribution* – Cd, Cu, Ni) uglavnom čine više od 50 % ukupnih koncentracija ovih metala, koncentracije metala s dominantno trećom vrstom raspodjele (*scavanged distribution* – Pb i Co) su u otopljenoj frakciji uglavnom niske jer se oni vežu za čvrste čestice, dok se Zn (druga vrsta raspodjele) očekuje u obje frakcije.^{1,43}

Istraživanje u priobalnom moru Srednjeg Jadrana pokazalo je da je više od 50 % prisutnog Fe i Al u frakciji dimenzija većih od 5 µm, kao i značajan udio Pb i Mn (do 30 %).¹⁰² U koloidnoj frakciji (od 3 kDa do 0,1 µm) nađeno je do 30 % ukupnog Cu, 25 % Pb i 20 % Co. Većina Cu, Co, Zn, Cd i Ni bila je prisutna u otopljenoj frakciji, a više od 80 % Zn, Cd i Ni u frakciji s česticama manjim od 0,1 µm.

2.2.3. Frakcionacija u uzorcima sedimenta

Kao što je ranije navedeno, metali mogu u sedimentu biti vezani na različite načine, a promjene vrijednosti pH, redoks potencijala ili koncentracije organske tvari mogu uzrokovati *oslobađanje* metala u vodu iznad sedimenta te tako utjecati na živi svijet.¹⁰⁶ Na mobilnost metala iz sedimenta također utječu vrsta sedimenta (mineraloški sastav), veličina čestica i svojstva adsorbiranih tvari, odnosno metala.¹⁰⁷ U obzir treba također uzeti i pojave kao što su difuzija, starenje, resuspenzija ili bioturbacija, bilo da su uzrokovane prirodnim događajima ili antropogenom aktivnošću.^{58,108-111} Stoga određivanje ukupne koncentracije metala u uzorcima sedimenta ne daje informacije o, primjerice, bioraspoloživosti, već se za to koriste analize nakon sekvencijske ekstrakcije.¹¹²⁻¹¹⁶

Kao i kod frakcionacijske analize vodenih uzoraka, sekvencijske ekstrakcije uzoraka sedimenta (ili tla) daju mogućnost analize nekoliko frakcija istog uzorka, no ovdje se frakcije ne razlikuju samo u veličini čestica. Više je načina ekstrakcije razvijeno od sedamdesetih godina prošlog stoljeća.¹¹⁷⁻¹²¹ Da bi se izbjegao problem otežane usporedbe rezultata dobivenih različitim procedurama, *Community Bureau of Reference* (BCR), tijelo Europske

komisije koje danas djeluje kao *Standards, Measurements and Testing (SM&T) Programme* je 1999. godine donijelo konačnu proceduru koja se sastoji od četiri koraka. Ona je prikazana u Tablici 4, a dostupan je i certificirani referentni materijal.^{116,122-124}

Tablica 4. Koraci BCR analize sa sredstvima ekstrakcije, vrstama kemijskih reakcija i nastalim frakcijama

KORAK	SREDSTVO EKSTRAKCIJE	FRAKCIJA (PROCES)
1	etanska (octena) kiselina (CH_3COOH), 0,11 mol / L	topiva u kiselini, izmjenjiva ili bioraspoloživa (oslobađanje iona metala kompeticijom H^+)
2	otopina hidroksilamonijevog klorida ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$), 0,5 mol / L	reducibilna (redukcija Fe i Mn oksida, hidroksida, oksihidroksida)
3	vodikov peroksid (H_2O_2), $w=30\%$	oksidabilna (razaranje organske tvari i oksidacija sulfida)
4	zlatotopka (<i>aqua regia</i>), $\text{HCl}:\text{HNO}_3=1:3$	rezidualna (digestija)

Frakcije se mogu analizirati pogodnim metodama za analizu metala u tragovima ovisno o koncentracijskom području i analitu, s time da je tijekom certifikacije referentnog materijala CRM-601 zaključeno da se pri upotrebi metode ETAAS preporučuje korištenje metode dodatka standarda.¹¹⁶

2.2.4. Bioraspoloživost

Podaci o koncentracijama elemenata u otopljenoj frakciji su važan indikator njihove raspodjele, no daljnja frakcionacija, odnosno specijacija je neophodna u procjeni bioraspoloživosti i mobilnosti ovih tvari u vodenim sustavima.^{8,125,126}

Bioraspoloživost se može definirati kao udio tvari prisutne u okolišu koji može dospjeti u živi organizam u ukupnoj količini te tvari u okolišu u kojem se organizam nalazi.^{127,128} Je li neki element dostupan organizmima u vodenom ekosustavu, ovisi o njegovom obliku i koncentraciji. Manje čestice lakše prolaze kroz staničnu membranu, dok su slobodni ili labilni oblici reaktivniji, brže difundiraju i zato je njihova bioraspoloživost izraženija. Upravo o prirodi i jakosti veze pojedinog elementa s ligandima i raspodjeli određenog metala ili polumetala ovisi njegova labilnost, odnosno bioraspoloživost u vodi i sedimentu.^{43,129} Metal mora također biti prisutan u dovoljnoj koncentraciji da bi sudjelovao u kompeticiji za

raspoloživa mjesta u stanici koja inače zauzimaju tvari neophodne za normalnu funkciju stanice.

Primjer iznimki predstavljaju metilživa (MeHg) i tributilkositreni spojevi (TBT) čija je toksičnost jača u odnosu na slobodnu Hg, odnosno Sn. Do toga dolazi radi specifičnog slučaja molekularne mimikrije koja omogućava neometan prijenos unutar živih organizama putevima namijenjenim biološki esencijalnim organskim spojevima.¹³⁰ S druge strane, kod polumetala toksičnost ovisi o valenciji pa su tako trovalentni As i Sb štetniji od peterovalentnih. Također, šesterovalentni Cr je štetniji od trovalentnog. Toksičnost može biti povezana i s matricom u kojoj se element nalazi pa se tako metali u pornoj vodi smatraju više bioraspoloživim i toksičnima od onih prisutnih u čvrstoj fazi sedimenta.¹³¹⁻¹³³

Uz spomenutu sekvencijsku analizu sedimenta koja može dati koncentracije elemenata u bioraspoloživoj frakciji, ova se frakcija u vodi, tlu ili sedimentu eksperimentalno može odrediti i metodom DGT.

2.3. Određivanje elemenata u tragovima

2.3.1. Elektrokemijske metode

Elektrokemijska analiza je skup analitičkih metoda koje se provode s pomoću nekog od električnih svojstava analita u otopini. Može se primjenjivati kao kvalitativna i / ili kvantitativna analitička metoda do vrlo niskih koncentracija analita (u tragovima). Među elektrokemijskim metodama za određivanje i specijaciju metala u tragovima, najčešće se upotrebljavaju voltametrija i potenciometrija (ion-selektivne elektrode, ISE).

Naziv *voltametrija* (voltammetrija) ova metoda dobiva zato što se za signal odziva koristi električna struja kao funkcija narinutog napona (volt-amper-metrija). Signal pobude je narinuti napon, a signal odziva struja ćelije.^{134,135}

Voltametrijske metode su po svojoj prirodi prigodne za specijacijske analize jer se oslanjaju na kemiju otopina i elektrokemiju, za razliku od spektrometrijskih tehnika i metoda koje se baziraju na fizikalno-kemijskim svojstvima elemenata. Specijacijska analiza može se vršiti za kemijske vrste vezane kovalentnim vezama (metilirani metali), na temelju oksidacijskog stanja metala (redoks specijacija) ili prema labilnosti (stabilnosti) kompleksa u kojem se metal nalazi.¹³⁶ Voltametrijske metode su u konstantnom razvoju kojim se nastoje riješiti problemi kao što su imobilnost, ograničenost raspona potencijala koji se koristi za mjerjenje i nedovoljna osjetljivost za neke matrikse.¹³⁷ Uz upotrebu standardne konfiguracije

instrumenata i Hg kapi kao elektrode, osjetljivost i preciznost mogu se značajno poboljšati matematičkom obradom voltamograma.^{138,139}

2.3.1.1 Anodna voltametrija otapanja

Anodna voltametrija otapanja, anodna *stripping* voltametrija (ASV), voltametrija anodnog otapanja ili inverzna voltametrija je tehnika u dva koraka koja uključuje korake pretkoncentracije i otapanja. Tijekom procesa otapanja mjeri se električni signal (anodna struja otapanja) koja, između ostalog, ovisi o koncentraciji određenog metala u otopini. Upravo radi pretkoncentracije, koja je glavna prednost ove metode, radi se o tehnici visoke osjetljivosti.¹³⁵

U koraku pretkoncentracije (akumulacije ili katodnog izluživanja) se na radnu elektrodu narine kontrolirani potencijal negativniji od poluvalnog potencijala metalnog iona pa se radna elektroda ponaša kao katoda. U slučaju metode koncentriranja u Hg elektrodu (koja se koristi češće od adsorpcije na čvrstu radnu elektrodu), za trajanja koraka pretkoncentracije (uobičajeno do 15 minuta) određivani element se kontinuirano reducira i koncentrira u amalgam. Prije mjerjenja se uklanja kisik iz otopine propuhivanjem dušikom ili argonom radi eliminacije oksidacijskog djelovanja kisika (deoksidacija). Reakcija redukcije se uvijek odvija određeno vremensko razdoblje i pod jednakim uvjetima.

Za korak otapanja (uklanjanja iz tekuće Hg), koriste se potencijali pozitivniji od poluvalnog potencijala metalnog iona pa se radna elektroda ponaša kao anoda. Kako primjenjeni potencijal doseže poluvalni potencijal metalnog iona, dolazi do oksidacije amalgama i metalni se ion uklanja iz amalgama u otopinu. Otapanje se najčešće vrši diferencijalno-impulsnom (engl. *differential pulse ASV*, DPASV) ili pravokutnom izmjenično-impulsnom (engl. *square-wave ASV*, SWASV) promjenom potencijala. Signal odziva ima oblik vrha (pika), a vršne struje nastaju kad sustav dosegne oksidacijske potencijale koji su karakteristični za svaku mjerenu elektrokemijsku vrstu.^{98,135}

U pogledu analita, kod metode ASV postoji nekoliko ograničenja, odnosno mogu se mjeriti samo slobodni metalni ioni elemenata koji se mogu svesti u elementarno stanje, metali koji su topivi u tekućoj Hg tvoreći amalgame (ako se koristi Hg elektroda), metali koji se mogu reducirati i reoksidirati pri prikladnim potencijalima i kinetički labilni kompleksi (anorganski i organski sa slabim vezama).⁹⁸ Metoda DPASV se najčešće koristi za određivanje Zn, Cd, Pb i Cu.¹⁴⁰⁻¹⁴³

Problemi pri analizi mogu nastati zbog preniske koncentracije analita, stvaranja netopivih intermetalnih spojeva u Hg i visokih koncentracija drugih molekulskih vrsta koje mogu reducirati na potencijalima redukcije analita.¹⁴⁴ Nadalje, reduksijski potencijal (potencijal pretkoncentracije) ne smije biti pozitivniji od potencijala otapanja (oksidacije) Hg ni negativniji od reduksijskog potencijala H₂ pa formalni elektrodni potencijal mora biti između -1,1 V i +0,4 V prema zasićenoj kalomelovoj elektrodi (relativno malen broj metala ispunjava taj uvjet). Neki metali čiji se potencijali nalaze u tom intervalu su slabo topivi u Hg (Fe, Si, Ni, Mo, Ti i Te), a drugi imaju bliske potencijale pa im se vrhovi signala preklapaju (Sn, Pb, Tl, In i Cd). Upotreboom mehanizma adsorpcije tijekom pretkoncentracije, popis metala koji se može odrediti metodom ASV se proširuje.^{98,135}

Tehnika ASV se može koristiti za specijaciju i frakcionaciju metala, odnosno istraživanje interakcije metala s prirodnom organskom tvari određivanjem kapaciteta kompleksiranja.^{98,145} Izbor potencijala pretkoncentracije kod ASV je važan u kontekstu frakcionacije i specijacije, odnosno u svrhu određivanja bioraspoloživosti s obzirom na to da je od interesa reducirati sve slobodne i labilno vezane metalne čestice, ali ne i inertni metalni kompleks prilikom određivanja kapaciteta kompleksiranja. Stoga bi trebalo izvršiti provjeru uzorka izvođenjem pseudopolarografskog tipa mjerenja, odnosno odrediti ovisnosti intenziteta oksidacijskog signala o potencijalu akumulacije.^{98,146}

2.3.1.1 Katodna voltametrija otapanja

Princip provedbe metode katodne *stripping* voltametrije ili voltametrije katodnog otapanja (CSV) temelji se na depoziciji teško topljivog spoja nastalog reakcijom određivane tvari iz otopine i Hg⁺ ionâ oslobođenih anodnim otapanjem Hg elektrode. Nakon tog prvog koraka (pretkoncentracije), slijedi promjena smjera promjene potencijala prema negativnijim potencijalima i dolazi do pojave katodne struje otapanja kao funkcije potencijala radne elektrode. Potencijal depozicije ovisi o koncentraciji određivanog iona, a što je ona viša, potencijal je negativniji. Vrijeme depozicije obično nije dulje od 15 minuta, ali mora biti dovoljno dugo da zadrži nastali talog na elektrodi.^{98,135} Kao signal pobude može se koristiti linearna promjena potencijala, skokovita promjena potencijala (katodna *stripping* kronoamperometrija) ili se mjerenje može obavljati uz kontroliranu i konstantnu struju (katodna *stripping* kronopotenciometrija).¹³⁵

Posebna mjerna tehnika temelji se na adsorpciji u koraku pretkoncentracije. Iako se može koristiti i s metodom ASV, širu primjenu ima adsorptivna katodna *stripping* voltametrija ili

adsorptivna katodna voltametrija otapanja (AdCSV). Radi se o vrlo osjetljivoj metodi kojom se mogu odrediti različiti anorganski kationi u vrlo niskim koncentracijama (granice detekcije su u rasponu od 10^{-10} do 10^{-14} mol / L), a da pritom ne moraju biti topivi u Hg kao što je to slučaj kod metode ASV.^{98,147,148}

Mehanizam uključuje stvaranje površinski aktivnog kompleksa određivanog metala u prisutnosti prikladnog kompleksirajućeg liganda koji se dodaje uzorku. Slijedi adsorpcija na radnoj elektrodi, najčešće u monomolekulskom sloju. U većini slučajeva odabrani adsorpcijski potencijal nešto je pozitivniji od potencijala redukcije kompleksa. *Otanjanje* se provodi promjenom potencijala u negativnom smjeru i mjeri se katodna struja koja je rezultat redukcije adsorbiranog kompleksa. Adsorbirani materijal može se odrediti primjenom linearног, diferencijalno-impulsног ili pravokutnog izmjenično-impulsног pobudnog signala.^{134,149}

Primjena tehnike AdCSV u specijacijskoj analizi uključuje dodavanje poznatog liganda u realni uzorak. Pritom dolazi do kompetitivnog kompleksiranja s određivanom kemijskom vrstom. Ova metoda naziva se adsorptivna katodna voltametrija otapanja s kompetitivnom izmjenom iona (liganda, engl. *competitive ligand exchange AdCSV, CLE-AdCSV*).^{150,151}

Dodatne prednosti metode AdCSV predstavljaju: mogućnost određivanja elektroneaktivnih tvari prevođenjem u njihove elektroaktivne derivate, mogućnost redukcije samog analita ili liganda koji s analitom stvara kompleks te mogućnost provođenja ispitivanja uz katalitičku reakciju.

2.3.2. Tehnike atomske apsorpcijske spektrometrije

Najčešće korištene metode atomske spektrometrije uključuju atomsku apsorpcijsku spektrometriju (AAS), atomsku emisijsku spektrometriju (AES ili OES) i atomsku fluorescencijsku spektrometriju (AFS). Zasnivaju se na pobuđivanju atoma pri visokim temperaturama te praćenju intenziteta apsorbiranog, odnosno emitiranog zračenja. Atomske specije mogu apsorbirati ili emitirati zračenje točno određenih valnih duljina koje se kreću u UV i VIS dijelu spektra.^{147,152}

Kod metoda AAS dolazi do apsorpcije energije fotona pri čemu atom prelazi iz stanja niže u stanje više energije (pobuđeno stanje). Kao izvor energije koriste se žarulje (lampe) ili ugrijana krutina, a mjeri se omjer intenziteta zračenja izvora i intenziteta neapsorbiranog zračenja. Ovisno o načinu pobude razlikujemo dvije osnovne tehnike atomske apsorpcije:

plamenu atomsku apsorpcijsku spektrometriju (engl. *flame AAS*, FAAS) i elektrotermičku atomsku apsorpcijsku spektrometriju (engl. *electrothermal AAS*, ETAAS).

Kod FAAS se plamen dobiva najčešće gorenjem smjese zraka i etina (uobičajeni naziv acetilen, C_2H_2), a umjesto zraka se može koristiti i N_2O (tzv. dušikov oksidul ili suboksid) ili kisik. Uzorak se raspršuje s oksidansom (najčešće zrakom) i miješa s gorivim plinom (npr. C_2H_2 , H_2 ili C_2H_6), nakon čega se uvodi u plamen gdje prvo dolazi do isparavanja matrice uzorka pa do atomizacije i pobuđivanja atoma. Plamenici su najčešće širine 5 ili 10 cm te predstavljaju duljinu optičkog puta zrake iz lampe. Plamenik se može zakrenuti pod definiranim kutem u odnosu na smjer zrake čime se dobiva šire dinamičko područje kalibracije, no snižava se osjetljivost (povisuju granice detekcije i kvantifikacije).¹⁵³ Tehnika FAAS uglavnom nema mogućnost određivanja dovoljno niskih koncentracija da bi se koristila za određivanje elemenata u tragovima bez pretkoncentracije, no može se upotrebljavati za određivanje metala koji su u uzorcima vode prisutni u redu veličine mg / L (npr. Na, Ca, Mg).¹⁵⁴

Elektrotermička pobuda se događa unutar grafitne kivete (peći) pa se često naziva i atomskom apsorpcijskom spektrometrijom u grafitnoj peći (engl. *graphite furnace AAS*, GFAAS). Koraci analize uključuju isparavanje matrice uzorka (najčešće u dva ili tri koraka, tj. na dvije ili tri različite temperature), razaranje matriksa (pirolizu) i atomizaciju analita. ETAAS ima relativno niske granice kvantifikacije koje se mogu dodatno sniziti pretkoncentracijom, prilagođavanjem temperaturnog programa i odabirom pogodnog modifikatora. Taj postupak se može koristiti i za eliminaciju ili umanjivanje smetnji uzrokovanih matricom kao i za specijacijske analize.^{155,156}

Posebnu grupu tehnika čine tehnike generacije parâ (engl. *vapour generation*, VG) u koje spadaju hidridna tehnika (engl. *hydride generation*, HG; određivanje As, Se, Sb i dr.) i tehnika hladnih para (engl. *cold vapour*, CV, određivanje Hg). Tehnike generacije parâ se, osim uz AAS (HG-AAS i CV-AAS), koriste i uz AFS (HG-AFS i CV-AFS). Tehnike VG-AAS i VG-AFS koriste se za određivanje Pb, Cd, Zn, As, Sb, Bi, Ge i Se, dok CV-AAS i CV-AFS omogućavaju određivanje volatilnih elemenata (Hg) na sobnoj temperaturi.¹⁴⁷

2.3.2.1 Inhibitori ionizacije i modifikatori

Kod metoda s plamenom pobudom, moguća je pojava ionizacije nekih elemenata što može dati neproporcionalno visok signal, a moguća je pojava kemijskih interferencija radi nepotpune atomizacije. Prvi slučaj je moguće riješiti dodavanjem reagensa u suvišku koji se

lakše ionizira od analita (npr. KCl pri analizi Na, Ca i dr.), a drugi dodavanjem oslobađajućeg agensa ili korištenjem smjese plinova koja čini plamen više temperature (npr. smjesa N₂O-C₂H₂ stvara plamen temperature 2600 °C do 2800 °C, a smjesa zrak-C₂H₂ 1700 °C do 1900 °C).¹⁵³

Kod tehnike ETAAS mogući su gubici volatilnih analita u koraku pirolize i nemogućnost razaranja matriksa, pri čemu se određivani analit ne atomizira u potpunosti. Problemi se mogu riješiti dodavanjem modifikatora ili prije injektiranja uzorka ili s uzorkom. Jedan princip djelovanja modifikatora zasniva se na pretvorbi refraktornih spojeva u one koji se mogu razoriti pri uobičajenim temperaturama pirolize (npr. eliminacija NaCl iz uzorka dodavanjem NH₄NO₃), dok drugi modifikatori *stabiliziraju* volatilni analit stvarajući s njim spoj više temperature pirolize (npr. (NH₄)₃PO₄, Ni(NO₃)₂ i Pd(NO₃)₂).^{157,158} Također se koristi i metoda *presvlačenja* unutrašnjosti grafitne kivete metalom koji sprječava dodir analita s ugljikom iz grafitne kivete i stvaranje karbida vrlo visokih temperatura pirolize (npr. Rh, Ir, W i Ru).^{159,160}

2.3.2.2 Korekcija signala

Kod tehnika atomske apsorpcije kao izvor svjetlosti koju atomi analita apsorbiraju koriste se žarulje (lampe) koje emitiraju svjetlost valne duljine karakteristične za prijelaz elektrona između određenih energetskih nivoa u elektronskom omotaču određenog kemijskog elementa. Postoje dvije vrste lampi: lampa sa šupljom katodom (engl. *hollow-cathode lamp*, HCL) i lampa s bezelektrodnim izbojem (engl. *electrodeless discharge lamp*, EDL).

Ukupan signal kod tehnikâ atomske spektrometrije sastoji se od signala analita i pozadinskog signala koji može biti uzrokovani rasipanjem svjetlosti ili apsorpcijom drugih kemijskih vrsta u uzorku. Stoga je potrebno signal detektora (ukupan signal) korigirati, a to se najčešće radi s pomoću izvora kontinuiranog zračenja (najčešće deuterijeve, tj. D2 lampe) ili Zeemanove korekcije. Signal D2 lampe predstavlja nespecifičnu apsorpciju, dok signal HCL ili EDL lampe predstavlja signal ukupne apsorpcije. Rezultat (signal analita) dobiva se oduzimanjem signala ukupne apsorpcije pri valnoj duljini specifičnoj za analit (signala HCL ili EDL lampe) od signala nespecifične apsorpcije (signala D2 lampe). Zeemanov efekt djeluje na principu odvajanja energetskih nivoa atoma (spektralnih linija) u magnetskom polju i generalno predstavlja bolju korekciju šuma od D2 lampe.^{157,161}

2.3.2.3 Karakteristične mase i koncentracije

Kod tehnike FAAS, osjetljivost se može definirati kao karakteristična koncentracija, tj. koncentracija analita pri kojoj se dobiva 1 % apsorpcijskog signala (0,0044 Abs). Kod tehnike ETAAS primjenjuje se isti princip, samo s masom (karakteristična masa analita pri 0,0044 Abs). Ovo se pokazalo kao vrlo vrijedan dijagnostički koncept s obzirom na to da bi karakteristične vrijednosti trebale biti konstantne tijekom cijele analize ako je kalibracija provedena ispravno i ako su instrumentni uvjeti ispravno postavljeni i stabilni. Vrijednosti karakterističnih masa i koncentracija se mogu teoretski izračunati, no u praksi ovise u nizu parametara.¹⁶² Upotrebom grafitnih kiveta s L'ovovljevom platformom smanjuje se utjecaj matrice na vrijednost karakteristične mase, a ona u prvom redu ovisi o temperaturama pirolize i atomizacije. Značajnu ulogu u postizanju željene karakteristične mase imaju i stanje grafitne kivete (starost, odnosno broj odrađenih injektiranja) te odabir i kvaliteta modifikatora matrice.^{162,163}

2.3.3. Spektrometrija masâ uz induktivno spregnutu plazmu

Spektrometrija masâ uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) je trenutačno najčešće korištena metoda za određivanje koncentracije elemenata u uzorcima iz okoliša pa tako i za određivanje ukupne i ukupno otopljenе frakcije metala u vodenim medijima. Analize se najčešće provode u kapljevitim uzorcima (uzorci vode ili digerirani kruti uzorci), iako postoje i vezane tehnike koje omogućavaju direktnu analizu uzorka u čvrstom stanju (laserska ablacija, LA-ICP-MS). Metodom ICP-MS mogu se, između ostalog, odrediti svi elementi kao i tehnikama atomske spektroskopije, a velika prednost joj je u tome što se radi o multielementnoj analizi. Rezultat se dobiva relativno brzo, a granice detekcije i kvantifikacije su niske. Metodom se određuju pojedini izotopi elemenata te postoji mogućnost određivanja njihovih omjera.

Kod metode ICP-MS se kao ionizacijski izvor koristi induktivno spregnuta plazma, a za detekciju nastalih iona koristi se spektrometar masa. Uzorak se uvodi u plazmenik (plazma plamenik ili baklju, engl. *torch*) kroz raspršivač (engl. *nebulizer*) i komoru za raspršivanje (engl. *spray chamber*). Komora za raspršivanje se može hladiti kako bi se kondenzirala vodena para i tako se smanjio unos vode u plazmu. Najčešće se za dobivanje plazme koristi Ar u atomarnom stanju. Plazma se stvara unutar zavojnice (u plazmeniku) pod utjecajem polja visoke frekvencije (27,12 MHz ili 40 MHz) iz radiofrekvencijskog (RF) generatora, a radi se o makroskopski gledano električki neutralnom plinu koji sadrži atome, ione i metastabilne

ione argona i drugih elemenata (iz zraka i uzorka koji ulazi u plazmu) te elektrone.¹⁶⁴ Za dobivanje plazme se najčešće koristi Ar radi svoje inertnosti i visoke energije ionizacije, jednostavnog emisijskog spektra i mogućnosti ionizacije većine drugih elemenata.¹⁴⁷ Osim toga, Ar se najčešće koristi i kao plin nosioc koji raspršuje uzorak prije ulaska u plazmu (ako se ne koristi ultrazvučni raspršivač ili druga, posebna izvedba) i kao pomoćni plin koji služi za razdvajanje plazme od stijenki baklje (oblikovanje plazme), čime se snižava temperatura na kraju baklje i smanjuje se depozicija otopljenog materijala. Ioniziranjem i pobuđivanjem dijela atoma Ar te dalnjim sudarima pobuđenih i nepobuđenih atoma, postiže se i održava temperatura plazme između 5000 K i 10000 K što je dovoljno za ionizaciju i ekscitaciju većine elemenata.^{164,165} U plazmi se uzorak suši, kemijske specije disociraju, dolazi do atomizacije, a potom i do ionizacije i ekscitacije atoma. Koji će elementi ionizirati i u kojoj mjeri (udjelu) ovisi o njihovim energijama ionizacije, dok plazma pri atmosferskom tlaku neće ionizirati elemente s energijom ionizacije višom od 10 eV.¹⁶⁵

Nastali ioni se kroz sučelje (dva konusa hlađena vodom) i uz snižavanje tlaka kreću iz plazme u spektrometar masa. Njegova uloga je razdvajanje iona na osnovu odnosa njihove mase i naboja (m / z) i kvantifikacija iona iste vrijednosti omjera m / z . Razdvajanje se odvija u području veoma niskog tlaka (vakuma) kako bi se osigurao nesmetan put ionima. Najčešće se to zbiva prolaskom kroz oscilacijsko polje koje nastaje između četiri vodljiva elementa (elektrode) u obliku štapova kroz koje teče izmjenična struja (kvadrupol, engl. *quadrupole*). Hoće li pojedini ion proći kroz kvadrupol do detektora ovisi o nizu parametara oscilacijskog polja i samog iona na ulazu u kvadrupol. Među tim parametrima je i vrijednost omjera m / z pojedinog iona.¹⁶⁴ Najčešći detektor u upotrebi je multiplikator elektrona, a u upotrebi su i detektori u čvrstom stanju.¹⁶⁵

Radi snižavanja granica detekcije i kvantifikacije, na tržištu postoje instrumenti s više kvadrupola i oni koji koriste, npr. heksapolove ili oktopolove (tri, odnosno četiri para paralelnih elemenata za stvaranje oscilacijskog polja).¹⁶⁶ Dodatno se performanse mogu poboljšati upotrebom kolizijsko-reakcijske ćelije (engl. *collision-reaction cell*, CRC) u koju se okomito na smjer kretanja iona uvode dodatni plinovi (npr. H₂, He, N₂O i dr.). Ovi plinovi reagiraju s pojedinim ionima tvoreći poliatomne strukture promijenjene molekulske mase ili sudarom (kolizijom) mijenjaju putanju čestica koje se žele ukloniti iz zrake iona. Tako se mogu značajno smanjiti interferencije izazvane reakcijom s atomima Ar ili one koje dolaze iz matrice uzorka. Često se na tržištu mogu naći izvedbe deklarirane kao trostruki kvadrupol

(engl. *triple quadrupol*, QQQ), no najčešće se radi o kombinaciji dva kvadrupola i kolizijsko-reakcijske ćelije koja igra ulogu trećega. Tvrta Varian (danasa Analytik Jena) patentirala je i tzv. *ionsko zrcalo* kao vrstu kvadrupola u kojem parabolično elektrostatsko polje zakreće zraku iona za 90° pa tako iz zrake eliminira fotone te neutralne i čvrste čestice.

Uz kvadrupolne, postoje i druge izvedbe instrumenata kao što su sektorski ICP-MS (engl. *sector field*, SF-ICP-MS), višekanalni ICP-MS (engl. *multicollector*, MC-ICP-MS) ili ICP-MS s mjerjenjem vremena leta (engl. *time of flight*, TOF-ICP-MS).

Kod analiza metodom ICP-MS izražene su interferencije, koje se mogu podijeliti na spektralne i nespektralne. Među spektralne interferencije spadaju izobarične (više izotopa različitih elemenata istog omjera m / z) i molekulske interferencije (poliatomne vrste jednakog omjera m / z kao analit).¹⁶⁶ Interferencije su problematične radi nemogućnosti instrumenata da razvoje signale bliskih vrijednosti omjera m / z . Radi se najčešće o oksidnim, poliatomskim i dvostruko nabijenim ionima. Potonje tvore elementi relativno niskih drugih energija ionizacije, a na njihovo stvaranje se može utjecati ugađanjem parametara analize. Nespektralne su interferencije uzrokovane specijama iz matrice i ponekad se nazivaju matriks efektom. Rezultiraju promjenama osjetljivosti radi varijacija u sastavu otopine koja se analizira i česte su u uzorcima iz okoliša (primjer uzroka ovakvih interferencija su soli iz morske vode). Predloženi načini rješavanja interferencijskih problema, uz spomenutu upotrebu kolizijsko-reakcije ćelije, mogu biti: upotreba internog standarda (ponajprije kod nespektralnih interferencija), analiza metodom dodatka standarda, razrjeđivanje uzorka (najčešći pristup pri analizi morske vode), odabir neinterferirajućeg izotopa u slučaju određivanja elemenata s više izotopa, preračunavanje iz izotopnih omjera (vrijedi za izobarične interferencije), oduzimanje vrijednosti slijepo probe, posebne pripreme uzorka, matematičke korekcije i dr.¹⁵⁴ Problem nespektralnih interferencija može se riješiti i metodom izotopskog razrjeđivanja (engl. *isotopic dilution mass spectrometry*, IDMS) koja uključuje poznati dodatak obogaćenog izotopa elementa od interesa u uzorak. Mjerenje se temelji na mjerenjima omjera jednog izotopa elementa prema drugom, a primjena je moguća samo na elementima s više izotopa.¹⁶⁷⁻¹⁶⁹

2.3.4. Ostale metode

Živa je zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava jedinstven metal periodnog sustava elemenata, koji u prirodnim vodama postoji u nizu kemijskih vrsta. Iako je upotreba tehnike CV-AAS za određivanje Hg u vodama široka, često se koristi i CV-AFS. U načelu se radi o

sličnim procedurama analize, no prednosti tehnike CV-AFS su, između ostalog, viša osjetljivost i mogućnosti specijacijske analize (npr. određivanje metiliranih Hg vrsta). Procedura analize uključuje: oksidaciju uzorka, odnosno prisutne organske tvari (tvarima kao što su $K_2Cr_2O_7$, KBr i $KBrO_4$ u kiselom mediju), redukciju Hg iona u Hg^0 (s pomoću $SnCl_2$ ili $NaBH_4$) i detekciju. Određivanje nižih koncentracija je moguće postići amalgamacijom nakon redukcije u Hg^0 (najčešće s Au, engl. *gold trap*). Nakon koraka amalgamacije slijede reevaporacija analita i detekcija, odnosno kvantifikacija.¹⁵⁶ Dodatkom Au u uzorak, Hg se može odrediti i metodom ICP-MS.

Danas su dostupni i direktni analizatori Hg (engl. *direct mercury analyzer*, DMA) koji u pravilu ne zahtijevaju pripremu uzorka. Uzorak se (bez obzira na to je li u tekućem ili krutom agregatnom stanju) nakon uvođenja u instrument spaljuje, Hg se pretkoncentrira amalgamacijom i detektira (npr. spektrofotometrijski). Ovakvi instrumenti mogu biti i dio vezanih sustava s AAS ili ICP-MS.¹⁷⁰ Granice detekcije i kvantifikacije ovih tehniki najčešće nisu dovoljno niske za kvantificiranje Hg u prirodnim vodama.

Ion selektivne elektrode (ISE) su potenciometrijske elektrode selektivne samo na određenu (jednu) kemijsku vrstu (u idealnom slučaju). Njihov odziv je funkcija aktiviteta određivane kemijske vrste.¹³⁵ Do sad je razvijen velik broj različitih ISE elektroda, a sposobnost određivanja samo jedne kemijske vrste im je ujedno i osnovna mana uz to što je njihova primjena ovisna o komercijalno dostupnim elektrodama.¹⁷¹ Neki primjeri primjene uključuju određivanje Cu(II) u prirodnim slatkim vodama i u morskoj vodi.^{172,173}

Spektrofotometrijske metode su među najstarijim metodama određivanja metala. Zasnivaju se uglavnom na stvaranju obojenih metalnih kompleksa i apsorpciji svjetlosti određene valne duljine. Tako se koncentracije otopljenog Fe reda veličine $\mu mol / L$ mogu detektirati iz apsorpcije kompleksa s 2,4,6-tris(2-pirodol)-1,3,5-triazinom na valnoj duljini od 594 nm ili 595 nm, dok se koncentracije Mn reda veličine $\mu g / L$ u alkalnim medijima mogu dobiti iz podataka o apsorpciji kompleksa s formaldioksimom ($H_2C=NOH$) pri 450 nm.¹⁵⁶ Spektrofotometrijske metode su za niz metala, među kojima su Cu, Al, Si, Pb, V, Mo i dr., razvijene još sredinom prošlog stoljeća.⁹

2.4. Metode pripreme uzorka za analizu metala u tragovima u uzorcima morske vode i sedimenta

2.4.1. Priprema uzorka morske vode

S obzirom na to da soli i često vrlo niske koncentracije analita predstavljaju značajne smetnje kod uobičajenih metoda određivanja metala u tragovima u uzorcima morske vode, jedino voltametrijske metode imaju mogućnost direktne analize ovakvih uzoraka, bez razrjeđenja ili pretkoncentracije. Ipak, ako se žele odrediti ukupne koncentracije elemenata u tragovima, prije analize je potrebno ukloniti jake organske ligande koji keliraju neke elemente u tragovima. To se najčešće radi tretiranjem uzorka UV zrakama koje oksidiraju organsku tvar (UV digestija). U slučaju Co i Cu digestija se pokazala neophodnom, dok u slučaju Zn i Fe tretiranje ovisi o prirodi uzorka.^{140,174-182} Obrada prije analize metodom ICP-MS mora uključivati barem razrjeđivanje, dok je prije analize tehnikama atomske spektrometrije u uzorku potrebno sniziti koncentracije soli (interferirajućih iona) te najčešće pretkoncentrirati (ekstrahirati) analite.

Kapljeviti uzorci kao i uzorci morske vode trebali bi se zakiseliti u najkraćem roku nakon uzorkovanja ako će se u njima određivati ukupne koncentracije metala. Zakiseljavanje (konzerviranje) se najčešće provodi do vrijednosti pH uzorka niže od 2 dodatkom dušične (HNO_3), klorovodične (HCl) ili perklorne kiseline (HClO_4). Konačnu vrijednost pH uzorka treba odabrati imajući u vidu zahtjeve analitičkih procesa koji slijede pa se tako uzorci za specijacijske analize ne konzerviraju, dok se prije analize otopljenih frakcija uzorci filtriraju kroz filtere odabrane veličine pora i potom zakiseljavaju. Ciljevi konzerviranja su: sprječavanje gubitaka analita, otapanje metala iz čvrstih čestica i inhibicija rasta mikroorganizama. Do gubitka analita može doći uslijed adsorpcije na stijenke ambalaže ili precipitacije.¹⁸³⁻¹⁸⁵ Procedure pripreme prije određivanja Hg uključuju i dodatak drugih tvari (reagenasa) kao što su oksidansi ili kompleksirajući agensi.¹⁸³

Pretkoncentracija uključuje niz tehnika među kojima su ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. *solid phase extraction*, SPE – keliranjem ili izmjenom iona, u kolonama ili dodavanjem direktno u uzorak), ekstrakcija tekuće – tekuće (engl. *liquid – liquid extraction*, LLE), elektrokemijska pretkoncentracija koja se zbiva pri mjerenu tehnikama voltametrije otapanja, generacija hidrida ili koprecipitacija.¹⁵⁶ Metali mogu koprecipitirati sa Fe(OH)_3 , Mg(OH)_2 , pirolidinditiokarbamatom, 8-kinolinolom ili njegovim derivatima i drugim agensima.¹⁸⁶⁻¹⁸⁹ Magnezijev hidroksid je jako dobar *sakupljač* metala, no visoke koncentracije Mg u uzorku

stvaraju probleme pri određivanju metala tehnikom ETAAS, a mogući su problemi i kod analize morske vode metodom ICP-MS koji se mogu riješiti izotopskim razrjeđenjem.^{168,169,186}

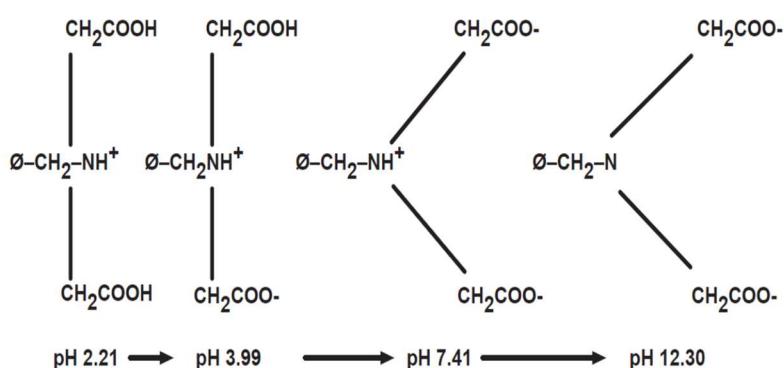
Tijekom sedamdesetih i osamdesetih godina prošlog stoljeća najčešće korištena tehnika određivanja metala u tragovima u uzorcima morske vode bila je ETAAS nakon pretkoncentracije. U tom je razdoblju razvijeno niz metoda pripreme uzorka koje su se bazirale na ekstrakcijama SPE i LLE. Te su metode uključivale štetne tvari, dok su puferske otopine potrebne u analizi sadržavale anione koji kompleksiraju s nekim metalima.¹⁸⁰ Jedna od takvih metoda uključuje dodavanje smjese Freona TF i kloroformu zakiseljenom uzorku nakon ugađanja vrijednosti pH na 4,5 i dodatka kelirajućih agenasa (smjesa amonijevog pirolidinditiokarbamata, APCD i dietilamonijevog dietilditiokarbamata, DDDC). Organski sloj se zatim ekstrahira, isparava na grijaćoj ploči, suhi ostatak se otapa u HNO₃ te analizira tehnikom ETAAS. Ovaj način pripreme omogućava određivanje Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Ni i Zn.¹⁵⁶ Danas se ovakav pristup može koristiti za frakcionaciju: Moriyasu i Moffett su prikazali rezultate frakcionacije Cu nakon keliranja s 8-hidroksikinolinom i ekstrakcije toluenom.⁸⁰

Priprema uzorka metodama koje uključuju koprecipitaciju i keliranje bez kolona uključuje dodatne korake kao što su filtracija uzorka ili centrifugiranje te otapanje taloga s filtera, odnosno nakon dekantiranja. Sredinom prošlog stoljeća su se za pretkoncentraciju prije analize nekom od tehnika AAS počele koristiti i kelirajuće te ion-izmjenjivačke smole, a sama pretkoncentracija je često automatizirana zahvaljujući kolonama ispunjenim ovim smolama. Određivanje Pb tehnikom ETAAS nakon precipitacije sa Fe(OH)₃ i keliranja trgovački dostupnom ion-izmjenjivačkom smolom Pb·Spec opisali su Nakajima i sur.¹⁸⁶

Chelex-100 proizvođača Bio-Rad Laboratories bila je jedna od najčešće korištenih smola u procesima pretkoncentracije kroz kolone (bez koprecipitacije). Radi se o polimeru na bazi iminodietanske kiseline (IDA) sa sposobnošću zadržavanja metala u rasponu vrijednosti pH od 5 do 9. Korišten je od samih početaka u kombinaciji s tehnikom ETAAS za određivanje niskih koncentracija niza metala u morskoj vodi, ovisno o vrsti eluenta.¹⁹⁰ Metoda je korištena s tehnikom ETAAS za određivanje Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb i Zn pri vrijednosti pH između 5 i 5,5 i uz uklanjanje Na, K, Mg i Ca dodatnim eluiranjem otopinom amonijaka.¹⁹¹ Pritom je učinkovitost pretkoncentracije i eluiranja provjerena samo dodavanjem poznate mase analita iz standardnih otopina (*spike*). Viša vrijednost pH (do 9) korištena je za određivanje Cu, Cd,

Ni i Zn kao pokušaj uklanjanja veće količine Ca i Mg. U ovom je slučaju smola tretirana otopinom amonijaka radi podizanja vrijednosti pH do 9, zatim je 4 L morske vode propušteno kroz kolonu. Na kraju postupka su metali eluirani s 30 mL HNO₃ koncentracije 2 mol / L. S metalima su ipak eluirane i značajne količine alkalijskih i zemnoalkalijskih elemenata, a poteškoće je stvarala i mehanička nestabilnost smole. Primjećene su i niže koncentracije eluiranih elemenata, posebice Cu, u odnosu na metodu ekstrakcije koja je paralelno korištena na istim uzorcima. Time se počelo uviđati da se ovim načinom pripreme uzoraka ne mogu dobiti ukupne koncentracije svih metala.^{180,192} Kasnije je pokazano da sposobnost zadržavanja metala uvelike ovisi o vrijednosti pH uzorka (optimalno između 6 i 7), brzini protoka uzorka kroz kolonu i vrsti prisutnih liganada.¹⁹²⁻¹⁹⁴ Usporedno s ranijim istraživanjima, Chelex-100 se počeo koristiti za frakcionaciju, odnosno za određivanje labilnih kemijskih vrsta metala te za pročišćavanje reagenasa, primjerice u analizama biološkog materijala.^{193,195-199}

Chelex-100 je kationska izmjenjivačka smola koja se pri vrlo niskim vrijednostima pH ponaša kao anionski izmjenjivač (Slika 1).²⁰⁰



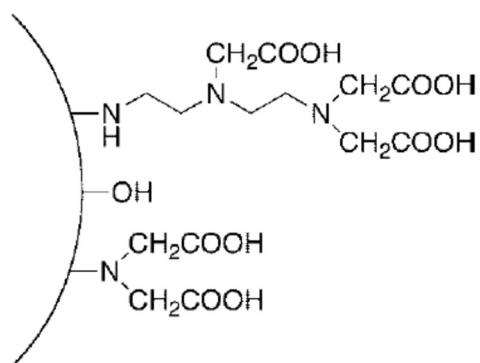
Slika 1. Promjena strukture smole Chelex promjenom vrijednosti pH²⁰⁰

Ovaj polimer ima izražen afinitet prema dvostruko nabijenim ionima prijelaznih metala, dok slabo zadržava ione alkalijskih i zemnoalkalijskih elemenata. Stoga se kao korak u pripremi smole mjesto potencijalnog vezanja iona metala (H^+) popunjavaju ionima Ca^{2+} , Na^+ ili NH_4^+ (Ca^{2+} , Na^+ , odnosno NH_4^+ oblik smole), kako bi se olakšala kasnija kationska izmjena.²⁰⁰ Navedena svojstva omogućavaju korištenje ove smole i u specijaciji pa se tako s pomoću smole Chelex-100 mogu kvantitativno odrediti koncentracije Cr(III) i Cr(VI) u vodenim uzorcima s obzirom na to da potonji tvori samo anionske vrste.^{8,201,202}

Novi se tipovi smola, odnosno funkcionalnih skupina, konstantno razvijaju. Neki primjeri uključuju komercijalno dostupnu smolu u koloni Toyopear 1, AF-Chelate-650M s

IDA funkcionalnim skupinama čija je upotreba pokazala dobra iskorištenja Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd i Pb u uzorcima tretiranim UV zračenjem i smolu NTA Superflow s nitriloetanskim tipom skupina (NTA).¹⁷⁵ Smola se dodaje direktno u uzorak koji se potom dekantira, a njezinom upotrebom postignuta su dobra iskorištenja Cu, Cd, Pb i Fe u ukupno otopljenoj frakciji.²⁰³

U posljednje je vrijeme postala komercijalno dostupna smola koja uz funkcionalne skupine IDA sadrži i one etendiaminrietanske kiseline (EDTriA), kako je prikazano na Slici 2.



Slika 2. Funkcionalne skupine smole Nobias Chelate-PA1

Ova je smola poznata pod trgovackim imenom Nobias Chelate-PA1 proizvođača Hitachi. Etendiaminrietanska kiselina ima snažnu sposobnost vezanja metala u tragovima.²⁰⁴ Može se koristiti za određivanje niza metala kao što su Al, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn i elementi rijetkih zemalja u morskoj vodi. Metali se potom analiziraju metodom ICP-MS.^{174,204-207} Prednosti ove smole su efikasno uklanjanje alkalijskih i zemnoalkalijskih elemenata, niske vrijednosti koncentracija elemenata u tragovima u slijepim probama te kemijska i mehanička stabilnost. Metali u tragovima se u uzorcima morske vode mogu kvantitativno eluirati nakon pretkoncentracije na Nobias Chelate-PA1 smoli pri vrijednostima pH između 5 i 7. Ograničenja uključuju opadanje iskorištenja Al na vrijednostima nižim od 6, rast koncentracija alkalijskih i zemnoalkalijskih elemenata u eluatu na vrijednostima pH iznad 6 i snižavanje iskorištenja Fe na vrijednostima pH iznad 6,2.^{204,207} Opadanje sposobnosti elucije Al na vrijednostima pH nižim od 6 može biti kinetičke prirode, s obzirom na to da je opaženo u uzorcima s višim koncentracijama Al, dok ista pojava u slučaju Fe može biti posljedica adsorpcije na stijenke ambalaže i sustava za pretkoncentraciju. Uz to, u području vrijednosti pH od 5 do 6,2 smanjuje se eluacija Mo, čime se može pozitivno utjecati na smanjenje

interferencije MoO na signal Cd pri mjerenuju metodom ICP-MS.²⁰⁸ Pregled nekih istraživanja provedenih na uzorcima morske vode uz pretkoncentraciju smolom Nobias Chelate-PA1 prikazan je u Tablici 5.

Tablica 5. Pregled nekih istraživanja provedenih na uzorcima morske vode uz pretkoncentraciju smolom Nobias Chelate-PA1 s navedenim faktorima pretkoncentracije (f). Oznaka F označava filtriranje, K konzerviranje, a UV i γ su procesi digestije uzorka u koraku pripreme

REFERENCA	Sohrin i sur., 2008 ²⁰⁷	Biller i Bruland, 2012 ¹⁷⁴	Lagerström i sur., 2013 ²⁰⁵	Minami i sur., 2015 ²⁰⁴	Rapp i sur., 2017 ²⁰⁹
SUSTAV	<i>on-</i> i <i>off-line</i> ; ICP-MS (NH ₃ kolizija)	<i>off-line</i> ; SF-ICP-MS, dodatak standarda	<i>seaFAST-pico</i> ; FI-HR-ICP-MS	SPE-100 sustav; HR-ICP-MS	<i>seaFAST-pico</i> ; SF-ICP-MS
ELUENT	HNO ₃ , 1 mol / L	HNO ₃ , 1 N + Ar	HNO ₃ , 1,6 mol / L + Ar / N ₂	HNO ₃ , 1 mol / L	HNO ₃ , 1 mol / L + zrak
PRIPREMA	F, K , pH 6,0±0,05	UV, pH 6,2±0,3	F, K , pH 5,7 ili 7,5	F, K, γ , pH 6,0±0,05	F, K , UV, puferiranje
f	~8	10-13,3	200	~8	~8
ANALIZI-RANI ELEMENTI	Al, Cd, Co, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	Cd, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Zn
OSTALI ANALITI	-	-	Co	Al, Co, Cu	Ni, Mn

2.4.2. Priprema krutih uzorka

Analiza metala u tragovima u krutim uzorcima može se izvesti ili direktno (ako to metoda i analit dopuštaju, npr. rendgenska fluorescentna spektroskopija (XRF), analizatori Hg, *solid sampling* ETAAS, LA-ICP-MS, instrumentalna analiza neutronskom aktivacijom (INAA) i dr.) ili nakon digestije.^{210,211} Digestija podrazumijeva oslobođanje analita (metala) iz matrice djelovanjem određenih reagensa, u prvom redu kiselina. Odabir reagensa ili njihove kombinacije za mikrovalnu digestiju ovisi ponajprije o vrsti uzorka i ciljanim analitima, a neki primjeri su prikazani u Tablici 6.

Tablica 6. Reagensi za digestiju krutih uzoraka prije određivanja koncentracija metala²¹²⁻²¹⁵

KISELINA / SMJESA	UČINAK
klorovodična (HCl)	razaranje karbonata, fosfata, nekih oksida i sulfida; koristi se u prvom redu za digestiju anorganskih struktura te za neke frakcionacijske analize, no nema izražena oksidacijska svojstva
dušična (HNO_3)	oksidacija većeg broj tvari u odnosu na HCl; dobar oksidans biološkog materijala; oksidacijska svojstva su izraženija pri višim temperaturama; s metalima tvori topive nitratre
perklorna (HClO_4)	jak oksidans organske tvari; može uzrokovati eksplozivne reakcije
fluorovodična (HF)	potpuno otapa (alumo)silikate tvoreći SiF_6^{2-} ; neophodna za određivanje, npr. ukupne koncentracije Al, Fe i Li u uzorcima morskog sedimenta, no nije oksidans; veoma opasna u dodiru s kožom
zlatotopka (<i>aqua regia</i>), ($V(\text{HNO}_3):V(\text{HCl})=1:3$)	smjesa tvori reaktivni intermedijer NOCl koji oslobađa metale iz raznih matrica uključujući organsku tvar, sulfide i legure; ne otapa silikate ni neke refraktorne okside; otapa i Au, Pd te Pt

Rezultat digestije su otopine koje se mogu analizirati metodama za određivanje metala u tragovima.²¹² Prije bilo kakvog daljnog tretmana, uzorak je potrebno osušiti, bilo pri višim temperaturama (što može dovesti do gubitka volatilnih analiza) ili liofilizacijom (zaleđivanjem pri niskom tlaku pri kojem dolazi do izdvajanja molekula vode iz uzorka sublimacijom, a uzorak postaje rahliji).

Za digestiju metala koriste se u prvom redu jake anorganske kiseline, a smjesa kiselina koju čine npr. HF, HClO_4 , HNO_3 i HCl može razoriti sve minerale u uzorku te tako oslobođiti metale za analizu u otopinu. Probleme predstavljaju često veliki volumeni reagenasa, neke od navedenih kiselina su izrazito opasne i mogu biti izvorom kontaminacije, a korištenje većeg broja reagenasa može dovesti do viših granica detekcije i kvantifikacije. Digestijom s HCl i HNO_3 dobivamo pseudo-ukupnu koncentraciju (frakciju) metala. Ona podrazumijeva oslobođanje metala koji nisu unutar kristalne rešetke silikata. Silikati se razaraju upotrebom HF koja uz koroziju metala i stakla tvori taloge s Al, Ba, Ca, Mg i Se te negativno utječe na granice detekcije i kvantifikacije.^{211,216,217} Kloridni ioni koji nastaju upotrebom HCl također mogu biti izvor interferencija pri analizi.^{218,219} Novija istraživanja predlažu ekstrakciju pseudo-ukupne frakcije metala upotrebom površinski aktivnih tvari i mikrovalnog zračenja prije određivanja njihovih koncentracija tehnikom ETAAS.²²⁰

Može se provoditi suho ili mokro razaranje (spaljivanje) na grijaćoj ploči (u peći) ili razaranje potpomognuto mikrovalnim zračenjem. Osnovni problemi digestije na ploči su mogućnost kontaminacije i gubitka analita. Potonje je u prvom redu vezano uz volatilne elemente kao što su Hg, Pb, Cd, As, Sb, Cr i Cu u kombinaciji s mokrim ili suhim razaranjem. S druge strane, neki se elementi oslobađaju (samo) pri visokim temperaturama koje se teže postižu, a mogući su i problemi s otapanjem suhog ostatka nakon ovakve digestije.²¹²

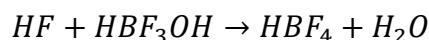
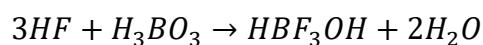
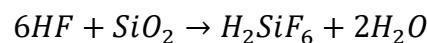
Mikrovalna digestija podrazumijeva mokro razaranje u zatvorenim posudama na povišenim temperaturama i pri povišenim tlakovima što se postiže uz pomoć mikrovalnog zračenja. Neke prednosti u odnosu na spaljivanje na ploči su brzina procesa, kvantitativno zadržavanje volatilnih elemenata te mogućnost istovremene digestije većeg broja različitih uzoraka.²²¹ Nadalje, potrebne su relativno male mase uzorka i mali volumeni reagenasa, a u modernim sustavima se temperature i tlakovi mogu pratiti i kontrolirati za vrijeme trajanja digestije što doprinosi ponovljivosti pripreme. To je moguće zahvaljujući kontroliranim uvjetima u sustavima za digestiju, odnosno činjenici da se energija mikrovalnog zračenja prenosi direktno na kapljevitu fazu u posudi za digestiju.^{215,222,223} Uz odabir reagenasa koji moraju biti polarni, prilikom razvoja metode mikrovalne digestije optimiraju se i temperaturni programi (temperature, brzine njihove promjene i vremensko trajanje perioda konstantnih temperatura), snage magnetrona (izvora mikrovalova), koncentracija i volumen reagenasa te masa uzorka.

Upotrebotom smjese HNO_3 i HF u više su slučajeva prijavljena značajno bolja iskorištenja na certificiranim referentnim materijalima sedimenta u usporedbi s npr. HNO_3 , zlatotopkom ili smjesom HNO_3 , HCl i HF.^{215,216,224} Bez obzira na to što se digestija smjesom HNO_3 i HF često smatra potpunom, preniski volumeni pojedine kiseline i odsustvo jačeg oksidansa organske tvari (zlatotopka ili vodikov peroksid, H_2O_2) mogu rezultirati sniženim iskorištenjima određenih elemenata.^{215,225} Osim što osigurava digestiju organske tvari, dodatak H_2O_2 inhibira nastanak para dušikovog monoksida (NO) tako što ga oksidira do HNO_3 i HNO_2 ujedno snižavajući tlak u posudama.²¹³ Problem agresivnosti HF može se riješiti isparavanjem što je problematično radi kiselih para i gubitka analita ili dodatkom borne kiseline (H_3BO_3) i dodatnim stupnjem digestije.^{226,227} Drugi stupanj digestije se koristi za kompleksiranje slobodnih F^- iona u suvišku stvaranju HBF_4 .^{217,228-231} Neki ranije navedeni elementi, alkalijski i zemnoalkalijski metali te elemenata rijetkih zemalja s HF tvore netopive

soli, no H_3BO_3 otapa te spojeve i tako omogućuje određivanje njihovih ukupnih koncentracija u uzorku.²³²

Prilikom definiranja temperaturnog programa, nagla početna promjena temperature može dovesti do gubitaka nekih analita u ranoj fazi digestije, a isti efekt može izazvati i predugo trajanje koraka digestije pri visokim snagama magnetrona.^{224,225}

Niz od 25 elemenata može se sa zadovoljavajućim granicama detekcije odrediti metodom ICP-MS nakon mikrovalne digestije 0,25 g uzorka s 5 mL koncentrirane HNO_3 , 1,5 mL HF (48 %) i 2 mL H_2O_2 (30 %) te drugog stupnja digestije (Tablica 7) nakon dodatka 12 mL H_3BO_3 (5 % m / V).²³³ Navedeni volumen upotrebljene HF pokazao se dovoljnim za digestiju uzoraka s maksimalno 33 %. Si za kojeg se pretpostavlja da je u potpunosti prisutan u obliku SiO_2 . Radi sigurnosti, uzet je dvostruki volumen HF u odnosu na stehiometrijski dovoljan, a volumen i koncentracija H_3BO_3 stehiometrijski su dovoljni za reakciju sa svom dodanom HF. Autori navode sljedeće reakcije koje se odvijaju tijekom digestije:



Tablica 7. Temperaturni program sustava za mikrovalnu digestiju u radu Wu i sur., 1996²³³

KORAK	REAGENSI	PROMJENA TEMPERATURE	CILJANA TEMPERATURA	VRIJEME ZADRŽAVANJA
1	HNO_3 , HF, H_2O_2	22,5 °C / min	180 °C	20 min
2	HNO_3 , HF, H_2O_2 , H_3BO_3	20 °C / min	100 °C	10 min

Dodatak HNO_3 , HF i H_2O_2 je s uzorcima uzrokovao reakcije koje su trajale otprilike 20 minuta, nakon čega su posude za digestiju zatvorene. Pokrenut je program digestije kako je prikazano u Tablici 7. Nakon hlađenja je dodana H_3BO_3 nakon čega je provedena ponovna digestija (korak 2 u Tablici 7). U oba koraka snaga megatriona je iznosila 1000 W, a tlak se održavao na 13,1 bar. Uzorci su na kraju razrijeđeni tako da su otopine prije analize imale maksimalno 1 % udjela pojedinog reagensa, čime su se smanjile koncentracije interferirajućih tvari. Ovom se metodom ne mogu odrediti B i Hg.

Godine 1975. u sklopu Programa Ujedinjenih naroda za okoliš (engl. *United Nations Environment Programme*, UNEP) osnovani su Mediteranski akcijski plan (engl. *Mediterranean Action Plan*, MAP) i Program za procjenu i kontrolu onečišćivanja u

Sredozemnoj regiji (engl. *The Programme for the Assessment and Control of Marine Pollution in the Mediterranean*, MED POL) čiji je jedan od ciljeva zaštita i praćenje onečišćenja na Mediteranu. U sklopu aktivnosti Plana, Međunarodna agencija za atomsku energiju (engl. *International Atomic Energy Agency*, IAEA), odnosno njezin Laboratorij za morski okoliš (engl. *Marine Environment Studies Laboratory*, MESL), objavio je različite procedure digestije uzoraka sedimenata i biote.²³⁴ Za razliku od digestije uzoraka sedimenta na grijajućoj ploči za koju se preporučuje smjesa HF i zlatotopke, u slučaju upotrebe mikrovalne peći, HCl nije potreban. Uzorke približne mase 0,2 g digerira se s 5 mL koncentrirane HNO_3 (65 %), 2 mL koncentrirane HF (48 %) i 2 mL H_2O_2 (30 %). Uzorci se digeriraju u mikrovalnoj peći prema programu prikazanom u Tablici 8.

Tablica 8. Temperaturni program sustava za mikrovalnu digestiju prema proceduri IAEA-MESL²³⁴

KORAK	REAGENSI	PROMJENA TEMPERATURE	CILJANA TEMPERATURA	VRIJEME ZADRŽAVANJA
1	HNO_3 , HF, H_2O_2	19 °C / min	190 °C	12 min
2	HNO_3 , HF, H_2O_2 , H_3BO_3	17 °C / min	170 °C	12 min

Nakon prvog koraka digestije i hlađenja, uzorcima se dodaje 10 mL otopine H_3BO_3 ($w = 4\%$) i pokreće se drugi korak digestije. Oba koraka se provode pri snazi magnetrona od 1200 W. Radi potpunog uklanjanja HF, nakon drugog hlađenja dodaje se dodatnih 10 mL otopine H_3BO_3 . Uzorci se zatim filtriraju u tikvice volumena 50 mL, posude se ispiru i tikvice dopunjavaju deioniziranom vodom (kvantitativno prenošenje). Za analizu Hg, ovako pripremljeni uzorci se konzerviraju otopinom $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, tako da konačni udio ove tvari u otopini bude 2 % (npr. na 50 mL uzorka se dodaje 1 mL otopine $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, 10 % (100 g / L)).

2.5. Određivanje elemenata rijetkih zemalja

Za određivanje elemenata rijetkih zemalja koristi se niz analitičkih metoda među kojima je najčešća ICP-MS. Ipak, veoma niske koncentracije u realnim uzorcima, različiti kemijski sastavi tih uzoraka, interferencije i nedostatak materijala CRM u odgovarajućim matricama predstavljaju analitičke izazove i za ovu metodu.^{235,236} Spektralne interferencije uključuju uglavnom okside i hidrokside metala (u prvom redu barija) kod elemenata LREE te okside i hidroksida elemenata HREE pri određivanju elemenata HREE.

2.5.1. Određivanje elemenata rijetkih zemalja u uzorcima vodâ

Najčešće primijenjeno rješenje navedenih problema u uzorcima vodâ jest pretkoncentracija uzorka. U prvom redu se tu radi o nekom vidu ekstrakcije SPE, a rjeđe LLE i procesima precipitacije ili koprecipitacije (koji se ponekad kombiniraju s ranije navedenim ekstrakcijama).²³⁵ Ekstrakcije (pretkoncentracije) SPE se u posljednje vrijeme često istražuju i izvode se na različitim kelirajućim i ion-izmjenjivačkim smolama (s različitim funkcionalnim skupinama). Smole mogu biti smještene u kolonama, a proces pretkoncentracije se može provoditi neovisno (odvojeno) od samog analitičkog instrumenta (*off-line*) ili kao dio automatiziranih sustava (*on-line* ili *in-line*). *On-line* metode osim očitih prednosti nad *off-line* izvedbama poput smanjene mogućnosti kontaminacije uzorka iz zraka (radi se o zatvorenim sustavima) i smanjene potrebe za radom analitičara (stoga i manju mogućnost pogreške), imaju i nekoliko nedostataka. Razlog tome je što se i za vrijeme procesa pretkoncentracije u pravilu moraju održavati radni uvjeti instrumenta što podrazumijeva značajnu potrošnju reagenasa (u prvom redu Ar) i drugih resursa u vremenu kad se same analize ne provode. Stoga se odabiru niži početni volumeni uzorka (kako bi korak pretkoncentracije bio kraći) što dovodi do nižih faktora koncentracije. Uz to, najčešće ne postoji mogućnost obrade više uzorka istovremeno.²³⁵

Uz predtretman uzorka, na postizanje stabilnog signala i dovoljno niskih koncentracija može se utjecati različitim sustavima za uvođenje uzorka u instrument ICP-MS koji mogu omogućiti direktnu analizu uzorka, no ne dolazi do razdvajanja analita od matrice, stoga se ne rješava problem interferencija. U svakom slučaju je veoma važan izbor instrumenta ICP-MS. Kvadrupolni instrumenti uglavnom ne zadovoljavaju zahtjeve određivanja elemenata rijetkih zemalja u prirodnim vodama, a pogotovo ne bez pretkoncentracije, posebnih sustava uvođenja uzorka ili upotrebe ćelije CRC. Granice detekcije kod direktnog mjerjenja su naravno, puno prihvatljivije kod izvedbi kao što su SF-ICP-MS, MC-ICP-MS ili TOF-ICP-MS, no često su kod ovih tehnika potrebni dodatni koraci ili instrumentni dodaci kako bi se provela kvalitetna analiza.²³⁶

Razvoj metoda određivanja elemenata rijetkih zemalja u morskoj vodi metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije intenzivirao se početkom XXI. stoljeća. Neki primjeri prikazani su u Tablici 9, svim navedenim istraživanjima određivane su koncentracije lantanoida, a u radovima Rousseau i sur., 2013 i Takata i sur., 2009 bio je uključen i Y.^{237,238}

Tablica 9. Neki primjeri pripreme uzorka morske vode pretkoncentracijom (ekstrakcijom SPE) smolama Nobias i Chelex-100 te analize nekom od tehnika ICP-MS

TRETMAN UZORKA	ANALITIČKA TEHNIKA I REFERENCA
Nobias Chelate-PB1F	ICP-MS, kvadrupolni ²³⁸
Nobias Chelate-PB1M	HR-ICP-MS ^{239,240}
sustav <i>seaFAST</i>	ICP-MS, kvadrupolni ²⁴¹
Nobias Chelate-PA1F, izotopsko razrijedivanje, uklanjanje glavnih iona koprecipitacijom s Fe(OH) ₃ i ionskom kromatografijom	SF-ICP-MS ²³⁷
Nobias Chelate-PB1M	ICP-MS, kvadrupolni ²⁴²
Nobias Chelate-PA1	HR-ICP-MS ²⁴³
sustav <i>seaFAST-pico</i>	HR-ICP-MS ²⁴⁴
sustav <i>seaFAST-pico</i>	SF-ICP-MS ²⁴⁵
sustav <i>seaFAST-SP3</i>	HR-ICP-MS ²⁴⁶
Chelex-100	ICP-MS, kvadrupolni ^{247,248,249,250}
	HR-ICP-MS ²⁵¹
	ICP-MS, kvadrupolni ²⁵²

Istraživanja koja uključuju prekoncentraciju smolom i kvantifikaciju kvadrupolnim ICP-MS posebno su zanimljiva s ekonomskog aspekta. Radi se o relativno jednostavnim sustavima i komercijalno dostupnim smolama (barem u vrijeme kad su istraživanja provedena). Među navedenima je u ovom svjetlu posebno zanimljiv rad Takata i sur., 2009 budući da su sustavi korišteni u radovima Hathirbe i sur., 2012 i Zhu i sur., 2013 *on-line* izvedbe.^{238,241,242} Takata i sur. su upotrebom smole Nobias Chelate-PA1F i kvadrupolnog ICP-MS instrumenta dobili odlična iskorištenja lantanoida i Y te nekih metala u tragovima (Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Mo, Ni i Zn)²³⁸. Uzorci su filtrirani pod utjecajem gravitacije i potom zakiseljeni. Ne spominje se UV digestija ili neki drugi način degradacije organske tvari izuzev zakiseljavanja pa su zanimljiva iskorištenja od 100 % i 95 % za Co, odnosno Cu. Kelirajuća smola je isprana etanolom, razrijedjenom HNO₃ te deioniziranom vodom. Potom je 100 mL uzorka propušteno kroz kolonu i eluirano s 5 mL razrijedene HNO₃ koncentracije 1,0 mol / L (faktor koncentracije iznosio je 20). Eluacija je također obavljena pod utjecajem gravitacije. Korišten je instrument s Babingtonovim raspršivačem (raspršivač dizajniran u prvom redu za uzorce s visokim udjelom čestica) i reakcijskim načinom rada s H₂ kojem je za cilj bilo uklanjanje interferencija. Od interferencija su prijavljeni oksidi i spojevi s Ar kao što su CaO, BaO i

BaAr. Autori nisu naveli korištene izotope pa se ne može zaključiti koje su sve interferencije bile očekivane. Ispitivanjem u širem intervalu vrijednosti utvrđeno je da su najbolja iskorištenja (> 99 %) svih ispitanih elemenata dobivena pri vrijednosti pH od 5,7 što se slagalo s ranijim istraživanjima elemenata u tragovima.²⁵³

Među pregledanim istraživanjima u kojima se koristila kelirajuća smola Chelex-100, u samo su jednom uzorci tretirani UV zračenjem i dobivena iskorištenja odabranih elemenata rijetkih zemalja su potpuna.²⁴⁷ U ostalim istraživanjima organska tvar nije razorenja, u nekim nisu prijavljeni rezultati validacije metode, dok su u ostalima prijavljena iskorištenja nakon eluacije u intervalu od 80 % do 100 %.²⁴⁸ Kim i sur. su zapazili i značajno niža iskorištenja Nd i Tm te to pripisali vezanju na klorofil.²⁵²

2.5.2. Određivanje elemenata rijetkih zemalja u krutim uzorcima

Metoda ICP-MS je jedna od najčešće korištenih metoda analize elemenata rijetkih zemalja u geološkim materijalima, iako se u literaturi spominju i druge metode i tehnike kao što su spektrometrija masâ s termalnom ionizacijom (engl. *thermal ionization mass spectrometry*, TIMS), ICP-OES, LA-ICP-MS, XRF i INAA.²⁵⁴⁻²⁵⁸ Kao što je prije navedeno, analiza metodom ICP-MS zahtjeva, prethodnu digestiju krutih uzoraka. U literaturi se mogu naći procedure digestije s nizom kiselina i njihovih kombinacija kao što su: HF i HCl, HNO₃, HCl i HF ili HNO₃, HF i HClO₄, zatim zlatotopka, samo HNO₃ i samo HF.^{254,256,259-265} Elementi rijetkih zemalja i Y određivani su u sedimentu, ribi i tlu.^{254,260,261,265}

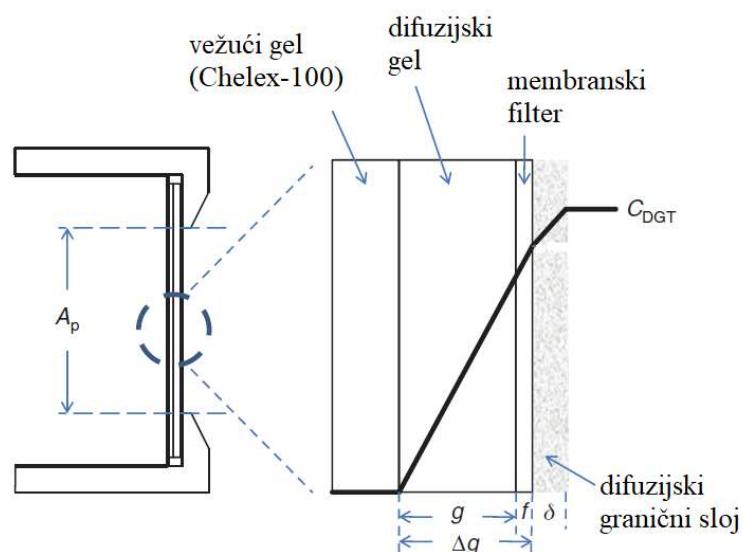
2.6. Difuzijski gradijenti u tankom filmu (DGT)

2.6.1. Princip metode

Metoda difuzijskih gradijenata u tankom filmu (metoda DGT) je način uzorkovanja koji se često koristi u kemiji okoliša. Izvorno razvijena za specijaciju metala u tragovima u prirodnim vodama, danas se koristi za određivanje niza organskih i anorganskih specija.^{266,267} Provodi se izlaganjem posebnih pasivnih uzorkivača vodi, sedimentu ili tlu nakon čega kemijske vrste difundiraju iz okoline kroz membranu uzorkivača te kroz difuzijski gel do vežućeg gela. Ovdje se tvari akumuliraju tijekom cijelog vremena izlaganja mediju (Slika 3).^{268,269}

Masa tvari koja se akumulira u vežućem gelu uzorkivača jednaka je sumi svih kemijskih vrsta koje mogu difundirati kroz difuzijski sloj poznate debljine i veličine pora. Veće čestice tijekom vremena difuzije moraju disocijacijom *osloboditi* tvari (metale), kako bi isti tvorili kemijske vrste dovoljno malih dimenzija da mogu proći kroz pore difuzijskog sloja. Metodom

DGT se zapravo mjeri fluks koji predstavlja prosječnu koncentraciju tijekom vremena izlaganja. Ta je koncentracija usrednjena s obzirom na vrijeme izlaganja (engl. *time-weighted average*, TWA) i može dati vrijedne informacije o sustavima s izraženim fluktuacijama koncentracija ako je vrijeme izlaganja dovoljno dugo.²⁶⁹⁻²⁷² Također, radi se o operativno određenim koncentracijama, tj. koncentracijama kemijske vrste koja može difundirati. Kod metala se ovdje radi o slobodnim ionima metala, anorganskim kemijskim vrstama i labilnim organskim vrstama. Frakcija koja se određuje metodom DGT označava se kao potencijalno bioraspoloživa frakcija, frakcija DGT ili DGT-labilna frakcija.^{92,273-275}



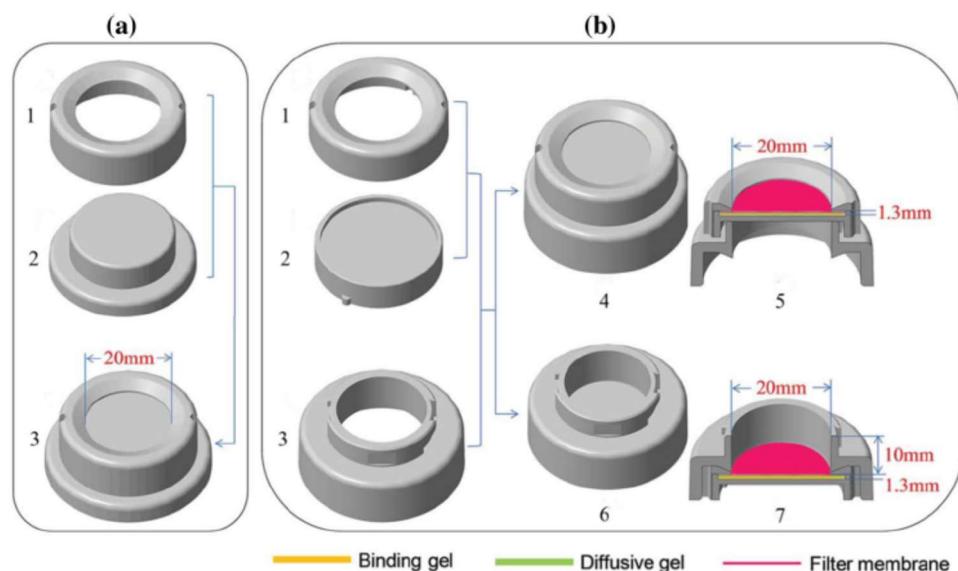
Slika 3. Shema uzorkivača DGT i profil koncentracija kroz slojeve²⁷⁶

2.6.2. Građa uzorkivača DGT

Polipropilenski uzorkivači DGT sastoje se od dva dijela, klipa i poklopca (Slika 4). Na klip se nanose vežući gel, difuzijski gel i membrana. Kroz difuzijski gel proteže se koncentracijski gradijent s minimumom koncentracije pri površini vežućeg gela. Vežući gel sadrži funkcionalne skupine ovisno o ciljanim kemijskim vrstama koje se brzo i ireverzibilno vežu. Poklopac određuje površinu plohe kroz koju kemijske vrste difundiraju.^{266,276} Nakon izlaganja okolišu, poklopac i klip uzorkivača se odvajaju, uklanjuju se membrana i difuzijski gel, a vežući sloj se uranja u odgovarajuću otopinu u kojoj će se ekstrahirati akumulirane tvari. Sastav dobivene otopine određuje se pogodnom analitičkom metodom.

Kod uzorkovanja metala, vežući gelovi su najčešće hidrogelovi koji sadrže funkcionalne skupine selektivne za pojedine ione. Prvi i zasad najrasprostranjeniji vežući gel koji se koristi kod metode DGT jest otopina smole Chelex-100 proizvođača Bio-Rad, s pomoću koje se

mogu odrediti Zn, Cd, Co, Ni, Cu, Al, Ba, Pb, Cr, Mn, Fe, As, Hg, U i elemenata rijetkih zemalja, iako neki autori dodatno proširuju taj popis.²⁷⁷⁻²⁸³ Značajna je upotreba i gela Metsorb (adsorbens na bazi titanijevog dioksida) za uzorkovanje As, V, Sb, Mo, W, Se, P, i U, zatim gelova s funkcionalnom 3-merkaptopropilnom skupinom, tiolnom skupinom i ionizmjenjivačkih smolâ Duolite GT73 i Ambersep GT74 za specijaciju Hg te primjerice *N*-metil-*D*-glukamina (NMDG) za uzorkovanje Cr(VI).^{278,284-293}



Slika 4. Shematski prikaz građe uzorkivača DGT (a) dualne izvedbe i (b) s klipom od dva dijela. Brojkama 3 i 4 su označene izvedbe za primjenu u vodi, a brojkom 6 u tlu.²⁹⁴ Označeni su vežući gel (*binding gel*), difuzijski gel (*diffusive gel*) i membrana (*filter membrane*)

Chelex-100 je kationska smola, a na tržištu su sve brojniji gelovi za uzorkovanje anionskih kemijskih vrsta (metalnih i nemetalnih) i anorganskih nutrijenata. Također, raste broj sustava za uzorkovanje organskih tvari. Za uzorkovanje anionskih vrsta koriste se gel Metsorb, adsorbensi na bazi FeOOH i ZrO₂.^{286,295-298}

Kao i kod vežućih gelova, kemijski sastav (materijal) difuzijskog gela ovisi o ciljanim kemijskim vrstama, a najčešće se radi o hidrogelu od agaroze ili agaroze i poliakrilamida.^{269,299-302} Gel mora imati poznatu, točno definiranu debljinu kako bi se smanjila mogućnost krive interpretacije rezultata radi razlika u difuzijskim parametrima, a mogućnost variranja debljine difuzijskog gela je još jedan razlog definiranja koncentracije dobivene metodom DGT kao vremenski usrednjjenog fluksa.²⁶⁸ Difuzijski gelovi se razlikuju i veličinom pora. Općenito su poznate dvije vrste gelova (dva sustava) s obzirom na velчинu

pora: otvoreni i restriktivni. Veličina pora u otvorenim sustavima je približno 10 nm što omogućava ulaz i većim, npr. organometalnim vrstama. Kod restriktivnog sustava, pore su veličine približno 1 nm. Takve pore omogućavaju ulazak, primjerice anorganskim vrstama i slobodnim metalnim ionima. Za koloidne vrste općenito vrijedi da ne mogu proći kroz nijednu vrstu pora i da ne disociraju.¹²⁵

Vanjska membrana između difuzijskog gela i okoline služi primarno kao filter. Tipična veličina pora je 0,45 µm. Membrana pruža i zaštitu od kontaminacije i oštećenja vanjske površine difuzijskog gela. Najčešći materijali membranskih filtera su poliviniliden fluorid (PVDF), celulozni nitrat, celulozni acetat i hidrofilni polietersulfon (PES).^{301,303-305} Budući da obraštanje uzorkivača može izazvati probleme, membrane se prije izlaganja sustava mogu tretirati kako bi se ono inhibiralo. U tu je svrhu uspješno ispitano djelovanje antibiotika, Ag i Cu kao i upotreba polikarbonatne membrane.^{306,307}

2.6.3. Vrste uzorkivača DGT

U idealnim uvjetima, slobodni ioni metala su adsorbirani na gelu odmah pri dodiru, potpuno labilni kompleksi disociraju nakon čega ion metala ostaje na gelu, dok kod kompleksnih spojeva koji nisu potpuno labilni, taj proces ovisi o konstanti disocijacije i trajanju difuzije. Vrijeme difuzije između ostaloga ovisi o putu kojeg čestica treba proći, a na temelju tog parametra razlikujemo dvije vrste uzorkivača DGT:

1. klasičan (engl. *classic DGT*) s ukupnom debljinom difuzijskog sloja od 1,125 mm (tipična debljina graničnog difuzijskog sloja na površini membrane je 0,2 mm, tipična debljina difuzijskog gela od 0,8 mm i debljina membrane 0,125 mm),
2. brzovežući (engl. *fast DGT*) koji ne sadrži difuzijski gel, s ukupnom debljinom difuzijskog sloja od 0,325 mm (tipična debljina graničnog difuzijskog sloja na površini membrane je 0,2 mm, debljina membrane 0,125 mm).

2.6.4. Određivanje koncentracije analita

Kod uzorkivača DGT difuzijski gradijent se uspostavlja unutar difuzijskog gela i membrane te izvan površine membrane (granični difuzijski sloj). Taj sloj uvjetuje difuziju na molekulskoj razini prema prvom Fickovom zakonu pa se fluks u uzorkivač DGT uz zanemarivu debljinu graničnog difuzijskog sloja (primjenjivo za dobro miješane otopine i prirodne vode) i uz pretpostavku brze uspostave ravnoteže između otopine i gela, može definirati kao:^{269,276}

$$F = \frac{D \cdot \gamma}{\Delta g} \quad (6)$$

gdje je:

F = fluks tvari u uzorkivač

D = koeficijent difuzije u difuzijskom gelu

γ = masena koncentracija tvari u otopini

Δg = debljina difuzijskog sloja uzorkivača

Fluks tvari se može definirati i kao:

$$F = \frac{m}{t \cdot A} \quad (7)$$

gdje je:

m = masa tvari u vežućem gelu

t = vrijeme izlaganja

A = površina membrane uzorkivača kroz koju se odvija difuzija

Stoga uz poznat Δg i D (eksperimentalno ili iz literature) i za proces eluiranja kakav je opisan ranije, vrijedi:

$$F = \frac{\frac{(\gamma_{el} - \gamma_{sp}) \cdot (V_{gel} + V_{HNO_3})}{f_{el}}}{t \cdot A} \quad (8)$$

odnosno:

$$\gamma(DGT) = \frac{F \cdot \Delta g}{D} \quad (9)$$

gdje je:

γ_{el} = masena koncentracija tvari u eluatu vežućeg gela

γ_{sp} = masena koncentracija tvari u slijepoj probi, tj. eluatu vežućeg gela uzorkivača koji nije izložen okolišu

V_{gel} = volumen difuzijskog sloja

V_{HNO_3} = volumen HNO_3 ili drugog sredstva za eluiranje

f_{el} = faktor eluacije, tj. omjer eluirane mase tvari i ukupno vezane u gelu (literaturni podatak)

$\gamma(DGT)$ = vremenski usrednjena koncentracija tvari u vežućem gelu (koncentracija tvari u potencijalno bioraspoloživoj, odnosno DGT-labilnoj frakciji)

Izrazi 8 i 9 vrijede za stacionarno stanje i većinu okolinâ i načina postavljanja uzorkivača izuzev za slučajeve kratkog vremena izlaganja (manje od četiri sata), sustave s visokom

razinom otopljenog organskog ugljika (OOU) te vodenim medijima s niskom ionskom jakošću ($< 1 \text{ mmol/L}$).^{268,276}

Do stacionarnog stanja, odnosno stanja konstantnog fluksa ne dolazi u trenutku postavljanja uzorkivača. Zato vrijeme izlaganja mora biti takvog trajanja da u odnosu na njega period postizanja konstantnog toka bude zanemariv. Također, izrazi koji se koriste za izračun mase ili koncentracije analita vrijede nakon uspostavljanja linearног difuzijskog gradijenta kroz gelove (engl. *perfect sink conditions*), odnosno pretpostavke da je vezanje metala na gel puno brže od procesa disocijacije.^{266,308-310} Prisutnost organskih spojeva, stupanj labilnosti kompleksnih spojeva, mogućnost vezanja tvari koja se uzorkuje na membranu ili difuzijski gel i debljina difuzijskog gela su čimbenici koji utječu na vrijeme potrebno za postizanje stacionarnog stanja.²⁷⁶ U prirodnim vodama se preporučuje vrijeme izlaganja od tri dana do nekoliko tjedana.^{276,311} Procjena kraja uzorkovanja može biti uvjetovana pojavom obraštaja ili kompetitivnošću iona Ca i Mg u morskom okolišu visokog saliniteta.^{306,312-315}

2.7. Procjena rizika

2.7.1. Procjena rizika za živi svijet u morskoj vodi

Standard kakvoće vodenog okoliša (SKVO) pa tako i teritorijalnog mora, odnosno priobalnih voda je u Republici Hrvatskoj definiran Uredbom o standardu kakvoće voda (NN 96/2016, 20/2023, 50/2023).³¹⁶ Standardi su definirani kroz prosječne (PGK-SKVO) i maksimalne godišnje koncentracije (MGK-SKVO) koje su, između ostalog, propisani i za četiri metala: Pb, Cd, Ni i Hg. Vrijednosti su prenesene iz Direktive 2000/60/EZ Europskog parlamenta i vijeća (Okvirne direktive Europske unije o vodama, engl. *Water framework directive*, WFD) i prikazane su u Tablici 10. Radi se o vrijednostima PGK-SKVO za *druge površinske vode*, koje nisu definirane za Hg (prilog 5.B. Uredbe), a koje se odnose na otopljenu frakciju metala. Ove se vrijednosti koriste za procjenu kemijskog stanja površinskih voda. Za potrebe klasifikacije ekološkog stanja površinskih voda, definirane su i granične vrijednosti za As, Cu, Cr i Zn (specifične onečišćujuće tvari). Vrijednost PGK za druge površinske vode iznosi $5 \mu\text{g/L}$ za Cu, odnosno $40 \mu\text{g/L}$ za Zn, dok su vrijednosti koncentracija As i Cr propisane za kopnene površinske vode. Navedene vrijednosti se ne upotrebljavaju zasebno (kao vrijednosti SKVO), već se na temelju njih i ocjena stanja bioloških, fizikalno-kemijskih i hidromorfoloških elemenata kakvoće ocjenjuje ekološko stanje površinske vode.

Potencijalni utjecaj drugih tvari na ekosustave prepoznaće australsko i novozelandsko zakonodavstvo, odnosno Australian and New Zealand Environment and Conservation Council (ANZECC). Ovo je tijelo definiralo pragove, tj. zadane smjernice (engl. *default guideline values*, DGV) za niz tvari uključujući Zn, Cu i Co.³¹⁷ Zadane su maksimalne koncentracije pri kojima je zaštićeno 99 %, 95 %, 90 % i 80 % morskih organizama (Tablica 10). Prikazana ANZECC-DGV vrijednost za Zn vrijedi za područje praktičnog saliniteta od 25 do 36 te u intervalu vrijednosti pH od 6,5 do 8,0.

Zakonodavstvo Sjedinjenih Američkih Država, odnosno United States Environmental Protection Agency (USEPA) zadaje kriterije za akutnu (engl. *criteria maximum concentration*, CMC) i kroničnu izloženost (engl. *criteria continuous concentration*, CCC). Kriteriji su zadani za velik broj tvari i fizikalno-kemijskih parametara u slatkim i slanim vodama.³¹⁸ Vrijednosti maksimalno dopuštenih koncentracija odabranih elemenata pri kroničnoj izloženosti organizama prikazane su u Tablici 10 (USEPA-CCC).

Godine 2023. predložen je standard kvalitete okoliša za metodu DGT (engl. *DGT environmental quality standard*, DGT-EQS) s ciljem implementacije u WFD.²⁷³ Predloženi su pragovi za elemente obuhvaćene WFD-om (Cd, Ni i Pb) kako je prikazano u Tablici 10 (DGT-EQS).

Tablica 10. Standardi kakvoće vodenog okoliša prema hrvatskoj (europskoj) i svjetskim regulativama (sve vrijednosti su u $\mu\text{g} / \text{L}$)

ELEMENT	Zn	Cd	Pb	Cu	Ni	Co
PGK-SKVO (WFD)³¹⁶	-	0,2	1,3	-	8,6	-
ANZECC-DGV³¹⁷	99 %	3,3	0,7	2,2	0,3	7
	95 %	8,0	5,5	4,4	1,3	70
	90 %	12	14	6,6	3	200
	80 %	21	36	12	8	560
USEPA-CCC³¹⁸	81	7,9	8,1	3,1	8,1	-
DGT-EQS²⁷³	-	0,18	3,08	-	0,12	-

Za usporedbu s navedenim vrijednostima standarda kakvoće, može se koristiti jednoparametarski indeks onečišćenja prema izrazu 10:³¹⁹

$$p_i = \frac{\gamma_{\text{uzorak}}}{\gamma_{\text{standard kakvoće}}} \quad (10)$$

gdje je:

- p_i = jednoparametarski indeks onečišćenja
 γ_{uzorak} = koncentracija promatranog elementa u uzorku
 $\gamma_{\text{standard kakvoće}}$ = maksimalno dopuštena koncentracija promatranog elementa prema odabranom standardu kakvoće ili koncentracija u pozadinskom signalu³²⁰

Indeks p_i koristi se i kao ulazni parametar za indeks onečišćenja prema Nemerowu (P_N), koji se računa prema izrazu 11:³²¹

$$P_N = \sqrt{\frac{(P_1)^2 + P_{i,\max}^2}{2}} \quad (11)$$

Za razliku od jednoparametarskih indeksa onečišćenja, indeks po Nemerowu uzima u obzir doprinose više tvari uz identifikaciju tvari s najvišim indeksom onečišćenja. U izrazu 11, P_1 je srednja vrijednost pojedinačnih indeksa onečišćenja p_i za elemente (tvari) čiji se utjecaj promatra, a $P_{i,\max}$ je maksimalan indeks onečišćenja među pojedinačnim indeksima p_i . Parametar P_1 se računa prema izrazu 12:

$$P_1 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n p_i \quad (12)$$

S obzirom na to da se radi o sustavu koji je inicijalno razvijen za klasifikaciju onečišćenja u tlu, prema vrijednosti P_N , ista se mogu razvrstati u pet kategorija kako je prikazano u Tablici 11.^{322,323} Uz kriterije za tlo, navedeni su i stroži kriteriji za klasifikaciju vodâ prema nekim autorima.^{319,324} Indeks onečišćenja po Nemerowu se u literaturi koristio za prirodne vode, sediment i tlo.^{319,325-327}

Tablica 11. Klasifikacija kakvoće prema Nemerowovom indeksu onečišćenja

KATEGORIJA KAKVOĆE	ZNAČENJE KATEGORIJE	VRIJEDNOSTI INDEKSA	
		TLO	PRIRODNE VODE
I	čisto	$P_N < 0,7$	$P_N < 0,59$
II	upozoravajuća granica	$0,7 \leq P_N < 1$	$0,59 \leq P_N < 0,76$
III	blago onečišćenje	$1 \leq P_N < 2$	$0,76 \leq P_N < 1,00$
IV	umjereni onečišćenje	$2 \leq P_N < 3$	$1,00 \leq P_N < 3,50$
V	jako onečišćenje	$P_N \geq 3$	$P_N \geq 3,50$

2.7.2. Procjena rizika za morski sediment

Same vrijednosti koncentracija elemenata u morskom sedimentu ne govore dovoljno o razmjerima potencijalnog onečišćenja ni o mogućem utjecaju na živi svijet. Indeksom geoakumulacije (engl. *geoaccumulation index*, I_{geo}) definira se onečišćenje u uzorcima sedimenta usporedbom s koncentracijama u predindustrijsko doba.³²⁸ Indeks geoakumulacije računa se prema izrazu 13, a na temelju vrijednosti indeksa I_{geo} onečišćenja se mogu razvrstati u sedam razreda (Tablica 12).

$$I_{\text{geo}} = \log_2 \left(\frac{C_n}{1,5 \cdot B_n} \right) \quad (13)$$

gdje je:

- I_{geo} = indeks geoakumulacije
- C_n = koncentracija promatranog elementa n u uzorku
- 1,5 = faktor minimiziranja mogućih varijacija vrijednosti koncentracija u pozadinskom signalu do kojih može doći iz litoloških razloga
- B_n = koncentracija promatranog elementa n u pozadinskom signalu

Tablica 12. Klasifikacija onečišćenja sedimenta prema vrijednostima indeksa I_{geo} ³²⁸

VRIJEDNOSTI INDEKSA	RAZRED ONEČIŠĆENJA SEDIMENTA
$I_{\text{geo}} \leq 0$	neonečišćen
$0 < I_{\text{geo}} \leq 1$	neonečišćen do umjерeno onečišćen
$1 < I_{\text{geo}} \leq 2$	umjерено onečišćen
$2 < I_{\text{geo}} \leq 3$	umjерено do jako onečišćen
$3 < I_{\text{geo}} \leq 4$	jako onečišćen
$4 < I_{\text{geo}} \leq 5$	jako do iznimno jako onečišćen
$I_{\text{geo}} > 5$	iznimno jako onečišćen

Iako su relativno pogodne kad se radi o metalima koji su prirodno prisutni u sedimentu, procjene razmjera onečišćenja u kojima se izmjerena koncentracija neke tvari u uzorku uspoređuje s referentnom ili pozadinskom koncentracijom, ne daju dovoljno informacija o utjecaju onečišćenja na ekosustav. Stoga su razvijeni standardi kakvoće sedimenta (engl. *sediment quality guidelines*, SQGs) koji se oslanjaju na potencijalne efekte koje sediment može imati na živi svijet. Jedan od nedostataka ovakvih sustava jest to što su razvijeni za pojedinačne elemente ili kemijske spojeve, a ne uzimaju u obzir moguće pojačane utjecaje

smjesa tvari.¹²⁹ Među predloženim vrijednostima često se koriste deseti i pedeseti percentil vrijednosti pri kojima su uočeni učinci na živi svijet, a koje je definirala američka agencija National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Navedeni percentili predstavljaju pragove iznad kojeg su mogući štetni učinci (engl. *effects-range-low*, ERL), odnosno iznad kojeg se oni očekuju (engl. *effects-range-median*, ERM).^{129,329,330} Vrijednosti pragova ERL i ERM su prikazane u Tablici 13.

Tablica 13. Pragovi ERL i ERM za metale u sedimentu³³⁰

ELEMENT	ERL / ($\mu\text{g} / \text{g}$)	ERM / ($\mu\text{g} / \text{g}$)
Ag	1,0	3,7
As	8,2	70
Cd	1,2	9,6
Cr	81	370
Cu	34	270
Hg	0,15	0,71
Ni	20,9	51,6
Pb	46,7	218
Zn	150	410

Razvijen je i sustav procjene rizika i na temelju bioraspoložive frakcije sedimenta (engl. *risk assessment code*, RAC). Procjena se vrši prema udjelu koji prva frakcija elemenata odvojena prema protokolu BCR čini u ukupnoj koncentraciji pojedinog elementa.^{331,332} Sustav klasificira razinu rizika u pet kategorija, kako je prikazano u Tablici 14.

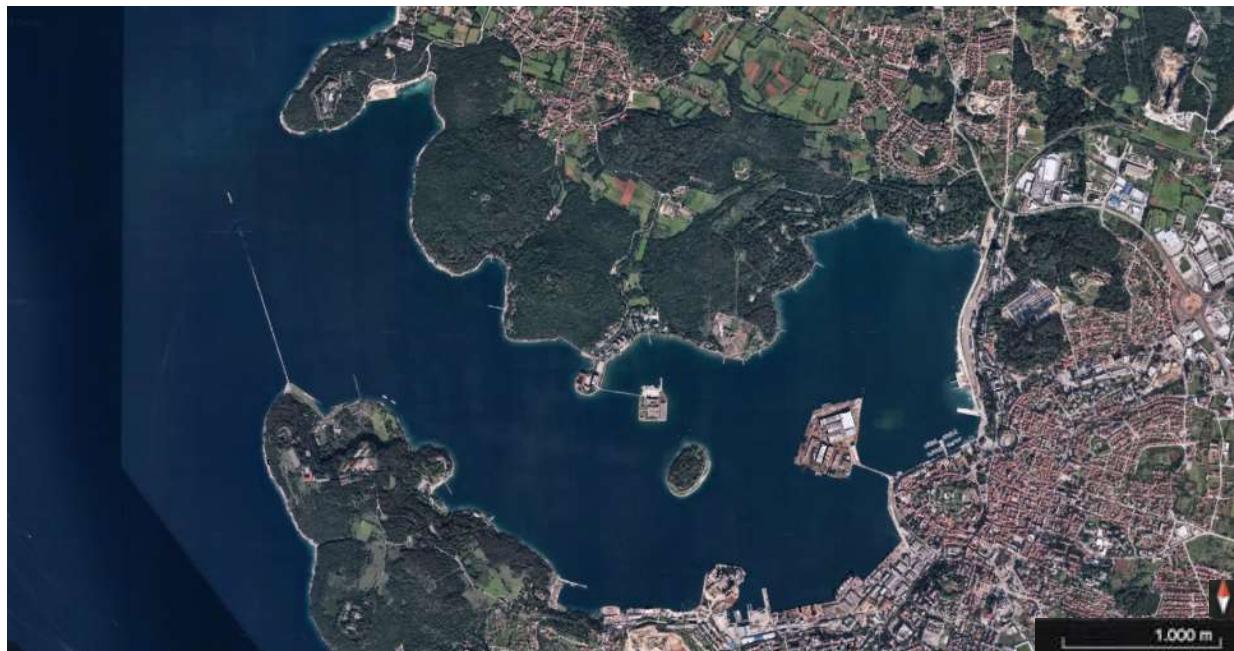
Tablica 14. Klasifikacija razine rizika prema udjelu bioraspoložive frakcije elemenata u sedimentu

KATEGORIJA	RAZINA RIZIKA	UDIO BIORASPOLOŽIVE FRAKCIJE U UKUPNIM KONCENTRACIJAMA / %
I	nema rizika	< 1
II	nizak rizik	1 – 10
III	srednji rizik	11 – 30
IV	visok rizik	31 – 50
V	vrlo visok rizik	> 50

§ 3. MATERIJALI I METODE

3.1. Područje istraživanja

Pulski zaljev jedna je od najpogodnijih prirodnih luka na jadranskoj obali. Može se podijeliti na unutarnju (istočnu) i vanjsku (zapadnu) luku s obzirom na liniju koja bi presijecala otoke Sv. Katarinu i Sv. Andriju (Slika 5). Vanjska luka završava Pulskim vratima, odnosno linijom koja spaja rt Proštinu na sjeveru i rt Kumpar na jugu, na koji se nastavlja lukobran. Unutarnji zaljev je prirodno zaštićen od svih vjetrova osim sjeverozapadnog i zato je stoljećima služio u obrambene i industrijske svrhe. Za vrijeme Austro-Ugarske Monarhije (1890.-1914.) Pula je bila glavna luka carstva, a za vrijeme Drugog svjetskog rata zaljev je bio sjedište talijanske i njemačke podmorničke flote. Zbog toga je grad bio žestoko bombardiran tijekom 1944. i 1945. godine. Sve do nedavno je značajan dio obale bio vojna zona zatvorena za javnost. Do danas je pristup poluotoku Muzil ograničen, dok se na sjevernoj obali (zona Katarina-Monumenti) bivše vojne zgrade pretvaraju u objekte za turističke namjene.



Slika 5. Satelitska snimka Pulskog zaljeva

Na obalama Pulskog zaljeva nalazi se najveći istarski grad, Pula s oko 60 000 stanovnika. Glavna karakteristika zaljeva je visok stupanj industrijalizacije. Brodogradilište Uljanik

osnovano 1856. godine, jedno je od četiri najveća u Hrvatskoj, iako trenutačno radi smanjenim obimom (Slika 6). Tvornica aluminatnog cementa osnovana 1926. godine još uvijek je vrlo aktivna. U zaljevu se nalaze dvije nautičke marine, jedna u unutarnjem zaljevu (213 vezova) i jedna novija na granici unutarnje i vanjske luke (400 vezova). Na sjevernoj strani unutrašnje luke nalazi se i mala, lokalna marina (195 vezova). Između dviju marina u unutarnjoj luci nalazi se i putnički terminal, tj. carinski gat (Riječki gat). Do 2015. godine zaljev je bio i krajnja točka sustava odvodnje otpadnih voda grada Pule.



Slika 6. Pogled na Pulski zaljev (brodogradilište na otoku Uljanik, otok Sv. Andrija, zone Muzil i Katarina-Monumenti) s Mletačke utvrde (Kaštela)

U zaljevu su evidentni brojni potencijalni izvori elemenata u tragovima, a zbog relativno duge povijesti industrijalizacije, sediment u luci je potencijalno izdašan rezervoar polutanata i može djelovati kao njihov izvor u vodenom stupcu. Ipak, podaci o elementima u tragovima u ovom dijelu Jadrana vrlo su oskudni, posebice u morskoj vodi. Di Cesare i sur. objavili su rezultate analize metala u uzorcima sedimenta iz Pulskog zaljeva 2013. godine.³²⁹ Ovo je istraživanje pokazalo značajno onečišćenje nekim elementima, ali u rasponima sličnim onima koji se nalaze u drugim dijelovima hrvatske obale Jadrana pod sličnim antropogenim utjecajem. Koncentracije Hg su u svim uzorcima premašile predloženu vrijednost ERM za više od 15 puta, na tri od 12 lokacija nađene su koncentracije Pb iznad ERM, dok su ove vrijednosti za

Zn i Ag premašene na dvije, odnosno jednoj lokaciji. Autori navode da je jaka antropogena komponenta onečišćenja posebno vidljiva na postajama u blizini brodogradilišta, tvornice cementa te tada aktivnog ispusta uređaja za pročišćavanje otpadnih voda, što implicira da su ljudske aktivnosti dominantni izvori onečišćenja ovim metalima u Pulskom zaljevu.

3.2. Kemikalije

Svi su reagensi korišteni kako su dobiveni od proizvođača, bez dodatnog pročišćavanja. Za razrjeđivanje i pripremu otopina korištena je deionizirana voda čije su karakteristike navedene u nastavku. Korištene su sljedeće kemikalije:

- destilirana deionizirana voda (MilliQ, MQ) Grade 1 prema ISO 3696, $< 0,055 \mu\text{S} / \text{cm}$
- dušična kiselina (HNO_3), 65 %, *reagent grade, suprapur* (Merck, Darmstadt, Njemačka) i 67 %, *Rotipuran* čistoće (Carl Roth, Karlsruhe, Njemačka)
- klorovodična kiselina (HCl), 36 %, *reagent grade, suprapur* i *Rotipuran* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka / Carl Roth, Karlsruhe, Njemačka)
- fluorovodična kiselina (HF), 40 %, *suprapur* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- sumporna kiselina (H_2SO_4), 96 %, *puriss. p.a.* čistoće za određivanje Hg (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- borna kiselina (H_3BO_3), $\geq 99,5 \%$, *p.a.* čistoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- ledena etanska (octena) kiselina (CH_3COOH), 100% *Emsure* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- vodikov peroksid (H_2O_2), minimalno 30 % (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- monoelementne standardne otopine za AAS, 1000 mg / L: As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, In, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn (CPAChem, Stara Zagora, Bugarska)
- standardna otopina za ICP-MS, 100 mg / L: 36 elemenata u 0,5 % HNO_3 (CPAChem, Stara Zagora, Bugarska)
- multielementni standard za elemente rijetkih zemalja: 100 mg / L za Ce, La, Nd, Pr i 20 mg / L za Dy, Er, Eu, Gd, Ho, Lu, Sc, Sm, Tb, Tm, Y i Yb (Analytika, Prag, Češka)
- otopina internog standarda, 100 mg / L: ^{6}Li , Sc, Y, Tb, In, Bi (CPAChem, Stara Zagora, Bugarska)
- otopine za optimizaciju ICP-MS sustava, 9 elemenata, 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ u (2-5) % HNO_3 (Reagecon, Shannon, Irska)
- kalijev hidrogenftalat ($\text{KH}_5\text{C}_8\text{O}_4$), *for analysis* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)

- natrijev acetat bezvodni (CH_3COONa), 99,995 %, *trace metal basis* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- otopina natrijevog hidroksida (NaOH), 30 %, *Suprapur* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- dimetilglioksim (DMG), $\geq 99,5 \%$, *p.a.* čistoće (Roth, Karlsruhe, Njemačka)
- natrijev nitrit (NaNO_2) kristalinični, *p.a.* čistoće (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- tekuća Hg , $\geq 99,999 \%$ (Merck Darmstadt, Njemačka)
- kalijev dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), *for analysis* čistoće, (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- hidroksilamonijev klorid ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$), *for analysis* čistoće, $\leq 0,000001 \%$ Hg (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- otopina amonija (amonijevog hidroksida, NH_4OH), $\geq 25 \%$, *for analysis* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- kositrov(II) klorid dihidrat ($\text{SnCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$), *for analysis* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- metanol (CH_3OH) za tekućinsku kromatografiju, *LiChrosolv* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- paladijev(II) nitrat ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$) – matriks modifikator, $(10,0 \pm 0,2) \text{ gPd / L}$ u $\sim 15 \%$ HNO_3 (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- magnezijev nitrat ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) – matriks modifikator, $(10,0 \pm 0,2) \text{ gMg / L}$ u $\sim 17 \%$ HNO_3 (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- amonijev dihidrogenfosfat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) – matriks modifikator, 99,99 %, *Suprapur* čistoće (Merck, Darmstadt, Njemačka)
- plin argon (Ar), 150-200 bar, 5.0 čistoće (Messer, Zaprešić, Hrvatska)
- plin helij (He), 200 bar, 5.0 čistoće (Messer, Zaprešić, Hrvatska)
- plin vodik (H_2), 5.0 čistoće
- plin dušik (N_2), 150-200 bar, 5.0 čistoće (Messer, Zaprešić, Hrvatska)
- certificirani referentni materijal (CRM) za elemente u tragovima u morskoj vodi CASS-6 (National Research Council of Canada, NRC)
- uzorak morske vode za međulaboratorijsku usporedbu za metale QTM 271 SW (Wepal-Quasimeme, Wageningen University & Research, Wageningen, Nizozemska)
- certificirani referentni materijal (CRM) za glavne elemente i elemente u tragovima u morskom sedimentu IAEA-458 (IAEA-MESL, Monte Carlo, Monako)

- uzorak morskog sedimenta za međulaboratorijsku usporedbu za glavne elemenate i elemente u tragovima IAEA-MESL-2019-TE, MEDPOL PT Sediment, bottle No. 7 (IAEA-MESL, Monte Carlo, Monako)
- certificirani referentni materijal (CRM) European Commission Bureau of Reference (BCR) No. 701, Lake sediment, individual identification: 0349
- certificirani referentni materijal (CRM) za metale u tragovima i druge konstituente u riječnoj vodi SLRS-6 (National Research Council of Canada, NRC)
- certificirani referentni materijal (CRM) za metale u tragovima i druge konstituente u morskom sedimentu NCS DC 75301 (China National Analysis Center for Iron and Steel)
- certificirani referentni materijal (CRM) za metale u tragovima i druge konstituente u riječnom sedimentu NCS DC 73309 (China National Analysis Center for Iron and Steel)
- Chelex®- 100 u Na⁺ formi, 100-200 mesh (Merck, Darmstadt, Njemačka)

3.3. Instrumenti i oprema

Za uzorkovanja i terenska mjerena korištena je sljedeća oprema i ambalaža:

- vertikalni uzorkivač kućne izrade za uzorkovanje morske vode
- sonda za mjerjenje fizikalno-kemijskih parametara EXO2 CTD Multiprobe (YSI – Xylem, Yellow Springs, SAD)
- boce od FEP (fluoroetilen propilen) i HDPE (polietilen visoke gustoće), volumena 1 L i 500 mL (Nalgene, Rochester, SAD)
- PVC jezgrila za uzorkovanje sedimentnih jezgri (Uwitec, Mondsee, Austrija) promjera 9 cm i duljine 60 cm
- uzorkivači DGT (klipna izvedba) s celulozno-acetatnim filterom, poliakrilamidnim difuzijskim gelom (0,8 mm) i Chelex-100 vežućim gelom (DGT Research Ltd., Lancaster, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- terenski termometar (Amarell, Kreuzwertheim, Njemačka) s raspodjelom od 0,5 °C i rasponom od 0 °C do 60 °C
- teleskopski štap.

Za izradu ovog rada korišteni su sljedeći analitički instrumenti:

- instrument za elektrokemijska mjerena Autolab s troelektrodnim sustavom 663 VA Stand (Hg radna elektroda, Pt pomoćna elektroda i zasićena Ag/AgCl/NaCl referentna

- elektroda) i mješačem (Metrohm, Herisau, Švicarska / EcoChemie, Utrecht, Nizozemska) te automatskim biretama Cavro (Tecan, Männedorf, Švicarska)
- spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu visoke rezolucije (HR ICP-MS) Element 2 (Thermo, Bremen, Njemačka)
 - spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena, Jena, Njemačka)
 - spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) 8900 QQQ (Agilent, Santa Clara, SAD)
 - atomski apsorpcijski spektrometar s elektrotermičkom pobudom (ETAAS) PinAAcle 900Z (Perkin Elmer, Waltham, SAD) sa Zeemanovom korekcijom, autosamplerom AS900 (Perkin Elmer, Waltham, SAD) i pripadajućim monoelementnim HCL i EDL lampama (Perkin Elmer, Waltham, SAD)
 - atomski apsorpcijski spektrometar s plamenom pobudom (FAAS) NovAA 800F (Analytik Jena, Jena, Njemačka) s D₂ lampom i pripadajućim monoelementnim HCL lampama (Thermo Scientific, Cambridge, Ujedinjeno Kraljevstvo)
 - atomski apsorpcijski spektrometar s tehnikom hladnih para (CVAAS) SolAAr M (Pye Unicam / Thermo, Cambridge, Ujedinjeno Kraljevstvo) s pripadajućom HCL lampom
 - analizator ugljika i dušika MultiN/C 3100 (Analytik Jena, Jena, Njemačka)
 - analizator ugljika TOC-L (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Korišteno je sljedeće laboratorijsko posuđe i oprema:

- celulozno-acetatni filteri veličine pora 0,2 µm Minisart (Sartorius, Göttingen, Njemačka)
- plastične šprice volumena 50 - 60 mL (Luer-Lock Syringes) (Codan, Santa Ana, SAD)
- boce od HDPE (polietilen visoke gustoće), LDPE (polietilen niske gustoće), FEP (fluorirani etilen polipropilen) i PFA (perfluor(alkoksi-alkan)) različitih volumena (Nalgene, Rochester, SAD)
- kivete od borosilikatnog stakla (22 mL) sa silikonsko-teflonskim septumima (DWK, Rockwood, SAD)
- PP (polipropilenske) viale volumena 2 mL (Eppendorf, Hamburg, Njemačka)
- stakleno i plastično laboratorijsko posuđe (tikvice, pipete) A klase (Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt, Njemačka)

- staklene Erlenmayerove tikvice volumena 150 mL s čepovima (Šurlan, Medulin, Hrvatska)
- tube za centrifugiranje (*falcon vial*) volumena 10 mL i 50 mL (Sarstedt, Nümbrecht, Njemačka)
- automatske pipete različitih volumena (Gilson, Madison, SAD)
- PE (polietilenske) viale za autosamplere volumena 1,5 mL, 3 mL (Perkin Elmer, Waltham, SAD), 15 mL i 50 mL (Sarstedt, Nümbrecht, Njemačka)
- uređaj za pripremu deionizirane vode PurelabFlex (Elga LabWater / Veolia Water, Lane End, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- živina visokotlačna UV žarulja, 250 W (različiti proizvođači)
- liofilizator FreeZone 8 Liter-50C (Labconco, Kansas City, SAD)
- sustav za mikrovalnu digestiju Mars XPress (CEM, Matthews, SAD) s teflonskim posudama (tubama) volumena približno 100 mL
- sustav za mikrovalnu digestiju EthosEasy (Milestone, Sorisole, Italija) s teflonskim posudama (tubama) volumena približno 100 mL
- vaga PC2000 (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska)
- tresilica Lab-Shaker LS-X (Kuhner, Birsfelden, Švicarska)
- centrifuga NF400 (Nüve Sanayi, Ankara, Turska)
- generator vodika CFH200 (Peak Scientific, Glasgow, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- kompresor zraka za FAAS Silverlyne L-350-15 (PlanetAir, Ahrensburg, Njemačka)
- mufolna peć B180 (Nabertherm, Lilienthal / Bremen, Njemačka)
- kolone unutarnjeg volumena 200 μ L ispunjene Nobias Chelate-PA1 smolom (seaFAST CF-N-0200, Elemental Scientific Inc., Omaha, SAD)

3.4. Priprema i čišćenje ambalaže i posuđa

Svaki korak u procesu uzorkovanja i analize elemenata u tragovima u okolišnim uzorcima podložan je kontaminaciji, stoga priprema i čišćenje moraju biti detaljni i često su dugotrajni.

Za uzorkovanje i čuvanje uzorka korištena je isključivo ambalaža od plastičnih materijala: HDPE, LDPE, FEP i PFA. Svu korištenu ambalažu proizveo je Nalgene. Proces čišćenja uključivao je četiri koraka: predčišćenje slabim deterdžentom, ispiranje s HNO_3 niže čistoće (*reagent grade*, $\varphi = 10 \%$), namakanje u HNO_3 visoke čistoće (*Suprapur* ili *Rotipur* čistoće, $\varphi = 2 \%$) najmanje 24 sata i trostruko ispiranje deioniziranom vodom. Na isti način je tretirano i laboratorijsko posuđe koje se koristilo za određivanje koncentracija metala. Do

uzorkovanja je ambalaža čuvana ispunjena deioniziranim vodom, a prije uzimanja konačnog uzorka, ista je isprana uzorkom.

Filteri (Sartorius) su prije filtriranja uzorka isprani propuštanjem približno 60 mL ili 200 mL deionizirane vode (ovisno o načinu filtriranja), a jedan filter je korišten za obradu samo jednog uzorka. Uzorci za određivanje OOU čuvani su u kivetama od borosilikatnog stakla sa silikonsko-teflonskim septumima (DWK, Rockwood, SAD). Kivete su čišćene kromsumpornom kiselinom, zatim isprane deioniziranim vodom i kalcinirane 4 sata na 450 °C u mufolnoj peći. Septumi su namakani u HNO₃ (*Suprapur* ili *Rotipur* čistoće, $\varphi = 10\%$), isprani deioniziranim vodom i sušeni za zraku. Proces čišćenja posuda za mikrovalnu digestiju je također uključivao četiri koraka: predčišćenje slabim deterdžentom, ispiranje s HNO₃ niže čistoće (*reagent grade*, $\varphi = 10\%$), digestija 20 mL HNO₃ (*Suprapur* ili *Rotipur* čistoće, $\varphi = 50\%$) pri 190 °C i 1200 W u trajanju od 12 minuta (nakon linearne promjene temperature brzinom od 19 °C / min) i trostruko ispiranje deioniziranim vodom. Kada je to bilo moguće, rukovanje uzorcima i priprema standardnih otopina obavljeni su korištenjem polietilenskih rukavica u laminarnom ormariću (HEPA 13), kako bi se izbjegla kontaminacija otopina i uzorka.

3.5. Uzorkovanje

Za potrebe izrade ove doktorske disertacije, u periodu od srpnja 2021. do kolovoza 2023. godine u Pulskoj luci su prikupljeni uzorci morske vode (sezonski tijekom hidrološke godine), uzorci sedimenta (sedimentnih jezgri) i provedeno je uzorkovanje morske vode primjenom uzorkivača DGT.

3.5.1. Sezonsko uzorkovanje morske vode

Tijekom 2021. i 2022. godine provedene su četiri kampanje uzorkovanja morske vode tijekom četiri godišnja doba kako bi se obuhvatio ciklus kretanja bioloških i kemijskih parametara vodenog okoliša: ljeto (srpanj 2021.), jesen (studen 2021.), zima (ožujak 2022.) i proljeće (lipanj 2022.). Ciljevi uzorkovanja su bili utvrđivanje stanja u okolišu, prostorno-vremenske raspodjele odabranih metala i provedba frakcionacijske analize metala. Dvije su frakcije odvojene filtriranjem (otopljena i ukupna).

Određeno je 20 lokacija uzorkovanja (Slika 7): 19 unutar zaljeva (PU-2 do PU-20) i jedno izvan zaljeva, koje se smatra neonečišćenim (referentno mjesto – PU-1). S obzirom na veličinu zaljeva, točke uzorkovanja su mnogobrojne i gusto raspoređene, kako bi se dobio

bolji uvid u moguće (antropogene) izvore metala i njihovu raspodjelu. Uzorci vode su uzeti na dvije dubine: na 0,5 m ispod površine (u dalnjem tekstu *površinski uzorci*) i na nekoliko metara iznad dna vodenog stupca (varijabilna dubina; u dalnjem tekstu *pridneni uzorci*). Maksimalne dubine i dubine uzorkovanja pridnenih uzoraka prikazane su u Tablici 15.



Slika 7. Mjesta sezonskog uzorkovanja morske vode.

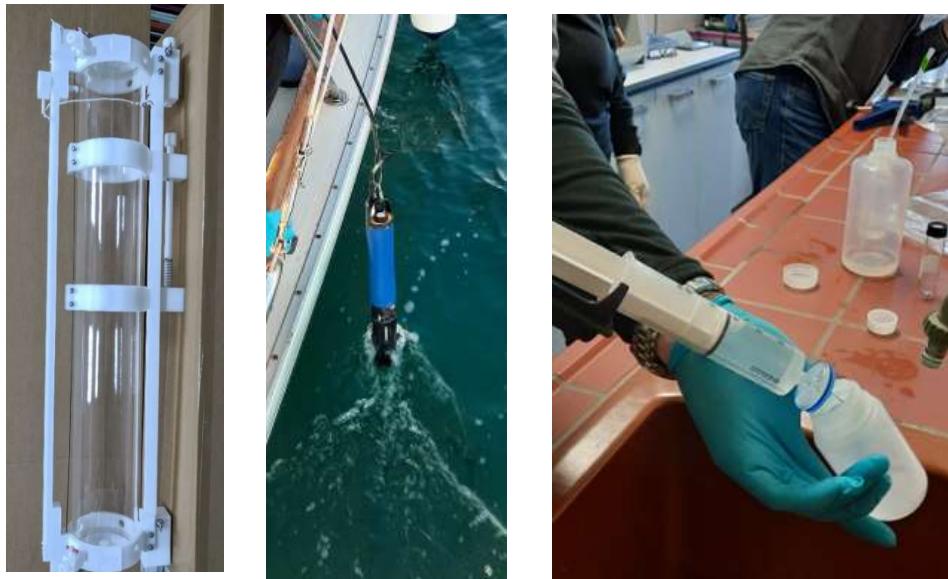
Uzorkovanje je izvedeno vertikalnim uzorkivačem (crpcem) izrađenim posebno za ovu namjenu (Slika 8). Uzeti su uzorci za određivanje ukupnih koncentracija metala i koncentracija u otopljenoj frakciji te uzorci za određivanje OOU. Paralelno su u vodenom stupcu mjereni fizikalno-kemijski parametri: praktični salinitet (definiran preko skale K_{15}), zasićenje kisikom, temperatura, mutnoća i pH s pomoću EXO2 CTD Multiprobe (YSI – Xylem, Slika 8).

Uzorci su iz crpca pretočeni u FEP boce volumena 500 mL (Nalgene). U laboratoriju je dio svakog uzorka s pomoću šprica filtriran kroz celulozno-acetatne filtere veličine pora 0,2 μm (Sartorius). Filtrat je korišten za određivanje otopljene frakcije metala i OOU. Filtrati su pohranjeni u FEP boce volumena 125 mL, a uzorci za OOU su uzeti u posljednjoj šarži filtracije u kivete od borosilikatnog stakla volumena 22 mL. Filtrirani i nefiltrirani uzorci za određivanje elemenata u tragovima su konzervirani dodavanjem koncentrirane HNO_3

(*Rotipuran Supra*, Carl Roth) do vrijednosti pH niže od 2, dok je uzorcima za određivanje OOU dodano 20 µL koncentrirane HCl (*Rotipuran Supra*, Carl Roth).

Tablica 15. Maksimalne i dubine uzorkovanja pridnenih uzoraka morske vode u metrima

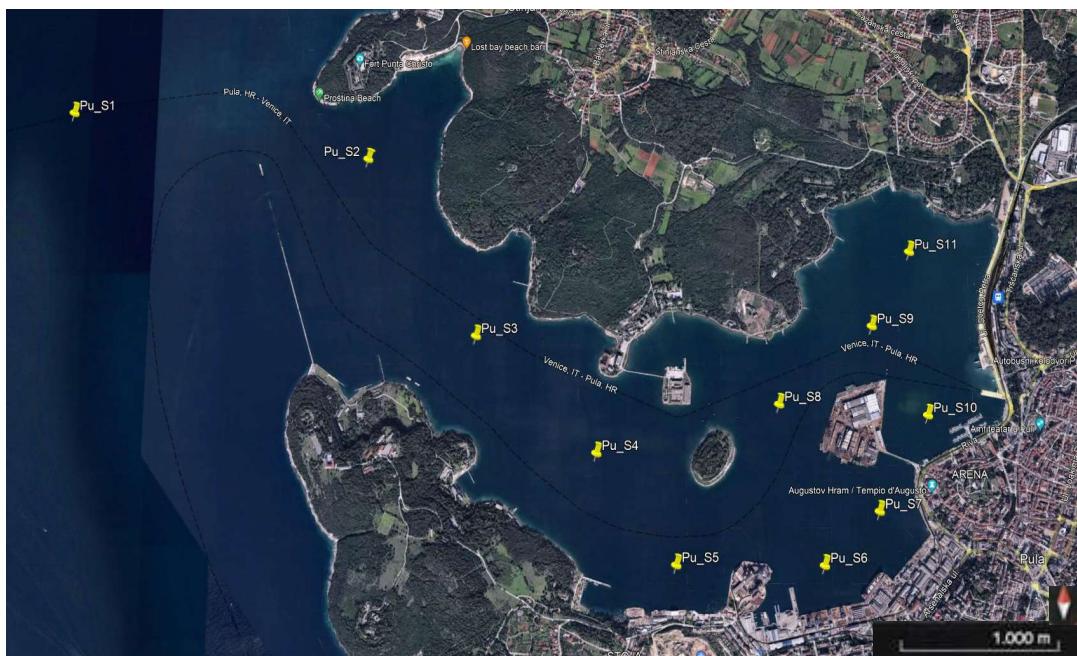
TOČKA UZORKOVANJA	MAKSIMALNA DUBINA					DUBINA UZORKOVANJA				
	srpanj 2021	listopad 2021	ožujak 2022	lipanj 2023	SREDNJA VRJEDNOST	srpanj 2021	listopad 2021	ožujak 2022	lipanj 2023	SREDNJA VRJEDNOST
1	35,2	35,1	35,2	34,0	34,9	35,0	30,0	33,0	30,0	32,0
2	38,4	37,7	38,0	36,6	37,7	35,0	30,0	30,0	34,0	32,3
3	30,9	32,4	31,3	31,4	31,5	25,0	30,0	28,0	29,0	28,0
4	35,8	37,1	37,0	35,8	36,4	30,0	30,0	32,0	33,0	31,3
5	23,6	23,0	23,3	24,5	23,6	21,0	20,0	22,0	22,0	21,3
6	27,6	25,1	24,7	22,6	25,0	25,0	23,0	22,0	20,0	22,5
7	25,6	26,8	26,6	25,6	26,2	23,0	24,0	23,0	22,0	23,0
8	27,0	26,6	27,0	27,1	26,9	25,0	24,0	25,0	25,0	24,8
9	7,0	6,8	6,6	6,4	6,7	5,0	5,0	4,0	5,0	4,8
10	23,0	25,2	24,1	21,4	23,4	21,0	22,0	22,0	20,0	21,3
11	23,0	22,1	24,1	20,7	22,5	21,0	20,0	22,0	19,0	20,5
12	26,5	23,1	22,5	20,7	23,2	25,0	20,0	20,0	19,0	21,0
13	17,2	16,2	18,2	16,3	17,0	15,0	14,0	15,0	15,0	14,8
14	17,3	18,7	18,7	18,1	18,2	15,5	16,0	15,0	16,0	15,6
15	21,7	21,9	20,7	20,0	21,1	20,0	19,0	18,0	18,0	18,8
16	17,2	17,2	16,2	16,2	16,7	15,0	15,0	13,0	14,0	14,3
17	12,8	10,2	9,8	9,2	10,5	11,0	8,0	7,0	7,0	8,3
18	13,4	13,0	13,0	13,1	13,1	12,0	10,0	10,0	11,0	10,8
19	6,8	8,2	7,7	7,4	7,5	5,0	6,0	5,0	5,0	5,3
20	7,7	13,2	11,0	12,2	11,0	5,0	11,0	8,0	10,0	8,5



Slika 8. Uzorkivač korišten za uzimanje uzoraka morske vode, multiparametarska sonda i proces filtriranja.

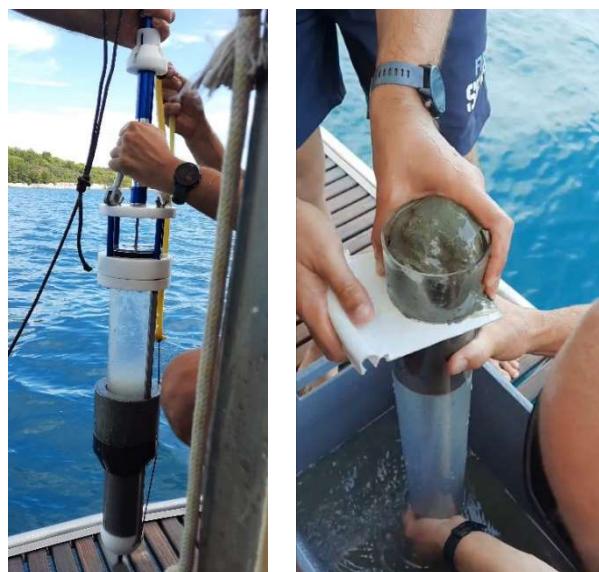
3.5.2. Uzorkovanje sedimenta

U kolovozu 2022. godine provedeno je uzorkovanje sedimenta (sedimentnih jezgri) na deset točaka unutar zaljeva i na jednoj točki izvan (Slika 9). Uzorkovanje je provedeno kako bi se utvrdile koncentracije elemenata, eventualno onečišćenje i bioraspoloživa frakcija metala u sedimentu. Točke uzorkovanja raspoređene su tako da se obuhvate očekivane različite zone sedimentacije i antropogenog utjecaja.



Slika 9. Mjesta uzorkovanja sedimenta

Sedimentne jezgre uzorkovane su gravitacijskim jezgrilom (korerom, Uwitec), spuštanjem pod utjecajem gravitacije (Slika 10). Potom su u sedimentnoj koloni razdvojeni segmenti debljine 5 cm. Svaki segment predstavlja jedan horizont. Svaki uzorak (horizont) pohranjen je u čistu, plastičnu vrećicu. Uzorkovanje jezgri omogućilo je, između ostalog, uvid u profile koncentracija metala po dubini, odnosno akumulaciju metala tijekom duljeg razdoblja kroz prošlost.



Slika 10. Jezgrilo i odvajanje horizonata sedimentnih jezgri

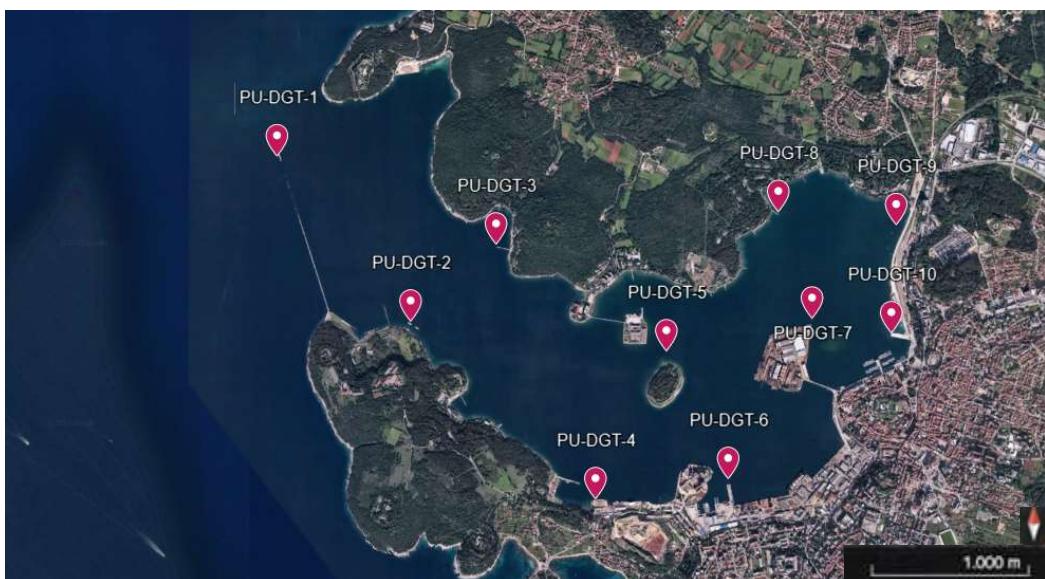
3.5.3. Uzorkovanje morske vode metodom DGT

Uzorkovanja morske vode metodom DGT provedena su kako bi se odredila bioraspoloživa frakcija metala u vodenom stupcu. Provedene su dvije kampanje uzorkovanja, u svibnju i kolovozu 2023. godine. Određeno je 10 mjesta uzorkovanja: devet unutar zaljeva i jedno na kraju lukobrana, koje se smatralo neonečišćenim (Slika 11).

Prije postavljanja, držači uzorkivača DGT pričvršćeni su na uže na definiranim udaljenostima od površine ili dna, ovisno o dubini i očekivanim razlikama između plime i oseke nakon čega su držači redom ispunjeni DGT uzorkivačima (tri uzorkivača po držaču) i odmah spušteni u vodu. Konstrukcije su fiksirane užetom za obalu ili plutaču s jedne strane, a utezima s druge.

Tijekom vremena izlaganja, svakodnevno je mjerena temperatura te su uzimani uzorci vode uz uzorkivače. Uzorkovanje se obavljalo s obale ili broda, teleskopskim štapom, direktno u FEP ambalažu volumena 1 L. Dnevni uzorci morske vode dostavljeni su u

laboratorij odmah nakon uzorkovanja i filtrirani su unutar sat vremena od uzorkovanja kroz filtere veličine pora $0,22 \mu\text{m}$ (Sartorius) aparaturom za filtraciju u struji N_2 . Tijekom kampanje uzorkovanja uzimani i filtrirani dnevni uzorci sa svim točkama uzorkovanja. Volumen od 30 mL svakog uzorka uzet je za stvaranje kompozitnog uzorka vode za pojedinu točku uzorkovanja.



Slika 11. Mjesta uzorkovanja metodom DGT



Slika 12. Uzorkivači na držaču prije izlaganja, uzorkivač DGT tijekom izlaganja u morskoj vodi, uzimanje dnevnih uzoraka vode i uzorkivači nakon kraja vremena izlaganja

Uzorkivači su izloženi vodenom okolišu u razdoblju trajanja šest dana, odnosno 144 sata. Na kraju vremena izlaganja, uzorkivači DGT su izvađeni, isprani deioniziranom vodom, stavljeni u unaprijed pripremljene vrećice i označeni (Slika 12). Unutar sljedećih 24 sata pristupilo se odvajanju gelova iz uzorkivača, a u međuvremenu su uzorkivači bili pohranjeni u frižideru, na temperaturi od 2 °C do 5 °C.

U drugoj kampanji (kolovoz 2023. godine) kompozitni je uzorak stvaran od dnevnih filtrata kao i ranije, no ovaj puta gravimetrijski (30 g svakog uzorka). Uzorci za dnevne varijacije uzimani su samo na odabranim mjestima: na lukobranu (točka PU-DGT-1, smatra se neonečišćenom), u području intenzivnijih industrijskih aktivnosti (točka PU-DGT-4) i na plovnom putu (točka PU-DGT-5). Kompozitni uzorci su označeni kao DGT-*X*, gdje je *X* broj postaje uzorkovanja.

3.5.4. Uzorci morske vode za pretkoncentraciju na kelirajućim smolama

Za razvoj metoda pretkoncentracije korišteni su kompozitni (filtrirani) uzorci morske vode uzorkovani tijekom kampanje u kolovozu 2023. godine. Dio kompozita je konzerviran koncentriranom HNO₃ (*Rotipuran Supra*, Carl Roth) te naknadno podvrgnut UV zračenju, dok je dio zamrznut bez konzerviranja. Konzervirani i digerirani uzorci korišteni su za pretkoncentraciju na smoli Nobias Chelate-PA1, dok su za određivanje potencijalno bioraspoložive frakcije na smoli Chelex-100 korišteni uzorci bez prethodnog konzerviranja i digestije. Istraživanja pokazuju da zamrzavanje uzorka nema značajnog utjecaja na rezultate specijacijskih analiza.³³³

3.6. Priprema uzorka za analizu

3.6.1. Priprema uzorka morske vode

3.6.1.1 Uzorci sezonskih uzorkovanja

Uzorci morske vode iz sezonskih kampanja iz 2021. i 2022. godine analizirani su voltametrijskim metodama. Otopljeni frakciji dobiveni su filtriranjem kroz filtere pora veličine 0,2 µm (Sartorius) najviše tri sata nakon uzorkovanja. Filtrirani i nefiltrirani uzorci (uzorci za određivanje ukupnih koncentracija metala) konzervirani su dodatkom HNO₃ visoke čistoće (Carl Roth) do vrijednosti pH niže od 2 (npr. 250 µL kiseline na 125 mL uzorka) nakon čega su svi uzorci u FEP ambalaži (u kojoj su uzorkovani ili u koju su filtrirani)

stavljeni u ventilirajući ormarić s izvorom UV svjetla (Hg žarulja jačine 250 W) na najmanje 24 sata radi degradacije organske tvari.

3.6.1.2 Priprema eluata DGT

Izlaganje uzorkivača DGT trajalo je šest dana, odnosno 144 sata. Izdvajanje vežućeg gela iz uzorkivača i njegovo otapanje započeto je unutar 24 sata od kraja uzorkovanja.

Tijekom izlaganja uzorkivača u kolovozu 2023. godine primijećen je obraštaj na plastičnim dijelovima uzorkivača većine uzorkivača, dok je na samoj membrani obraštaj bio minimalan (Slika 12). Tijekom svibanjske kampanje nije bilo obraštaja. Nakon izvlačenja iz vode, uzorkivači su isprani deioniziranom vodom i pohranjeni u plastične vrećice. Do odvajanja i otapanja gela uzorkivači su čuvani u hladnjaku, na temperaturi od 2 °C do 5 °C.

Za odvajanje poklopca od klipa korišten je odvijač od titana. Razrijeđenom HNO₃ i deioniziranom vodom očišćene su plastične pincete korištene za uklanjanje membrane i difuzijskog gela te za prijenos vežućeg gela u prethodno očišćenu PP epruvetu (2 mL, Eppendorf) kao što je prikazano na Slici 13. Potom je u epruvetu dodano 1,5 mL HNO₃ koncentracije 1 mol / L, kako bi se iz gela ekstrahirali metali. Gel smole izvađen je iz epruvete nakon 48 sati, a eluati su analizirani metodom ICP-MS unutar mjesec dana. Cijeli je proces vođen u stolnom laminarnom ormariću (klasa 100) kako bi se izbjegla bilo kakva mogućnost kontaminacije česticama (prašinom) izvana.



Slika 13. Razdvajanje poklopca i klipa, odvajanje membrane i gelova, otapanje vežućeg gela iz uzorkivača DGT

Za određivanje udjela bioraspoložive frakcije metodom DGT, voltametrijski su određene koncentracije odabralih metala i u kompozitnim uzorcima. Kompozitni uzorci su stvorenii

kako je opisano u poglavlju 3.5.3 iz filtriranih uzoraka uz zakiseljavanje do vrijednosti pH niže od 2 (npr. 420 µL HNO₃ na 210 mL uzorka).

3.6.2. Priprema uzorka sedimenta

3.6.2.1 Uzorci za određivanje ukupnih koncentracija elemenata

Uzorci sedimenta liofilizirani su unutar 24 sata u vakuumu pri -50 °C. Za daljnju pripremu uzorka za analizu korištena je mikrovalna digestija. Pri razvoju analitičkih metoda za potrebe izrade ove doktorske disertacije, modificirana je metoda laboratorija IAEA-MESL.²³⁴ U čiste posude za mikrovalnu digestiju odvagano je 0,15 g uzorka s preciznošću precizne vase, dodano je 10 mL HNO₃ ($\varphi = 50\%$), 2 mL koncentrirane HF (40 %, Merck) i 2 mL H₂O₂ (36 %, Merck). Korištene su manje mase uzorka u odnosu na originalnu metodu radi učinkovitije digestije, a razrijeđena HNO₃ upotrebljena je radi većeg volumena dostupnog za ispiranje uzorka s unutrašnjih stijenki posuda za digeriranje. Nisu se koristili veći volumeni kiseline u nastojanju da se minimizira utjecaj matrice pri instrumentnoj analizi. Nakon svakog dodatka, uzorak je ostavljen neko vrijeme kako bi se dovršile eventualne reakcije. Posude su čvrsto zatvorene, postavljene u mikrovalnu peć i pokrenut je temperaturni program pri 1200 W: 19 °C / min do 190 °C pa 12 minuta pri 190 °C.

Nakon hlađenja, posude su otvorene i u svaku je dodano 10 mL otopine H₃BO₃ ($w = 4\%$). Zatim su posude vraćene u mikrovalnu peć i pokrenut je sljedeći temperaturni program pri 1200 W: 17 °C / min do 170 °C, 12 minuta pri 170 °C. Nakon hlađenja dodano je novih 10 mL otopine H₃BO₃ ($w = 4\%$). Sadržaj posuda filtriran je kroz filter papir veličine pora 0,45 µm (Sartorius), uz više ispiranja deioniziranim vodom (kvantitativno prenošenje) u tikvice od 50 mL ili 100 mL. Po potrebi, tikvice su dopunjene deioniziranim vodom. Svaki uzorak je digeriran najmanje u dvije paralele (duplicatu), a pri svakom ciklusu digestija digerirane su i najmanje dvije slijepo probe i CRM za glavne elemente i elemente u tragovima u morskom sedimentu (IAEA-458) ili uzorak međulaboratorijske usporedbe s poznatim koncentracijama elemenata (IAEA-MESL-TE-2019).

Alikvot svakog pripremljenog uzorka, slijepo probe i CRM materijala odvojen je za analizu Hg i konzerviran dodavanjem 1 mL otopine K₂Cr₂O₇ ($w = 10\%$) u tikvicu volumena 50 mL, u kojoj je prethodno dodano 49 mL uzorka. Volumen dodane otopine K₂Cr₂O₇ bio je dovoljan za dobivanje postojanog žutog obojenja (suvrška K₂Cr₂O₇).

Na ovako razorenim uzorcima provedeno je i ispitivanje prikladnosti metode pripreme za analizu lantanoida i Y metodom ICP-MS. Za kontrolu kvalitete korišteni su referentni materijali morskog sedimenta NCS DC 75301 i riječnog sedimenta NCS DC 73309 (China National Analysis Center for Iron and Steel) koji su, nakon sušenja prema certifikatu materijala pri (105 ± 1) °C tijekom 2 sata, razoreni na isti način. Duplikati ovih uzoraka kvantitativno su preneseni u tikvice volumena 50 mL.

3.6.2.2 Uzorci za određivanje bioraspoložive frakcije u sedimentu

Priprema uzorka za određivanje bioraspoložive frakcije u sedimentu bazirana je na izvješću o certifikaciji CRM materijala BCR-701 uz nekoliko modifikacija.³³⁴

Odvagano je približno 1 g suhog uzorka u konusne viale za centrifugiranje (*falcon vial*, Sartorius) volumena 50 mL. U viale je zatim dodano po 40 mL razrijeđene ledene etanske kiseline (0,11 mol / L, pripremljeno u jednom koraku). Viale su dobro začepljene te horizontalno položene i učvršćene (Slika 14) na tresilici Lab-Shaker LS-X (Kuhner). Ekstrakcija se odvijala 16 sati pri brzini od 70 rpm da se postigne potpuna suspenzija sedimenta.



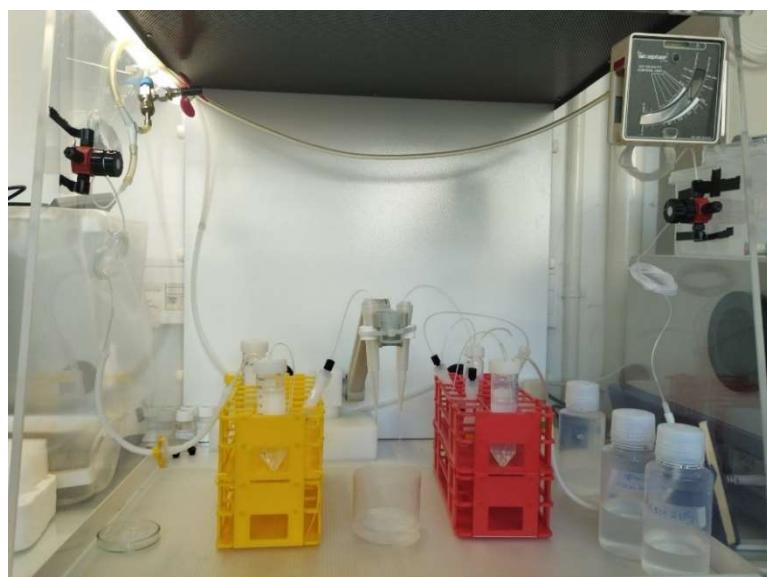
Slika 14. Ekstrakcija uzorka sedimenta (prvi korak procedure BCR)

Odmah po završetku ekstrakcije, uzorci su centrifugirani 20 minuta pri brzini od 4100 rpm. Neposredno nakon toga pipetom je odvojeno otprilike 35 mL supernatanta koji je do daljnje obrade čuvan u frižideru. Analize su provedene unutar 8 sati od kraja ekstrakcije.

3.6.3. Pretkoncentracija uzoraka na kelirajućoj smoli Nobias Chelate-PA1

Za pretkoncentraciju uzoraka na smoli Nobias Chelate-PA1 razvijen je nov protokol na sustavu kućne izrade. Pretkoncentracija se provodila na zakiseljenim kompozitnim uzorcima iz kampanje uzorkovanja metodom DGT iz kolovoza 2023. godine.

Sustav za pretkoncentraciju (Slika 15) se sastoji od zatvorene posude s uzorkom (*falcon vial*, Sartorius), komercijalno dostupne kolone unutarnjeg volumena 200 µL ispunjene Nobias Chelate-PA1 smolom (seaFAST CF-N-0200, ESI – Elemental Scientific Inc.), spremnika ili generatora N₂ i sustava kapilara. Pod tlakom N₂ (čistoća 5,0) se uzorak iz viale usmjerava kroz kolonu u prihvatu vialu. Ugrađen je i filter za zrak kako bi se spriječile eventualne kontaminacije česticama iz sustava dovoda N₂. Sustav za pretkoncentraciju smješten je u stolni laminarni ormarić (klasa 100) radi izbjegavanja kontaminacije izvana (iz zraka).



Slika 15. Izrađeni sustav za pretkoncentraciju elemenata u tragovima u uzorcima morske vode

Pretkoncentracija se vršila paralelno na dva identična sustava. Prosječno vrijeme potrebno za pripremu dva uzorka bilo je između 1,5 i 2 sata, ovisno o uvjetima u koloni i primijenjenom tlaku. Dvosmjerni ventili korišteni su za smanjenje tlaka plina u sustavu, kako bi se viale mogle otvoriti radi dodavanja reagenasa. Tlak plina tijekom koraka pretkoncentriranja je uvek bio konstantan (između 0,8 bar i 1,2 bar), ali je primijećen pad protoka tijekom procesa zbog začepljenja na fritama kolone. Kapljevita faza se kroz sustav kretala isključivo pod

tlakom N₂. Drugi sustavi za pretkoncentraciju najčešće koriste peristaltičke pumpe, a u literaturi se mogu naći i primjeri toka pod utjecajem gravitacije.^{174,207,238}

Eluacija je provedena pri nešto nižem tlaku (0,6 bar do 0,8 bar), kako bi se smanjio protok, odnosno produžilo vrijeme zadržavanja eluenta u koloni. Upotrebljene viale isprane su razrijeđenom HNO₃ ($\varphi = 10\%$) i tri puta deioniziranom vodom prije ponovne upotrebe.

Vrijednost pH je u zakiseljenim kompozitnim uzorcima nakon tretiranja UV zračenjem ugođena na 5,6 dodatkom otopine acetatnog pufera (28 mL ledene CH₃COOH (Merck), 38 mL otopine NH₄OH (> 25 %, Merck), 30 mL deionizirane vode). Kako bi se postigla navedena vrijednosti pH dovoljno je dodati 4 mL pufera na 40 mL uzorka, dok i znatno veći volumeni neznatno povišuju vrijednost pH do 5,7.

Prvo čišćenje sustava provedeno je nekoliko puta metanolom (Merck), deioniziranom vodom i razrijeđenom HNO₃ (0,5 mol / L). Iako je utvrđeno da je eluacija svih elemenata od interesa bila potpuna, između pojedinih pretkoncentracija sustav je dodatno čišćen s 4 mL HNO₃ (0,5 mol / L) pri 0,8 mL / min. Zatim je propušteno 4 mL otopine za puferiranje i kondicioniranje pri istom protoku. Otopina je vrijednosti pH 5,4 i pripremljena je miješanjem 200 mL deionizirane vode, 50 µL koncentrirane HNO₃ (*Rotipuran*, Roth) i 2 mL pufera CH₃COONH₄, 4 mol / L. Propuštanjem otopine za puferiranje i kondicioniranje ugada se vrijednost pH smole na oko 5,4 (uklanja se eventualno zaostala kiselina) i smola prelazi u NH₄⁺ oblik.¹⁷⁴ Nakon toga se vršila akumulacija metala na smoli propuštanjem smjese 40 mL uzorka i 4 mL pufera pri protoku od 0,6 mL / min do 0,8 mL / min.

Iako je pri vrijednosti pH oko 5,5 akumulacija alkalijskih i zemnoalkalijskih elemenata minimalna, preporuka je da se prije eluacije kiselinom propusti 5 mL otopine za puferiranje i kondicioniranje, radi uklanjanja zaostalih iona u masi smole.

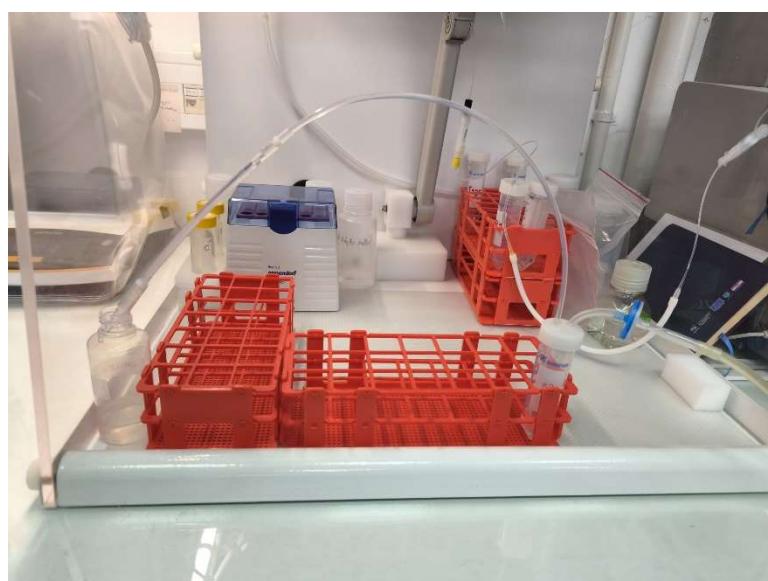
Eluati dobiveni u navedenim koracima su odbačeni. Zadnji korak pretkoncentracije bilo je eluiranje elemenata u tragovima, propuštanjem 4 mL razrijeđene HNO₃ (0,5 mol / L) kroz kolonu uz nešto niži protok (oko 0,4 mL / min). Eluat se hvatao u viale nominalnog volumena 5 mL.

Svi su reagensi propuštani u istom smjeru, iako se kod nekih primjera iz literature eluacija vršila u suprotnom pravcu. Tako se smanjilo remećenje sustava, izbjegla se mogućnost kontaminacije i skratilo se vrijeme provedbe pretkoncentracije. Volumen eluata od 4 mL dovoljan je za analizu metodom ICP-MS, a odnos početnog volumena uzorka i volumena eluata rezultira faktorom koncentracije od 10, što je omogućilo određivanje

koncentracijâ lantanoida i Y u realnim uzorcima morske vode iz Pulskog zaljeva na instrumentu ICP-MS s jednim kvadrupolom, kolizijsko-reakcijskom celijom i optičkim zrcalom.

3.6.4. Određivanje potencijalno bioraspoložive frakcije na kelirajućoj smoli Chelex-100

Radi ispitivanja mogućnosti određivanja potencijalno bioraspoložive frakcije keliranjem na smoli Chelex-100, razvijen je sustav s protočnim kolonama punjenima smolom kroz koje uzorak prolazi pod tlakom N₂ (Slika 16).



Slika 16. Izrađeni sustav za određivanje potencijalno bioraspoložive frakcije metala korištenjem smole Chelex-100 u uzorcima morske vode

Sustav se sastoji od zatvorene posude s uzorkom (50 mL, *falcon viale*, Sartorius), kolone unutarnjeg promjera 4 mm punjene smolom Chelex-100 (Merck) do visine 7 cm (volumen mokre smole iznosi oko 0,88 cm³), spremnika ili generatora N₂ i sustava kapilara s filterima za zrak. Pod tlakom N₂ (čistoća 5,0) se uzorak iz viale usmjerava kroz kolonu u prihvatu vialu. Sustav je smješten u stolni laminarni ormarić (klasa 100) radi izbjegavanja kontaminacije.

Prije prolaska kroz kolonu, nezakiseljenim kompozitnim uzorcima ugođena je vrijednost pH na $8,15 \pm 0,05$ boratnim puferom (6,2 g H₃BO₃ (*Suprapur*, Merck) i 1,5 mL koncentrirane HNO₃ (*Rotipur Supra*, Carl Roth) u 100 mL deionizirane vode). S obzirom na prirodnu vrijednost pH uzorka, dovoljan je bio dodatak od 100 µL pufera na 10 mL uzorka. Svaki je uzorak ukupnog volumena 80 mL (dva puta po 40 mL) propušten kroz kolonu pri tlaku N₂ od

0,3 bar. Nakon prolaska kroz kolonu, uzorci su zakiseljeni do vrijednosti pH niže od 2 i podvrgnuti UV digestiji.

Početnim testiranjem sustava standardnim otopinama Cu (30 nmol / L) utvrđeno je da je optimalan protok kroz kolonu 8 mL / min jer je pri tom protoku zadržan najviši postotak Cu (95 %). Vrijeme zadržavanja je nisko (oko 0,5 s) radi niskog korisnog volumena smole pa je vrijeme potrebno za provođenje 40 mL uzorka kroz smolu oko 5 minuta.

Između uzoraka smola je ispirana velikim volumenima deionizirane vode, otopine acetatnog pufera vrijednosti pH 5,6 (28 mL ledene CH₃COOH (Merck), 38 mL otopine NH₄OH (> 25 %, Merck), 30 mL deionizirane vode) te morske vode iz koje je organska tvar uklonjena UV digestijom, a metali suspenzijom s MnO₂. Izbjegavalo se ispiranje (eluiranje) kiselinom ili sredstvima koji bi značajno mijenjali vrijednost pH kolone radi promjene volumena smole (prelaska u drugi oblik) pa time i protoka uzorka.

Radi određivanja udjela potencijalno bioraspoložive frakcije u uzorcima, analiziran je uzorak koji je prošao kroz kolonu (A) te izvorni uzorak (B) bez prolaska kroz kolonu punjenu smolom Chelex-100 (Merck). Oduzimanjem vrijednosti A od B dobivena je bioraspoloživa koncentracija, odnosno masa zaostala u koloni. Oba uzorka su prije mjerenja tehnikom ASV zakiseljena i podvrgнутa UV digestiji.

3.7. Analitičke metode

3.7.1. Voltametrijsko određivanje koncentracije metala u tragovima

Voltametrijski su određivane koncentracije metala u uzorcima sezonskih uzorkovanja i kompozitnim uzorcima iz kampanje uzorkovanja metodom DGT. Rezultati analize zakiseljenih kompozitnih uzoraka korišteni su za interpretaciju rezultata dobivenim metodom DGT te za usporedbu s rezultatima nakon pretkoncentracije na smoli Nobias Chelate-PA1. Nezakiseljeni kompozitni uzorci korišteni su za ispitivanje metode određivanja potencijalno bioraspoložive frakcije keliranjem na smoli Chelex-100. U tim su uzorcima voltametrijski određivane koncentracije Cu.

Voltametrijska mjerenja provedena su na instrumentu Autolab (Metrohm / EcoChemie) sa 663 VA Stand (Metrohm) troelektrodnim sustavom (viseća Hg radna kap-elektroda, Pt pomoćna elektroda i Ag/AgCl/NaCl(zas.) referentna elektroda) i rotirajućim mješačem. Mjerenja su bila u potpunosti automatizirana (dodavanje uzorka, deoksigenacija, dodavanje reagenasa i standarda, formiranje kapi, miješanje itd.) s pomoću autosamplera kuće izrade i

automatskih bireta (Cavro). Analize su se provodile na zakiseljenim uzorcima morske vode nakon tretiranja UV zračenjem metodom dodatka standarda pri sobnoj temperaturi i u struji N₂ čistoće 5,0. Miješanje se odvijalo brzinom od 3000 rpm. Parametri analizâ prikazani su u Tablici 16.

Tablica 16. Parametri voltametrijskih analiza

	DPASV		DPAdCSV
	Pb, Cd, Cu	Zn	Ni, Co
Trajanje deoksigenacije	180 s	180 s	180 s
Potencijal akumulacije	-0,8 V	-1,25 V	-0,7 V
Vrijeme akumulacije	300 s	60 s	90 s
Vrijeme uravnoteženja	5 s	5 s	5 s
Trajanje impulsa	0,04 s	0,04 s	0,04 s
Vrijeme između dva uzorkovanja struje	0,1 s	0,1 s	0,1 s
Početni potencijal	-0,75 V	-1,15 V	-0,7 V
Završni potencijal	0 V	-0,75 V	-1,25 V
Korak potencijala	0,00195 V	0,00195 V	0,00195 V
Amplituda impulsa	0,04 V	0,04 V	0,04 V

Tehnikom DPASV određivani su Zn, Cd, Pb i Cu, tako da je nakon određivanja koncentracija Cd, Pb i Cu u uzorak dodano 90 µL do 100 µL puferske otopine CH₃COONa (Merck), koncentracije 4 mol / L (do vrijednosti pH između 3 i 4) te je u njoj određivana koncentracija Zn.^{98,177} Analize su provedene na uzorcima početnih volumena 10 mL s četiri dodavanja standardnih otopina. Volumeni dodataka ovisni su o signalu početnog uzorka i računaju se za svaki uzorak i metal na temelju poznate osjetljivosti instrumenta za pojedini element. Koncentracije standarda Cd, Pb, Cu i Zn su bile 50 nmol / L, 0,1 µmol / L, 5 µmol / L odnosno 15 µmol / L.

Tehnikom DPAdCSV određivane su koncentracije Ni i Co u uzorcima volumena 10 mL, nakon dodavanja 22 µL otopine dimetilglioksim (Carl Roth) koncentracije 5 mmol / L koji služi kao ligand, 50 µL otopine NaNO₂ (katalizator, Kemika) koncentracije 4 mol / L i 1 mL boratnog pufera (do vrijednosti pH od oko 9).¹⁷⁹ Pufer je pripremljen otapanjem 12,2 g H₃BO₃ (Kemika) u 250 mL deionizirane vode sa 16 mL otopine NaOH, w = 30 % (Merck). Koncentracije standarda Ni i Co bile su 3 µmol / L odnosno 0,1 µmol / L.

Za kontrolu mjerenja koristio se CRM CASS-6 (NRCC). Voltamogrami su procesuirani s pomoću računalnog programa ECDSOFT.³³⁵

3.7.2. Određivanje koncentracija elemenata u tragovima metodom ICP-MS

3.7.2.1 Eluati DGT

Koncentracije elemenata u tragovima u eluatima DGT analizirane su metodom ICP-MS korištenjem metode vanjskog standarda uz In kao interni standard ($10 \mu\text{g} / \text{L}$). Kao kontrolni standard korišten je CRM SLRS-6 (NRCC). Eluati su prije analize razrijedjeni tri puta. Parametri analize prikazani su u Tablici 17.

Tablica 17. Radni parametri na instrumentu ICP-MS Element 2 (Thermo Scientific)

PARAMETAR	KORIŠTENE VRIJEDNOSTI
Rezolucija ($m / \Delta m$)	niska (LR) = 300, srednja (MR) = 4000, visoka (HR) = 10000
RF snaga	1200 W
Pomoćni plin	$\sim 0,9 \text{ L} / \text{min}$
Plin za uzorak	$\sim 1,0 \text{ L} / \text{min}$
Plazmenik	Fasselov, 1,5 mm unutarnji promjer
Raspršivač	<i>SeaSpray</i> , $400 \mu\text{L} / \text{min}$
Komora za raspršivanje	<i>Cyclonic</i> , 20 mL
Konus uzorka	Ni, <i>sampler</i> model H, veličina otvora 1,1 mm
Probirni konus	Ni, <i>skimmer</i> model H, veličina otvora 0,8 mm
Način pretrage	<i>EScan</i>

Od svih su rezultata oduzeti signali slijepih proba: eluat iz neizloženog uzorkivača DGT i deionizirana voda. Za izračun vremenski usrednjениh koncentracija korišteni su izrazi 8 i 9 (poglavlje 2.6.4) uz difuzijske koeficijente određene u laboratorijskim uvjetima.³³⁶

3.7.2.2 Određivanje elemenata nakon pretkoncentracije na koloni

Elementi u tragovima, lantanoidi i Y su nakon pretkoncentracije na koloni smolom Nobias Chelate-PA1 (Thermo-Scientific) određeni na instrumentu ICP-MS PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena, Slika 17). Mjerenja su bila automatizirana s pomoću autosamplera ASX60 (Teledyne) i provodila su se metodom vanjskog standarda. Tijekom razvijanja instrumentne

metode korišten je CRM materijal SRLS-6 (NRCC). Provjera efikasnosti pripreme i točnosti analitičke metode je obavljena s pomoću materijala CRM CASS-6 (NRCC) i uzorka morske vode za međulaboratorijske usporedbe s poznatim koncentracijama pojedinog elementa QTM 271 SW (Wepal-Quasimeme). Uzorci nisu dodatno tretirani, a kao unutarnji standard korišten je In koncentracije $10 \mu\text{g} / \text{L}$. Za određivanje pojedinih elemenata korištena je i kolizijsko-reakcijska celija s He i H₂.

3.7.2.3 Bioraspoloživa frakcija elemenata u uzorcima sedimenta

Bioraspoloživa frakcija elemenata u sedimentu određena je s pomoću spektrometra masâ uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena, Slika 17) nakon pripreme prema prvom koraku sekvencijske analize BCR kako je opisano u poglavlju 3.6.2.2, bez naknadnih razrjeđenja. Mjerenja su bila automatizirana s pomoću autosamplera ASX60 (Teledyne) i provodila su se metodom vanjskog standarda. Provjera efikasnosti pripreme i točnosti analitičke metode obavljena je s pomoću CRM materijala BCR-701 (European Commission, Community Bureau of Reference). Smjesa šest elemenata korištena je kao unutarnji standard čija je koncentracija bila $20 \mu\text{g} / \text{L}$. Za određivanje pojedinih elemenata korištena je i kolizijsko-reakcijska celija s He.



Slika 17. ICP-MS PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena) u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Istarske županije

3.7.3. Određivanje koncentracija elemenata tehnikama atomske apsorpcijske spektrometrije

3.7.3.1 Određivanje koncentracije elemenata tehnikom ETAAS

Za određivanje koncentracije As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni i Pb u uzorcima sedimenta nakon mikrovalne digestije koristio se atomski apsorpcijski spektrometar s elektrotermičkom pobudom PinAAcle 900Z (Perkin Elmer, Slika 18). Mjerenja su bila automatizirana s pomoću autosamplera AS900 (Perkin Elmer) s mogućnošću automatskog razrjeđivanja i provodila su se metodom vanjskog standarda. Za sve navedene elemente korištene su lampe HCL izuzev As i Pb za čije su određivanje izvor svjetlosti bile lampe EDL. Korištene su grafitne kivete s L'ovljevom platformom.

3.7.3.2 Određivanje koncentracije metala tehnikom FAAS

Za određivanje ukupnih koncentracija Fe, Mn i Zn u uzorcima sedimenta nakon mikrovalne digestije koristio se atomski apsorpcijski spektrometar s plamenom pobudom NovAA 800F (Analytik Jena, Slika 18). Mjerenja su bila automatizirana s pomoću autosamplera, a provodila su se metodom vanjskog standarda. Za sve analize korištene su HCL lampe, a plamen je dobiven smjesom C₂H₂ i zraka na plameniku širine 10 cm bez otklona u odnosu na smjer optičke zrake.

Ovisno o odvagama i koncentracijama, svi su uzorci za analizu Fe razrjeđeni (faktori razrjeđenja od 5 do 20), dok su za analizu Mn i Zn razrjeđenja bila potrebna samo u nekim slučajevima (maksimalni faktor razrjeđenja od 5 odnosno 10). Svi su kalibracijski standardi pripremani ručno, kao i razrjeđenja uzorka.



Slika 18. FAAS NovAA 800F (Analytik Jena) i ETAAS PinAAcle 900Z (Perkin Elmer)
u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Istarske županije

3.7.3.3 Određivanje koncentracije Hg tehnikom CVAAS

Za određivanje koncentracije Hg u uzorcima sedimenta nakon mikrovalne digestije koristio se atomski apsorpcijski spektrometar s tehnikom hladnih para SolAAr M (Pye Unicam / Thermo). Mjerenja su provedena metodom vanjskog standarda, a metoda je razvijena i validirana na temelju literaturnih izvora.^{234,337,338}

Alikvot svakog uzorka doveden je do 70 mL dodatkom H_2SO_4 koncentracije 0,5 mol / L u kojoj su pripremljeni i kalibracijski standardi. Analizirani alikvoti digeriranih uzoraka bili su volumena od 1 mL do 50 mL.

Suvišak $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ u uzorcima reduciran je dodatkom najviše 5 mL otopine $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (do gubitka žutog obojenja), a neposredno prije analize svakom je uzorku dodano 3 mL otopine SnCl_2 ($w = 10\%$ u HCl , $\varphi = 20\%$) radi redukcije Hg^{2+} u volatilni oblik Hg^0 .

3.7.4. Određivanje otopljenog organskog ugljika

Otopljeni organski ugljik određivan je u filtriranim uzorcima morske vode. Uzorci su filtrirani direktno u staklene viale koje su se postavljale na autosampler instrumenta MultiN/C 3100 (Analytik Jena). Instrument ima mogućnost određivanja ukupnog i otopljenog ugljika i ukupnog dušika u tekućim i krutim uzorcima, a radi na principu termokatalitičke digestije s platinom kao katalizatorom.

Uzorci se prije injektiranja zakiseljavaju s HCl , 2N (170 mL koncentrirane HCl (Merck) razrijeđeno do 1000 mL deioniziranom vodom) i konstantno miješaju (automatske operacije instrumenta). Mjerenja su provedena metodom vanjskog standarda.

3.8. Postupak modeliranja specijacije

Specijacijska analiza provedena je upotrebom računalnog programa vMINTEQ. Kao ulazni parametri korištene su izmjerene (stvarne) vrijednosti pH (8,2), srednja vrijednosti temperature cijelog vremena izlaganja (27,4 °C), koncentracija OOU od 1,5 mgC / L, prosječni praktični salinitet od 37,3 i koncentracije metala u otopljenoj frakciji iz kompozitnih uzoraka uzetih tijekom uzorkovanja metodom DGT u kolovozu 2023. godine. Prepostavljeni odnos fulvične i huminske kiseline u organskoj tvari je 90 %, odnosno 10 %. Za interakcije s organskom tvari korišten je model NICA-Donnan. Koncentracije u otopljenoj frakciji pridružene su slobodnim, dvostruko nabijenim ionima metala. Koncentracije glavnih iona (Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Br^- , F^- , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} i H_3BO_3) izračunate su prema

izmjerenim vrijednostima praktičnog saliniteta sukladno Dittmarovom pravilu, kako je prikazano u Tablici 18.³³⁹

Tablica 18. Glavni konstituenti morske vode, njihov sastav u ovisnosti o praktičnom salinitetu (γ / S) i koncentracije pri vrijednosti praktičnog saliniteta od 35 (γ_{35}) i 37,3 ($\gamma_{37,3}$)³³⁹

KONSTITUENT	(γ / S) / (mg / kg)	γ_{35} / (g / kg)	$\gamma_{37,3}$ / (g / kg)
Na ⁺	308,0	10,781	11,488
K ⁺	11,40	0,399	0,425
Mg ²⁺	69,69	1,284	2,599
Ca ²⁺	11,77	0,4119	0,4390
Sr ²⁺	0,227	0,00794	0,00847
Cl ⁻	552,94	19,353	20,625
SO ₄ ²⁻	77,49	2,712	2,890
HCO ₃ ⁻	3,60	0,126	0,134
Br ⁻	1,923	0,0673	0,0717
H ₃ BO ₃	0,735	0,0257	0,0274
F ⁻	0,037	0,00130	0,00138

3.9. Obrada podataka

Za obradu podataka korišteni su upravljački programi analitičkih instrumenata, Excel (Microsoft), Surfer (Golden Software) te računalni programi razvijeni posebno za obradu voltamograma (ECDSOFT, StandAdd), signala multiparametarske sonde (Exo2Monitor) i obradu podataka (DataCorr i DataPlot) koji su dostupni na: <https://sites.google.com/site/daromasoft/home>.

Kako bi se dobio uvid u promjenu koncentracija metala u tragovima unutar zaljeva u odnosu na točke koje se smatraju neonečišćenima, korišten je faktor obogaćenja (engl. *enrichment factor, EF_v*) sličan jednoparametarskom indeksu p_i koji se koristi za izračun indeksa po Nemerowu (izraz 10, poglavlje 2.7.1) kako je prikazano izrazom 14:³²⁰

$$EF_v = \frac{\gamma_{\text{uzorak}}}{\gamma_{\text{referentna postaja}}} \quad (14)$$

gdje je:

- EF_v = faktor obogaćenja
 γ_{uzorak} = koncentracija promatranog elementa u uzorku
 $\gamma_{\text{referentna postaja}}$ = srednja vrijednost koncentracijâ promatranog elementa izmjerena u odgovarajućem sloju i frakciji u uzorcima s postaja PU-1 (otvoreno more) i PU-2 (ulaz u zaljev) – pozadinski signal

Faktor obogaćenja (engl. *enrichment factor*, EF) često se koristi za geokemijsku normalizaciju prema nekom elementu čija se koncentracija ne mijenja značajno bez obzira na lokaciju uzorkovanja (konzervativni element). Razlog tomu može biti visoka koncentracija odabranog elementa u Zemljinoj kori pa je u usporedbi s tim vrijednostima eventualni antropogeni doprinos nizak ili je malo vjerojatno da je koncentracija konzervativnog elementa posljedica nekog onečišćenja.^{340,341} Najčešće se kao konzervativni element uzima Al, Fe, Li ili Ti, a faktor obogaćenja se računa prema izrazu 15.^{340,342-349}

$$EF = \frac{\frac{M_{\text{uzorak}}}{X_{\text{uzorak}}}}{\frac{M_{\text{pozadina}}}{X_{\text{pozadina}}}} \quad (15)$$

gdje je:

- EF = faktor obogaćenja
 M_{uzorak} = koncentracija promatranog elementa u uzorku
 X_{uzorak} = koncentracija konzervativnog elementa u uzorku
 M_{pozadina} = koncentracija promatranog elementa u pozadinskom signalu
 X_{pozadina} = koncentracija konzervativnog elementa u pozadinskom signalu

Prema vrijednosti EF , obogaćenje se može karakterizirati kako je prikazano u Tablici 17.

Tablica 17. Klasifikacija onečišćenja sedimenta prema vrijednosti faktora EF ³⁵⁰

VRIJEDNOST FAKTORA	KATEGORIJA ONEČIŠĆENJA
$EF \leq 2$	nema obogaćenja ili nisko obogaćenje
$2 < EF \leq 5$	umjereno obogaćenje
$5 < EF \leq 20$	značajno obogaćenje
$20 < EF \leq 40$	vrlo visoko obogaćenje
$EF > 40$	iznimno visoko obogaćenje

Kao vrijednosti pozadinskog signala mogu se koristiti podaci o sastavu Zemljine kore ili vrijednosti koncentracija promatranih elemenata u uzorku u kojem se ne očekuje značajan antropogeni utjecaj.^{340,345,351,352}

Kod frakcionacije u morskoj vodi, odnosno za određivanje otopljenih frakcija (OF) korišten je udio ove frakcije u ukupnim koncentracijama promatranih metala u uzorku, prema izrazu 16:

$$OF = \frac{\gamma_{\text{otopljeni}}}{\gamma_{\text{ukupni}}} \quad (16)$$

gdje je:

- | | | |
|-----------------------------|---|---|
| OF | = | udio promatranog metala u otopljenoj frakciji u morskoj vodi |
| $\gamma_{\text{otopljeni}}$ | = | koncentracija promatranog elementa u određenom filtriranom uzorku morske vode |
| γ_{ukupni} | = | koncentracija promatranog metala u odgovarajućem nefiltriranom uzorku morske vode |

Kod određivanja bioraspoložive frakcije (BF) u morskoj vodi, korišten je omjer koncentracija dobiven metodom DGT (γ_{DGT}) i koncentracija u otopljenoj frakciji (u filtratu uzorka, $\gamma_{\text{otopljeni}}$), prema izrazu 17:

$$BF = \frac{\gamma_{\text{DGT}}}{\gamma_{\text{otopljeni}}} \quad (17)$$

Kod određivanja bioraspoložive frakcije u sedimentu (BF_s) korišten je omjer koncentracije dobivene nakon prvog koraka sekvencijske ekstrakcije BCR (γ_{BCR}) i ukupne koncentracije promatranog elementa nakon mikrovalne digestije uzorka (γ_{total}), prema izrazu 18:

$$BF_s = \frac{\gamma_{\text{BCR}}}{\gamma_{\text{total}}} \quad (18)$$

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

Istraživanjem provedenim u svrhu izrade ovog doktorskog rada utvrđene su raspodjela, frakcionacija i specijacija metala u tragovima u morskoj vodi i sedimentu Pulskog zaljeva. Pri uzorkovanju morske vode određivani su i fizikalno-kemijski parametri te otopljeni organski ugljik.

U morskoj vodi provedena je operativna frakcionacija (ukupne koncentracije i koncentracije u otopljenoj frakciji), a koncentracije metala u frakcijama određivane su elektrokemijskim metodama (ASV i AdCSV). Prikazani su i rezultati primjene metode pretkoncentracije uzoraka na smoli Nobias Chelate-PA1 radi određivanja koncentracija lantanoida i Y u morskoj vodi kvadrupolnim instrumentom ICP-MS. Prikazana je i razrada instrumentne metode ICP-MS za određivanje lantanoida i Y nakon pretkoncentracije. Bioraspoloživa frakcija elemenata u morskoj vodi određena je metodom DGT, a razvijen je i sustav za određivanje bioraspoložive frakcije s pomoću protočne kolone punjene smolom Chelex-100. Dobiveni rezultati uspoređeni su s dostupnim literurnim podacima o koncentracijama elemenata u Sjevernom Jadranu i Pulskoj luci te su izvedeni zaključci o mogućim uzrocima njihove raspodjele. Na temelju sakupljenih podataka provedeno je i modeliranje specijacije odabralih elemenata s pomoću programa *Visual MINTEQ*. Nadalje, omogućene su usporedbe rezultata dobivenih primjenom različitih analitičkih metoda: rezultati elektrokemijskih mjeranja uspoređeni su s rezultatima mjeranja nakon pretkoncentracije, a koncentracije bioraspoloživih frakcija dobivene metodom DGT uspoređene su s koncentracijama dobivenim nakon keliranja na smoli Chelex-100 u protočnoj koloni i rezultatima modeliranja specijacije.

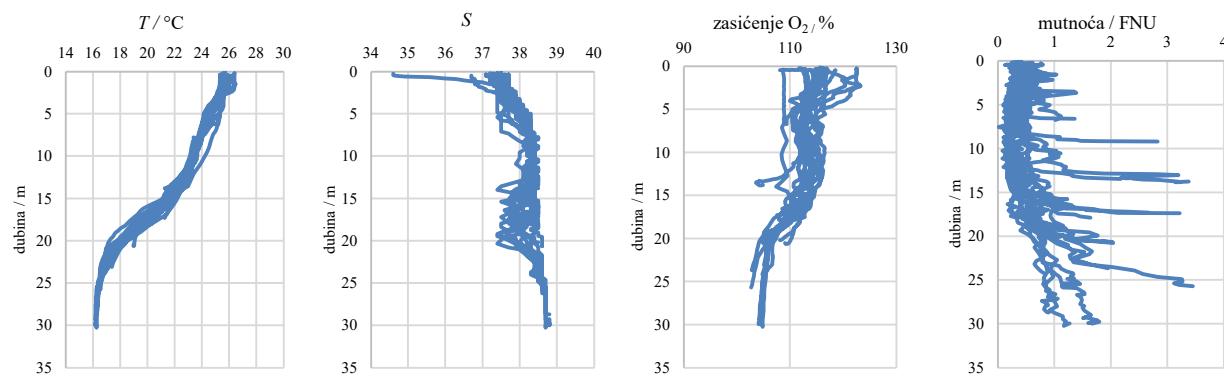
U ovom poglavlju također je prikazana razrada metodâ pripreme i određivanja ukupnih koncentracija metala u uzorcima morskog sedimenta tehnikama atomske apsorpcijske spektrometrije (ETAAS, FAAS, CVAAS) te lantanoida i Y metodom ICP-MS. Izdvajanje bioraspoloživih frakcija sedimenta je provedeno prema prilagođenom protokolu BCR. Analiza koncentracija u ovoj frakciji provedena je na kvadrupolnom instrumentu ICP-MS, nakon razrade metode.

Konačno, napravljene su procjene rizika za okoliš i ljudsko zdravlje slijedeći različite dostupne metodologije za morskou vodu i sediment.

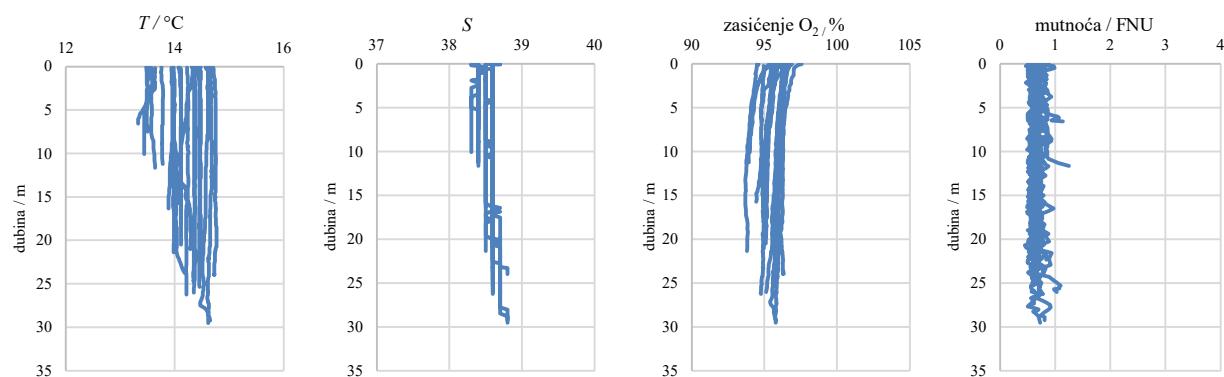
4.1. Raspodjela i frakcionacija metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva

4.1.1. Fizikalno-kemijski parametri morske vode i otopljeni organski ugljik

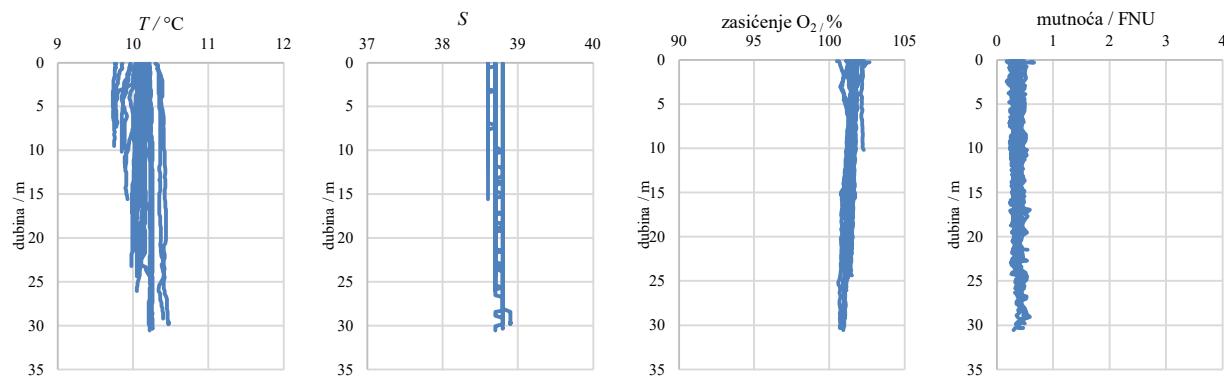
Slike od 19 do 22 prikazuju profile temperature, praktičnog saliniteta, zasićenja kisikom i mutnoće u vodenim stupcima na postajama uzorkovanja dobivene tijekom sezonskih uzorkovanja 2021. i 2022. godine. Zbog velikog broja podataka nije bilo moguće zasebno prikazivanje pojedinog profila te su, radi općenitog uvida u raspon mjerениh vrijednosti, prikazani skupni profili. Uz navedene fizikalno-kemijske parametre, mjerena je i vrijednost pH koja nije pokazivala značajna odstupanja od vrijednosti 8,2.



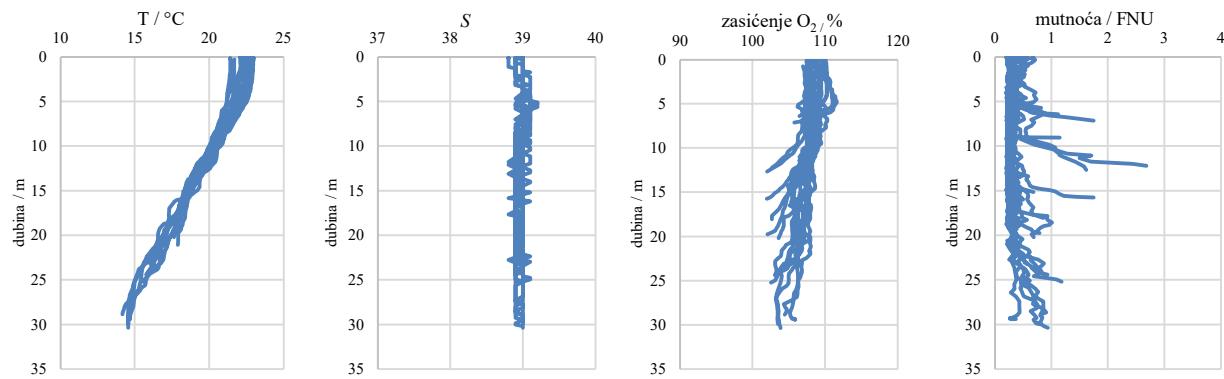
Slika 19. Kretanje vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara tijekom uzorkovanja u srpnju 2021. godine (mjerena u 20 točaka uzorkovanja)



Slika 20. Kretanje vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara tijekom uzorkovanja u studenom 2021. godine (mjerena u 20 točaka uzorkovanja)



Slika 21. Kretanje vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara tijekom uzorkovanja u ožujku 2022. godine (mjerena u 20 točaka uzorkovanja)



Slika 22. Kretanje vrijednosti fizikalno-kemijskih parametara tijekom uzorkovanja u lipnju 2022. godine (mjerena u 20 točaka uzorkovanja)

Prikazani fizikalno-kemijski parametri pokazuju očekivanu prostornu i vremensku varijabilnost: temperatura (srpanj 2021. i lipanj 2022.) i zasićenje kisikom se uglavnom smanjuju s dubinom, dok salinitet raste. Temperatura je bila između $9,7 ^\circ C$ (zimsko uzorkovanje, ožujak 2022.) i $25 ^\circ C$ (ljeto, srpanj 2021.). Izostanak temperaturnih gradijenata za vrijeme jesenskog (studeni 2021.) i zimskog (ožujak 2022.) uzorkovanja ukazuje na to da temperatura vode u zaljevu prvenstveno ovisi o vremenskim uvjetima. Zabilježene su vrijednosti zasićenja kisikom između 94 % i 120 %. Očekivane su više koncentracije kisika (veće zasićenje) u površinskom sloju radi difuzije iz atmosfere dok tijekom perioda veće osunčanosti i više temperature višim koncentracijama kisika doprinosi i intenzivnije odvijanje fotosinteze.³⁵³ Vrijednosti praktičnog saliniteta su, s druge strane, rasle od površine prema dnu i imale vrijednosti približno između 37,0 i 39,2. Fenomen je također poznat, a može biti uzrokovani adsorpcijom metalnih iona na površinu sedimenta, u prvom redu K^+ i Mg^{2+} .³⁵³

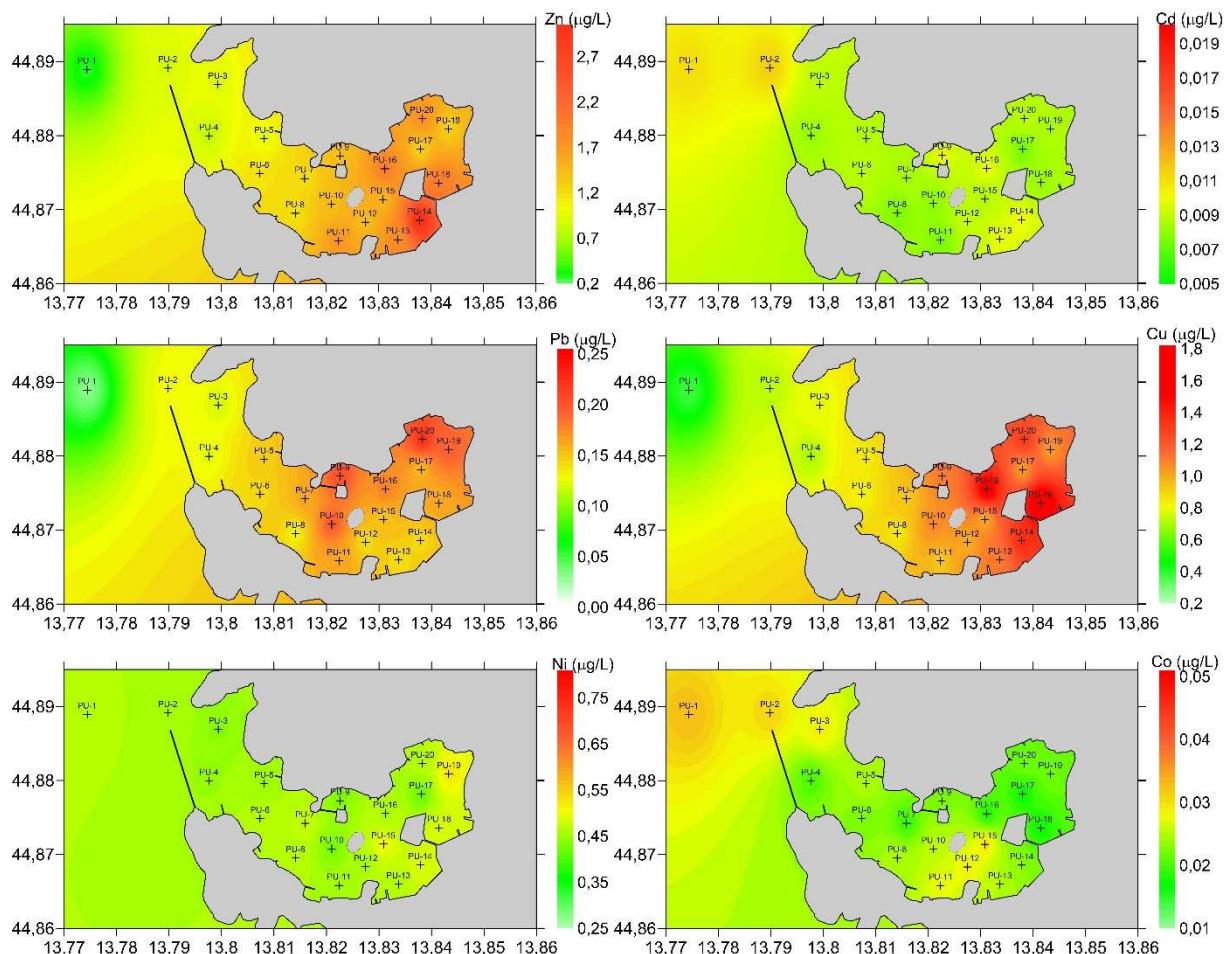
Izuzetak je bilo područje na sjevernoj strani zaljeva (postaja PU-20; srpanj 2021.), gdje je primijećen podvodni izvor slatke vode što se odrazilo na vrijednost praktičnog saliniteta (ispod 35). Značajno povećanje mutnoće primijećeno je na dubinama bliže sedimentu, pogotovo u topljem dijelu godine što bi moglo ukazivati na nakupljanje čestica u pridnenom sloju. Povećanja mutnoće su posebno vidljiva uz dno (gotovo horizontalni signali na Slikama 19 i 22), iznose do najviše 3 FNU, a mogu biti i posljedica doticanja dna sondom za mjerjenje fizičko-kemijskih parametara.

Izmjerene koncentracije OOU su unutar očekivanog raspona s obzirom na postaje uzorkovanja i godišnja doba. Tijekom topnjeg dijela godine (srpanj 2021. i lipanj 2022.) koncentracije OOU bile su od 0,95 mgC / L do ~2,15 mgC / L, dok su u hladnijim mjesecima (studeni 2021. i ožujak 2022.) vrijednosti bile nešto niže (od 0,52 mgC / L do 1,6 mgC / L). Koncentracije u površinskoj vodi bile su nešto više (do 20 %) u odnosu na pridneni sloj morske vode. Radi se o rasponima koji su u potpunosti u skladu rezultatima ranijih istraživanja Sjevernog Jadrana (~0,8 mgC / L do 3,0 mgC / L).³⁵⁴ Iako je uočen blagi rast koncentracija OOU od referentne točke (PU-1) prema postajama u unutarnjem dijelu zaljeva, nije zapaženo nikakvo specifično povećanje, što ukazuje na prvenstveno prirodno podrijetlo organske tvari, bez određenog značajnog i trajnog antropogenog utjecaja unutar zaljeva.

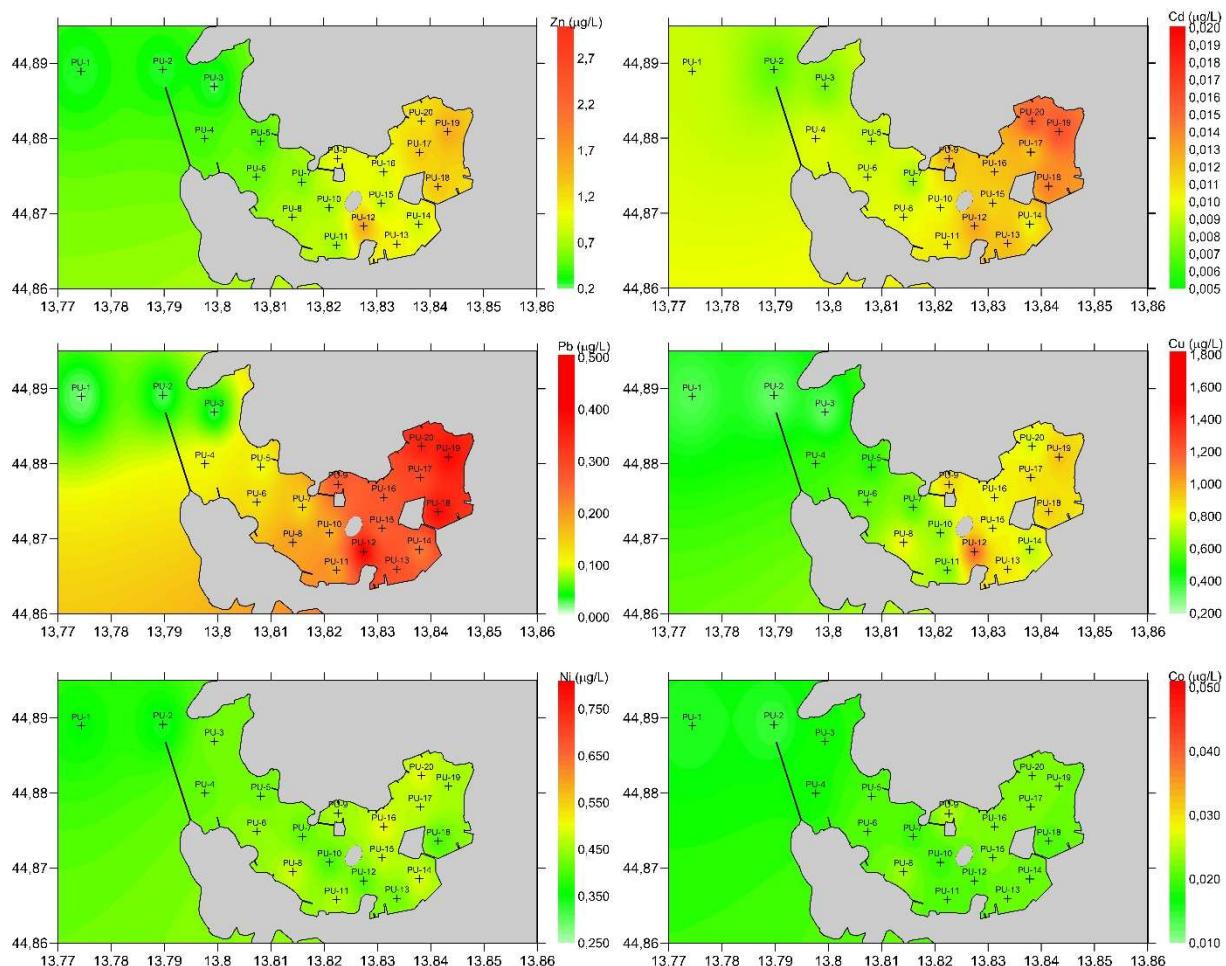
4.1.2. Prostorno-vremenska raspodjela metala u tragovima

Prostorno-vremenska raspodjela ukupnih koncentracija i koncentracija u otopljenoj frakciji Zn, Cd, Pb, Cu, Ni i Co utvrđena je nizom voltametrijskih analiza uzoraka iz četiri sezonska uzorkovanja. Mjerjenja su provedena kako je opisano ranije. Uočena je jednaka prostorna raspodjela za sve kampanje uzorkovanja, iako s različitim intenzitetom (različiti faktori obogaćivanja – EF_v), kako u površinskom, tako i u pridrenom sloju morske vode (Slike od 23 do 26).

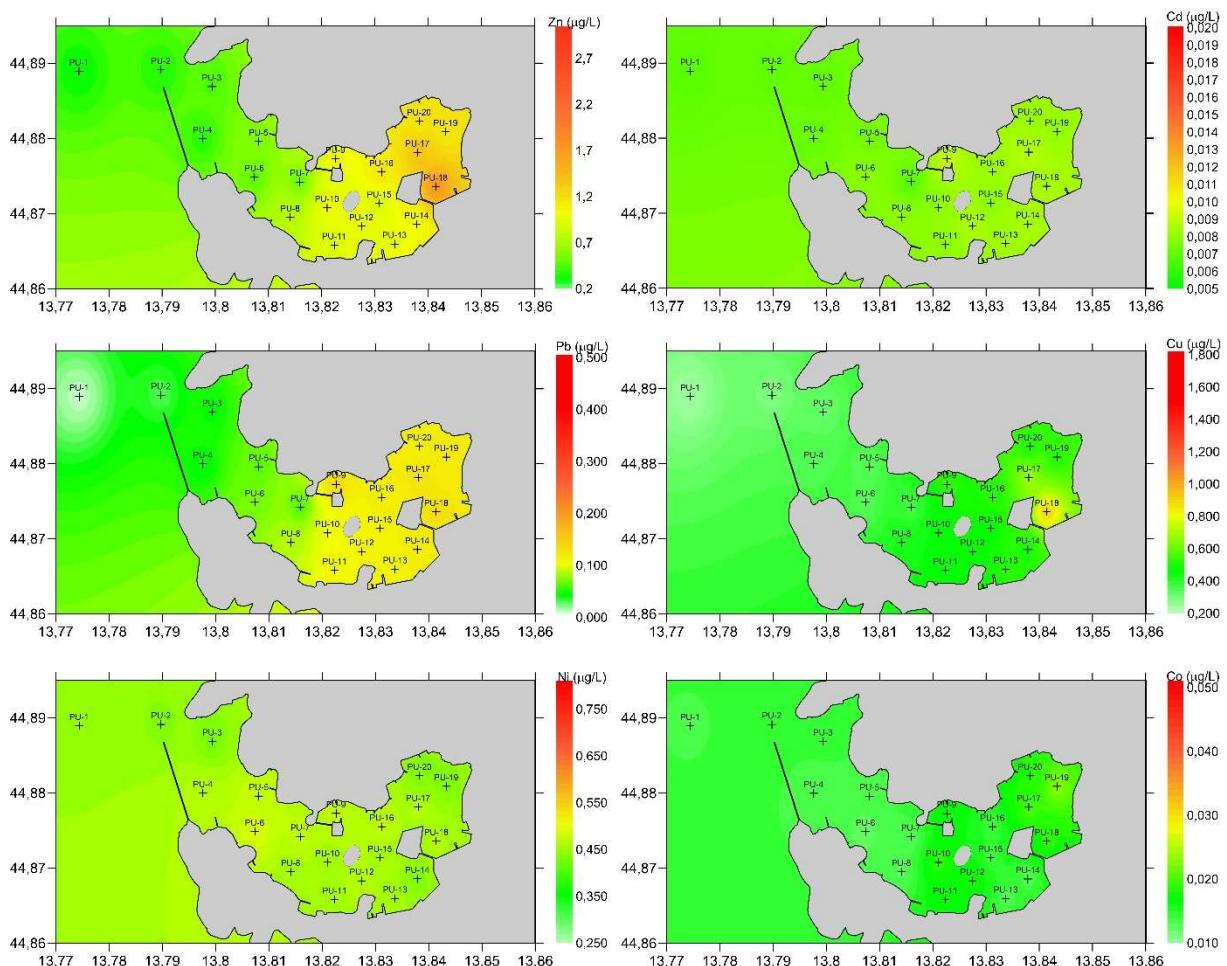
Najniže koncentracije Zn, Pb i Cu izmjerene su na referentnoj postaji (PU-1), dok su najviše koncentracije ovih metala redovito nađene na postajama u unutarnjem dijelu zaljeva (PU-9 do PU-20) koje su smještene u blizini njihovih potencijalnih izvora (brodogradilište, dvije marine, putnički terminal i bivši ispust otpadnih voda), što ukazuje na antropogen unos ovih metala. Koncentracije svih metala na referentnoj postaji, kao i na postaji PU-2, bile su relativno konstantne kroz sve kampanje uzorkovanja (sva godišnja doba), dok su sezonske razlike u koncentracijama uočene na ranije spomenutim mjestima unutar zaljeva.



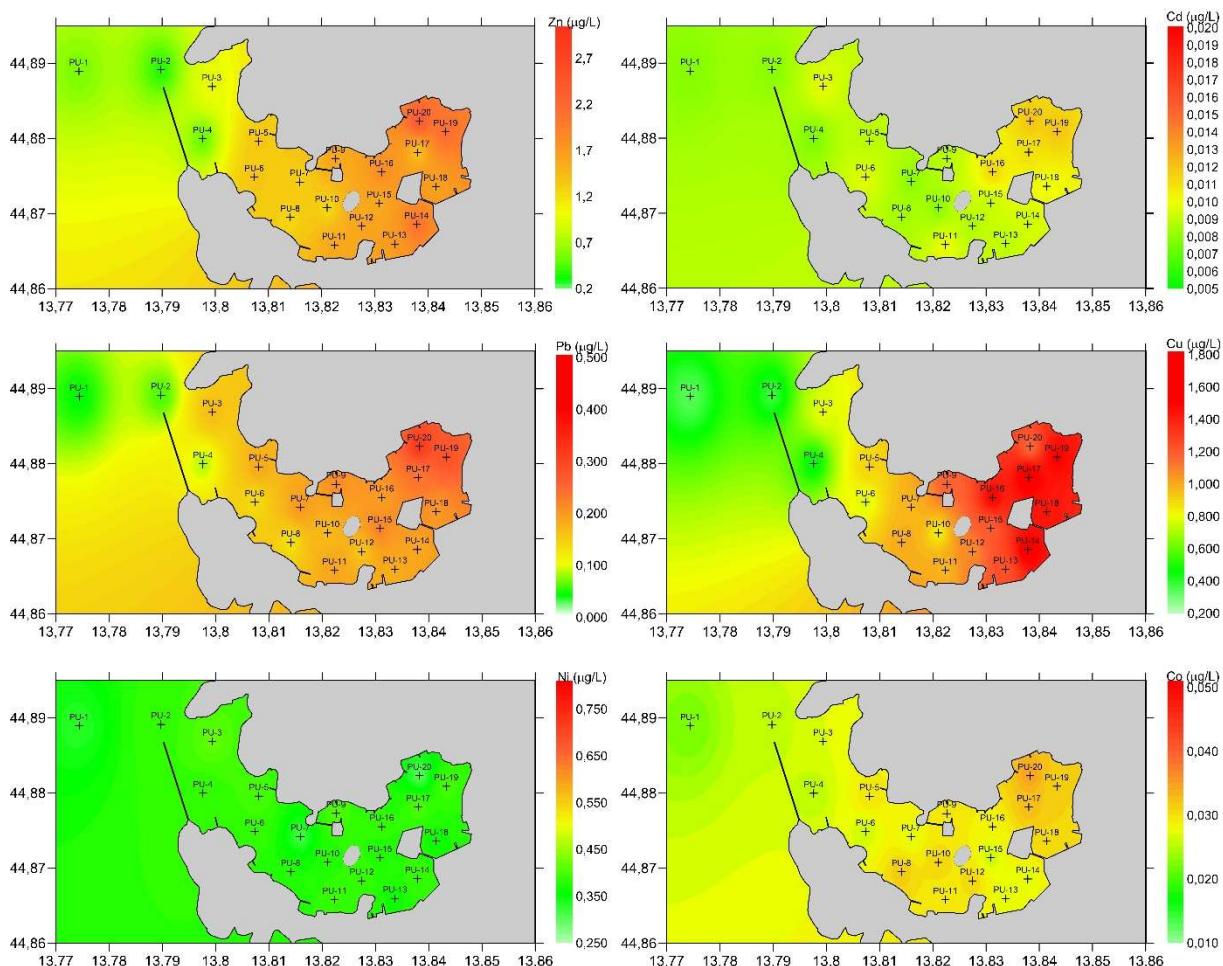
Slika 23. Prostorna raspodjela metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva (površinski sloj, otopljena frakcija), srpanj 2021. godine



Slika 24. Prostorna raspodjela metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva (površinski sloj, otopljeni frakcija), studeni 2021. godine

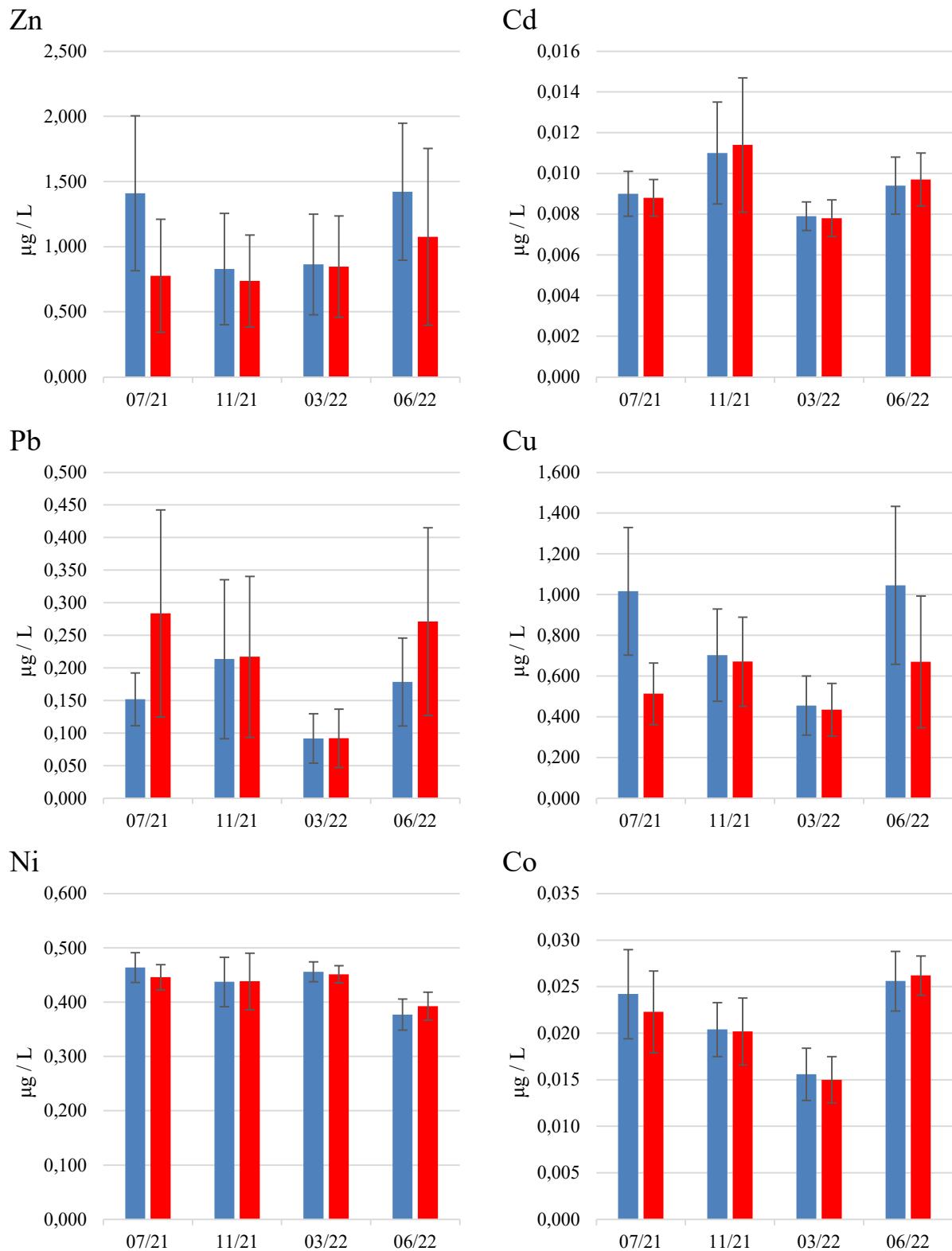


Slika 25. Prostorna raspodjela metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva (površinski sloj, otopljenja frakcija), ožujak 2022. godine



Slika 26. Prostorna raspodjela metala u tragovima u morskoj vodi Pulskog zaljeva (površinski sloj, otopljena frakcija), lipanj 2022. godine

Progresivno, gotovo linearno smanjenje koncentracija Zn, Pb i Cu od onečišćenog područja unutar zaljeva prema referentnom mjestu može se objasniti razrjeđenjem (Slike 23 do 26). Iako su koncentracije Cd, Ni i Co među kampanjama varirale, prostorne raspodjele njihovih koncentracija bile su prilično ujednačene na području cijelog zaljeva. U prilog tezi o odsutnosti antropogenog utjecaja govore i relativno niske standardne devijacije koncentracija Cd, Ni i Co, što nije slučaj s Zn, Pb i Cu (Slika 27).



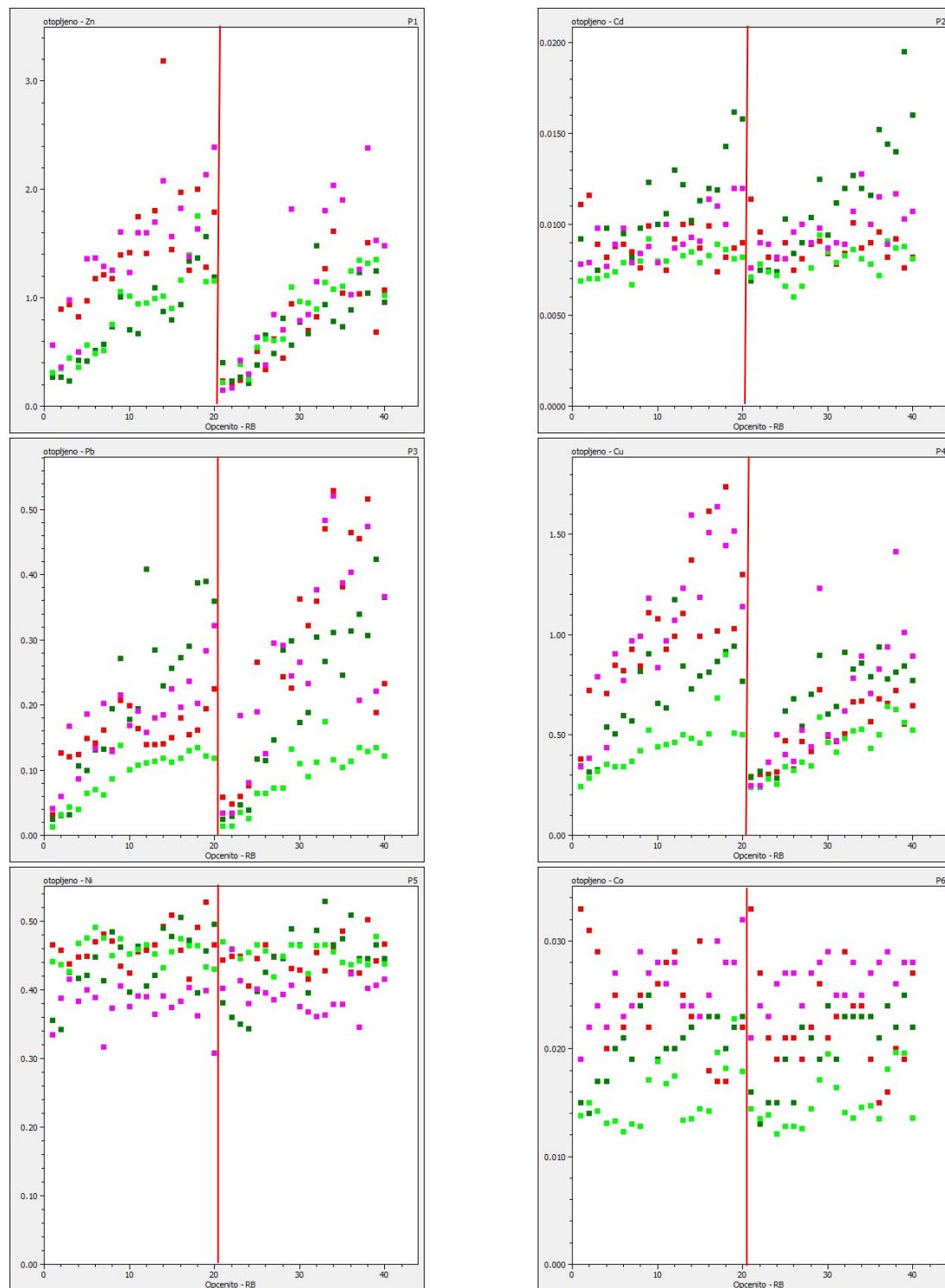
Slika 27. Prosječne koncentracije metala u površinskom (plavo) i pridnenom sloju (crveno) sa standardnim odstupanjima, izmjerene tijekom četiri kampanje uzorkovanja na mjestima uzorkovanja PU-1 do PU-20 (koncentracije u otopljenoj frakciji)

Odstupanja od ujednačene raspodjele zamijećena su analizom uzoraka uzetih tijekom kampanje u studenom 2021. godine: zabilježene su više koncentracije Cd u zaljevu (do tri puta više u odnosu na referentnu postaju), dok je povećanje za Ni i Co iznosilo do 40 % (kako u površinskim, tako i u pridnenim uzorcima morske vode). Nije nađeno objašnjenje za ovo kretanje vrijednosti koncentracijâ između referentne postaje i postajâ unutar zaljeva iako uzrok može biti nešto izraženije miješanje vodene mase na referentnoj postaji. U prilog tome idu niže koncentracije Ni i Cd izmjerene na PU-1 u studenom 2021. godine od onih iz ostalih kampanja uzorkovanja (Slike 28a i 28b).

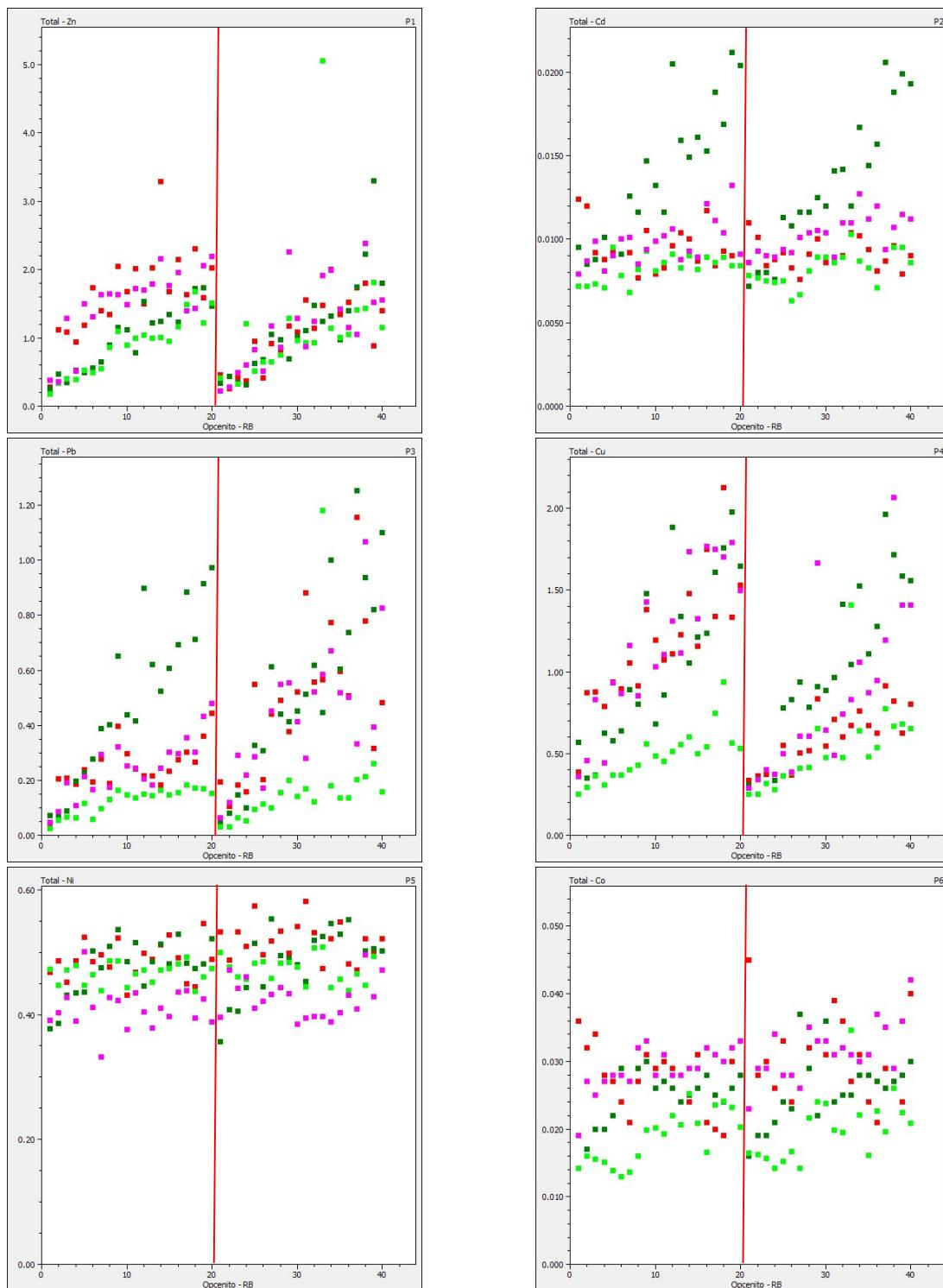
Radi lakšeg uvida u raspone, ali i međusobne usporedbe koncentracija mjereneh metala za sve sezone, umjesto iznimno velikog tabličnog prikaza, sve su izmjerene vrijednosti prikazane grafički (Slike 28a i 28b).

Slika 27 pokazuje da su prosječne koncentracije Zn i Cu u površinskom sloju bile niže u hladnjem dijelu godine u usporedbi s uzorcima površinskog sloja iz proljetnog i ljetnog uzorkovanja. Te su razlike manje izražene u pridrenom sloju morske vode što ukazuje na ograničeni vertikalni transport Zn i Cu. Najniže otopljene koncentracije svih metala (osim Ni) pronađene su u zimskoj kampanji (ožujak 2022.) i to u oba sloja što bi se također moglo pripisati većoj izmjeni vodene mase tijekom zimskog razdoblja praćenoj dobrim vertikalnim miješanjem i manjim antropogenim unosima uslijed smanjenog intenziteta aktivnosti unutar luke.

Očita je razlika i između površinskog i pridnenog sloja morske vode za Zn i Cu za dvije kampanje u topljem dijelu godine (srpanj 2021. i lipanj 2022.). Naime, Cu i Zn se ispiru iz boja protiv obraštanja (engl. *antifouling*) koje se koriste kao biocid na plovilima, dok je Zn osnovno sredstvo antikorozivne, katodne zaštite u obliku žrtvovanih anoda pa su njihove koncentracije više u površinskom sloju.³⁵⁵⁻³⁵⁸ Suprotno ponašanje uočeno je za Pb, s nižim koncentracijama na površini nego u pridrenom sloju morske vode. Više koncentracije otopljenog Pb mogu se objasniti progresivnom akumulacijom Pb, najvjerojatnije zbog duljeg vremena zadržavanja vodene mase u toplijim razdobljima u kombinaciji s unosom Pb iz sedimenta.³²⁹ Isto ponašanje primijećeno je i za ukupne koncentracije Pb (koncentracije u nefiltriranim uzorcima) što isključuje utjecaj čvrstih čestica na vertikalnu raspodjelu i transport Pb. Analize sedimenta pokazale su relativno visoke ukupne koncentracije Pb u površinskom sloju (od 12,9 mg / kg suhe tvari do 327 mg / kg suhe tvari, poglavlje 4.3.2) te udio bioraspoložive (izmjenjive) frakcije od 3,3 % do 11,8 % (poglavlje 4.3.5).



Slika 28a. Grafički prikaz koncentracija analiziranih metala u uzorcima iz svih kampanja uzorkovanja: koncentracije u otopljenoj frakciji; vrijednosti 1-20 na x-osi predstavljaju koncentracije u površinskom sloju (lijevo od crvene linije), a 21-40 u pridnenom sloju (desno od linije); crveno su označene koncentracije u uzorcima iz srpnja 2021., tamnozeleno iz studenog 2021., svjetlozeleno iz ožujka 2022., a ljubičasto iz lipnja 2022. godine



Slika 28b. Grafički prikaz koncentracija analiziranih metala u uzorcima iz svih kampanja uzorkovanja: ukupne koncentracije; vrijednosti 1-20 na x-osi predstavljaju koncentracije u površinskom sloju (lijevo od crvene linije), a 21-40 u pridnenom sloju (desno od crvene linije); crveno su označene koncentracije u uzorcima iz srpnja 2021., tamnozeleno iz studenog 2021., svjetlozeleno iz ožujka 2022., a ljubičasto iz lipnja 2022. godine

Dobivene vrijednosti koncentracija usporedive su s literaturnim podacima (Tablica 19). Izmjerene maksimalne koncentracije Zn i Cu bile su više u Šibenskom zaljevu u kojem postoje slični potencijalni izvori metala, dok je u Pulskom zaljevu izmjerena viša koncentracija Pb.⁹⁸ U Šibenskom zaljevu su primjećene i slične sezonske varijabilnosti koncentracija Zn i Cu koje se mogu pripisati nautičkoj aktivnosti, kao i vertikalna raspodjela Pb.^{89,98} Koncentracije Cd, Ni i Co vrlo su slične koncentracijama na otvorenom moru, što ukazuje na izostanak antropogenih izvora ovih metala na obje lokacije.^{98,359,360}

Tablica 19. Usporedba koncentracijâ metala u otopljenoj frakciji iz ovog istraživanja (sva sezonska uzorkovanja) s drugim relevantnim studijama. Sve su vrijednosti u µg / L

LOKACIJA		Pulski zaljev			Šibenski zaljev ⁹⁸	Otvoreno more Sjevernog Jadrana ^{359,360}			Delta rijeke Pad ³⁶¹
		PU-1	površinski sloj	pridneni sloj					
Zn	min	0,147	0,235	0,147	0,464	0,327	0,392	0,203	-
	max	0,565	3,183	2,382	6,604	7,585	14,647	2,256	-
Cd	min	0,007	0,007	0,006	0,006	0,004	0,003	-	0,008
	max	0,011	0,016	0,020	0,023	0,020	0,018	-	0,028
Pb	min	0,012	0,012	0,014	0,008	0,010	0,010	-	0,019
	max	0,059	0,408	0,529	0,230	0,131	0,259	-	0,083
Cu	min	0,240	0,243	0,240	0,408	0,191	0,191	0,131	0,127
	max	0,380	1,736	1,413	4,365	1,080	1,080	0,726	0,699
Ni	min	0,334	0,308	0,343	0,300	0,235	0,235	-	-
	max	0,470	0,528	0,529	0,628	0,646	1,115	-	-
Co	min	0,014	0,012	0,012	0,015	0,012	0,006	0,004	-
	max	0,033	0,033	0,033	0,030	0,071	0,041	0,097	-

Neočekivano visoke koncentracije prijavljene su za otvoreno more Sjevernog Jadrana u istraživanju Penezić i sur. na postajama 107 i 108, gdje su pronađene više koncentracije u odnosu referentnu postaju PU-1 za svih šest analiziranih metala.³⁵⁹ Neke koncentracije iz tog

istraživanja više su i od maksimalnih koncentracija nađenih u Pulskom zaljevu. Vrijednosti koncentracija s PU-1 su u skladu s rezultatima drugih istraživanja Sjevernog Jadrana.^{360,361} U usporedbi s podacima iz nekih visokoindustrijaliziranih europskih gradova kao što su francuski Toulon ili španjolski Vigo na atlantskoj obali, koncentracije ispitivanih elemenata u Pulskom zaljevu znatno su niže.^{362,363}

Prosječni faktori obogaćivanja (EF_v) za koncentracije metala u otopljenoj frakciji i ukupne koncentracije metala izračunati su prema izrazu 14 (poglavlje 3.9) i prikazani u Tablici 21. Intervali vrijednosti EF_v su veoma široki te bi pojedinačne maksimalne i minimalne vrijednosti mogle pružiti nepouzdaru sliku intenziteta onečišćenja zbog čega su u tablici prikazane srednje vrijednosti sa standardnim devijacijama.

Prosječne vrijednosti EF_v u otopljenoj frakciji su bile od 1,0 do 9,0, dok su te vrijednosti kod ukupnih koncentracija između 1,1 i 10. Niske vrijednosti faktora EF_v (niže od 1,5) i relativno niske standardne devijacije, odnosno relativne standardne devijacije (RSD) koje su u rasponu od 10 % do 50 % za Cd, Ni i Co za obje uzorkovane dubine, ponovno ukazuju na relativno ujednačenu sezonsku i prostornu raspodjelu njihovih koncentracija. Najviši prosječni faktor EF_v izračunat je za Pb. Visoke standardne devijacije, odnosno vrijednosti RSD u intervalu od 61 % do 90 % ukazuju na prilično visoku sezonsku varijabilnost koncentracija Pb u onečišćenom području (isto je vidljivo i prema rasponima standardnih devijacija na Slici 27).

Tablica 21. Srednje vrijednosti faktora obogaćivanja u uzorcima morske vode (EF_v) sa standardnim devijacijama (u zagradama)

FRAKCIJA		otopljeni		ukupni	
SLOJ		površinski	pridneni	površinski	pridneni
METAL	Zn	4,35 (2,01)	5,74 (3,05)	6,11 (2,19)	5,07 (2,19)
	Cd	1,20 (0,402)	1,29 (0,465)	1,30 (0,597)	1,39 (0,568)
	Pb	8,49 (5,17)	8,99 (6,06)	10,0 (7,71)	7,71 (6,89)
	Cu	3,22 (1,29)	2,84 (0,881)	3,65 (1,76)	3,79 (1,68)
	Ni	1,09 (0,224)	1,02 (0,129)	1,08 (0,161)	1,06 (0,156)
	Co	1,11 (0,540)	1,10 (0,459)	1,19 (0,561)	1,20 (0,561)

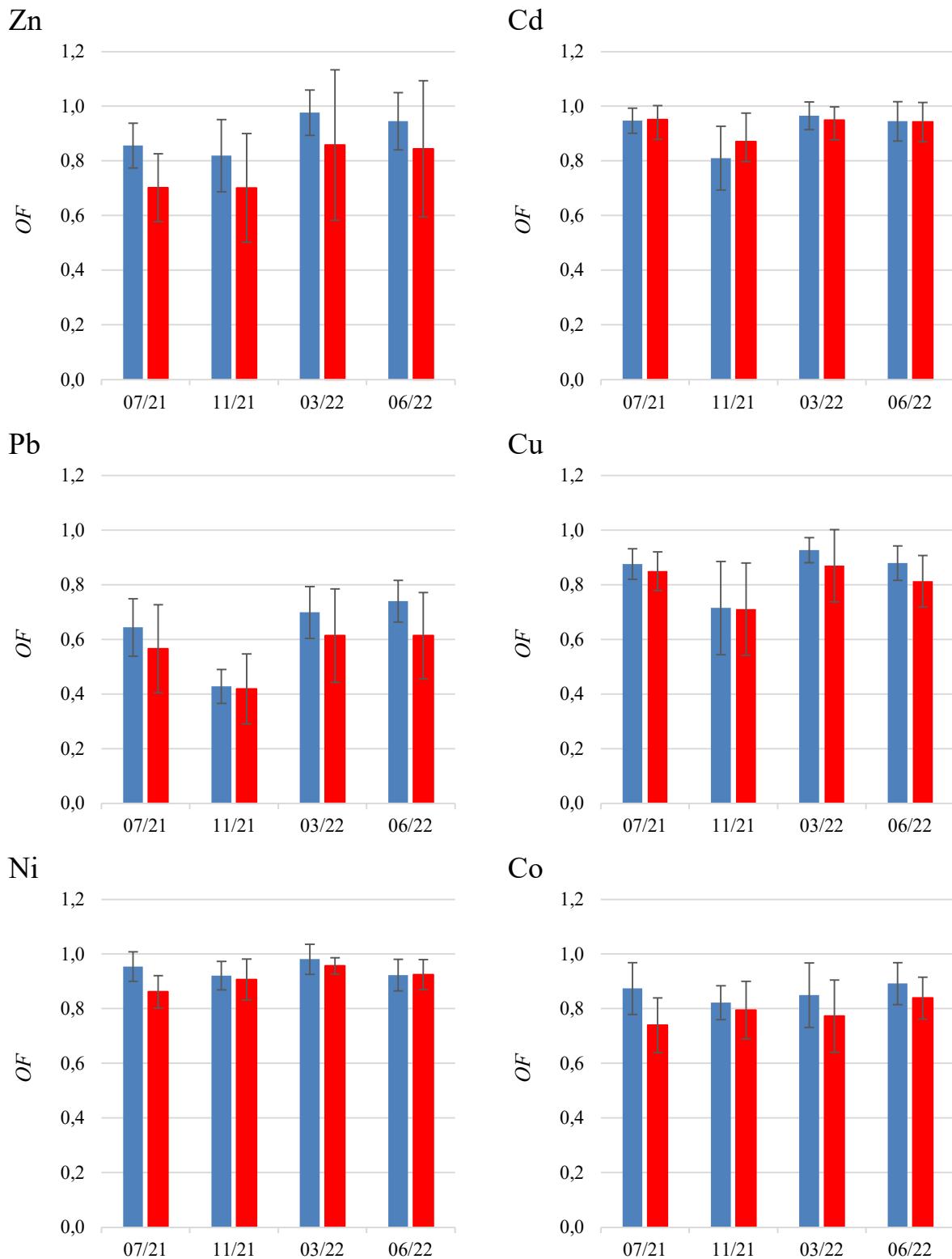
Opadajući redoslijed vrijednosti EF_v , $Pb > Zn > Cu > Cd \approx Ni \approx Co$ pokazuje važnost analiziranih metala kad se radi o antropogenom utjecaju na zaljev koji je pod utjecajem industrije. Ispitivanje prostorne i vremenske raspodjele koncentracije Pb, Zn i Cu nije pružilo konkretan dokaz o specifičnim točkastim izvorima ovih metala. Vjerojatno se radi o difuznom unosu ovih onečišćivila, barem u odnosu na lokacije na kojima su uzeti uzorci. Uz to, razrjeđivanje je veoma brzo što sprječava određivanje točnih lokacija.

4.1.3. Frakcionacija metala u tragovima u morskoj vodi

Na temelju dobivenih ukupnih koncentracija te koncentracija u otopljenoj fazi metala u uzorcima morske vode, izračunat je udio otopljene frakcije (izraz 16, poglavlje 3.9). Prosječne vrijednosti dobivenih udjela sa standardnim devijacijama prikazane su na Slici 29.

Rezultati pokazuju da su u svim analiziranim uzorcima metali uglavnom bili prisutni u otopljenoj frakciji. Bioraspoloživa frakcija odabranih metala u morskoj vodi obrađena je u zasebnom poglavlju. Najveći udio otopljene frakcije utvrđen je za Cd i Ni (srednja vrijednost svih izračunatih udjela iznosi 92 % odnosno 93 %) zatim za Cu, Co i Zn (srednje vrijednosti svih udjela su između 82 % i 84 %), dok je najmanji udio otopljene frakcije nađen za Pb (srednja vrijednost svih udjela iznosi 59 %). Ove vrijednosti slažu se s rezultatima istraživanja provedenih u moru Sjevernog Jadrana i na ušću rijeke Krke, sustavima karakterističnim po niskim koncentracijama suspendiranih čestica.^{88,102,360} Nizak udio otopljene frakcije karakterističan je za Pb, element s visokim afinitetom k vezanju na čvrste čestice, posebice na Fe i Mn oksihidrokside.^{98,361,364}

Nešto niži udio otopljene frakcije pronađen je za sve elemente u pridnenom sloju morske vode u odnosu na površinski sloj, što ukazuje na akumulaciju čestica pri dnu vodenog stupca. Najniži udio otopljene frakcije pronađen je u uzorcima uzetim u studenom 2021. godine. Unatoč mirnom vremenu na dan uzorkovanja, u danima koji su prethodili uzorkovanju zabilježen je jak vjetar uz značajnu valovitost mora što je vjerojatno uzrokovalo dodatni unos čestica s kopna vjetrom, odnosno okolne industrijske zone. Resuspenzija sedimenta na manjim dubinama se također ne može isključiti.



Slika 29. Prikaz prosječnih vrijednosti udjela otopljene frakcije (*OF*) u uzorcima morske vode u površinskom (plavo) i pridnenom sloju (crveno) sa standardnim odstupanjima, tijekom četiri kampanje uzorkovanja na mjestima uzorkovanja PU-1 do PU-20

4.1.4. Prekoncentracija na kelirajućoj smoli Nobias Chelate-PA1

Uzorci morske vode su analizirani spektrometrom masâ uz induktivno spregnutu plazmu PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena) nakon prekoncentracije smolom Nobias Chelate-PA1. Radi se o kompozitnim uzorcima, odnosno otopljenoj frakciji metala. Kod mjerenja odabralih metala u tragovima odabrani su sljedeći izotopi: ^{114}Cd , ^{59}Co , ^{65}Cu , ^{60}Ni , ^{66}Zn i zbroj izotopa ^{206}Pb , ^{207}Pb i ^{208}Pb . Izotop ^{114}Cd određivan je uz reakcijski plin H₂ radi moguće interferencije ^{114}Sn .

Uz navedene elemente određivani su Y i lantanoidi, a razrada metode opisana je u sljedećem potpoglavlju. Instrumentni parametri za sve elemente čije su koncentracije određivane prikazani su u nastavku (Tablica 23).

4.1.4.1 Razrada metode određivanja lantanoida, Y i elemenata u tragovima

Instrumentna metoda određivanja lantanoida i Y uz elemente u tragovima razvijena je na instrumentu PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena). Parametri instrumenta ugođeni su prvo automatski (funkcija dostupna u programu instrumenta) prema omjeru jačine signala jednostrukog nabijenih iona željenih masâ i signala nastalih oksida, signalima dvostrukog nabijenih iona te dvoatomnih iona nakon čega se provodilo fino ugađanje parametar po parametar. Odabiri plinova i njihovih protoka, udaljenosti plazmenika od konusa, snage RF generatora te parametara integracije i uzorkovanja rađeni su ručno. Za optimizaciju su se koristili kalibracijski standardi (Analytika i CPACheM), otopina za optimizaciju ICP-MS sustava (Reagecon) i referentni material SRLS-6 (NRCC). Korišteni su stakleni, koncentrični raspršivač (*MicroMist*, 0,4 mL / min), Scottova komora za raspršivanje (3 °C), plazmenik Fasselovog tipa te nikleni konusi uzorka i probirni konus. Kao način pretrage koristio se *Peak hopping* (mjerenje samo na zadanim omjerima m / z). Informacije o mogućim interferencijama uzete su iz literature.²³⁶ Izobarične interferencije eliminirane su matematički (mogućnost u upravljačkom programu instrumenta), dok je za eliminaciju poliatomnih interferencija (mahom oksidi i hidroksidi barija i LREE) korišten He kao kolizijski plin. Kao interni standard korišten je ^{115}In koncentracije 20 µg / L, a tijekom analize su njegova iskorištenja bila u rasponu od 80 % do 100 %.

U Tablici 22 prikazani su svi izotopi mjerjenih elemenata rijetkih zemalja za koje su dobivena iskorištenja u intervalu od 80 % do 120 %. Navedene granice detekcije su instrumentne, odnosno ne uključuju proces prekoncentracije, a izračunate su kao trostrukе standardne devijacije signala slijepih proba.

Tablica 22. Parametri odabira izotopa pojedinog elementa rijetkih zemalja: mogući izotopi pojedinog elementa, njihovi maseni brojevi (A) i udjeli u prirodi (w), neke od mogućih interferencija, odabrani plin za čeliju CRC (način rada) te postignuta iskorištenja materijala SLRS-6 (ε) i granice detekcije (LOD)^{236,365}

ELEMENT	A	w / %	MOGUĆE INTERFERENCIJE	NAČIN RADA	$\varepsilon / \%$	LOD / (ng / L)
Y	89	100	$^{57}\text{Fe}^{32}\text{S}^+$, $^{54}\text{Fe}^{35}\text{Cl}^+$	-	105,0	0,283
La	139	99,9	$^{138}\text{Ce}^+$, $^{138}\text{Ba}^+$, $^{138}\text{Ba}^{1\text{H}}^+$, $^{123}\text{Sn}^{16}\text{O}^+$	-	106,4	0,309
Ce	140	88,5	$^{138}\text{La}^+$, $^{138}\text{Ba}^+$, $^{124}\text{Te}^{16}\text{O}^+$	-	102,7	0,359
Pr	141	100	$^{125}\text{Te}^{16}\text{O}^+$, $^{127}\text{I}^{14}\text{N}^+$	-	103,7	0,314
Nd	146	17,2	$^{130}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$	-	104,2	0,544
Sm	147	15,0	$^{130}\text{Ba}^{16}\text{O}^{1\text{H}}^+$	He	102,0	0,748
	148	11,3	$^{148}\text{Nd}^+$, $^{132}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$	He	104,2	0,442
	152	26,7	$^{152}\text{Gd}^+$, $^{136}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^{1\text{H}}^+$	He	125,7	0,566
Eu	151	47,8	$^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{134}\text{Ba}^{16}\text{O}^{1\text{H}}^+$	He	91,9	1,00
	153	52,2	$^{137}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ba}^{16}\text{O}^{1\text{H}}^+$	He	112,1	-
Gd	156	20,5	$^{156}\text{Dy}^+$, $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$	He	96,5	-
	157	15,7	$^{141}\text{Pr}^{16}\text{O}^+$	He	100,4	-
	158	24,8	$^{158}\text{Dy}^+$, $^{142}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{142}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$	He	101,9	-
	160	21,9	$^{160}\text{Dy}^+$, $^{144}\text{Nd}^{16}\text{O}$	He	93,3	0,660

ELEMENT	A	w / %	MOGUĆE INTERFERENCIJE	NAČIN RADA	ε / %	LOD / (ng / L)
Tb	159	100	$^{143}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$	He	100,0	0,125
Dy	161	18,9	$^{145}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$	He	104,3	0,566
	162	25,5	$^{162}\text{Er}^+, ^{146}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$	He	98,9	0,499
	163	24,9	$^{146}\text{Nd}^{16}\text{O}^1\text{H}^+, ^{147}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$	He	106,0	-
Ho	165	100	$^{148}\text{Nd}^{16}\text{O}^+, ^{149}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$	He	93,0	0,125
Er	166	33,6	$^{150}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$	He	101,6	-
	168	26,8	$^{168}\text{Yb}^+, ^{152}\text{Sm}^{16}\text{O}^+, ^{152}\text{Gd}^{16}\text{O}^+$	He	122,8	0,566
Tm	169	100	$^{153}\text{Eu}^{16}\text{O}^+, ^{132}\text{Ba}^{37}\text{Cl}^+, ^{134}\text{Ba}^{35}\text{Cl}^+ ^{152}\text{Sm}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$	He	89,2	-
Yb	171	14,3	$^{155}\text{Gd}^{16}\text{O}^+, ^{136}\text{Ba}^{35}\text{Cl}^+$	He	52,8	-
	172	21,9	$^{156}\text{Gd}^{16}\text{O}^+, ^{156}\text{Dy}^{16}\text{O}^+, ^{137}\text{Ba}^{35}\text{Cl}^+, ^{132}\text{Ba}^{40}\text{Ar}^+$	He	83,8	-
	173	16,1	$^{157}\text{Gd}^{16}\text{O}^+, ^{136}\text{Ba}^{37}\text{Cl}^+, ^{138}\text{Ba}^{35}\text{Cl}^+$	He	126,4	0,849
	174	31,8	$^{174}\text{Hf}^+, ^{158}\text{Gd}^{16}\text{O}^+, ^{137}\text{Ba}^{37}\text{Cl}^+, ^{134}\text{Ba}^{40}\text{Ar}^+$	He	104,7	-
Lu	175	97,4	$^{159}\text{Tb}^{16}\text{O}^+, ^{158}\text{Gd}^{16}\text{O}^1\text{H}^+, ^{138}\text{Ba}^{37}\text{Cl}^+, ^{135}\text{Ba}^{40}\text{Ar}^+$	He	102,6	0,189

Kod nekih izotopa nije bilo analitičkog signala slijepo probe pa granice detekcije nije bilo moguće izračunati. Koncentracije elemenata rijetkih zemalja u SLRS-6 kreću se od 1,85 ng / L (Tm) do 299,6 ng / L (Ce). Gdje je to bilo moguće, tijekom razrade metode provodila su se ispitivanja na više izotopa istog elementa u kombinaciji s različitim vrijednostima instrumentnih parametara (Tablica 23), a za daljnja mjerena odabrani su izotopi na kojima su dobivene najbolje vrijednosti iskorištenja.

Tablica 23. Instrumentni parametri razvijene metode za određivanje metala u tragovima i elemenata rijetkih zemalja u morskoj vodi nakon pretkoncentracije

NAČIN RADA (NAZIV METODE)	Ar (NG)	Ar+H ₂ (H ₂ -90)	Ar+He (He100)	Ar+He (He120)	Ar+He (He100/2)					
Protoci Ar / (L / min)										
za plazmu	9		7,5							
pomoći plin	1,8	1,5		1,8						
kroz raspršivač	1	1,02		1,05						
Udaljenost plazmenika od konusa / mm	5									
RF snaga / kW	1,25	1,45	1,1	1,45						
Brzina pumpe / rpm	20	15	10							
Trajanje stabilizacije / s	30	20								
Parametri ionske optike / V										
<i>1st Extraction Lens</i>	-68	-42	-23							
<i>2nd Extraction Lens</i>	-418	-163	-160							
<i>3rd Extraction Lens</i>	-474	-237	-200							
<i>Corner Lens</i>	-410	-208	-180							
<i>Mirror Lens Left</i>	82	27	30							
<i>Mirror Lens Right</i>	60	24	30							
<i>Mirror Lens Bottom</i>	45	29	40							
<i>Entrance Lens</i>	2	2	1							
<i>Entrance Plate</i>	-88	-92	-100							
<i>Fringe Bias</i>	-4,3	-4,4	-8							
<i>Pole Bias</i>	0									
Parametri CRC										
<i>Plin</i>	-	H ₂	He							
<i>Protok plina / (mL / min)</i>	0	90	100	120	100					
Vremena integracije / μs										
⁵¹ V, ⁵² Cr, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ⁶⁰ Ni, ⁶⁵ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁸⁹ Y, ¹³⁹ La, ¹⁴⁰ Ce, ¹⁴¹ Pr, ¹⁴⁷ Sm, ²⁰⁶⁺²⁰⁷⁺²⁰⁸ Pb	5000	-	-	-	-					
⁵⁶ Fe, ¹¹⁴ Cd, ¹⁴⁶ Nd, ¹⁵⁶ Gd, ¹⁵⁷ Gd, ¹⁵⁸ Gd, ¹⁷⁴ Yb	-	5000	-	-	-					
¹⁵⁶ Gd, ¹⁵⁷ Gd, ¹⁵⁸ Gd, ¹⁶¹ Dy, ¹⁶² Dy, ¹⁶³ Dy, ¹⁶⁵ Ho, ¹⁶⁶ Er, ¹⁶⁹ Tm, ¹⁷⁴ Yb, ¹⁷⁵ Lu	-	-	30000	-	-					
¹⁵¹ Eu, ¹⁵³ Eu, ¹⁶⁰ Gd, ¹⁶³ Dy, ¹⁶⁵ Ho, ¹⁷² Yb, ¹⁷⁴ Yb	-	-	-	30000	-					
¹⁴⁷ Sm, ¹⁴⁸ Sm, ¹⁵⁹ Tb, ¹⁶⁵ Ho, ¹⁶⁹ Tm	-	-	-	-	30000					
¹¹⁵ In (interni standard)	5000		30000							

4.1.4.2 Koncentracije elemenata u tragovima i elemenata rijetkih zemalja

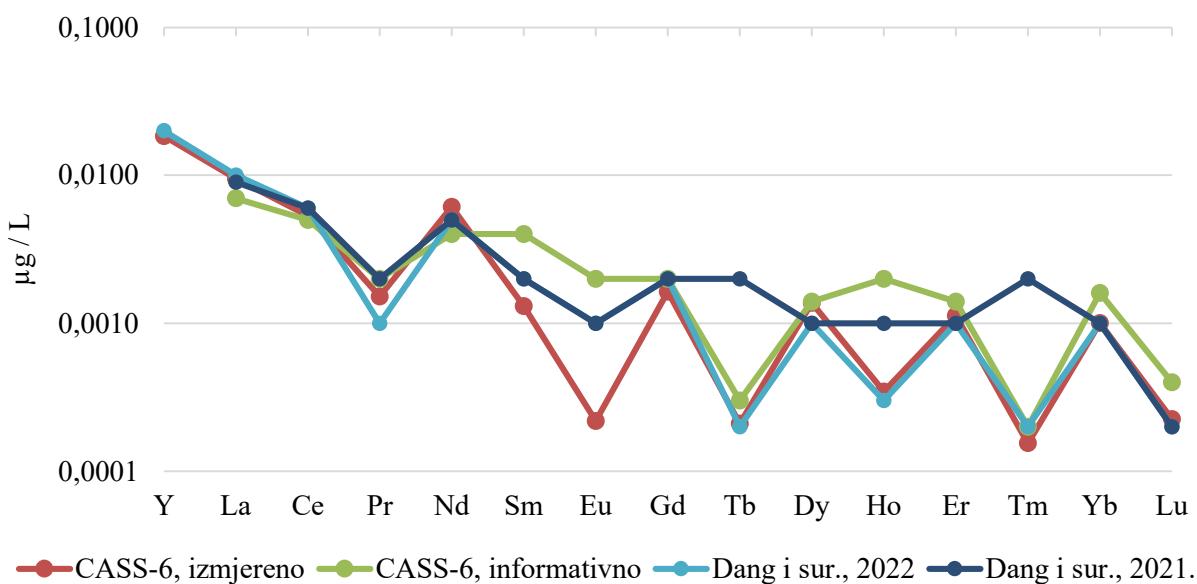
Za pretkoncentraciju uzoraka morske vode korišteni su kompozitni uzorci uzeti za vrijeme izlaganja uzorkivača DGT tijekom kolovoza 2023. godine te su nazvani prema postajama uzorkovanja. Svaki je uzorak analiziran u duplikatu. Analizirani su metali koji su ranije određivani voltametrijski u uzorcima iz sezonskih uzorkovanja (Zn, Cd, Pb, Cu, Ni i Co), lantanoidi i Y, a provedena je i analiza As, Cr, Fe, Mn i V. Tablica 24 prikazuje rezultate odabralih elemenata u tragovima pretkoncentriranih uzoraka morske vode iz Pulskog zaljeva.

Tablica 24. Rezultati analize kompozitnih uzoraka morske vode i uzoraka za kontrolu kvalitete nakon pretkoncentracije (γ_{PK}) na smoli Nobias Chelate-PA1 (dobivene vrijednosti podijeljene s faktorom koncentracije 10). U zagradama su prikazane standardne devijacije mjerjenja, a sivo iskorištenja uzoraka poznatih koncentracija

UZORAK	Cd	Co	Cu	Ni	Pb	Zn
	$\gamma_{PK} / (\mu\text{g} / \text{L})$					
CASS-6	0,0191 (0,000269) 87,8 %	0,0692 (0,00171) 102,9 %	0,547 (0,0172) 103,2 %	0,421 (0,00428) 100,8 %	0,0135 (0,000403) 127,4 %	1,30 (0,0535) 102,3 %
QTM271SW	0,0346 (0,00115) 104,8 %	0,0285 (0,000962) 98,3 %	1,11 (0,0173) 109,0 %	0,206 (0,00380) 97,7 %	0,0479 (0,00316) 101,9 %	6,54 (0,229) 92,8 %
DGT-1	0,00828 (0,00226)	0,0266 (0,00263)	0,463 (0,0111)	0,351 (0,00926)	0,0695 (0,000510)	0,715 (0,00921)
DGT-2	0,00786 (0,00050)	0,0219 (0,00405)	0,745 (0,0184)	0,320 (0,0124)	0,166 (0,00516)	1,32 (0,0285)
DGT-3	0,00896 (0,000985)	0,0241 (0,00242)	0,887 (0,00584)	0,341 (0,00134)	0,152 (0,00185)	1,05 (0,0265)
DGT-4	0,00880 (0,0000150)	0,0448 (0,000585)	1,92 (0,0135)	0,959 (0,00139)	0,218 (0,00118)	3,69 (0,0159)
DGT-5	0,00831 (0,000540)	0,0238 (0,000200)	1,19 (0,0295)	0,362 (0,0120)	0,204 (0,000175)	1,40 (0,0174)
DGT-6	0,00908 (0,00175)	0,0492 (0,00139)	1,26 (0,0249)	0,369 (0,00641)	0,233 (0,00376)	2,33 (0,0235)
DGT-7	0,00939 (0,000170)	0,0579 (0,000400)	1,37 (0,00165)	0,362 (0,00182)	0,206 (0,00416)	1,69 (0,0116)
DGT-8	0,00951 (0,00116)	0,0499 (0,00694)	1,22 (0,0456)	0,504 (0,0141)	0,251 (0,00823)	1,59 (0,0346)
DGT-9	0,0101 (0,000365)	0,0525 (0,0165)	1,11 (0,0613)	0,388 (0,0224)	0,268 (0,0165)	1,66 (0,0918)
DGT-10	0,00971 (0,00239)	0,0481 (0,00712)	2,03 (0,0278)	0,377 (0,00195)	0,255 (0,00450)	3,32 (0,00176)

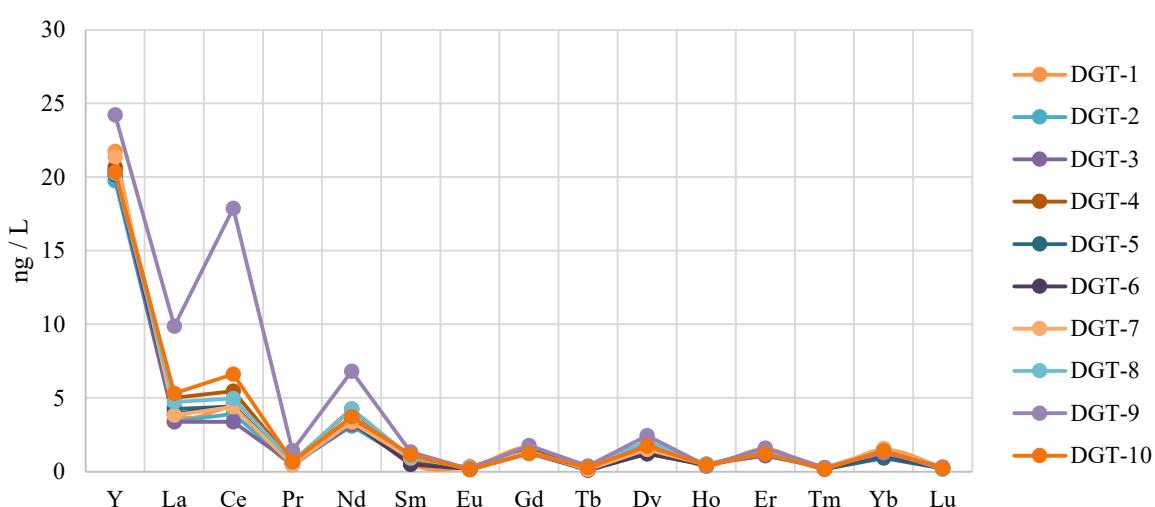
Kontrola kvalitete mjerjenja za odabrane elemente u tragovima provedena je na materijalu CRM CASS-6 (NRCC) i uzorku poznatih koncentracija analiziranih elemenata, QTM 271 SW (Wepal-Quasimeme). Dobivena iskorištenja su u rasponu od 87,8 % (Cd) do 127,4 % (Pb) za CASS-6 i 92,8 % (Zn) do 104,8 % (Cd) za QTM 271 SW. Od ostalih analiziranih elemenata, prihvatljiva iskorištenja su dobivena za Mn i V (95 % do 105 %). Iz rezultata se može zaključiti da As uopće nije eluiran (ili zadržan na smoli), dok je eluacija Cr i Fe bila djelomična (do 40 %). Uobičajenom procedurom analize morske vode metodom ICP-MS koja uključuje razrjeđivanje (najčešće s faktorom razrijeđenja 20) bez pretkoncentracije, u ovoj konfiguraciji instrumentnih parametara ne bi bilo moguće odrediti koncentracije svih elemenata.

Za validaciju metode pretkoncentriranja elemenata rijetkih zemalja korišteni su informativni podaci o njihovim koncentracijama u materijalu CASS-6 (NRCC) i podaci iz literature.^{366,367} Informativni podaci su često u širokom rasponu koncentracija, pogotovo kad se radi o veoma niskim koncentracijama pa se u literaturi nalazi nekoliko primjera veoma različitih vrijednosti iskorištenja s obzirom na referentnu vrijednost. Dobivene koncentracije i informativne vrijednosti u CASS-6 prikazane su na Slici 30.



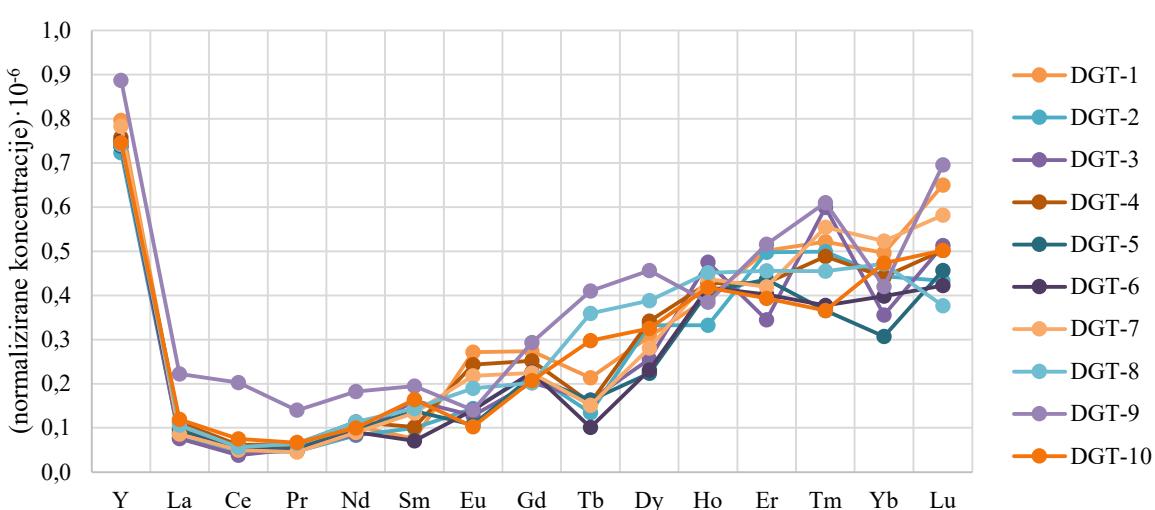
Slika 30. Dobivene koncentracije lantanoida i Y u referentnom materijalu CASS-6 i usporedba s literurnim podacima^{366,367}

Slike 31 i 32 prikazuju dobivene odnosno normalizirane koncentracije elemenata rijetkih zemalja u uzorcima iz Pulskog zaljeva. Koncentracije su normalizirane prema sustavu PAAS iz 2012. godine.³⁸ Iz grafičkih prikaza se jasno vidi kretanje koncentracija prema Oddo-Harkinovom pravilu i rast normaliziranih koncentracija od LREE prema HREE. Također su vidljive više koncentracije Y u odnosu na koncentracije lantanoida što je karakteristično za vodu višeg saliniteta.²³⁸ Sve navedeno ukazuje na dobru metodologiju uzorkovanja, pripreme i analize uzorka morske vode. U Tablici 25 prikazana je usporedba izmjerena koncentracija u Pulskom zaljevu s nekim od dostupnih podataka u literaturi.



Slika 31. Koncentracije lantanoida i Y u uzorcima morske vode iz Pulskog zaljeva.

Prikazane su stvarne koncentracije, bez faktora pretkoncentracije



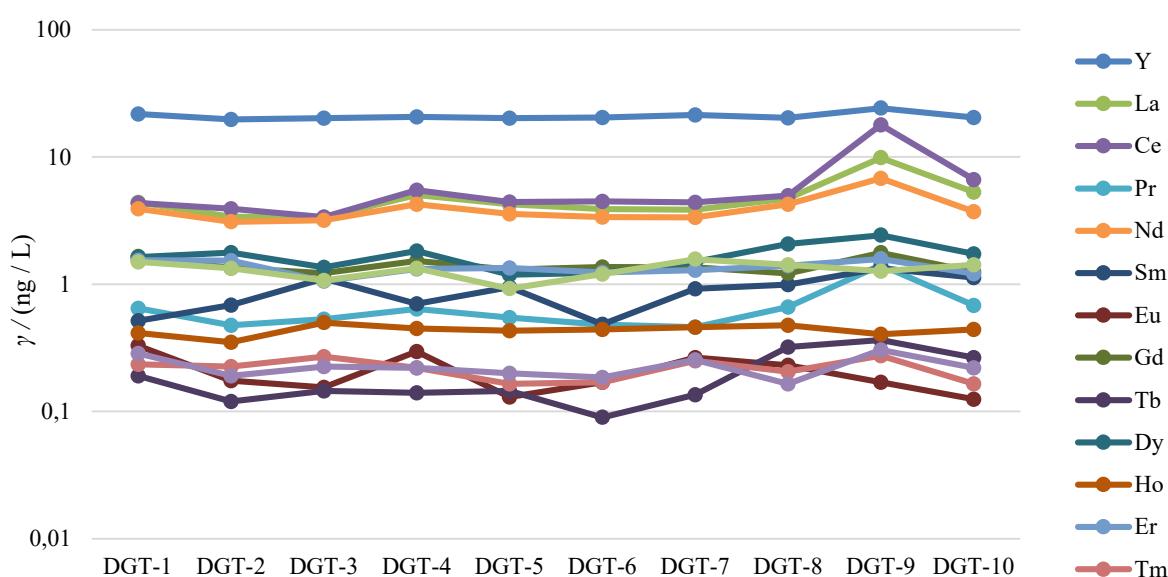
Slika 32. Normalizirane koncentracije lantanoida i Y u uzorcima morske vode iz Pulskog zaljeva prema sustavu PAAS³⁸

Tablica 25. Usporedba izmjerenih koncentracijâ elemenata rijetkih zemalja u Pulskom zaljevu s nekim dostupnim literaturnim podacima. Sve su koncentracije u otopljenoj frakciji

LOKACIJA	Pulski zaljev, ovo istraživanje	Cadiz, Španjolska ⁴⁰	sjeverozapadno Sredozemno more ³⁶⁸	Crno more ³⁶⁹	sjeverni Atlanski ocean ³⁷⁰	Sjeverno more ³⁷¹	
La	ng/L	3,37-9,89	3,6±1	1,81-7,56	-	2,86-3,72	2,86-3,15
Ce		3,38-17,9	3,4±1,9	2,33-9,21	1,92-4,40	2,31-4,61	0,96-1,43
Pr		0,460-1,42	0,72±0,23	-	-	0,61-0,83	0,57-0,64
Nd		3,10-6,81	3,3±1	1,78-6,36	2,81-3,39	2,81-3,58	2,65-2,92
Sm		0,485-1,34	0,72±0,23	0,38-1,15	0,61-0,78	0,69-0,90	0,64-0,69
Eu		0,125-0,330	0,19±0,06	0,08-0,17	0,18-0,23	0,18-0,26	0,18-0,19
Gd		1,22-1,77	1,06±0,29	0,47-1,15	-	1,56-1,96	0,94-1,03
Tb		0,0900-0,365	0,16±0,04	-	-	0,18-0,08	0,15-0,16
Dy		1,19-2,43	1,2±0,3	0,67-0,94	-	1,22-1,46	1,12-1,19
Ho		0,350-0,500	0,32±0,06	-	-	0,32-0,35	0,28-0,30
Er		1,06-1,59	1,0±0,2	0,50-0,74	1,47	1,03-1,25	0,91-0,98
Tm		0,165-0,275	0,14±0,03	-	-	-	0,13-0,14
Yb		0,925-1,575	0,9±0,2	0,44-0,72	1,13-1,42	1,04-1,25	0,83-0,91
Lu		0,165-0,305	0,14±0,03	-	0,17-0,22	0,18-0,21	0,15-0,16

Koncentracije analiziranih elemenata u uzorcima morske vode su bile od 0,09 ng / L (Tb u uzorku DGT-6) do 24,2 ng / L (Y u uzorku DGT-9) i dobro se slažu s podacima o koncentracijama u Sredozemnom moru (Tablica 25). U odnosu na druge literaturne podatke, u Pulskom zaljevu su izmjerene često značajno više vrijednosti, pogotovo za LREE. Ipak, kako će kasnije pokazati analiza sedimenta (poglavlje 4.3.3.2), postoji mogućnost da se radi o pozadinskim signalima. Navedene koncentracije se ne bi mogle analizirati uobičajenim postupkom za uzorke slatke vode jer su niže od granica detekcije (Tablica 22), a pogotovo uzimajući u obzir da je uzorce morske vode prije analize metodom ICP-MS potrebno razrijediti najmanje 10 puta.

Mjesta uzorkovanja morske vode su numerirana od zapada prema istoku, prateći ulazak u zaljev, stoga se prikazom koncentracija prema rednom broju postaje (Slika 33) mogu dobiti informacije o raspodjeli analiziranih elemenata u zaljevu. Značajniji trendovi rasta nisu vidljivi ulaskom u zaljev. Nešto su više koncentracije nekih elemenata u uzorcima s točaka DGT-4 i DGT-9. Točka DGT-4 nalazila se unutar jednog od brodogradilišta i iako industrijski procesi kao što su varenje mogu biti izvorom ispitivanih elemenata, a elementi rijetkih zemalja se koriste i u legurama, to u ovom slučaju nije potvrđeno.^{22,372,373} Točka DGT-9 nalazila se u komunalnoj lučici, u području dotoka slatke vode i nekadašnjeg ispusta otpadnih voda. Donos rijekama glavni je izvor elemenata rijetkih zemalja u morskoj vodi, a prisutnost ovih elemenata se također može dovesti u vezu s ispustima otpadnih voda.^{33,374-376}



Slika 33. Koncentracije Y i lantanoida u kompozitnim uzorcima iz Pulskog zaljeva

Usporedbom grafova prikazanih na Slikama 31, 32 i 33 može se zaključiti da su više koncentracije određenih elemenata na točki DGT-9 rezultat izvora slatke vode u ovom dijelu zaljeva. Naime, neka istraživanja pokazuju da se snižavanjem saliniteta koncentracije elemenata Ce i Nd približavaju vrijednostima koncentracijâ Y, kao i da podmorski izvori vode mogu biti izvor elemenata rijetkih zemalja.^{238,377,378} Salinitet nije mjerjen prilikom uzimanja uzorka za ovaj dio istraživanja, no tijekom sezonskih uzorkovanja je na nekim mjestima u ovom dijelu zaljeva primjećen pad vrijednosti tog fizikalno-kemijskog parametra (poglavlje 4.1.1).

Iz grafičkog prikaza na Slici 32 vidljive su pozitivne i negativne anomalije određenih elemenata koje mogu biti prirodna pojava, posljedica antropogenog unosa ovih elemenata u okoliš ili nepreciznosti mjerena.^{18,371,379} Računske vrijednosti dobivene iz izrazâ od 1 do 5 (poglavlje 2.1.2) prikazane su u Tablici 26. Anomalije su računate radi uvida u potencijalna obogaćenja i redoks uvjete okoliša, dok je vrijednost Gd* potrebna za izračun antropogenog Gd.

Tablica 26. Anomalije LREE (elementi označeni sa *) i udjeli antropogenog Gd ($w(\text{Gd}_{\text{ant}})$) u otopljenoj frakciji Gd ($\gamma(\text{Gd})$)

UZORAK	La*	Ce*	Eu*	Gd*	$\gamma(\text{Gd}_{\text{ant}}) / (\text{ng} / \text{L})$	$\gamma(\text{Gd}) / (\text{ng} / \text{L})$	$w(\text{Gd}_{\text{ant}}) / \%$
DGT-1	4,21	1,28	2,25	1,64	0,643	1,66	38,8
DGT-2	5,13	1,68	1,30	1,80	0,597	1,34	44,5
DGT-3	3,86	1,20	0,79	1,25	0,245	1,23	20,0
DGT-4	5,79	1,77	2,02	1,81	0,681	1,52	44,8
DGT-5	5,63	1,66	0,73	1,40	0,371	1,31	28,4
DGT-6	6,71	2,04	1,74	2,49	0,816	1,37	59,8
DGT-7	7,44	2,17	1,56	1,54	0,475	1,36	35,1
DGT-8	4,96	1,51	0,88	0,70	-	1,22	-
DGT-9	2,69	1,89	0,53	0,87	-	1,77	-
DGT-10	3,94	1,67	0,49	0,82	-	1,25	-

Najizraženije su pozitivne anomalije La i Ce, a njihove najviše vrijednosti dobivene su u uzorcima s točaka DGT-6 i DGT-7 (neposredna blizina brodogradilišta). Pozitivne anomalije La u morskoj vodi su uobičajene i njihova srednja vrijednost prema nekim izvorima iznosi 2,62.³⁹ Za Ce u morskoj vodi su karakteristične negativne anomalije, no one primarno ovise o

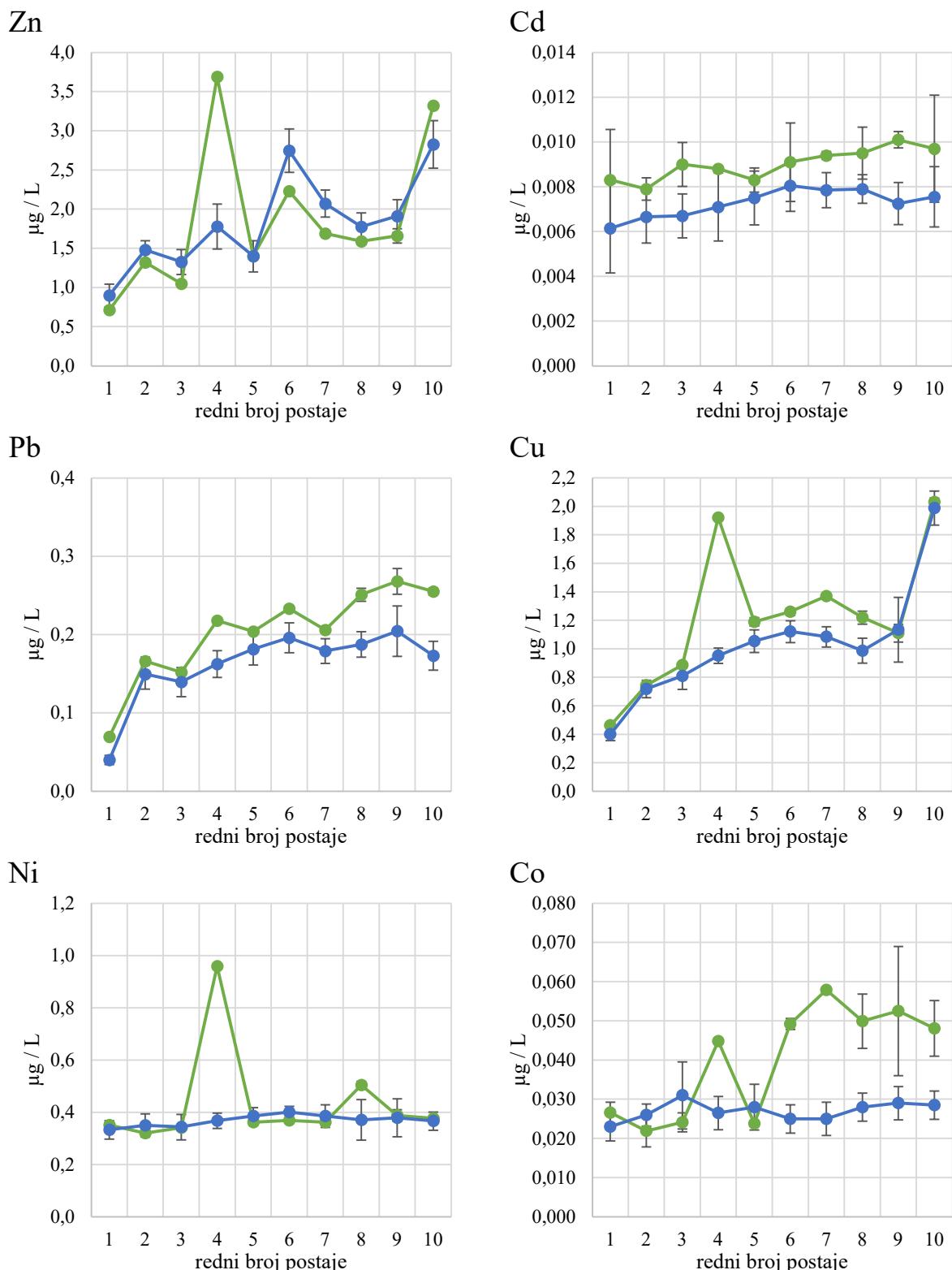
oksidacijskom stanju elementa. Naime, oksidacijom Ce^{3+} u Ce^{4+} , ioni se vežu na Mn okside te se s njima talože.^{380,381} Europij pokazuje podjednak broj negativnih i pozitivnih anomalija. Slično kao kod Ce, pozitivne anomalije Eu mogu biti posljedica redukcije Eu^{3+} u Eu^{2+} . Pozitivne vrijednosti Gd* dobivene su u svim uzorcima izuzev DGT-8, DGT-9 i DGT-10. Najviša vrijednost zabilježena je na točki DGT-6 (2,49), a imajući u vidu da neki autori anomalije do 1,5 smatraju prirodnom varijabilnošću, vrijednosti dobivene u ostalim uzorcima su manje značajne.³⁸² Ovisno o primjenjenom faktoru korekcije dalje se mogu računati udjeli antropogenog Gd. U ovom radu faktori nisu primjenjeni pa je izračunati udio antropogenog Gd u uzorku površinskog sedimenta s točke DGT-6 približno 60 %. Udjeli Gd_{ant} (Tablica 26) se generalno slažu s istraživanjima u kojima je korišten sličan pristup.^{40,383} Pozitivne anomalije Gd se uglavnom vezuju za upotrebu ovog elementa kao kontrastnog sredstva u radiologiji, odnosno metodi magnetske rezonance.^{371,384} Gadolinij je pritom vezan za organsku tvar, a kompleks se ne uklanja uobičajenim procesima obrade otpadnih voda.³⁷⁷

Kod svake negativne anomalije (tj. vrijednosti anomalije niže od 1) matematički se dobivaju negativne vrijednosti koncentracija, odnosno udio nije moguće izračunati jer to teoretski znači da je udio antropogenog podrijetla u ukupnoj koncentraciji nekog elementa jednak nuli (Tablica 25). Visoke pozitivne anomalije La, negativne anomalije Ce, varijabilne anomalije Eu i visoke koncentracije Y (u odnosu na Ho) tipične su za morsku vodu.³⁹

4.1.5. Usporedba koncentracijâ dobivenih voltametrijski i metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije

Usporedba dobivenih rezultata metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije na smoli Nobias Chelate-PA1 i podataka dobivenih voltametrijskim mjeranjima prikazana je u nastavku. Ovim su metodama analizirani kompozitni uzorci uzorkovani tijekom kolovoza 2023. godine (tijekom uzorkovanja metodom DGT).

Rezultati usporedbe grafički su prikazani na Slici 34. Kretanja rezultata dviju metoda se slažu vrlo dobro za većinu analiziranih metala. Slabije slaganje primjećuje se kod Cd i Co na uzorcima iz unutarnjeg zaljeva. Kod Zn, Cu, Ni i Co na postaji DGT-4 (postaja na brodogradilišnom doku) pretkoncentrirani uzorci pokazuju znatno više koncentracije u odnosu na rezultate dobivene voltametrijski, kao i u odnosu na trendove kretanja rezultata. Razlog tomu je najvjerojatnije kontaminacija u nekom koraku provedbe postupka pretkoncentracije ili analize metodom ICP-MS.



Slika 34. Usporedbe koncentracija metala dobivenih voltametrijski (plave linije) i metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije (zelene linije)

Voltametrijski dobivene koncentracije Zn uglavnom su više od koncentracija dobivenih nakon pretkoncentracije. Radi se razlikama od 12,1 % do 25,8 % (iskorištenja voltametrijskih rezultata u odnosu na rezultate dobivene metodom ICP-MS kreću se od 112,1 % do 125,8 %). Iznimke predstavljaju već spomenuti uzorak s točke DGT-4, zatim uzorak s točke DGT-5 (gotovo identični rezultati) te uzorak s točke DGT-10 (voltametrijski rezultat je 85 % vrijednosti koncentracije nakon pretkoncentracije, tj. razlika iznosi -15 %). Analiza varijance pokazuje da nema značajnih razlika između dvije grupe podataka za Zn ($F = 0,016$, $F_{kr} = 4,41$).

Koncentracije Cd dobivene voltametrijski su 20 % do 28 % niže od koncentracija u pretkoncentriranim uzorcima. Analiza varijance ukazuje na postojanje značajnih razlika između dvije grupe podataka ($F = 34,9$, $F_{kr} = 4,41$), no treba naglasiti da se ovdje radi o iznimno niskim koncentracijama Cd, uz najveću apsolutnu razliku od 2,9 ng / L (uzorak s postaje DGT-9). Također treba naglasiti da je pogreška mjerena Cd pri ovako niskim koncentracijama na razini od 10 % do 20 %, no iz trenda kretanja koncentracija Cd mjerenih s obje metode je jasno da se radi o sistemskoj razlici, koju bi trebalo dodatno proučiti višekratnim mjeranjima.

Voltametrijski dobivene koncentracije Pb su također niže od koncentracija dobivenih nakon pretkoncentracije. Razlike se kreću od 8,22 % (DGT-3) do 25,5 % (DGT-4) s izuzetkom niskih koncentracija u uzorku s referentne postaje DGT-1 (razlika 42,5 %) i uzorka s postaje DGT-10 (32,2 %). Vrijednost F od 2,90 pokazuje da nema značajnijih razlika između grupa.

Rezultati koncentracija Cu se između dviju metoda razlikuju od -2,25 % do 20,8 % s iznimkom u uzorku s postaje DGT-4, gdje je vjerojatno došlo do kontaminacije. Bez obzira na tu razliku, statistički se rezultati vrlo dobro slažu ($F = 0,95$).

Postotno najniže razlike dobivene su za Ni: od -9,38 % do 5,13 % s iznimkom uzorka s točaka DGT-4 (61,6 %) i DGT-8 (26,4%). Analiza varijance pokazuje izostanak statistički značajnih razlika ($F = 1,14$).

Na postajama vanjskog zaljeva se dva skupa koncentracijâ Co relativno dobro slažu s iznimkom kontaminacije u uzorku s točke DGT-4 (razlike se kreću od -28,6 % do 13,5 %). U ostalim uzorcima razlike prelaze 40 %. Statistička obrada pokazuje značajne razlike između nizova ($F = 8,20$).

Za razliku od nekih drugih ispitivanih elemenata, rezultati sezonskih uzorkovanja pokazali su da se ne očekuju više koncentracije Co u unutarnjem zaljevu u odnosu na vanjski dio ili referentnu točku, (poglavlje 4.1.2). S obzirom na to da voltametrijska ispitivanja kompozitnih uzoraka pokazuju značajno niže fluktuacije vrijednosti, u tom se pogledu mogu smatrati preciznijima. Rezultati koncentracija Co u pretkoncentriranim uzorcima ne pokazuju sustavnu pogrešku: razlike u točkama DGT-1, DGT-2, DGT-3 i DGT-5 su niže, a i vrijednosti dobivene metodom ICP-MS su niže od voltametrijskih u točkama DGT-2, DGT-3 i DGT-5. To ukazuje na mogućnost kontaminacije kobaltom u ostalim uzorcima (DGT-4, DGT-6 i nadalje). Međutim, koncentracije Co u slijepim probama bile su u širokom rasponu stoga vrijednosti iz slijepih proba nisu oduzete od rezultata uzorka. Vrijednosti u slijepim probama bile su od vrijednosti nižih od kalibracijske slijepje probe (-0,008 µg / L) do 0,314 µg / L, sa srednjom vrijednošću od 0,108 µg / L, dok je najviša apsolutna vrijednost razlike voltametrijskih rezultata i rezultata u pretkoncentriranim uzorcima 32,9 ng / L.

Konačnim razlikama u koncentracijama zasigurno doprinose razlike u analitičkim postupcima. Elektrokemijska mjerena provedena su na uzorcima bez ikakve pripreme izuzev konzerviranja i UV digestije te metodom dodatka standarda, što eliminira utjecaj matrice jer se uzorci i standardne otopine mjere pod istim uvjetima. Metoda ICP-MS primijenjena je uz metode vanjskog i unutarnjeg (internog) standarda. Instrument je kalibriran neposredno prije mjerena s točkama kalibracije odabranima prema očekivanim koncentracijama u pretkoncentriranim uzorcima (10 puta više vrijednosti od onih mjerenih voltametrijski). Minimalni koeficijent determinacije (R^2) iznosio je 0,9997. Iskorištenja internog standarda (^{115}In koncentracije 10 µg / L) su se pri analizama uzorka kretala od 77,0 % do 92,4 % što ukazuje na utjecaj matrice, no rezultati su korigirani s obzirom na ta iskorištenja. Primjena postupka pretkoncentracije podrazumijeva više koraka od direktnih, voltametrijskih mjerena što povećava rizik od raznih kontaminacija uzorka.

Bez obzira na navedene razlike, mjerena dvjema metodama u značajnoj su mjeri usporediva. Kod određenih elemenata postoje sustavna mjerena odstupanja (*bias*), no i pri certificiranju materijala mjerne nesigurnosti mogu biti do 40 % ($k = 2$), bez obzira na visokosofisticirane laboratorije i primjenjene mjerne metode i tehnike.³⁸⁵ S druge strane, radi se o relativno niskim koncentracijama te apsolutnim razlikama reda veličine ng / L.

4.1.6. Bioraspoloživa (DGT) frakcija metala u tragovima u morskoj vodi

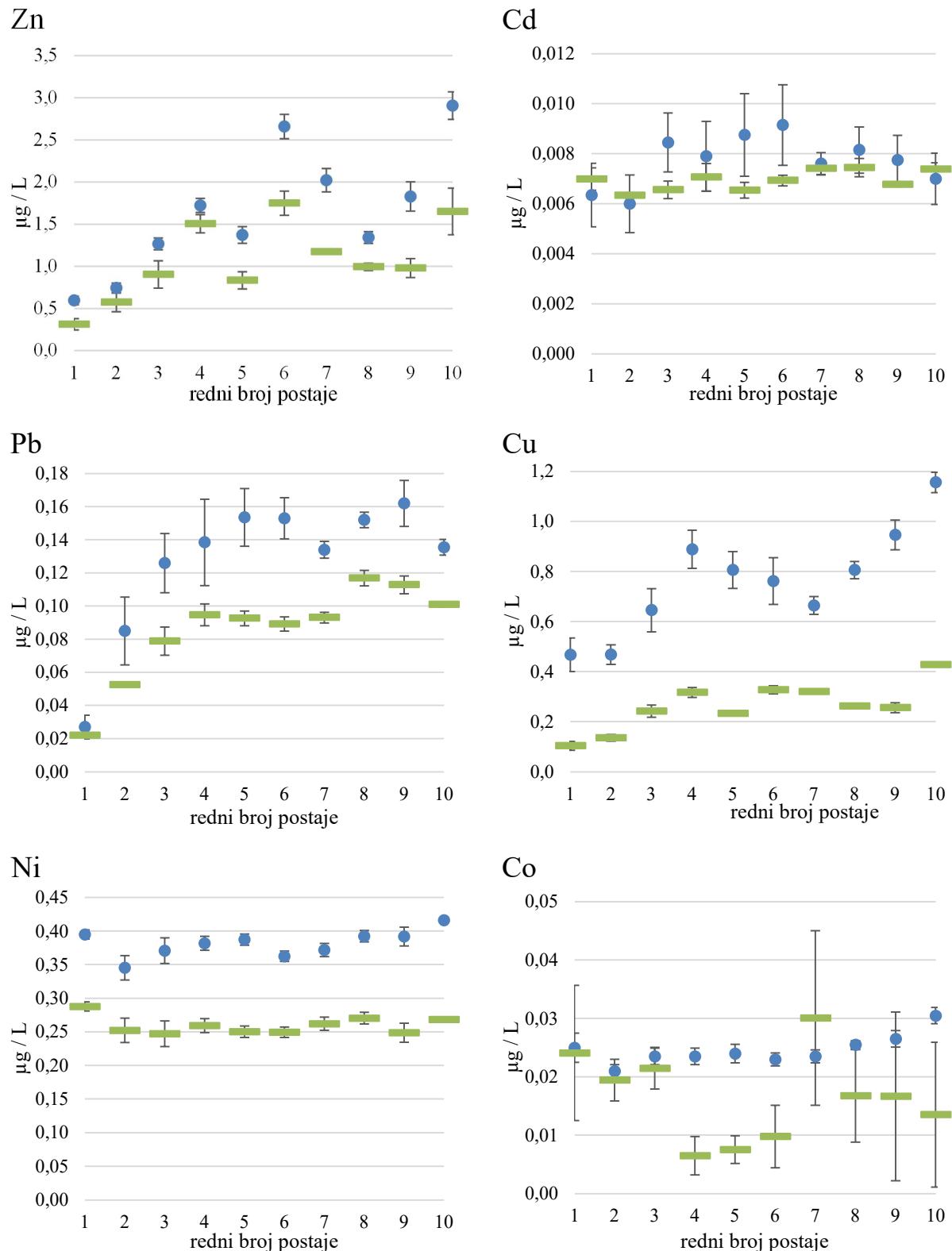
Uzorkovanja morske vode metodom DGT provedena su u svibnju i kolovozu 2023. godine, a uzorkivači su bili izloženi vodenom okolišu šest dana, odnosno 144 sata. U tom razdoblju, slobodno su se pomicali unutar držača pod djelovanjem valova, a tijekom kampanje u kolovozu 2023. došlo je do snažnog nevremena i pucanja konopa pa su uzorkivači na postaji DGT-10 (Slika 11) izgubljeni. Na dva mjesta uzorkovanja uzorkivači su i dalje bili u tijelu vode iznad utega pa ih je iz vode uklonio ronilac, a dalje se s njima postupalo prema ranije opisanom protokolu i prikazanim parametrima instrumentne analize.

Ispitivanja su provedena na instrumentu Element 2 (Thermo Scientific), a parametri instrumentne analize prikazani su u Tablici 17. Pri analizi uzoraka provedena su četiri mjerena kontrolnog standarda (SLRS-6, NRCC) i svi su rezultati bili u intervalu od 90 % do 110 % referentne vrijednosti.

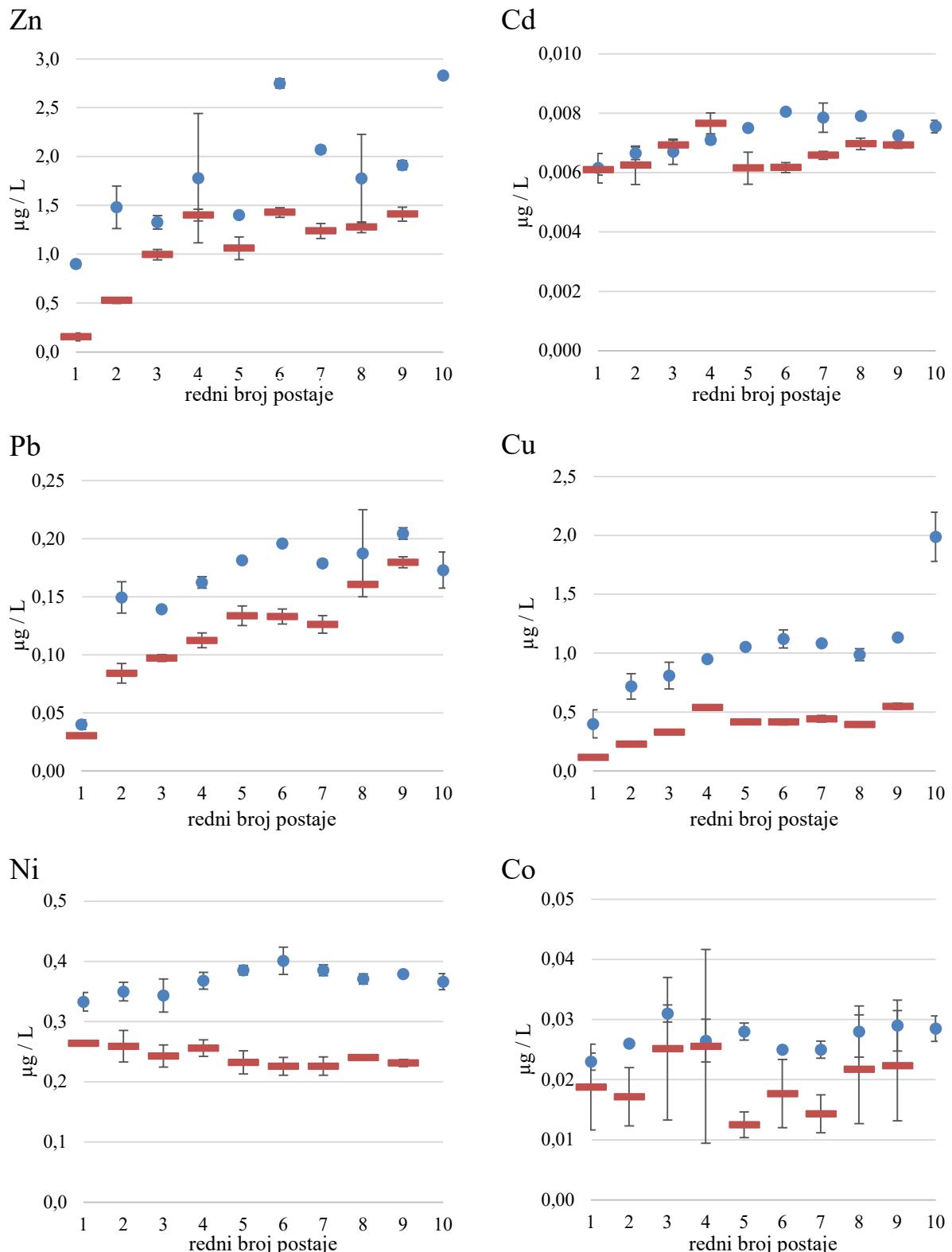
Odnosi koncentracija u otopljenoj frakciji metala (u kompozitnim uzorcima) i frakciji DGT (potencijalno bioraspoloživoj frakciji) određene su u uzorcima iz svibnja i kolovoza 2023. godine i prikazane na Slici 35 i 36. Primjećuje se porast koncentracija ulaskom u zaljev kao što je bio slučaj s rezultatima sezonskih uzorkovanja (točke uzorkovanja su numerirane od zapada prema istoku, odnosno od otvorenog mora prema unutrašnjosti zaljeva). Također, vidljivo je da su koncentracije otopljene frakcije više u odnosu na frakciju DGT. Prema Pearsonovoj korelaciji (r , Tablica 27), koncentracije Zn, Pb i Cu u dvjema frakcijama visoko su korelirane u obje kampanje uzorkovanja (za skup od 10 parova podataka kritična vrijednost koeficijenta iznosi 0,632, uz 95 % pouzdanosti).

Tablica 27. Pearsonovi koeficijenti korelacije (r) između koncentracija metala u otopljenoj frakciji i u frakciji DGT. Podebljane vrijednosti su više od kritične za 10 parova vrijednosti

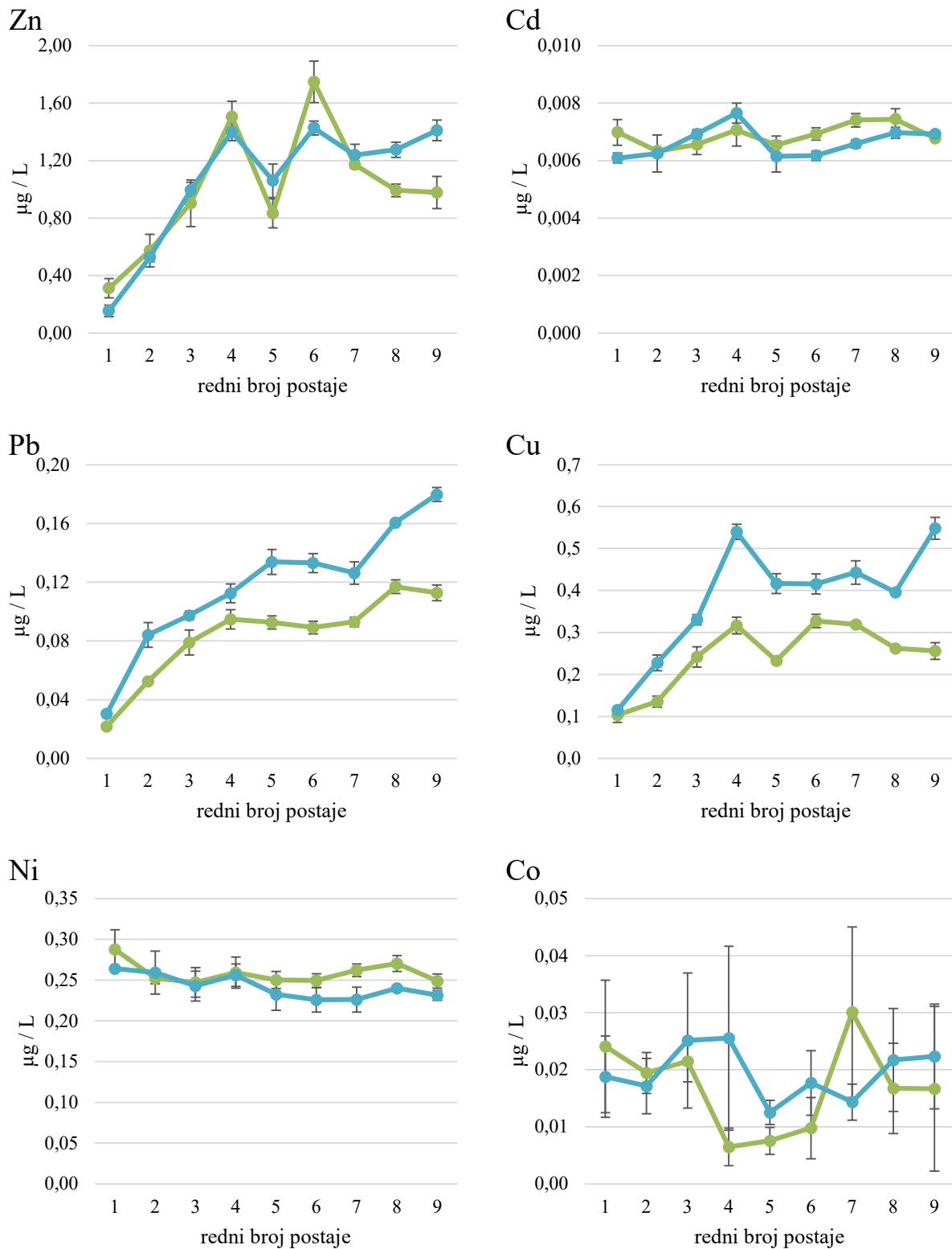
METAL	r (svibanj)	r (kolovoz)
Zn	0,925	0,772
Cd	0,020	0,088
Pb	0,951	0,928
Cu	0,833	0,889
Ni	0,526	-0,850
Co	-0,052	0,483



Slika 35. Potencijalno bioraspoložive frakcije (zelene linije) i otopljene frakcije metala (plave točke) sa standardnim devijacijama određene u uzorcima iz svibnja 2023. godine



Slika 36. Potencijalno bioraspoložive frakcije (crvene linije) i otopljene frakcije metala (plave točke) sa standardnim devijacijama određene u uzorcima iz kolovoza 2023. godine



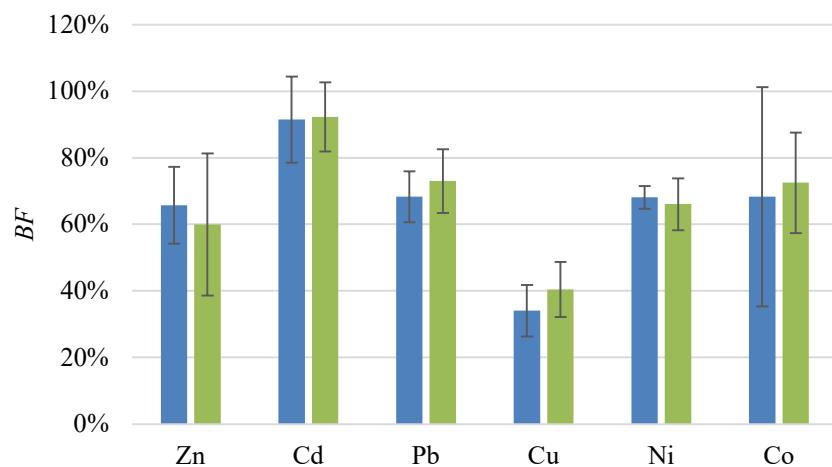
Slika 37. Usporedba vremenski usrednjjenih koncentracija Pb i Cu određenih metodom DGT u uzorcima iz svibnja (zeleno) i kolovoza (plavo) 2023. godine

Analize varijanci pokazale su značajnu varijabilnost bioraspoloživih koncentracija Zn. Standardna odstupanja niza podataka iz pojedine kampanje uzorkovanja (unutar pojedine grupe podataka) su kod ovog metala viša od standardnog odstupanja između grupa (podaci iz svibnja i kolovoza) i kao postotak ukupne aritmetičke vrijednosti iznose 42,8 % u odnosu na 13,8 %. Ovo ukazuje na točkaste izvore Zn i brzo razrjeđenje (homogenizaciju) vodene mase. Iz odnosa F i kritične F vrijednosti (F_{kr}) za dva navedena niza podataka vidi se odsutnost statistički značajnih razlika kod Zn ($F = 0,0635$, $F_{kr} = 4,4940$), što nije slučaj za Pb ($F = 3,6785$) i Cu ($F = 6,6057$). To ukazuje na izraženiji sezonski karakter koncentracija Pb i Cu.

Koncentracije Cd, Ni i Co bile su u uskom intervalu. Korelacija podataka kod Cd i Co nije evidentna. Koncentracije Co karakterizirane su veoma visokim standardnim devijacijama koje su posljedica relativno visokih koncentracija ovog elementa u analiziranim slijepim probama. Podaci za Ni iz svibnja pokazuju umjerenu korelaciju ($r = 0,526$), dok je u kolovozu vidljiva visoka negativna korelacija ($r = -0,850$).³⁸⁶ Potonja je vrijednost rezultat veoma uskih intervala izmјerenih koncentracija u dvjema frakcijama i ne predstavlja stvarnu negativnu korelaciju.

Određene su nešto više vremenski usrednjene koncentracije Pb i Cu u uzorcima iz kolovoza u odnosu na one iz svibnja (Slika 37). To je donekle vidljivo i za Zn i Cd. Iz grafičkog prikaza moglo bi se zaključiti da je obrnuta situacija s koncentracijama Ni, no radi se o razlikama od nekoliko ng / L.

Slika 38 prikazuje udjele potencijalno bioraspoložive frakcije u otopljenoj frakciji (vrijednosti BF).



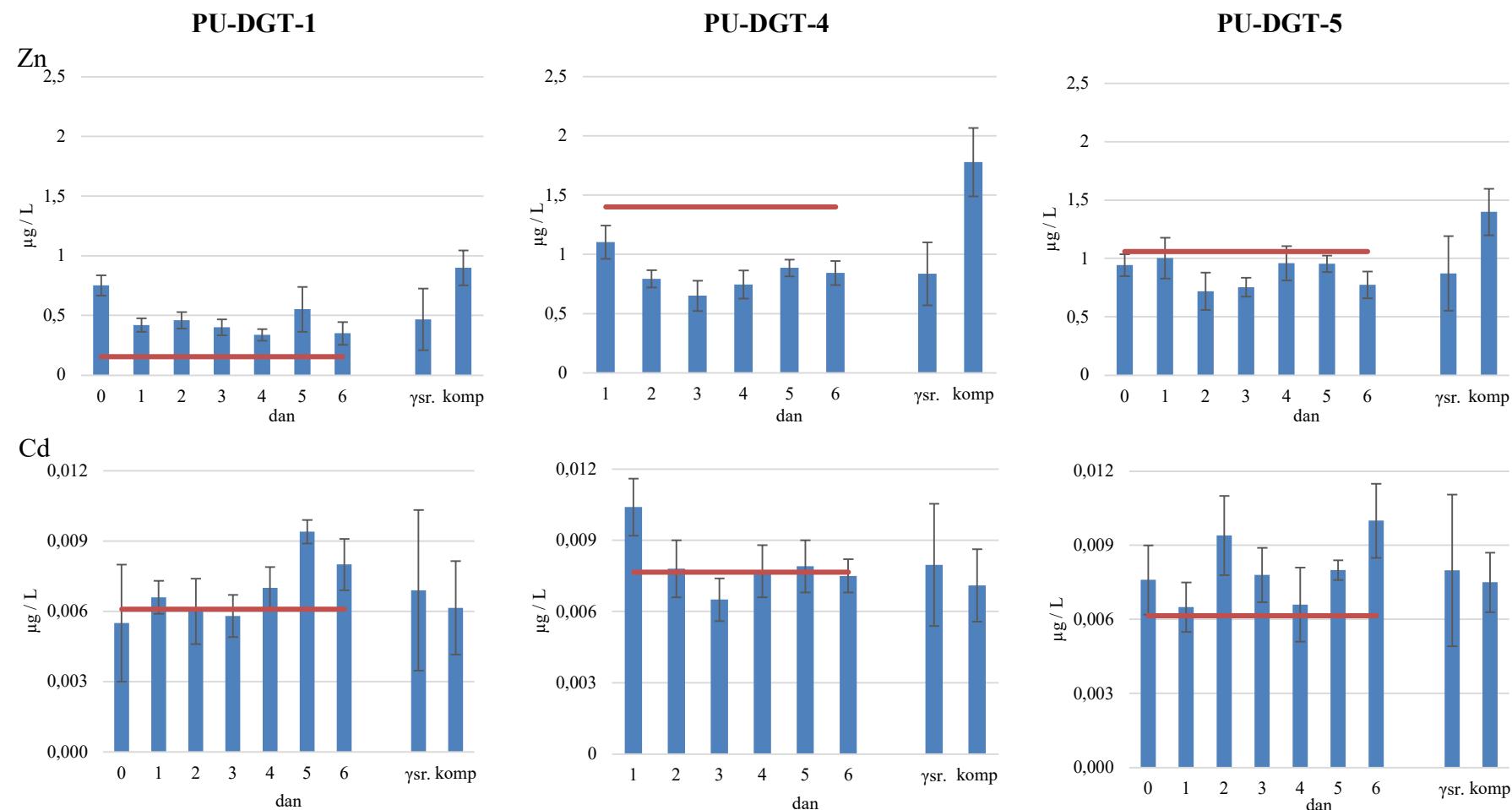
Slika 38. Prosječne vrijednosti BF u uzorcima iz svibnja (plavo) i kolovoza (zeleno)

2023. godine

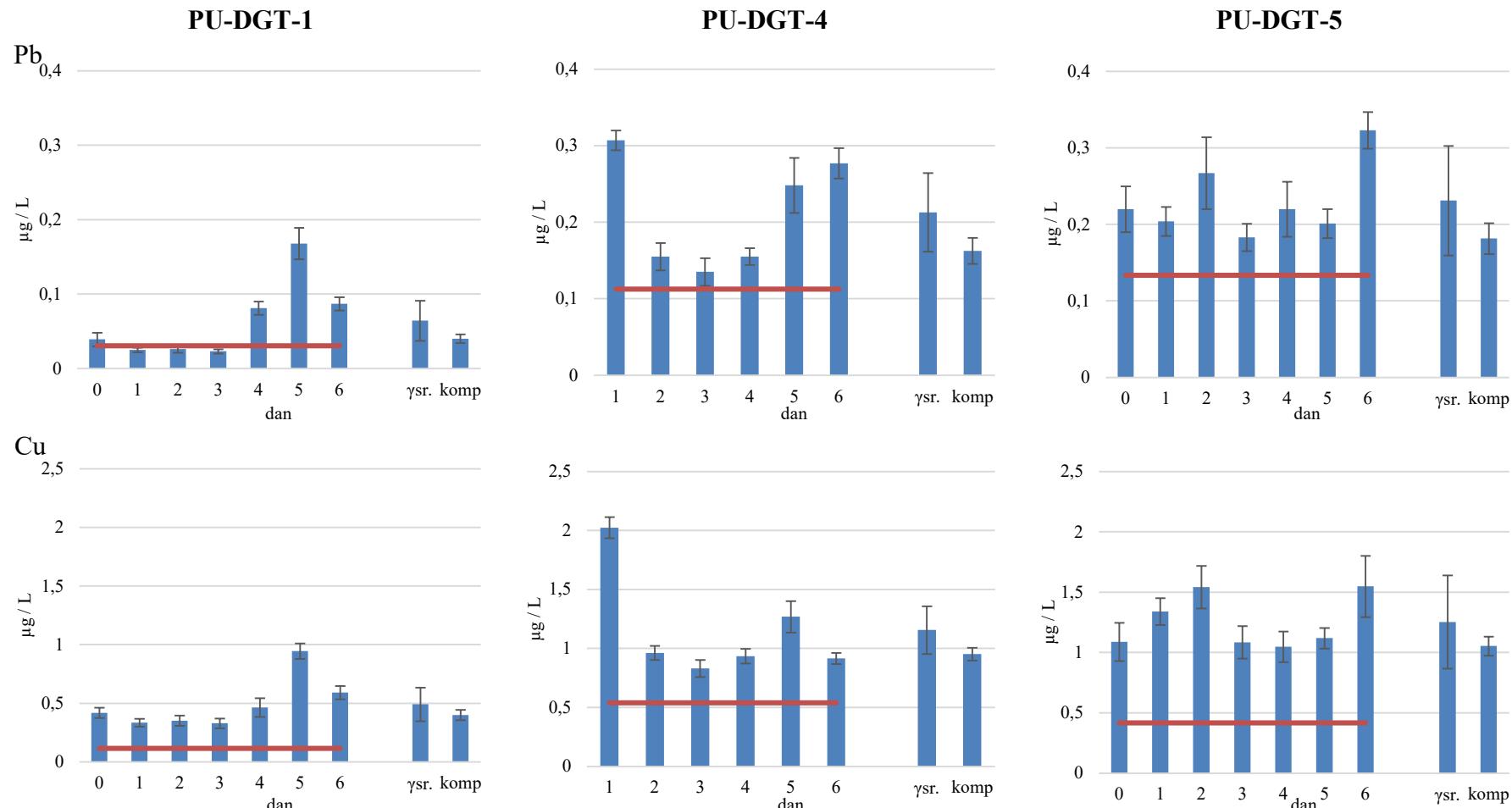
Vrijednosti BF su prvo računate za svaku postaju (mjesto uzorkovanja) zasebno (izraz 17, poglavlje 3.9), u odnosu na koncentracije dobivene u kompozitnom uzorku, a zatim su izračunate srednje vrijednosti udjela sa svih postaja za svaki element. One pokazuju da nema značajne razlike između dva uzorkovanja, odnosno da rast koncentracija u potencijalno bioraspoloživoj frakciji prati rast koncentracija u otopljenoj frakciji promatranih metala što potvrđuje zaključke iz sezonskih kampanja uzorkovanja (Slika 38). Rastuće vrijednosti BF u nizu $Cu < Pb \approx Ni \approx Co < Zn < Cd$, kao i dobivene vrijednosti za pojedine elemente vrlo se dobro slažu s podacima iz literature.^{89,98,387-389}

Tijekom kolovoza praćene su dnevne promjene koncentracija kroz analize uzoraka uzimanih svaka 24 sata na tri lokacije: PU-DGT-1 (izvan zaljeva), PU-DGT-4 (područje intenzivnijih industrijskih aktivnosti) i PU-DGT-5 (plovni put). Uzorci su analizirani voltametrijski, a dobivene koncentracije su prikazane na Slikama 39, 40 i 41 prema danima od postavljanja uzorkivača DGT (dan 0). Na postaji PU-DGT-4 nije uzet uzorak na dan postavljanja. Jasno su vidljive značajne varijacije tijekom sedam dana uzorkovanja. Kretanje vrijednosti koncentracija zajedničko je za Zn, Pb i Cu, a donekle i za Cd. Više koncentracije zabilježene na postaji izvan zaljeva u danima 4, 5 i 6 najvjerojatnije su rezultat vremenskih neprilika, dok se lokalni maksimumi koncentracija u uzorcima uzetim unutar zaljeva mogu pripisati i aktivnostima u luci (maksimalne vrijednosti u danu 1 i porast u danu 5 na PU-DGT-4, odnosno porast koncentracija u danima 2 i 6 na PU-DGT-5). Vrijednosti koncentracija Ni i Co se očekivano kreću u uskom intervalu koncentracija iako se mogu primijetiti neke sličnosti trendova kretanja koncentracija ovih elemenata (više koncentracije u danu 2, 3 i 4 na postaji PU-DGT-1, lokalni maksimumi u danu 4 na ostale dvije postaje).

Uzimajući u obzir i značajan pad koncentracija nakon lokalnih maksimuma može se zaključiti da dolazi do miješanja vodene mase što rezultira brzim razrjeđivanjem. Visoka varijabilnost koncentracija glavni je nedostatak metodologije točkastog uzorkovanja (engl. *discrete sampling*) u praćenju okoliša kojom je moguće dobiti nerealne *slike* stanja okoliša (razlika između minimalnih i maksimalnih dnevnih vrijednosti često je viša od 100 %). Stoga se preporučuje određivanje vremenski usrednjene koncentracija, osobito ako se one mogu smatrati bioraspoloživima, kao što je to slučaj ako se koristi metoda DGT.²⁷³



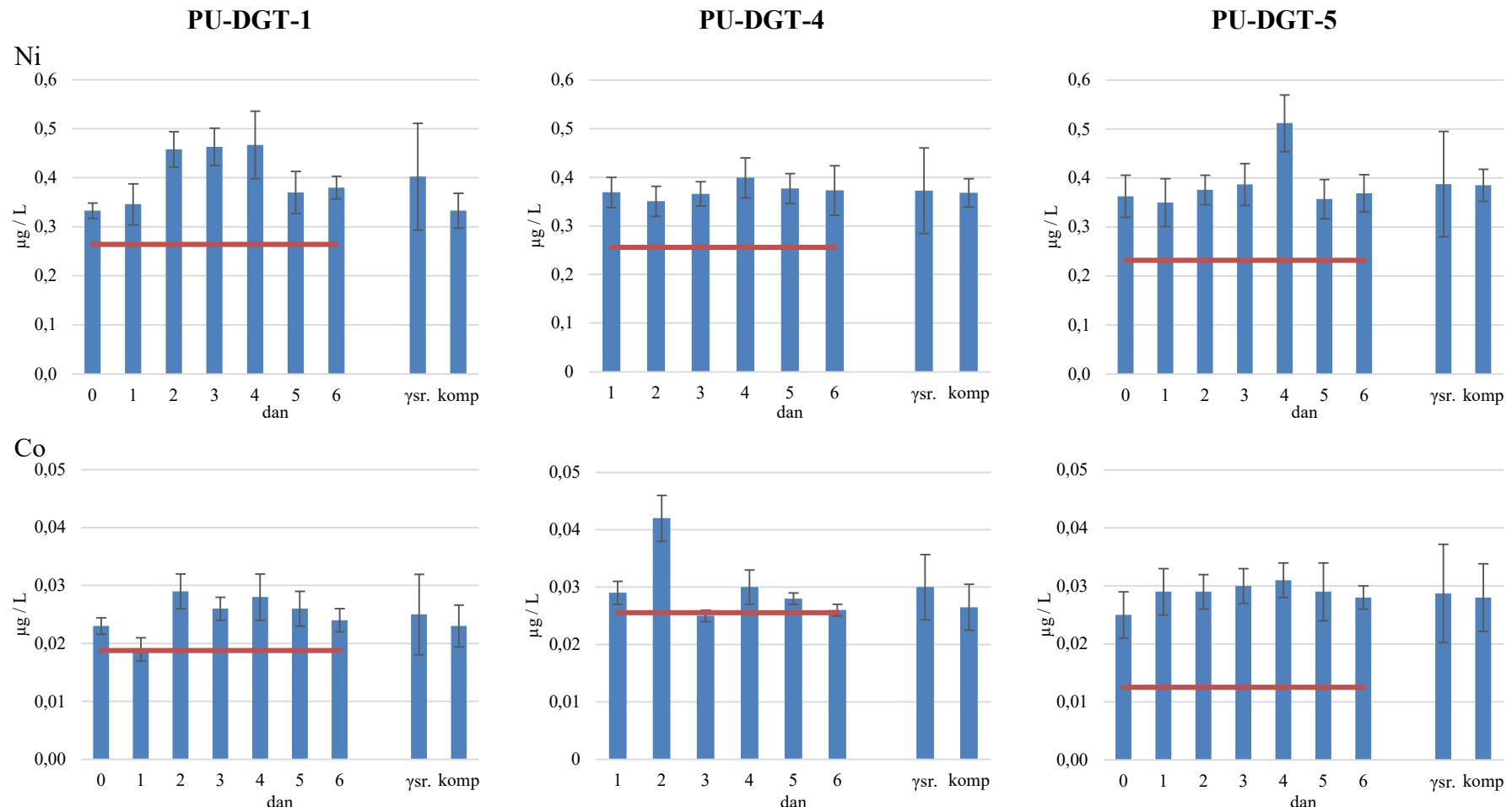
Slika 39. Dnevne varijacije koncentracija (0-6, odnosno 1-6), srednjih vrijednosti (γsr.) i koncentracija u kompozitnim uzorcima (komp) za Zn (gornji red) i Cd (donji red) po danima na postajama DGT-1 (prvi stupac), DGT-4 (drugi stupac) i DGT-5 (treći stupac). Crvena linija označava vremenski usrednjene koncentracije dobivene metodom DGT



Slika 40. Dnevne varijacije koncentracija (0-6, odnosno 1-6), srednjih vrijednosti (yr. sr.) i koncentracija u kompozitnim uzorcima (komp) za

Pb (gornji red) i Cu (donji red) po danima na postajama DGT-1 (prvi stupac), DGT-4 (drugi stupac) i DGT-5 (treći stupac).

Crvena linija označava vremenski usrednjene koncentracije dobivene metodom DGT



Slika 41. Dnevne varijacije koncentracija (0-6, odnosno 1-6), srednjih vrijednosti (ysr.) i koncentracija u kompozitnim uzorcima (komp) za Ni (gornji red) i Co (donji red) po danima na postajama DGT-1 (prvi stupac), DGT-4 (drugi stupac) i DGT-5 (treći stupac). Crvena linija označava vremenski usrednjene koncentracije dobivene metodom DGT

Kod svih elemenata izuzev Zn vidljiva su relativno dobra slaganja srednjih vrijednosti dnevnih koncentracija i koncentracijâ u kompozitnim uzorcima što ukazuje na pravilan protokol uzorkovanja i analitička mjerena visoke kvalitete. Kod Zn su koncentracije u kompozitnim uzorcima značajno više od srednje vrijednosti dnevnih koncentracija (vjerojatno radi kontaminacije), dok su vrijednosti koncentracije u potencijalno bioraspoloživoj frakciji više od dnevnih koncentracija, no niže od koncentracija u kompozitnim uzorcima.

4.1.7. Frakcionacija metala u tragovima smolom Chelex-100 i usporedba s metodom DGT

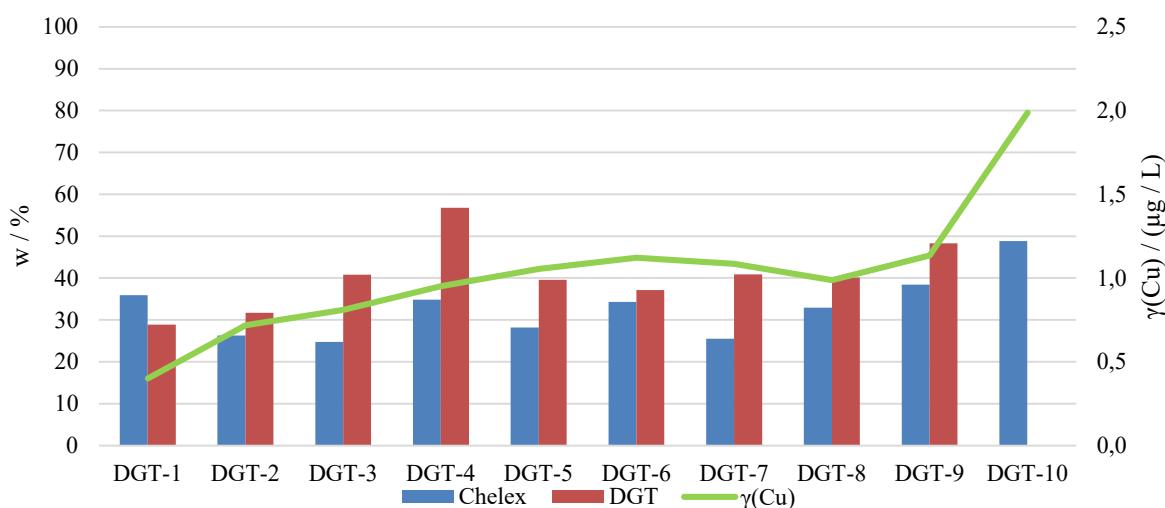
U uzorcima u kojima je određivana potencijalno bioraspoloživa frakcija na sustavu s protočnim kolonama određivan je primarno Cu. Korištena je tehnika ASV kojom se istovremeno uz Cu određuju Cd i Pb, no u uzorcima nakon keliranja nisu pronađene mjerljive koncentracije potonjih dvaju elemenata, što upućuje da Chelex-100 u potpunosti zadržava Cd i Pb pri uvjetima eksperimenta, kao što je i očekivano.¹⁹³ Za razliku od Cu koji stvara jake organske komplekse, organska frakcija Cd i Pb je manje zastupljena uz komplekse slabije jakosti. Protok kroz kolonu, odnosno vrijeme kontakta otopine i smole (~ 0,3 s) je odabранo tako da se osigura kvantitativno keliranje anorganske frakcije Cu (> 90 %). Kratko vrijeme zadržavanja pojedine specije u koloni je u skladu s procjenom da je manje od 0,5 s potrebno za difuziju kompleksa metala kroz staničnu membranu.¹⁹³

Radi jednostavnosti i razlikovanja od potencijalno bioraspoložive frakcije elemenata određene metodom DGT, frakcija određena na sustavu s protočnim kolonama nazivat će se Chelex-labilnom frakcijom i uspoređena je s DGT-labilnom frakcijom. Tablica 28 prikazuje rezultate ispitivanja sustava na nezakiseljenim kompozitnim uzorcima (otopljena frakcija) uzetima za vrijeme uzorkovanja metodom DGT u kolovozu 2023. godine i usporedbu s udjelima potencijalno bioraspoložive frakcije dobivenima metodom DGT. Uzorci DGT na točki DGT-10 su izgubljeni, kako je opisano ranije. Udjeli Chelex-labilne frakcije (w_L) izračunati su kao omjer mase Cu zadržane na smoli i mase u otopljenoj frakciji. Koncentracije (mase) u otopljenoj frakciji Cu određene su u poduzorcima koji nisu kelirani već zakiseljeni i podvrgnuti UV digestiji. Poduzorci koji su prošli postupak keliranja su nakon prolaska kroz kolone zakiseljeni, a ne-labilna (stabilna) organska tvar koju smola nije zadržala je degradirana UV zračenjem (ne-labilna frakcija). Budući da tijekom procesa nema promjene volumena (svih 80 mL svakog uzorka je sakupljeno nakon keliranja), razlika dviju koncentracija (masâ Cu u 80 mL uzorka) daje koncentraciju u Chelex-labilnoj frakciji koja je zadržana na smoli.

Tablica 28. Rezultati određivanja Chelex-labilne frakcije Cu u uzorcima morske vode (udjeli (w_L) i usporedba s udjelima bioraspoložive frakcije dobivene metodom DGT (w_{DGT}))

UZORAK	$w_L / \%$	$w_{DGT} / \%$
DGT-1	35,9	28,9
DGT-2	26,3	31,7
DGT-3	24,7	40,8
DGT-4	34,8	56,8
DGT-5	28,2	39,6
DGT-6	34,3	37,1
DGT-7	25,5	40,9
DGT-8	32,9	40,1
DGT-9	38,4	48,3
DGT-10	50,5	-

Usporedba rezultata pokazuje više udjele dobivene metodom DGT (u prosjeku oko 10 %). Razlog tomu je znatno duži kontakt uzorka s vežućim gelom uzorkivača DGT u odnosu na vrijeme zadržavanja u protočnoj koloni. Analiza varijance također pokazuje statistički značajne razlike između dva skupa podataka ($F = 8,11$, $F_{kr} = 4,49$).



Slika 42. Udio Chelex-labilne (plavi stupci) i DGT-labilne (crveni stupci) frakcije u otopljenoj frakciji Cu (zelena linija, sekundarna y-os)

Bez obzira na određene razlike u vrijednostima, trendovi kretanja udjela rastu ulaskom u zaljev, kao i koncentracija Cu u kompozitnim uzorcima (Slika 42). To ukazuje da se

upotrebom protočnih kolona može dobiti informacija o udjelu potencijalno bioraspoložive frakcije Cu. Uz to, ovako postavljen sustav za keliranje relativno je jednostavne izvedbe, ne zahtijeva posebnu aparaturu, čime pokazuje potencijal za korištenje *in-situ* (Slika 16). Protok uzorka kroz kolonu se umjesto strujom N₂ potencijalno može ostvariti uz pomoć šprice (vakuumom). Time bi se minimalno utjecalo na uzorak u periodu od uzorkovanja do obrade, a uz pogodne tehnike analize, cijeli se analitički proces može izvesti u veoma kratkom vremenu po uzorkovanju. Chelex-labilni metali bi se potom eluirali kiselinom i analizirala se njihova koncentracija. Ovaj način ima prednost nad metodom DGT u tome što se koncentracija bioraspoložive frakcije dobije u vrlo kratkom roku. Sve navedeno može povoljno utjecati na vjerodostojnost specijacijskih i frakcionacijskih analiza.

4.2. Specijacija metala u tragovima u moru Pulskog zaljeva

Koristeći voltametrijski određene koncentracije u kompozitnim uzorcima, tipični sastav morske vode te poznate fizikalno-kemijske parametre dobiven je uvid u specijaciju odabralih metala računalnim programom *Visual MINTEQ*, ver. 3.1. Analiza je rađena na devet uzoraka (postaje DGT-1 do DGT-9). Pretpostavljene kemijske vrste i njihovi udjeli prikazani su u Tablici 29.

Tablica 29. Rezultati modeliranja specijacije u morskoj vodi u Pulskom zaljevu i prosječni udjeli (*w*) i standardne devijacije (*SD*) kemijskih specija u devet kompozitnih uzoraka

METAL	KEMIJSKE VRSTE	<i>w</i> / %	<i>SD</i> / %
Cd	Cd ²⁺	2,73	0,0169
	CdOH ⁺	0,0160	0,0
	CdCl ⁺	40,7	0,251
	CdCl ₂ (aq)	42,1	0,258
	CdBr ⁺	0,094	0,0351
	CdSO ₄ (aq)	0,673	0,00398
	Cd(SO ₄) ₂ ²⁻	0,134	0,000928
	CdHCO ₃ ⁺	0,0449	0,000601
	CdCO ₃	0,158	0,00145
	Cd-FA	7,76	0,302
	Cd-HA	5,62	0,231

METAL	KEMIJSKE VRSTE	w / %	SD / %
Cu	CuCO ₃	0,0126	0,00830
	Cu-FA	91,1	0,150
	Cu-HA	8,85	0,157
Co	Co ²⁺	71,8	0,0390
	CoOH ⁺	0,895	0,0333
	Co(OH) ₂	0,0720	0,0
	CoF ⁺	0,0200	0,0
	CoCl ⁺	5,01	0,00237
	CoSO ₄	15,0	0,00780
	CoCO ₃	3,39	0,0188
	CoHCO ₃ ⁺	2,89	0,0160
	Co-FA	0,444	0,0118
	Co-HA	0,457	0,0137
Ni	Ni ²⁺	60,1	0,260
	NiOH ⁺	0,564	0,00380
	Ni(OH) ₂	0,0380	0,0
	NiF ⁺	0,0130	0,0
	NiCl ⁺	3,49	0,0150
	NiCl ₂	0,0297	0,000500
	NiBr ⁺	0,0522	0,000441
	NiSO ₄	12,5	0,0526
	NiCO ₃	5,52	0,0419
	NiHCO ₃ ⁺	3,84	0,0291
	Ni-FA	13,0	0,356
	Ni-HA	0,802	0,0204
Pb	Pb ²⁺	0,0513	0,00921
	PbOH ⁺	0,088	0,0158
	PbCl ⁺	0,301	0,0586
	PbCl ₂	0,162	0,0293
	PbCl ₃ ⁻	0,0768	0,0138
	PbCl ₄ ²⁻	0,0279	0,00511
	PbSO ₄	0,0254	0,00453
	Pb(CO ₃) ₂ ²⁻	0,0406	0,00737
	PbCO _{3(aq)}	0,431	0,0776
	PbHCO ₃ ⁺	0,0213	0,00374
	Pb-FA	98,0	0,212
	Pb-HA	0,792	0,00908

METAL	KEMIJSKE VRSTE	w / %	SD / %
Zn	Zn ²⁺	39,0	1,16
	ZnOH ⁺	2,94	0,0922
	Zn(OH) ₂ (aq)	3,11	0,0925
	ZnCl ⁺	17,7	0,528
	ZnCl ₄ ²⁻	1,545	0,0482
	ZnCl ₃ ⁻	3,191	0,0982
	ZnCl ₂ (aq)	4,700	0,144
	ZnBr ⁺	0,0100	#DIJ/0!
	ZnSO ₄ (aq)	8,01	2,562
	Zn(SO ₄) ₂ ²⁻	1,660	1,5411
	ZnCO ₃ (aq)	4,98	1,626
	ZnHCO ₃ ⁺	0,573	0,1883
	Zn(CO ₃) ₂ ²⁻	0,0641	0,01817
	ZnH ₂ BO ₃ ⁺	0,0159	0,003444
	Zn-FA	0,0842	0,00674
	Zn-HA	11,4	2,64

U tablici su prikazane srednje vrijednosti udjela pojedine specije koje odgovaraju koncentracijama metala u tragovima na devet točaka uzorkovanja (*w*) te standardne devijacije nizova podataka (*SD*). Organske vrste prikazane su kao spojevi s fulvičnom (FA) i huminskom kiselinom (HA). Za modeliranje korišten je NICA-Donnan model interakcije metala s organskom tvari koji se češće koristi i ima veću bazu podataka od ostalih ponuđenih modela. Uz to, pokazuje dobra predviđanja u širokom intervalu vrijednosti pH i koncentracija slobodnih iona te uključuje glavne ione u specijacijsku analizu, kako je objašnjeno ranije (poglavlje 2.2.2.2). Korišten je pretpostavljeni odnos fulvične i huminske kiseline u organskoj tvari od 90 %, odnosno 10 % te srednja vrijednost koncentracije OOU od 1,5 mgC / L. Unaprijed zadani omjer otopljene organske tvari i OOU u programu iznosi 1,65. Vrijednost je odabrana pod pretpostavkom da se otopljena organska tvari sastoji od 50 % ugljika, pa ukupna količina organske tvari teorijski mora biti dvostruko viša od OOU. Međutim, ne mora sav OOU biti raspoloživ za vezanje metala, pa se uzima vrijednost od 1,65 na temelju istraživanja Sjöstedt i sur.³⁹⁰ Za modeliranje su uzete konstantne vrijednosti pH od 8,2 i temperature od 27,4 °C (srednja vrijednosti temperatura izmjerениh tijekom uzorkovanja metodom DGT u kolovozu 2023. godine). Program je računao ionsku jakost na temelju unešenih podataka. Aktiviteti su računati prema Daviesovoj jednadžbi, a unešene su ukupne

koncentracije metala (Zn, Cd, Pb, Cu, Ni i Co) koje su pridružene slobodnim, dvostruko nabijenim ionima metala. Uz izmjerene koncentracije, zadane su koncentracije glavnih konstituenata morske vode (Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Br^- , F^- , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} i H_3BO_3) prema Dittmarovom pravilu (Tablica 18, poglavlje 3.8). Parametri kao što su alkalitet i redoks potencijal te mogućnost adsorpcije na čvrste čestice nisu uzeti u obzir prilikom modeliranja.

Modeliranje specijacije Cd pokazalo je najveću zastupljenost anorganskih vrsta među kojima prosječno najviše udjele očekivano imaju spojevi s klorom, CdCl^+ i CdCl_2 . Slijede spojevi s organskom tvari, a zatim slobodni ion Cd^{2+} . Model je predviđao i nastanak hidroksidnog kompleksa CdOH^+ , bromida CdBr^+ , sulfata ($\text{CdSO}_4{}_{(\text{aq})}$ i $\text{Cd}(\text{SO}_4)_2^{2-}$) i karbonata, odnosno iona hidrogenkarbonata (CdCO_3 i CdHCO_3^+). Svi navedeni ioni su prisutni u svim uzorcima u približno konstantnim udjelima nižima od 1 %.

Modelni podaci pokazuju dominaciju organskih specija Cu. Poznat je veoma izraženi afinitet Cu za vezanje s organskom tvari pa je prosječni udio njihovih spojeva viši od 99 % u svim točkama uzorkovanja. Jedina anorganska specija je CuCO_3 koja je u niskim udjelima (0,02 % ili niže) predviđena u uzorcima uzetima unutar zaljeva (postaje DGT-3 do DGT-9).

Daleko najzastupljenija kemijska vrsta Co jest njegov slobodni ion, a slijedi CoSO_4 , CoCl^+ i karbonati. Hidroksidi (CoOH^+ i Co(OH)_2) i CoF^+ predviđeni su u gotovo jednakim udjelima u svim uzorcima zbog čega su standardne devijacije prikazane u Tablici 29 približno jednake nuli. Predviđene organske specije Co su gotovo zanemarive i prisutne su u prosječnom udjelu nižem od 0,5 %. Ovakvi modelni podaci su u suprotnosti s nekim ranije prikazanim literaturnim podacima u kojima se, primjerice, Co nije u potpunosti zadržavao na kelirajućim smolama u procesima pretkoncentracije bez digestije zbog sumnje na kompleksiranje s organskom tvari.^{204,205}

Rezultati modeliranja specijacije Ni pokazuju da je dominantna kemijska vrsta Ni^{2+} . U prosječnom udjelu od oko 14 % prisutni su organski kompleksi ovog metala, a u približno jednakom udjelu prisutan je i NiSO_4 (12,5 %). Prosječno iznad 1 % prisutni su još NiCO_3 , NiHCO_3^+ i NiCl^+ . Ostali spojevi (hidroksidi i halogenidi) predviđeni su u svih uzorcima u udjelima nižima od 0,6 %.

Slično kao kod Cu, model predviđa najviši udio organskih vrsta Pb. Prosječno su ove kemijske specije prisutne u udjelu od gotovo 99 %. Za razliku od Cu, predviđene anorganske specije Pb su brojnije. Zbroj prosječnih udjela spojeva s klorom (PbCl^+ , PbCl_2 , PbCl_3^- i

PbCl_4^{2-}) iznosi približno 0,6 %, a karbonata ($\text{Pb}(\text{CO}_3)^{2-}$, $\text{PbCO}_{3\text{(aq)}}$ i PbHCO_3^+) 0,6 %. Model predviđa i PbOH^+ , PbSO_4 i Pb^{2+} u udjelima nižim od 0,1 %.

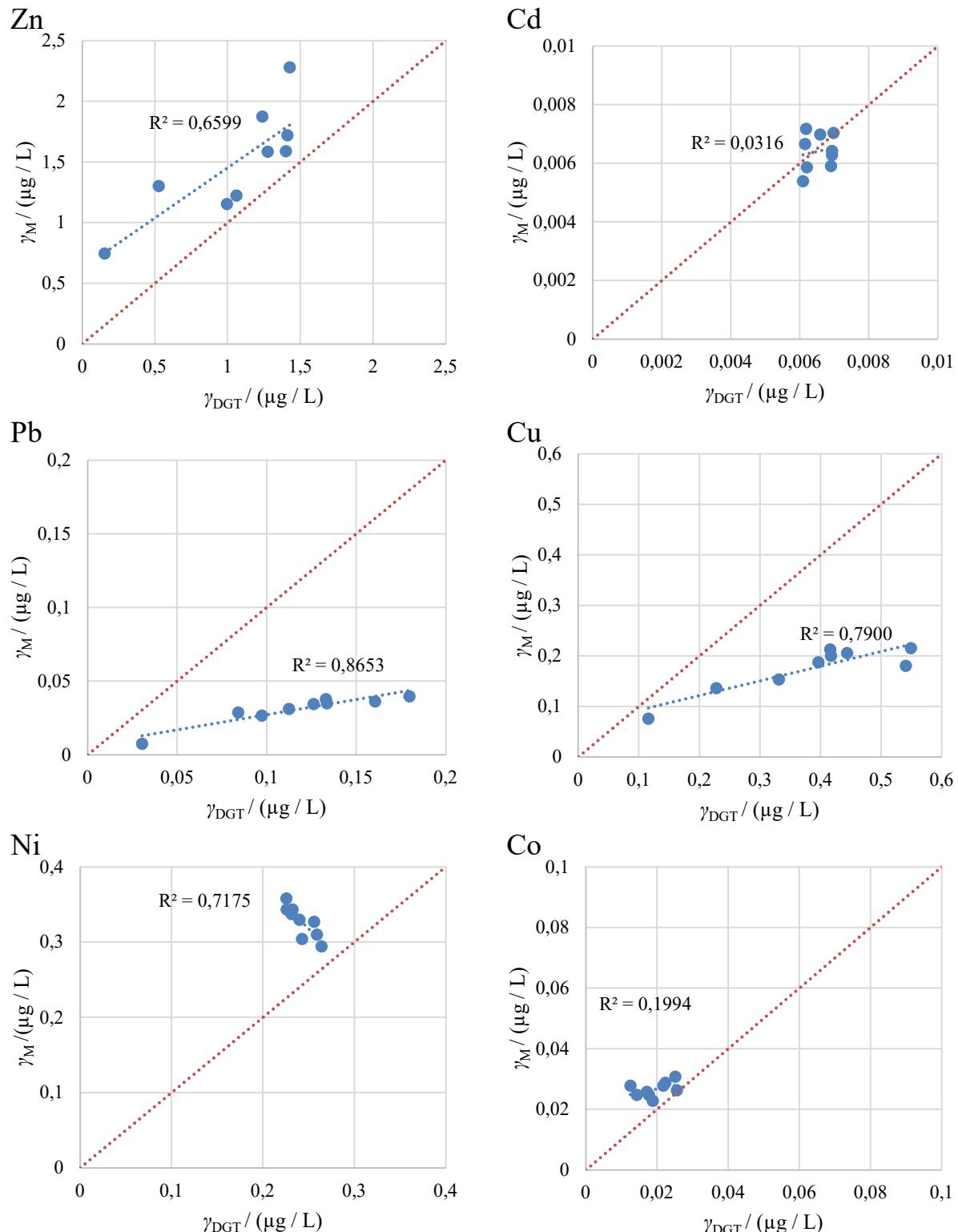
Najzastupljenija kemijska vrsta Zn je njegov slobodni ion (prosječno 39 %), a slijede spojevi s klorom (ZnCl^+ , $\text{ZnCl}_{2\text{(aq)}}$, ZnCl_4^{2-} , ZnCl_3^-) s ukupnim prosječnim udjelom od približno 27 %. Previđeni su spojevi s organskom tvari u udjelu od oko 11,5 %, a značajni su udjeli sulfata ($\text{Zn}(\text{SO}_4)_2^{2-}$ i $\text{ZnSO}_{4\text{(aq)}}$), hidroksida (ZnOH^+ , $\text{Zn}(\text{OH})_2\text{(aq)}$), i karbonata ($\text{ZnCO}_3\text{(aq)}$, ZnHCO_3^+ , $\text{Zn}(\text{CO}_3)_2^{2-}$). U niskim udjelima model predviđa i prisutnost ZnBr^+ (samo u uzorku s postaje DGT-6) i $\text{ZnH}_2\text{BO}_3^+$.

Usporedbom udjela anorganskih i organskih specija pojedinih elemenata s udjelima frakcije DGT u otopljenoj frakciji (Slika 38), a za koju se smatra da sadrži primarno anorganske kemijske vrste, dolazi do značajnih razlika. One su najizraženije kod Cu (prosječan w modelnih anorganskih specija iznosi 0,013 %, dok frakcija DGT iznosi 34 %, odnosno 40%) i Pb (modelnih 1,23 % naprema 68 % iz svibnja, odnosno 73 % iz kolovoza 2023. godine). Najbolja slaganja dvaju skupa podataka pokazuju Cd kod kojeg se prosječne vrijednosti razlikuju tek za 5 %. Razlozi ovako velikih neslaganja leže u prirodi razvijenih modela koji se baziraju na termodinamičkoj ravnoteži, dok metoda DGT podrazumijeva fluks kroz gelove te se uzorkivač DGT ne može smatrati ravnotežnim sustavom. Nadalje, iako se kompleksi metala s FA smatraju djelomično labilnima, spojevi s drugim organskim ligandima ne moraju imati takva svojstva, a njihovi koeficijenti difuzije svakako su niži od onih slobodnih iona.^{86,87,266,272} U konkretnom slučaju razlikama su mogle doprinijeti pretpostavke o omjerima raspodjele organske tvari između FA i HA i vrijednostima korištenih difuzijskih koeficijenata. Također treba imati na umu da su modeli specijacije namijenjeni prvenstveno za slatkovodne sustave.

Da bi se mogle usporediti modelne vrijednosti s onima dobivenim metodom DGT, u literaturi se koristi izraz 19 za modelnu (dinamičku) koncentraciju (γ_M):^{87,391}

$$\gamma_M = \gamma_{\text{s.i.}} + \gamma_{\text{an}} + \frac{\gamma_{\text{FA}} \cdot D_{\text{FA}}}{D_{\text{an}}} + \frac{\gamma_{\text{HA}} \cdot D_{\text{HA}}}{D_{\text{an}}} \quad (19)$$

gdje γ označava masenu koncentraciju, D difuzijski koeficijent, indeks M označava modelnu vrijednost, *s.i.* slobodni ion, *an* anorgansku frakciju, FA fulvičnu, a HA huminsku kiselinu.^{336,392} Rezultati usporedbe modelno dobivenih vrijednosti koncentracija koje mogu predstavljati potencijalno bioraspoloživu frakciju te vrijednosti dobivene metodom DGT (koncentracije u frakciji DGT iz kolovoza 2023. godine), prikazane su na Slici 43.



Slika 43. Usporedba vrijednosti izmjereneih metodom DGT (γ_{DGT}) i modelnih, dinamičkih koncentracija (γ_M) s koeficijentima determinacije

Iz usporedbi se vidi relativno dobro slaganje modelnih i eksperimentalnih podataka za Zn, Cd, Ni i Co, dok su za Pb i Cu modelni podaci značajno niži od eksperimentalnih. Model pokazuje nešto više vrijednosti Zn, Ni i Co, dok je relativno dobro slaganje Cd vjerojatno rezultat slabog vezanja ovog elementa za organsku tvar.⁸⁹ Rezultati se dobro slažu s istraživanjima morske vode, dok su u slatkovodnim sustavima prijavljena značajno bolja slaganja modela i eksperimentalnih podataka.^{85,86,89,92,98,393}

Iako su nagibi regresijskih pravaca niži od dijagonale grafova na Slici 43 (linije 1:1, tj. potpunog podudaranja dvije skupine podataka), eksperimentalni i modelni podaci za Pb i Cu pokazuju značajnu linearu korelaciju. Koeficijenti determinacije iznose 0,87 odnosno 0,79. Jaku korelaciju prema Pearsonu uz Pb ($r = 0,930$) i Cu ($r = 0,889$) pokazuju Zn ($r = 0,812$) te Ni ($r = -0,847$). Korelacija prema Pearsonu je za Co umjerena ($r = 0,446$), dok za Cd niska ($r = 0,178$) radi niskih vrijednosti koncentracija ovog elementa u promatranim uzorcima.

4.3. Raspodjela i frakcionacija elemenata u sedimentu Pulskog zaljeva

4.3.1. Razrada metode određivanja koncentracija elemenata u uzorcima sedimenta

Za analizu uzoraka sedimenta (dobivanje ukupnih koncentracija) korištene su tehnike ETAAS, FAAS i CV-AAS nakon mikrovalne digestije. Na temelju literaturnih izvora odabrani su omjeri reagenasa (HNO_3 , HF, H_2O_2 , H_3BO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), kao i temperaturni programi digestije.²³⁴ Radi konfiguracije sustava za mikrovalnu digestiju, metoda je prilagođena: korištene su manje mase uzoraka i razrijeđena HNO_3 ($\phi = 50\%$) kako bi na raspolaganju bio veći volumen kiseline kojim se mogu isprati eventualni ostaci uzorka s unutarnjih stijenki posuda za digestiju.

Mikrovalno su razorena najmanje dva poduzorka svakog uzorka (duplicati ili paralele). Tipična odvaga uzorka suhog sedimenta iznosila je 0,15 g s preciznošću precizne vase. Volumeni i koncentracije kiselina i drugih reagenasa bile su konstantne i dovoljne za digestiju svih odvaga uzoraka. Kalibracijski standardi pripremljeni su u HNO_3 , $\phi = 5\%$ (udio HNO_3 u razorenim uzorcima). Na temelju literaturnih izvora, preporuka proizvođača instrumenta te prema signalima materijala CRM, slijepih proba i uzoraka odabrani su modifikatori (tehnika ETAAS), jakosti struja na lampama i drugi instrumentni parametri (Tablice 30, 31 i 32). U navedenim tablicama prikazana su i dinamička područja kalibracije za pojedini element.

Tablica 30. Parametri analiza tehnikom ETAAS: λ = odabrana valna duljina, I = jakost struje, M = modifikatori, m = masa; t = trajanje; T_p = temperatura pirolize, T_a = temperatura atomizacije, LP = koncentracija zadnje točke kalibracijskog pravca, m_K = karakteristična masa

	λ / nm	I / mA	M ($m / \mu\text{g}$)	$T_p / ^\circ\text{C}$ (t / s)	$T_a / ^\circ\text{C}$ (t / s)	LP / ($\mu\text{g} / \text{L}$)	$m_K /$ ($\text{pg} / (1 \% \text{ Abs})$)
As	193,70	380	Mg(NO ₃) ₂ (3) Pd(NO ₃) ₂ (5)	900 (10)	2000 (5)	50	12,4
Cd	228,80	4	Mg(NO ₃) ₂ (3) NH ₄ H ₂ PO ₄ (50)	700 (40)	1500 (7)	1	2,5
Co	242,49	30	Mg(NO ₃) ₂ (15)	500 (20)	2000 (5)	100	32
Cr	357,87	25	Mg(NO ₃) ₂ (15)	1700 (25)	2300 (6)	100	7,1
Cu	324,75	15	Mg(NO ₃) ₂ (3) Pd(NO ₃) ₂ (5)	1200 (10)	1900 (4)	200	19,3
Ni	232,00	25	-	1100 (20)	2300 (5)	100	14
Pb	283,31	440	Mg(NO ₃) ₂ (3) NH ₄ H ₂ PO ₄ (50)	850 (20)	1500 (4)	100	56,9

Volumen injektiranja uzorka (uključujući eventualna razrjeđenja) iznosio je 20 μL kod tehnike ETAAS (bez volumena modifikatora). Rezultati su korigirani na temelju iskorištenja materijala CRM morskog sedimenta IAEA-458 (IAEA-MESL), osim koncentracija Hg koje su korigirane prema iskorištenjima materijala IAEA-MESL-2019-TE s obzirom na to da je koncentracija ovog elementa u materijalu IAEA-458 preniska za odabranu metodu.

Dobivene su nezanemarive vrijednosti apsorbanci u digeriranim slijepim probama kod određivanja koncentracija As, Cr, Cu, Fe i Pb. Analize slijepih proba dobivenih posebnim digestijama samo s pojedinim reagensima (HNO₃, HNO₃+H₂O₂ i HNO₃+H₂O₂+HF+H₃BO₃) ukazale su na moguće interferencije uzrokovane prisutnošću H₃BO₃ i HF, odnosno produktima njihovih reakcija. Ovaj je problem riješen oduzimanjem vrijednosti slijepе probe od uzorka što je dalo i dobra iskorištenja kontrolnog standarda. Srednje vrijednosti iskorištenja kontrolnih standarda bile su u intervalu od 73,2 % (Co) do 126,5 % (As).

U Tablici 33 prikazane su granice detekcije (LOD) metodâ određivanja koncentracija elemenata u uzorcima sedimenta.

Tablica 31. Parametri analiza tehnikom FAAS: λ = odabrana valna duljina, I = jakost struje, \dot{V} = protok plina; P = visina plamenika; LP = koncentracija zadnje točke kalibracijskog pravca; γ_K = karakteristična koncentracija

ELEMENT	Fe	Mn	Zn
λ / nm	248,8	279,5	213,9
I / mA	6	6	2
$\dot{V}_{\text{C}_2\text{H}_2} / (\text{L} / \text{h})$	65	85	35
$\dot{V}_{\text{zrak}} / (\text{L} / \text{h})$	75	75	75
P / mm	6	6	6
LP / (mg / L)	do 5	do 5	do 0,5
$\gamma_K / ((\text{mg} / \text{L}) / (1 \% \text{ Abs}))$	0,120	0,030	0,006

Tablica 32. Parametri analiza tehnikom CVAAS: λ = valna duljina, I = jakost struje, LP = masa Hg na zadnjoj točki kalibracijskog pravca, m_K = karakteristična koncentracija

LAMPA	λ / nm	I / mA	LP / ng	$m_K / (\mu\text{g} / (1 \% \text{ Abs}))$
Hg	HCL	253,7	8	200

Tablica 33. Granice detekcije (LOD) za metode analize sedimenta

ELEMENT	$LOD / (\text{mg} / \text{kg suhe tvari})$
As	3,22
Cd	0,380
Co	2,29
Cr	5,99
Cu	10,9
Fe	1044
Hg	0,0100
Mn	69,4
Ni	4,40
Pb	4,21
Zn	28,0

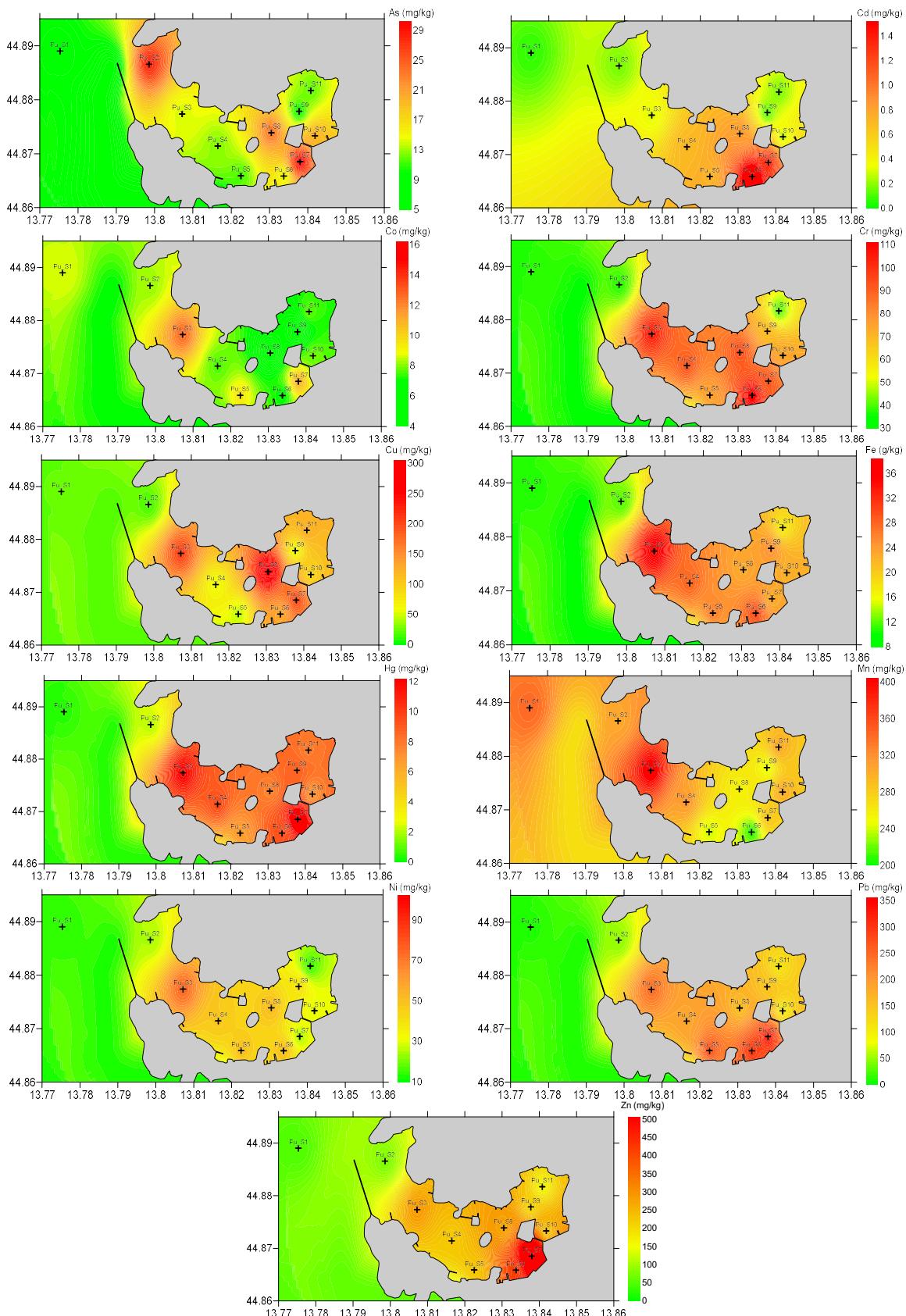
Granice detekcije (*LOD*) izračunate kao trostruka standardna devijacija signala digerirane slijepi probe ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HF} + \text{H}_3\text{BO}_3$). Analizom dobivene koncentracije u $\mu\text{g} / \text{L}$ preračunate su prema tipičnoj masi odvage od 0,15 g i krajnjem volumenu od 100 mL.

4.3.2. Koncentracije elemenata u sedimentu Pulske luke

Sedimentne jezgre uzorkovane su gravitacijskim jezgrilom. U sedimentnoj koloni su razdvojeni horizonti debljine 5 cm koji su potom liofilizirani. Ukupne duljine jezgri variraju od 10 cm (točke uzorkovanja PU-S3, PU-S5 i PU-S9) do 25 cm (točka PU-S4). Prostorna raspodjela As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Fe, Mn, Ni, Pb i Zn utvrđena je spektrometrijskim mjerjenjima (ETAAS, FAAS i CVAAS) uzoraka sedimenta nakon potpune mikrovalne digestije kako je opisano ranije. Slika 44 prikazuje raspodjelu koncentracija pojedinih elemenata u površinskom horizontu sedimenta (do 5 cm dubine). Kod većine elemenata vidljive su više koncentracije u zaljevu u odnosu na referentnu točku izvan zaljeva (PU-S1), kao što se pokazalo i ispitivanjima morske vode (poglavlje 4.1.2). Iznimku predstavljaju koncentracije Mn, čije su koncentracije relativno ujednačene u svim točkama ispitivanja (vrijednosti RSD svih mjerena je niža od 20 %) te u pojedinim uzorcima (horizontima) As, Cd i Co.

Veći dio prikazanih koncentracija Cd smatra se indikativnim vrijednostima s obzirom na to da su niže od izračunate granice detekcije metode (0,380 mg / kg suhe tvari, Tablica 33, poglavlje 4.3.1). Ipak, i kod ovog elementa vidljiv je jasan rast koncentracija prema unutrašnjosti zaljeva s najvišim vrijednostima u području brodogradilišta (točke uzorkovanja PU-S6 i PU-S7). U uzorcima s tih postaja izmjerene su koncentracije Cd višestruko više od granice detekcije.

Uzeti horizonti sedimenta i rezultati njihovih analiza prikazani su u Tablici 34. Odvojeno je ukupno 35 uzoraka (horizonata). U tablici su prikazani prema rednom broju točke uzorkovanja (Slika 9) te maksimalnoj dubini horizonta. Prikazani su rezultati u mg / kg suhe tvari za sve elemente izuzev Fe, čiji su rezultati prikazani u g / kg suhe tvari. Uz dobivene koncentracije, prikazane su i standardne devijacije rezultata. Indikativne vrijednosti koncentracija Cd i pripadajuće standardne devijacije označene su sivo. Svaki rezultat je aritmetička sredina najmanje dva neovisna ispitivanja (odvojene odvage, mikrovalne digestije i mjerena) pa su pripadajuće vrijednosti RSD u nekim slučajevima u širokom intervalu vrijednosti.



Slika 44. Prostorne raspodjele koncentracija elemenata u površinskom horizontu sedimenta u Pulskom zaljevu

Tablica 34. Uzorkovani sediment u pojedinoj točki uzorkovanja i rezultati analize ukupnih koncentracija u horizontima sedimenta (sa standardnim devijacijama u zagradama). Sve su vrijednosti izražene prema kilogramu suhe tvari. Sivo su označene vrijednosti Cd niže od LOD

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
As (mg / kg)	5	8,99 (2,13)	28,2 (8,58)	14,3 (3,45)	12,7 (4,11)	11,6 (4,68)	14,8 (5,46)	30,3 (4,31)	23,6 (0,364)	10,2 (2,03)	19,7 (0,429)	12,0 (0,685)
	10	2,55 (0,674)	36,7 (24,4)	18,8 (0,331)	11,3 (2,57)	14,1 (6,51)	13,8 (1,24)	29,7 (2,51)	26,8 (1,51)	13,3 (4,92)	18,3 (3,11)	7,40 (0,363)
	15	13,0 (0,0245)	23,2 (8,78)	-	13,9 (0,131)	-	14 (3,92)	44,8 (30,8)	48,7 (13,3)	-	13,0 (3,89)	7,40 (1,27)
	20	-	-	-	16,1 (7,74)	-	13,3 (5,28)	-	31,7 (7,47)	-	9,39 (7,42)	-
	25	-	-	-	10,6 (3,86)	-	-	-	-	-	-	-
Cd (mg / kg)	5	0,0751 (0,00461)	0,179 (0,108)	0,330 (0,124)	0,153 (1,03)	0,729 (0,420)	0,452 (0,0905)	1,35 (0,258)	0,840 (0,222)	0,134 (0,00623)	0,293 (0,0971)	0,181 (0,0335)
	10	0,560 (0,461)	0,258 (0,171)	0,502 (0,197)	0,373 (0,0730)	0,289 (0,0992)	0,955 (0,106)	1,23 (0,480)	0,454 (0,0648)	0,300 (0,100)	0,378 (0,0663)	0,204 (0,0320)
	15	0,130 (0,0506)	0,166 (0,0634)	-	0,241 (0,0705)	-	1,195 (0,232)	2,68 (1,59)	0,589 (0,227)	-	0,460 (0,0826)	0,217 (0,143)
	20	-	-	-	0,255 (0,0987)	-	0,862 (0,250)	-	0,363 (0,0328)	-	0,587 (0,0722)	-
	25	-	-	-	0,193 (0,0860)	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 34. (nastavak)

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Co (mg / kg)	5	8,78 (2,85)	8,33 (0,924)	12,7 (0,410)	7,73 (3,59)	9,58 (2,71)	6,92 (1,37)	11,1 (0,238)	4,72 (0,675)	4,89 (0,195)	7,89 (2,17)	7,82 (0,572)
	10	7,16 (1,16)	13,0 (2,26)	9,40 (1,32)	9,01 (2,57)	11,2 (3,03)	7,99 (0,989)	10,6 (0,465)	3,58 (0,101)	5,55 (0,296)	4,18 (1,98)	6,11 (2,32)
	15	8,46 (1,13)	8,42 (0,537)	-	11,5 (2,03)	-	8,37 (1,42)	8,15 (7,42)	4,54 (0,287)	-	8,23 (1,22)	6,03 (4,30)
	20	-	-	-	12,9 (4,26)	-	8,54 (0,170)	-	4,57 (0,361)	-	9,62 (0,439)	-
	25	-	-	-	8,28 (0,206)	-	-	-	-	-	-	-
Cr (mg / kg)	5	38,0 (14,0)	38,4 (7,55)	104 (15,1)	92,2 (0,915)	76,4 (1,74)	113 (11,9)	91,5 (9,16)	93,6 (5,33)	69,4 (6,29)	73,9 (7,21)	41,0 (5,24)
	10	28,1 (8,24)	51,8 (17,0)	96,8 (16,5)	86,0 (4,61)	86,5 (2,94)	96,6 (15,5)	90,3 (13,6)	87,2 (15,9)	76,0 (1,67)	92,3 (13,2)	77,3 (16,3)
	15	39,7 (8,43)	48,2 (6,30)	-	88,6 (1,74)	-	111 (0,588)	103 (14,3)	104 (5,56)	-	82,0 (0,395)	65,1 (0,467)
	20	-	-	-	97,4 (9,00)	-	118 (1,524)	-	97,2 (9,90)	-	91,3 (8,89)	-
	25	-	-	-	88,8 (8,95)	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 34. (nastavak)

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Cu (mg / kg)	5	25,5 (2,55)	19,3 (0,758)	205 (9,58)	61,2 (4,01)	46,7 (5,96)	132 (14,4)	201 (27,8)	312 (68,9)	61,7 (0,110)	93,2 (4,54)	126 (23,9)
	10	15,0 (2,22)	37,6 (11,4)	175 (7,82)	47,4 (5,04)	62,3 (5,83)	134 (6,91)	219 (22,6)	403 (36,9)	65,0 (7,05)	107 (0,588)	139 (47,3)
	15	13,7 (3,27)	19,0 (3,06)	-	68,3 (5,09)	-	134 (16,5)	230 (21,0)	390 (147)	-	129 (20,2)	179 (18,4)
	20	-	-	-	49,7 (12,7)	-	120 (5,01)	-	258 (37,9)	-	130 (15,1)	-
	25	-	-	-	57,0 (11,5)	-	-	-	-	-	-	-
Fe (g / kg)	5	10,9 (0,198)	12,2 (0,444)	37,5 (1,82)	28,1 (3,58)	26,2 (2,64)	30,1 (2,15)	22,7 (3,04)	23,1 (1,67)	25,1 (0,323)	22,6 (1,04)	17,5 (0,233)
	10	9,56 (0,917)	12,5 (0,273)	32,2 (7,23)	26,8 (1,78)	30,2 (0,0918)	31,4 (4,64)	22,6 (1,96)	23,9 (0,758)	25,4 (0,0933)	24,8 (2,34)	18,9 (1,12)
	15	12,1 (0,109)	12,9 (0,0829)	-	31,1 (2,42)	-	30,6 (0,0808)	24,9 (0,589)	24,2 (1,72)	-	24,8 (0,750)	21,6 (0,769)
	20	-	-	-	37,2 (12,2)	-	32,4 (2,67)	-	26,3 (3,49)	-	25,9 (5,33)	-
	25	-	-	-	28,5 (0,909)	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 34. (nastavak)

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Hg (mg / kg)	5	0,527 (0,0349)	2,24 (1,13)	12,1 (0,050)	9,61 (0,894)	6,75 (1,08)	9,25 (0,723)	14,5 (5,14)	7,65 (0,645)	8,76 (1,18)	6,93 (0,379)	7,93 (0,562)
	10	0,464 (0,0420)	2,62 (0,402)	38,4 (5,65)	10,9 (0,922)	12,9 (0,319)	11,2 (0,528)	15,5 (4,00)	7,49 (0,473)	12,1 (1,47)	7,47 (0,575)	8,21 (1,24)
	15	0,227 (0,0709)	1,44 (0,758)	-	6,15 (0,821)	-	11,4 (0,0590)	23,5 (3,42)	8,71 (0,0778)	-	7,16 (0,488)	7,32 (0,403)
	20	-	-	-	8,46 (1,83)	-	11,8 (0,555)	-	11,9 (3,30)	-	8,13 (2,27)	-
	25	-	-	-	8,01 (0,634)	-	-	-	-	-	-	-
Mn (mg / kg)	5	343 (25,4)	307 (11,3)	414 (14,6)	315 (45,4)	241 (56,6)	210 (12,9)	287 (75,2)	257 (11,9)	246 (26,3)	303 (1,86)	305 (6,63)
	10	309 (10,4)	296 (22,6)	391 (29,0)	273 (7,90)	267 (31,7)	273 (36,2)	254 (57,8)	254 (3,74)	262 (69,1)	307 (24,2)	303 (13,9)
	15	335 (16,1)	282 (37,4)	-	329 (49,2)	-	263 (28,1)	309 (23,1)	277 (6,83)	-	312 (21,2)	240 (109)
	20	-	-	-	331 (8,96)	-	267 (34,7)	-	262 (32,6)	-	321 (29,7)	-
	25	-	-	-	277 (21,6)	-	-	-	-	-	-	-

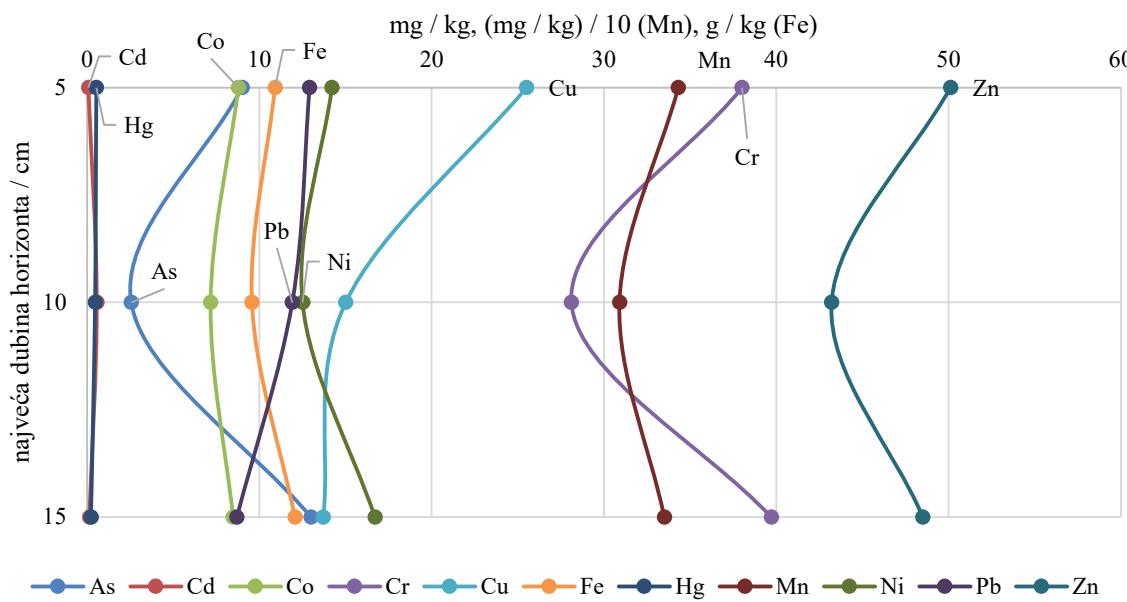
Tablica 34. (nastavak)

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ni (mg / kg)	5	14,2 (0,510)	25,6 (1,01)	74,3 (3,16)	48,4 (7,55)	50,4 (0,638)	50,8 (1,10)	25,8 (2,90)	51,9 (2,25)	40,9 (4,61)	30,7 (2,43)	15,9 (1,85)
	10	12,5 (0,418)	25,3 (2,37)	61,4 (11,5)	53,4 (16,1)	60,6 (2,88)	55,3 (6,83)	19,3 (2,39)	47,9 (0,351)	44,8 (2,14)	34,8 (0,517)	15,6 (2,04)
	15	16,7 (0,179)	24,6 (0,00744)	-	56,8 (4,89)	-	53,0 (1,08)	28,2 (3,68)	57,2 (6,81)	-	38,3 (1,87)	13,0 (0,956)
	20	-	-	-	53,7 (3,62)	-	59,6 (8,28)	-	51,7 (5,59)	-	34,1 (8,33)	-
	25	-	-	-	46,6 (0,488)	-	-	-	-	-	-	-
Pb (mg / kg)	5	12,9 (1,77)	49,0 (3,93)	241 (12,6)	188 (43,9)	274 (8,00)	296 (27,0)	327 (48,1)	160 (20,6)	151 (2,56)	103 (2,85)	115 (9,48)
	10	11,9 (1,66)	68,0 (6,64)	568 (3,90)	166 (3,92)	445 (0,668)	381 (51,8)	417 (16,1)	140 (12,8)	181 (20,3)	103 (10,4)	113 (,604)
	15	8,69 (3,04)	34,8 (1,49)	-	196 (2,06)	-	378 (14,9)	554 (44,8)	145 (11,7)	-	119 (8,91)	159 (13,4)
	20	-	-	-	137 (8,76)	-	372 (14,9)	-	166 (22,0)	-	128 (14,7)	-
	25	-	-	-	192 (5,55)	-	-	-	-	-	-	-

Tablica 34. (nastavak)

ELEMENT (mjerna jedinica)	DUBINA / cm	POSTAJA (PU-S)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Zn (mg / kg)	5	50,1 (15,2)	79,6 (6,56)	293 (6,49)	225 (23,5)	232 (14,4)	420 (44,7)	821 (21,6)	276 (10,4)	207 (5,17)	233 (5,85)	164 (0,488)
	10	43,2 (4,82)	96,7 (23,0)	513 (79,5)	253 (23,3)	306 (28,8)	686 (11,8)	913 (10,4)	340 (6,83)	229 (26,3)	263 (16,0)	214 (32,4)
	15	48,5 (10,0)	63,3 (3,59)	-	289 (3,81)	-	716 (52,9)	1341 (21,2)	363 (0,950)	-	321 (9,47)	239 (20,6)
	20	-	-	-	282 (7,15)	-	650 (49,6)	-	297 (38,2)	-	332 (5,79)	-
	25	-	-	-	268 (23,5)	-	-	-	-	-	-	-

Najviše koncentracije elemenata nisu izmjerene redovito na postajama u unutarnjem zaljevu, niti je kod svih elemenata vidljivo progresivno povećanje ulaskom u zaljev kao što se može primijetiti kod morske vode. One su zabilježene u točkama PU-S2 (ulazak u Pulski zaljev i Štinjansku uvalu sa zatvorenim kamenolomom i lučicom – As), PU-S3 (točka na plovnom putu između bivše vojne zone Muzil i luke Zonki – Co, Fe, Hg, Mn, Ni) te PU-S6 i PU-S7 (područje brodogradilišta – Cd, Cr, Pb, Zn). Najviša koncentracija Cu je zabilježena u uzorku s dubine od 5 cm do 10 cm s točke PU-S8 koja se nalazi između otoka Uljanik koji je u krugu brodogradilišta i ulaska u marinu. Prostorne raspodjele ukazuju na mogući antropogeni unos svih analiziranih elemenata izuzev Mn i donekle Co. Na to ukazuju i relativno ujednačene vrijednosti koncentracija većine elemenata među horizontima sedimenta na referentnoj točki PU-S1 (Slika 45), dok na drugim točkama koncentracije pokazuju izraženije razlike među horizontima. Drugim riječima, u sedimentu otvorenog mora vrijednosti koncentracija u površinskom horizontu su približno na razini koncentracija u dubljim horizontima ili niži (s izuzetkom Cu, Hg, Pb i Zn), što nije slučaj na točkama uzorkovanja koje su se nalazile unutar zaljeva.



Slika 45. Profili koncentracija na točki PU-S1. Radi čitljivosti su prikazane koncentracije Mn podijeljene s faktorom 10, Fe u g / kg suhe tvari, a ostalih elemenata u mg / kg suhe tvari

Izmjerene koncentracije elemenata u uzorcima su veoma slične podacima iz ranijeg istraživanja provedenog u Pulskom zaljevu (Tablica 35), iako je raspodjela točaka uzorkovanja bila znatno drugačija.³²⁹

Tablica 35. Koncentracije elemenata u uzorcima sedimenta s područja Sjevernog Jadrana

LOKACIJA		Pulski zaljev, ovo istraživanje	Pulski zaljev ³²⁹	Sjeverni Jadran, otvoreno more ³⁹⁴	Sjeverni Jadran, otvoreno more ³⁹⁵	Šibenska luka ³⁹⁶	Riječka luka ⁵⁷	Tršćanski zaljev ³⁹⁷	Venecijanska luka ³⁹⁸
DUBINA		površinski sediment					do 35 cm	površinski sediment	
As	mg /kg suhe tvari	8,99-30,3	12-32	1-9	-	18,3-41,4	9,50-37,7	-	-
Cd		0,0751-1,35	0,1-0,8	-	-	0,39-0,95	0,14-4,66	-	0,4-4,0
Co		4,72-12,7	-	4-12	-	-	-	-	-
Cr		38-113	25-150	40-129	42-134	20,1-71,2	42,7-119	26-146	14-66
Cu		19,3-312	45-200	4,1-33,4	8,2-39	26,2-374	30,6-429	10-50	10-92
Fe		10910-37539	-	12700-31000	10000-24000	-	-	-	15150-75190
Hg		0,527-14,5	3-12	0,085-1,23	0,01-0,23	2,18-15,0	0,10-8,06	0,06-23,3	0,5-4,8
Mn		210-414	-	262-681	200-800	323-871	228-478	336-979	338-713
Ni		14,2-74,3	12-30	19-86	26-112	17,1-552	54,8-143	26-150	8-59
Pb		12,9-327	75-400	7-51	-	61,7-469	23,6-637		50-131
Zn		50,1-821	110-920	29-167	-	83,8-687	69,8-1260	33-145	97-524

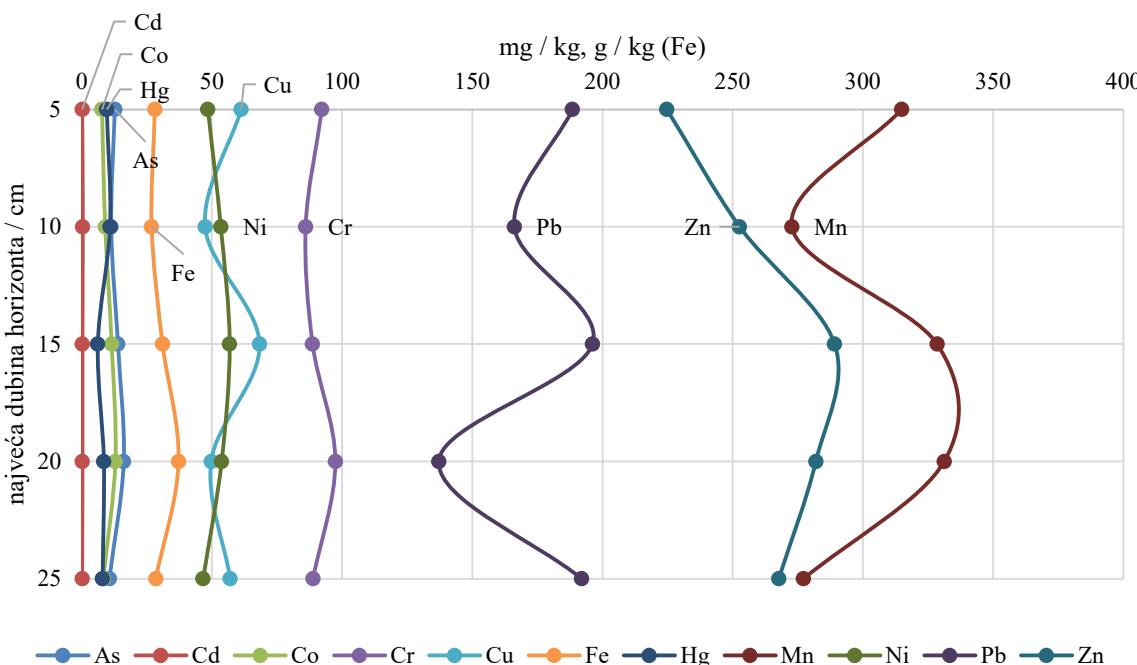
Izmjerene su više koncentracije As, Cu, Hg, Pb, Zn i donekle Fe u odnosu na podatke s otvorenog mora Sjevernog Jadrana, no koncentracije svih elemenata vrlo su bliske vrijednostima izmjerenim u drugim jadranskim lukama.^{57,394-397} Intervali koncentracija Co, Cr, Fe i Ni se izvanredno slažu s dostupnim podacima s otvorenog mora, odnosno, radi se o vrijednostima koncentracija na razini pozadinskih signala. To ne isključuje pretpostavku o antropogenom unosu ovih elemenata jer su jasno vidljive više koncentracije unutar zaljeva u odnosu na točke PU-S1 i PU-S2.

Kadmij nije određivan u dostupnim istraživanjima otvorenog mora ili su njegove koncentracije bile niže od granice detekcije navedene u pregledanoj literaturi (1 mg / kg suhe tvari).^{394,395} Najviše koncentracije Mn izmjerene u uzorcima iz Pulskog zaljeva značajno su niže od prijavljenih koncentracija za uzorke s otvorenog mora i drugih jadranskih luka izuzev Riječke luke.⁵⁷ Ipak, treba uzeti u obzir da se radi o elementu osjetljivom na uvjete oksičnosti te da se načini pripreme uzorka razlikuju među dostupnim literurnim podacima. Naime, u navedenim radovima su korištene zlatotopka, potpuna digestija s i bez upotrebe HClO₄, digestija jednakim volumenima HNO₃ i HCl i digestija samo s HNO₃. Za digestiju uzorka iz Sjevernog Jadrana i venecijanske luke radi analize Hg korištene su HNO₃ i H₂SO₄.³⁹⁵ Sve predstavljene koncentracije u Tablici 35 izuzev rezultata istraživanja u Riječkoj luci su rezultati ispitivanja površinskih sedimenata, pa su podaci usporedivi.

Promatrajući ukupne koncentracije analiziranih elemenata i njihove prostorne raspodjele, kao najznačajnije onečišćujuće tvari se u Pulskom zaljevu pokazuju Hg i Pb. Ranija istraživanja sedimenta u talijanskom dijelu Sjevernog Jadrana pokazala su i širi interval vrijednosti koncentracija Hg.³⁹⁹ Više koncentracije Hg su karakteristične za ovaj dio svijeta, kako će biti objašnjeno kasnije. S druge strane, najslabiji antropogeni utjecaj je vidljiv kod Co, Cr, Mn, Ni i Fe. Zanimljivo je da su najviše koncentracije svih navedenih elemenata pronađene u točki PU-S3 i to u površinskom uzorku za Co, Cr, Mn, Ni i Fe, a u horizontu od 5 cm do 10 cm dubine za Hg i Pb.

Koncentracije većine metala rastu s dubinom horizonta, dosežući pritom maksimalne vrijednosti u horizontima dubine 10 cm do 15 cm ili 15 cm do 20 cm. Uzimajući u obzir pretpostavljenu brzinu sedimentacije od 0,15 cm / god izmjerenu s pomoću ²¹⁰Pb, ovi horizonti odgovaraju periodu najveće industrijske aktivnosti u zaljevu: sedimentacija na dubini od 10 cm se odvijala prije otprilike 67, na dubini od 15 cm prije 100, a na dubini od 20 cm prije 133 godine (zadnje desetljeće 19. stoljeća, otprilike 40 godina nakon osnutka

brodogradilišta Uljanik).⁴⁰⁰ Slika 46 prikazuje profile koncentracija na točki PU-S4, gdje je analizirana najdulja sedimenta jezgra s pet horizonta. Na konkretnoj točki uzorkovanja iznimku u pogledu dubina na kojima su izmjerene najviše koncentracije predstavlja Hg čiji je maksimum koncentracije izmjerena u drugom horizontu, na dubini od 5 cm do 10 cm.



Slika 46. Profili koncentracija na točki PU-S4. Koncentracije svih elemenata prikazane su u mg / kg suhe tvari izuzev Fe čiji su rezultati prikazani u g / kg suhe tvari

Inicijalno su faktori obogaćenja sedimenta (EF) izračunati za svaki uzorak prema izrazu 15 (poglavlje 3.9), srednjoj vrijednosti koncentracijâ promatranog elementa (M_{pozadina}) i Fe kao konzervativnom elementu (X_{pozadina}) u svim horizontima na referentnoj točki PU-S1. Izračun prema srednjoj vrijednosti koncentracija u točki PU-S1 je odabran jer, iako je kod nekih elemenata (Cu, Hg, Pb, Zn) jasno vidljiv rast koncentracija od dubljih horizonata prema površinskom sedimentu na referentnoj točki PU-S1 (obogaćenje u novije vrijeme), kod ostalih su elemenata u najdubljem horizontu uzetom na referentnoj točki dobivene nešto više koncentracije u odnosu na neke ili sve horizonte iznad (smanjenje onečišćenja u novije vrijeme). Za normalizaciju se kao konzervativni element najčešće koriste Al, Li, Fe ili Ti.^{340,342-349} S obzirom na analitička ograničenja tijekom određivanja ukupnih koncentracija elemenata u uzorcima sedimenta, odnosno nemogućnost određivanja ostalih navedenih elemenata dostupnim tehnikama i metodama atomske spektrometrije, isprva je odabранo Fe

iako se ono često izbjegava radi široke upotrebe u industrijskim procesima. I u ovom su slučaju evidentno više koncentracija Fe unutar zaljeva u odnosu na referentnu točku pa je, primjerice, maksimalna koncentracija Fe u točki PU-S7 3,5 puta viša od koncentracije na PU-S1. S druge strane, Mn je u konkretnom slučaju pokazao prilično konzervativno ponašanje kako u vertikalnoj, tako i u horizontalnoj raspodjeli (RSD svih određenih koncentracija je niža od 20 %) iako se ovaj element obično ne koristi za normalizaciju radi iznimne osjetljivosti na redoks potencijal.

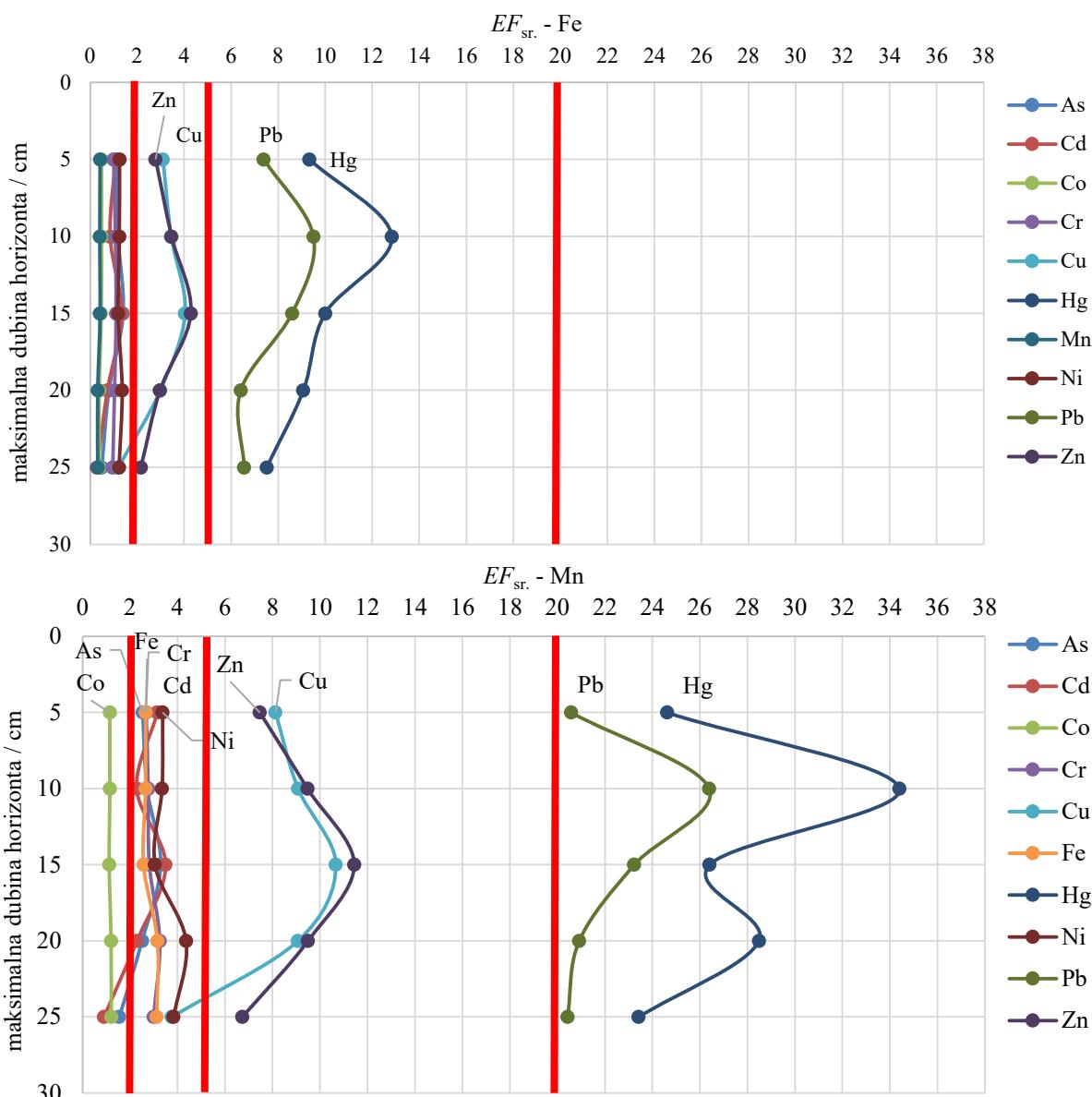
Na Slici 47 i u Tablici 36 prikazane su srednje vrijednosti faktora obogaćenja sedimenta ($EF_{sr.}$) po uzorkovanim horizontima (točke PU-S2 do PU-S11) prema Fe i Mn kao konzervativnim elementima. Najviše vrijednosti dobivene su u horizontima dubine od 5 cm do 20 cm, a najniže uglavnom u površinskom sedimentu i horizontu na dubini od 20 cm do 25 cm na točki PU-S4 što ukazuje na akumulaciju tijekom povijesti i smanjivanje onečišćenja u novije vrijeme. Crvene linije na Slici 47 označavaju granice četiri kategorija onečišćenja (Tablica 17, poglavlje 3.9): nema obogaćenja ili nisko obogaćenje ($EF \leq 2$), umjereno obogaćenje ($2 < EF \leq 5$), značajno obogaćenje ($5 < EF \leq 20$) i vrlo visoko obogaćenje ($20 < EF \leq 40$). Najviša kategorija (iznimno visoko obogaćenje, $EF > 40$) nije prikazana jer nisu dobivene srednje vrijednosti EF koje bi analizirane uzorke svrstale u ovu kategoriju.

Faktori obogaćenja prema Fe kao konzervativnom elementu pokazuju najčešće po jednu kategoriju obogaćenja niže u odnosu na faktore izračunate prema Mn. Srednje vrijednosti EF pokazuju da su Hg i Pb najznačajnije onečišćujuće tvari u Pulskom zaljevu. Vrijednosti pokazuju kategoriju značajnog obogaćenja ($5 < EF \leq 20$) prema Fe odnosno vrlo visokog obogaćenja ($20 < EF \leq 40$) prema Mn za ove elemente. Profili EF za Zn, Hg i Pb su usporedivi također prema dubini, s maksimalnom vrijednošću u horizontu od 5 cm do 10 cm dubine. Iako srednje vrijednosti EF ni u kojem slučaju ne prelaze granicu kategorije iznimno visokog obogaćenja ($EF > 40$), maksimalna dobivena vrijednost ovog faktora prema Fe za Hg iznosi 31,9 (PU-S3, horizont dubine 5 do 10 cm), a za Pb 21,6 (PU-S7, horizont dubine 10 cm do 15 cm), dok vrijednosti EF prema Mn u ovim horizontima iznose 79,6 odnosno 52,7.

Za razliku od drugih analiziranih elemenata, Hg pokazuje izrazito visoke vrijednosti i u površinskom horizontu te u horizontu s dubine od 20 cm do 25 cm (PU-S4). Izračun prema Mn u najvišu kategoriju onečišćenja živom svrstava i sve uzorke uzete na točki PU-S7 (brodogradilište). S obzirom na porast koncentracije Fe u ovim točkama u odnosu na pozadinski signal, samo horizont točke PU-S7 s dubine od 10 cm do 15 cm spada u kategoriju

visokog obogaćenja ($20 < EF \leq 40$) ako se EF računa prema Fe kao konzervativnom elementu, dok je to obogaćenje u ostalim spomenutim uzorcima u kategoriji značajnog.

Obogaćenje Pb najviše kategorije prema Mn kao konzervativnom elementu prisutno je u točki PU-S5 (horizont s dubine 5 cm do 10 cm), u svim uzorcima s točke PU-S7 i u dubljim horizontima s točke PU-S8. Sve spomenute točke u izračunu prema Fe spadaju u kategoriju značajnog obogaćenja, dok vrijednost EF horizonta s najveće dubine s točke PU-S8 iznosi 21,6 (donja granica kategorije visokog obogaćenja).



Slika 47. Srednje vrijednosti EF za analizirane elemente u sedimentu. Gornji graf prikazuje vrijednosti prema Fe kao konzervativnom elementu ($EF_{sr.} - Fe$), a donji prema Mn kao konzervativnom elementu ($EF_{sr.} - Mn$). Crvene linije predstavljaju granice kategorija obogaćenja

Tablica 36. Srednje vrijednosti faktora EF sa standardnim devijacijama (u zagradama) u uzorkovanim horizontima sedimenta. Oznaka M označava promatrani element u uzorku, a X konzervativni element prema izrazu 15

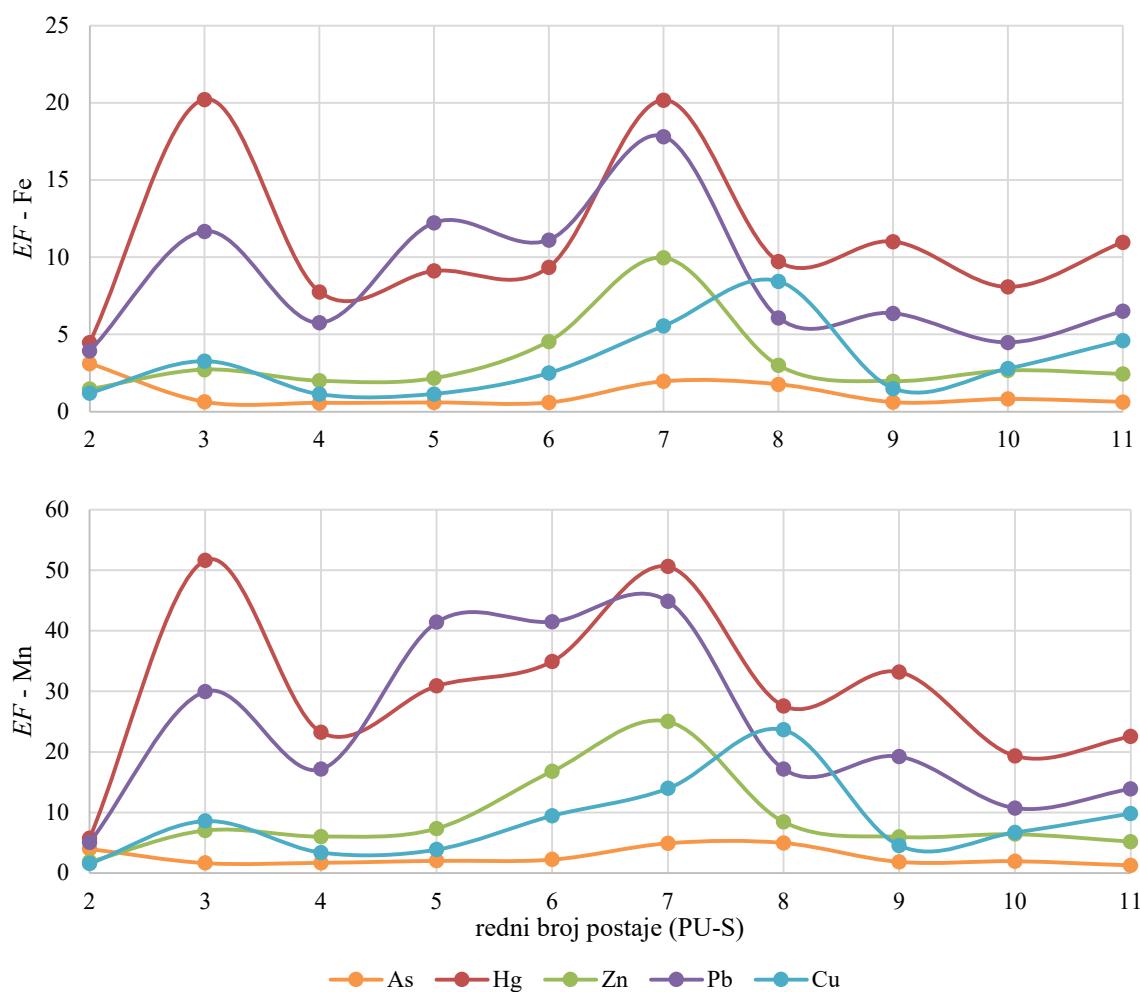
M	X	DUBINA SEDIMENTA				
		(0-5) cm	(5-10) cm	(10-15) cm	(15-20) cm	(20-25) cm
As	Fe	1,11 (0,765)	1,19 (0,983)	1,40 (0,940)	0,799 (0,462)	0,494 (0)
	Mn	2,53 (0,994)	2,72 (1,33)	3,28 (2,12)	2,50 (1,41)	1,54 (0)
Cd	Fe	1,07 (0,845)	0,851 (0,547)	1,33 (1,38)	0,731 (0,343)	0,288 (0)
	Mn	3,15 (3,27)	2,28 (1,64)	3,50 (3,53)	2,29 (1,22)	0,899 (0)
Co	Fe	0,477 (0,191)	0,483 (0,324)	0,469 (0,178)	0,385 (0,104)	0,388 (0)
	Mn	1,15 (0,275)	1,15 (0,441)	1,12 (0,220)	1,20 (0,314)	1,21 (0)
Cr	Fe	0,995 (0,167)	1,07 (0,146)	1,10 (0,151)	1,04 (0,135)	0,959 (0)
	Mn	2,68 (1,04)	2,76 (0,503)	2,81 (0,718)	3,25 (0,599)	2,99 (0)
Cu	Fe	3,09 (2,16)	3,44 (2,64)	4,03 (2,80)	2,98 (1,86)	1,20 (0)
	Mn	8,12 (5,83)	9,07 (7,56)	10,7 (7,46)	9,07 (5,54)	3,75 (0)
Fe	Fe	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)
	Mn	2,66 (0,816)	2,65 (0,638)	2,57 (0,591)	3,15 (0,464)	3,12 (0)
Hg	Fe	9,32 (3,10)	12,8 (7,11)	9,99 (6,63)	9,06 (2,18)	7,51 (0)
	Mn	24,6 (8,98)	34,4 (18,8)	26,4 (16,9)	28,5 (7,87)	23,4 (0)
Mn	Fe	0,422 (0,162)	0,409 (0,140)	0,418 (0,129)	0,325 (0,0522)	0,321 (0)
	Mn	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)	1,00 (0)
Ni	Fe	1,25 (0,305)	1,24 (0,333)	1,19 (0,393)	0,36 (0,228)	1,23 (0)
	Mn	3,34 (1,36)	3,34 (1,32)	3,04 (1,27)	4,36 (1,17)	3,83 (0)
Pb	Fe	7,37 (2,88)	9,49 (5,01)	8,59 (5,94)	6,40 (2,88)	6,55 (0)
	Mn	20,6 (11,2)	26,4 (16,1)	23,2 (16,3)	29,9 (12,0)	20,4 (0)
Zn	Fe	2,78 (1,90)	3,46 (2,14)	4,28 (3,51)	2,97 (1,04)	2,16 (0)
	Mn	7,46 (5,12)	9,47 (6,44)	11,4 (9,08)	9,49 (4,36)	6,73 (0)

U uzorcima sedimenta iz Pulskog zaljeva prisutno je umjereno obogaćenje Cu i Zn na temelju srednjih vrijednosti faktora obogaćenja. Maksimalne vrijednostima EF za ove elemente iznose 10,1 i 12,3, a dobivene su u uzorcima uzetima iz područja brodogradilišta (PU-S7 i PU-S8). Srednje vrijednosti faktora obogaćenja za ostale analizirane elemente ne pokazuju obogaćenje. Uzimajući Mn kao konzervativni element, vrijednosti EF_{sr} za Zn i Cu svrstavaju sediment iz Pulskog zaljeva u kategoriju značajnog obogaćenja, dok uzorke prema

vrijednostima faktora EF za ostale elemente izuzev Co svrstavaju u kategoriju umjerenog obogaćenja ($2 < EF \leq 5$). U ovu kategoriju se sediment svrstava i prema koncentracijama Fe kao promatranog elementa (M), ako se vrijednosti $EF_{sr.}$ računaju prema Mn kao konzervativnom elementu (X).

Na Slici 47 se također može primijetiti kako su vrijednosti $EF_{sr.}$ za sve elemente izuzev As, Cd i Cu u površinskom horizontu na razinama vrijednosti iz najdubljeg horizonta točke PU-S4 što ukazuje na značajno smanjenje onečišćenja u novije doba.

Iako srednje vrijednosti EF svih horizonata duž sedimentne jezgre ne omogućavaju direktni uvid u antropogenu aktivnost, prikaz ovih vrijednosti prema rednom broju postaje uzorkovanja daje uvid u prostornu raspodjelu elemenata u sedimentu (Slika 48).



Slika 48. Srednje vrijednosti EF nekih metala po točkama uzorkovanja. Gornji graf prikazuje vrijednosti dobivene prema Fe kao konzervativnom elementu, a donji prema Mn

Niže vrijednosti EF svih horizonata na ulasku u zaljev (točka PU-S2) u odnosu na ostale točke ukazuju na izvore gotovo svih analiziranih elemenata unutar zaljeva s najvišim vrijednostima uglavnom u području brodogradilišta, tj. na točkama PU-S7 i PU-S8 (Slika 48). Iznimku predstavljaju As s mogućim dodatnim izvorom u blizini točke ulaska u zaljev (PU-S2) i Hg s maksimalnom vrijednošću na točki PU-S3 (plovni put između bivše vojne zone Muzil i luke Zonki). Redoslijed elemenata prema padajućim vrijednostima EF u skladu je s istraživanjem provedenim, primjerice, na području riječke luke.⁵⁷ Vrijednosti EF su pritom izračunate prema Fe kao konzervativnom elementu i, pogotovo za Hg i Pb, bliske su vrijednostima EF koje su u ovom radu izračunate prema Mn kao konzervativnom elementu.

4.3.3. Određivanje koncentracija elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulske luke

4.3.3.1 Razrada metode

Metoda određivanja koncentracija elemenata rijetkih zemalja u sedimentu razrađena je na temelju ranije opisane metode za određivanje ovih elemenata u vodi. Mjerenja su provedena na instrumentu PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena). Odabir plinova i ugađanja njihovih protoka u kolizijsko-reakcijskoj ćeliji rađeni su ručno, prema literaturnim podacima o mogućim interferencijama i analizama referentnih materijala. Za optimizaciju su korišteni kalibracijski standardi (Analytika i CPACheM), otopina za optimizaciju ICP-MS sustava (Reagecon) i referentni materiali NCS DC 75301 i NCS DC 73309 (China National Analysis Center for Iron and Steel). Radi se referentnim materijalima morskog, odnosno riječnog sedimenta. Odabir izotopa napravljen je s pomoću referentnog materijala NCS DC 75301 (morski sediment), dok su za certificirani referentni materijal riječnog sedimenta postignuta nešto viša iskorištenja za pojedine elemente. Sve su analize napravljene na uzorcima koji su nakon mikrovalne digestije, filtriranja i dopunjavanja do 50 mL ili 100 mL (poglavlje 3.6.2.1) razrijeđeni s faktorom razrjeđenja 20. Korišten je stakleni, koncentrični raspršivač (*MicroMist*, 0,4 mL / min), Scottova komora za raspršivanje (3 °C) i plazmenik Fasselovog tipa. U Tablici 37 prikazani su izotopi i načini rada koji su pokazali najbolja iskorištenja referentnog materijala. Granice detekcije su određene kao trostruka vrijednost standardne devijacije niza mjerenja digeriranih slijepih probâ, prema tipičnoj masi od 0,15 g i volumenu od 50 mL. Instrumentni parametri su prikazani u Tablici 38. Za pojedine elemente korišten je He kao kolizijski plin pri različitim protocima, kako je prikazano u tablici.

Tablica 37. Parametri odabira izotopa pojedinog elementa iz skupine elemenata rijetkih zemalja: elementi s masenim brojevima (A), odabrani plin za čeliju CRC (način rada), postignuta iskorištenja materijala NCS DC 75301 (ε_{75301}) i NCS DC 73309 (ε_{73309}) te granice detekcije (LOD) u mg / kg suhe tvari

ELEMENT	A	NAČIN RADA	$\varepsilon_{75301} / \%$	$\varepsilon_{73309} / \%$	$LOD / (\text{mg} / \text{kg})$
Y	89	Ar	99,4±5,5	97,6±10,4	0,040
La	139	Ar	102,8±10,3	112,9±21,4	0,031
Ce	140	Ar	104,6±12,3	115,6±12,8	0,022
Pr	141	Ar	98,3±14,2	92,7±15,3	0,026
Nd	146	Ar	113,0±16,8	121,5±24,6	0,058
Sm	147	Ar+He	105,1±11,2	132,9±18,2	0,020
Eu	153	Ar+He	100,9±8,6	119,3±27,5	0,001
Gd	156	Ar+He	91,3±10,4	114,9±20,4	0,003
Tb	159	Ar	97,8±14,0	86,8±9,9	0,001
Dy	163	Ar	101,8±5,3	97,5±20,5	0,003
Ho	165	Ar+He	79,7±2,8	103,1±14,0	0,001
Er	166	Ar	97,9±11,8	105,4±16,2	0,004
Tm	169	Ar+He	80,6±12,9	90,3±14,0	0,001
Yb	173	Ar	100,6±9,6	103,9±23,7	0,002
Lu	175	Ar+He	78,3±7,6	100,0±14,3	0,001

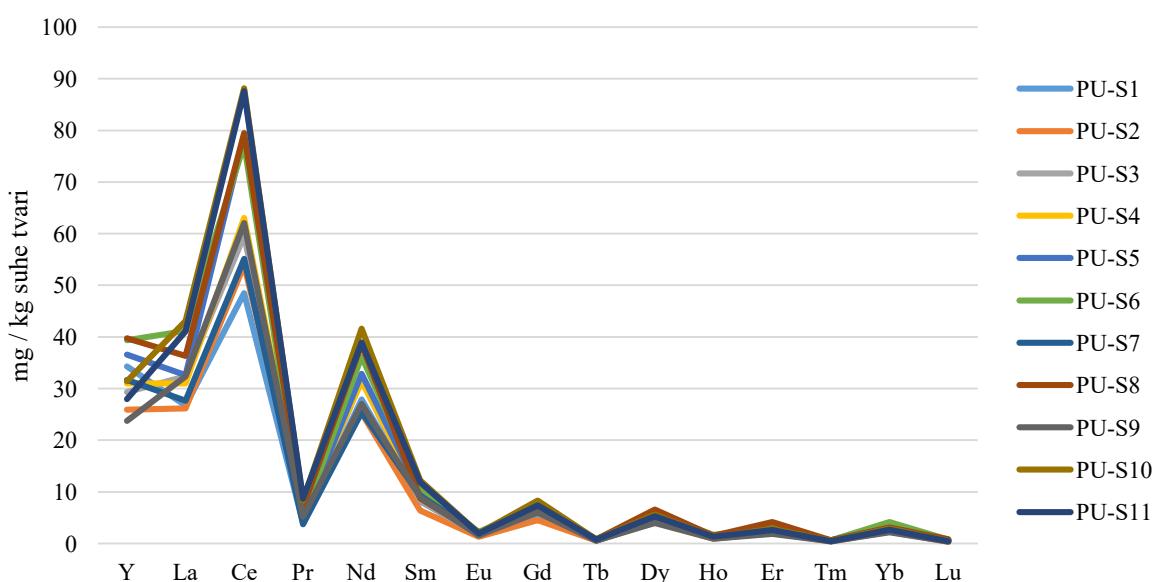
Iskorištenja referentnog materijala NCD DC 75301 su za većinu elemenata u intervalu $(100 \pm 10) \%$. Iznimke predstavljaju Nd (113,0 %), Ho (79,7 %), Tm (80,6 %) i Lu (78,3 %). Kako se radi o informativnim (necertificiranim) vrijednostima u materijalu NCR DC 75301, podaci o mjerenoj nesigurnosti mjerenih elemenata nisu dostupni. S obzirom na relativno uzak interval dobivenih vrijednosti, rezultati uzoraka sedimenta iz Pulskog zaljeva nisu korigirani prema iskorištenjima referentnog materijala.

Tablica 38. Instrumentni parametri za metodu određivanja elemenata rijetkih zemalja u uzorcima morskog sedimenta

NAČIN RADA	Ar	Ar+He, 120 mL / min	Ar+He, 100 mL / min
Protoci Ar / (L / min)			
za plazmu	9,0		7,5
pomoćni plin			1,8
kroz raspršivač	1		1,05
Udaljenost plazmenika od konusa / mm			5
RF snaga / kW			1,45
Brzina pumpe / rpm	20		10
Trajanje stabilizacije / s	30		20
Parametri ionske optike / V			
<i>1st Extraction Lens</i>	-68		-23
<i>2nd Extraction Lens</i>	-418		-160
<i>3rd Extraction Lens</i>	-474		-200
<i>Corner Lens</i>	-410		-180
<i>Mirror Lens Left</i>	82		30
<i>Mirror Lens Right</i>	60		30
<i>Mirror Lens Bottom</i>	45		40
<i>Entrance Lens</i>	2		1
<i>Entrance Plate</i>	-88		-100
<i>Fringe Bias</i>	-4,3		-8
<i>Pole Bias</i>			0
Parametri CRC			
<i>Plin</i>	-	He	
<i>Protok plina / (mL / min)</i>	0	120	100
Vremena integracije / μs		10000	

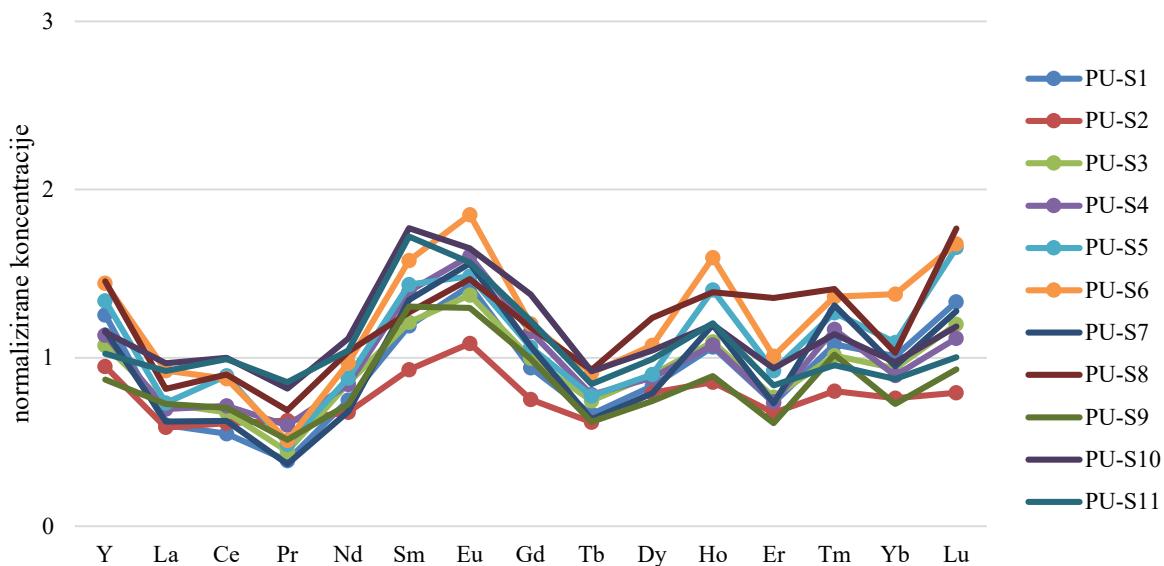
4.3.3.2 Koncentracije elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulskog zaljeva

Na Slici 49 prikazani su rezultati ispitivanja koncentracija elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulskog zaljeva. Budući da je cilj bio ispitati primjenjivost postupka mikrovalne digestije i mogućnost analize kvadrupolnim instrumentom ICP-MS te dobiti osnovni uvid u koncentracije lantanoida i Y, analizirani su samo uzorci površinskih horizonata sa svake postaje. Numeričke vrijednosti prikazane su u Tablici 39. Na slici 49 jasno je vidljiv slijed Oddo-Harkinsovog pravila, uz redovito više vrijednosti koncentracija Ce u odnosu na Y što nije bio slučaj u uzorcima morske vode s istog područja.

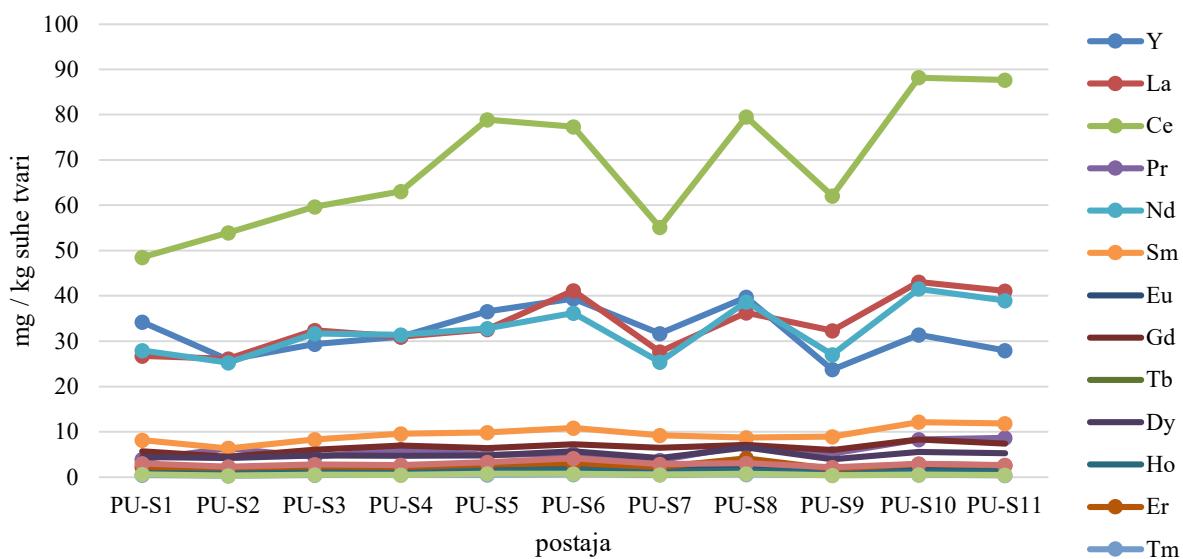


Slika 49. Koncentracije lantanoida i Y u uzorcima sedimenta iz Pulskog zaljeva

Kako na Slici 49, tako i prema normaliziranim koncentracijama prema sustavu PAAS (Slika 50) te vrijednostima koncentracijâ unutar zaljeva (Slika 51), primjećuje se rast koncentracija ulaskom u zaljev s najvišim vrijednostima u točkama PU-S10 i PU-S11. Na Slici 50 vidljive su određene anomalije. Primjerice, izražena je pozitivna anomalija Eu, što je česta pojava u morskom sedimentu uslijed oksidacije Eu^{2+} u Eu^{3+} u vodenoj fazi te taloženja s Mn oksidima u sedimentu.^{351,401,402} Kao i kod morske vode, anomalije Eu i Ce vezuju se uz redoks potencijal sedimenta, dok anomalije svih navedenih elemenata mogu biti geogene, a povišene se koncentracije Eu, Ce, Y, Sm i Tm mogu povezati i s proizvodnjom čelika.⁴⁰³ Anomalije se stoga potencijalno mogu dovesti i s tim u vezu s obzirom na razvijenu metaloprerađivačku industriju u zaljevu.



Slika 50. Normalizirane koncentracije lantanoida i Y u uzorcima sedimenta iz Pulskog zaljeva prema sustavu PAAS³⁸



Slika 51. Koncentracije lantanoida i Y prema postajama uzorkovanja sedimenta u Pulskom zaljevu

Izmjerene koncentracije lantanoida i Y (Tablica 39) bile su u intervalu od 0,348 mg / kg suhe tvari (Lu na postaji PU-S9) do 88,2 mg / kg suhe tvari (Ce, PU-10). Najzastupljeniji je Ce s koncentracijama od 50 mg / kg suhe tvari do 90 mg / kg suhe tvari. Slijede La, Nd i Y (20 mg / kg do 45 mg / kg). Koncentracije MREE i HREE niže su od 15 mg / kg suhe tvari.

Tablica 39. Koncentracije lantanoida i Y u površinskim uzorcima sedimenta (mg / kg suhe tvari) sa standardnim devijacijama (SD)

UZORAK	Y	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
PU-S1	mg / kg	34,3	26,7	48,5	3,95	27,9	8,19	1,74	5,68	0,593	4,43	1,12	2,25	0,487	3,04	0,584
	SD	1,73	1,45	7,06	3,89	0,632	0,633	0,044	0,065	0,072	0,307	0,142	0,102	0,036	0,801	0,200
PU-S2	mg / kg	25,9	26,1	54,0	6,36	25,3	6,39	1,32	4,55	0,550	4,22	0,901	2,07	0,362	2,29	0,348
	SD	8,24	7,16	15,7	2,92	2,10	0,26	0,140	0,422	0,082	1,10	0,128	0,728	0,082	1,03	0,061
PU-S3	mg / kg	29,3	32,4	59,7	4,51	31,7	8,34	1,67	6,03	0,664	4,78	1,15	2,35	0,457	2,82	0,526
	SD	4,74	3,94	7,93	0,709	1,99	0,500	0,081	0,558	0,049	0,350	0,060	0,319	0,038	0,449	0,014
PU-S4	mg / kg	31,0	31,0	63,1	6,09	31,4	9,60	1,95	6,98	0,696	4,70	1,13	2,27	0,527	2,70	0,489
	SD	1,33	0,964	0,197	0,669	0,759	0,53	0,028	0,086	0,039	0,092	0,038	0,089	0,027	0,224	0,023
PU-S5	mg / kg	36,6	32,6	78,9	4,94	32,8	9,88	1,80	6,42	0,689	4,80	1,48	2,84	0,572	3,29	0,726
	SD	1,66	4,59	5,29	2,73	6,09	0,333	0,158	0,050	0,007	0,118	0,040	0,441	0,071	0,868	0,342
PU-S6	mg / kg	39,4	41,2	77,3	5,17	36,2	10,9	2,25	7,26	0,812	5,72	1,68	3,11	0,615	4,15	0,736
	SD	3,60	2,84	10,1	2,39	4,71	1,13	0,094	0,370	0,068	0,459	0,197	0,291	0,054	0,682	0,157
PU-S7	mg / kg	31,7	27,7	55,2	3,74	25,4	9,25	1,90	6,46	0,566	4,20	1,26	2,24	0,592	2,86	0,560
	SD	0,735	3,59	9,10	2,64	5,50	2,31	0,103	0,665	0,066	0,571	0,170	0,178	0,106	0,624	0,053
PU-S8	mg / kg	39,7	36,3	79,5	6,98	38,7	8,75	1,78	7,14	0,828	6,59	1,46	4,17	0,635	3,11	0,776
	SD	2,71	2,14	12,6	1,24	2,98	0,067	0,062	0,296	0,020	0,135	0,114	0,680	0,005	1,388	0,067
PU-S9	mg / kg	23,8	32,4	62,1	5,21	27,0	8,98	1,57	6,00	0,552	3,95	0,938	1,88	0,459	2,19	0,408
	SD	0,750	0,417	4,75	1,27	4,66	1,02	0,085	0,197	0,008	0,093	0,052	0,680	0,018	0,107	0,018
PU-S10	mg / kg	31,4	43,1	88,2	8,30	41,6	12,2	2,01	8,32	0,820	5,56	1,26	2,88	0,515	2,93	0,520
	SD	0,855	7,425	11,2	2,02	7,81	1,50	0,245	0,524	0,053	0,805	0,077	0,680	0,019	0,079	0,005
PU-S11	mg / kg	28,0	41,1	87,6	8,67	38,9	11,9	1,90	7,37	0,751	5,29	1,27	2,57	0,431	2,63	0,441
	SD	3,46	3,11	8,55	0,097	1,78	0,254	0,005	0,539	0,070	0,548	0,048	0,680	0,036	0,383	0,099

Tablica 40. Usporedba koncentracija lantanoida i Y u sedimentu Pulskog zaljeva s nekim od dostupnih podataka iz literature

	Pulski zaljev, ovo istraživanje	Geokemijski atlas Europe – površinsko tlo ⁴⁰⁴	Rijeka, Hrvatska ⁵⁷	Dugi otok, Hrvatska ⁴⁰¹	Pirovac (Makirina), Hrvatska ³⁵¹	Crno more ⁴⁰⁵	Baltičko more ⁴⁰⁶	Cadiz, Španjolska ⁴⁰⁷	Biskay, Francuska ⁴⁰⁸
Y									
La	23,8-39,7	34,0-42,0	7,38-14,5	3,9-6,5	-	-	9,7-69	-	-
Ce	26,1-43,1	39,1-51,8	8,10-14,1	11,3-16,6	26,2	12,22±0,65	12,9-24,5	30	7,0-28
Pr	48,5-88,2	79,7-100	18,5-30,8	22,7-33,5	52,72	17,07±0,61	26,3-51,7	49	13-57
Nd	3,74-8,67	9,30-11,8	2,30-3,80	2,7-4,2	5,99	6,232±0,089	3,0-6,2	8,3	1,7-6,6
Sm	25,3-41,6	34,2-43,5	8,39-14,5	10,8-16,4	22,11	1,162±0,018	11,3-24,3	33	6,5-25
Eu	6,39-12,2	8,60-10,6	1,90-3,30	1,8-2,8	4,29	2,894±0,037	2,14-5,27	7,7	1,2-4,9
Gd	1,32-2,25	1,30-1,70	0,50-0,80	0,4-0,6	0,87	0,635±0,019	0,26-0,74	1,6	0,25-1,2
Tb	4,55-8,32	6,30-8,10	1,90-3,20	1,3-2,2	3,73	0,175±0,006	1,74-5,81	7,7	1,1-4,4
Dy	0,550-0,828	0,970-1,21	0,30-0,50	0,2-0,3	0,56	0,671±0,016	0,28-1,28	1,1	0,13-0,58
Ho	3,95-6,59	5,30-6,50	1,49-2,49	0,7-1,3	3,08	0,184±0,008	1,72-10,28	6,3	0,64-3,0
Er	0,901-1,68	1,06-1,30	0,30-0,50	0,1-0,2	0,59	0,551±0,027	0,37-2,59	1,3	0,12-0,61
Tm	1,88-4,17	3,10-3,70	0,70-1,20	0,3-0,6	1,69	0,131±0,004	1,20-9,08	3,5	0,38-1,8
Yb	0,362-0,635	0,460-0,610	0,10-0,20	<0,1	0,26	0,386±0,013	0,19-1,54	0,54	0,05-0,29
Lu	2,19-4,15	3,10-3,60	0,50-0,90	0,2-0,4	1,61	0,049±0,002	1,41-11,1	3,7	0,33-1,6
	0,348-0,776	0,440-0,530	-	<0,1	0,24	0,241±0,013	0,22-1,76	0,56	0,04-0,23

Koncentracije izmjerene u dijelovima istočnojadranske obale, na lokacijama na Crnom i Baltičkom moru te europskom dijelu Atlantske obale su na donjim granicama intervala koncentracijâ izmjerениh u uzorcima iz Pulskog zaljeva ili niže (Tablica 40). Najbliže su vrijednosti one iz estuarija u blizini španjolskog grada Cadiza koji je pod utjecajem drenaže rudnikâ.⁴⁰⁷ Međutim, usporede li se rezultati s geokemijskim atlasom Europe, odnosno prijavljenim sastavom površinskog tla, izmjerene koncentracije u sedimentu Pulskog zaljeva su unutar očekivanih granica.⁴⁰⁴ To otvara mogućnost da su povišene koncentracije u sedimentu unutar zaljeva rezultat dugogodišnjeg donosa s okolnog tla.

4.3.4. Utjecaj bentičkog fluksa

Smjer bentičkog fluksa, odnosno uloga sedimenta kao izvora ili krajnje destinacije elemenata u morskom okolišu ovisi o nizu parametara. Neki od njih su mjerljivi (npr. redoks potencijal, vrijednost pH, zasićenje kisikom), a drugi nepredvidivi (npr. bioturbacije sedimenta ili mobilizacija djelovanjem valova i struja). Stoga su za precizna određivanja potrebna mjerena *in-situ*, no neke se pretpostavke o bentičkom fluksu mogu izvesti i na temelju dobivenih koncentracija i prostorne raspodjele elemenata u morskoj vodi i sedimentu Pulskog zaljeva. S obzirom na moguće izvore elemenata, geografsku konfiguraciju i značaj, područja kao što je ovaj zaljev mogu biti kritična za shvaćanje biogeokemijskih procesa na granici sedimenta i vodenog stupca.⁴⁰⁹

Antropogeni utjecaj na morsku vodu u Pulskom zaljevu vidljiv je kroz rast koncentracija Zn, Cu i Pb unutar zaljeva. Vertikalna raspodjela pokazala je (sezonski) više koncentracije Zn i Cu u površinskom sloju, što ne ukazuje na sediment kao mogući izvor ovih metala. Kako ukupne, tako i koncentracije u otopljenoj frakciji Pb više su u pridnenom sloju vodenog stupca. Uzimajući u obzir visoke vrijednosti obogaćenja sedimenta unutar zaljeva ovim metalom, remobilizacija iz sedimenta (porne vode) u vodenim stupcima je moguća, što može biti povezano s periodima redukcije željezovih i manganovih hidroksida i oksihidroksida.^{49,410} S obzirom na to da razlike u koncentracijama Pb nisu vidljive samo u otopljenoj frakciji, manja je vjerojatnost vezanja Pb na čvrste čestice u gornjim dijelovima vodenog stupca te njihove naknadne depozicije. Koncentracije Ni i Co u sedimentu odgovaraju pozadinskom signalu, iako je kod njih vidljiv određeni antropogeni utjecaj. Unatoč relativno visokoj granici detekcije razvijene metode, slična je situacija i s Cd. S druge strane, ovi metali ne pokazuju povišene koncentracije u morskoj vodi unutar zaljeva zbog čega se može pretpostaviti da ne dolazi do njihovog oslobođanja iz sedimenta. Treba napomenuti da se u literaturi mogu naći

usporedna istraživanja remobilizacije metala iz sedimenta u kojima se istovremeno određuju bentički fluksevi značajno onečišćenih priobalnih područja te onih u kojima antropogeni utjecaj nije toliko izražen. Rezultati takvih istraživanja nisu jednoznačna: u nekim slučajevima je remobilizacija bila izraženija u onečišćenijim područjima, dok su u drugima rezultati pokazivali suprotno.^{409,411}

U uzorcima morske vode koncentracije mjenjenih elemenata rijetkih zemalja ne pokazuju izraženu prostornu raspodjelu koja bi mogla ukazivati na antropogene utjecaje, a u većini točaka uzorkovanja izmjerene su niže vrijednosti u odnosu na referentnu postaju (DGT-1). Radi se o vrijednostima koje su donekle usporedive s literurnim podacima, što nije slučaj s koncentracijama ovih elemenata u sedimentu. Uz to, prostorna raspodjela koncentracija u sedimentu može se dovesti u vezu s antropogenim djelovanjem u zaljevu. Relativno visoke koncentracije ovih elemenata u sedimentu mogu biti posljedica njihovog kretanja kroz granicu sedimenta i dna vodenog stupca koje može biti dvostruko: porna voda i sediment mogu biti izvori ovih elemenata, no čvrsta faza sedimenta je najčešće krajnja destinacija elemenata rijetkih zemalja u morskom okolišu.^{18,412} Sedimentacija se odvija procesima adsorpcije ili ugradnjom u kristalne rešetke, a pritom najznačajniju ulogu imaju Mn hidroksidi i oksihidroksidi (odnosno uvjeti redoks potencijala) te fosfati, posebno biogeni.^{18,412-415} Iako u ovom radu nije ispitana vertikalna raspodjela elemenata rijetkih zemalja u vodenom stupcu ni sedimentu, u literaturi se najčešće nalaze podaci o snižavanju njihovih koncentracija s dubinom u priobalnim vodama i depoziciji na izlascima iz estuarija, odnosno povišenjem saliniteta.³³

4.3.5. Bioraspoloživa frakcija elemenata u sedimentu

Bioraspoloživa frakcija u sedimentu dobivena je prema postupku temeljenom na protokolu BCR uz modifikaciju (mikrovalnu digestiju), kako je opisano ranije. Korišteni su isti uzorci u kojima su određivane ukupne koncentracije elemenata, uzorkovani u svibnju 2022. godine. Frakcija je određivana u površinskom horizontu sedimenta. Metoda analize je razrađena prema iskorištenjima referentnog materijala BCR-701 (European Commision, Community Bureau of Reference), odnosno dostupnim (informativnim) podacima o koncentracijama necertificiranih elemenata u tom materijalu.⁴¹⁶⁻⁴¹⁹

Ekstrakti su nakon centrifugiranja i dekantiranja sadržavali visoke koncentracije suspendiranih tvari što je bilo vidljivo po niskim iskorištenjima internih standarda i stvaranju depozita na plazmeniku i konusima. Filtriranje se nastojalo izbjegći kako ne bi došlo do

kontaminacije, stoga je alikvot od 20 mL svakog ekstrakta mikrovalno razoren s 5 mL koncentrirane HNO_3 prema normiranoj metodi za vode s povišenom mutnoćom, u skladu s kojom su određene temperatura i trajanje digestije.⁴²⁰ Nakon digestije su posude isprane malim obrocima deionizirane vode, a digerirani uzorci su nadopunjeni do 50 mL. Program mikrovalne digestije prikazan je u Tablici 41. Nedostatak ovog pristupa je, naravno, povišenje granica detekcije i kvantifikacije, no izmjerene vrijednosti odabralih elemenata u uzorcima su značajno više od ovih granica, a iskorištenja certificiranog referentnog materijala su u skladu s referentnim vrijednostima (Tablica 42). Granice kvantifikacije su izračunate na temelju trostrukе vrijednosti standardne devijacije slijepе probe (CH_3COOH , 0,11 mol / L koja je prošla proces mikrovalne digestije), tipične odvage od 1 g, volumena od 50 mL i faktora razrjeđenja od 2,5 (20 mL supernatanta je digerirano pa dopunjeno do 50 mL).

Tablica 41. Program mikrovalne razgradnje ekstrakata za određivanje bioraspoložive frakcije u uzorcima sedimenta

KORAK	PROMJENA TEMPERATURE	TRAJANJE KORAKA
1	od početne (sobne) do 160 °C	10 minuta
2	bez promjene, na 160 °C	15 minuta
3	od 160 °C do početne (sobne)	po potrebi

Uzorci su analizirani na instrumentu PlasmaQuant MS Q (Analytik Jena). Prije mjeranja optimirani su instrumentni parametri i odabrani su izotopi pojedinog elementa (Tablice 42 i 43). Parametri ionske optike ugodjeni su automatski (funkcija dostupna u programu instrumenta). Odabir plinova i ugađanja njihovih protoka u kolizijsko-reakcijskoj ćeliji su rađeni ručno, prema literurnim podacima o mogućim interferencijama i analizama materijala CRM. Za optimizaciju su korišteni kalibracijski standardi (CPAChem), otopina za optimizaciju ICP-MS sustava (Reagecon) i referentni material BCR-701. Za određivanje As i Cd korištena je kolizija s He. Korišten je stakleni, koncentrični raspršivač (*MicroMist*, 0,4 mL / min), Scottova komora za raspršivanje (3 °C) i plazmenik Fasselovog tipa.

Tablica 42. Odabrani izotopi elemenata, način rada, koncentracije elemenata po kilogramu suhe tvari (w) sa standardnim devijacijama u zagradama (SD), referentne koncentracije iz literature (w_{ref}), iskorištenja (ε) prema referentnim vrijednostima postignuta razvijenom metodom za ovo istraživanje i granice detekcije metode (LOD)

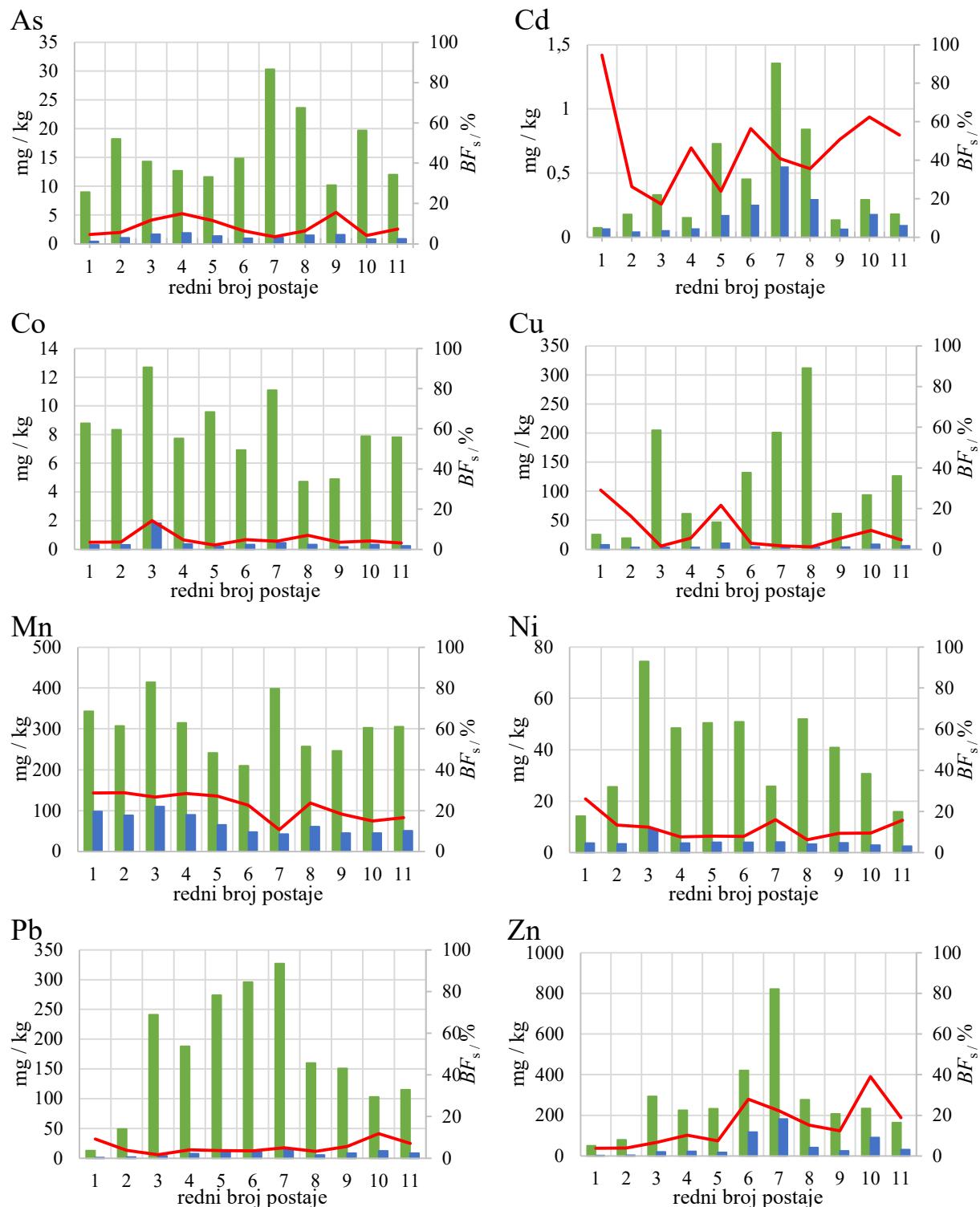
IZOTOP	NAČIN RADA	$w (SD) / (mg / kg)$	$w_{ref} / (mg / kg)$	$\varepsilon / \%$	$LOD / (mg / kg)$	
^{75}As	Ar+He	2,44 (0,238)	2,10 ⁴¹⁹	116,3	0,00626	
			2,24 ⁴¹⁶	108,9		
			$2,58 \pm 0,28$ ⁴¹⁷	94,6		
^{114}Cd		6,95 (0,373)	$7,3 \pm 0,4$ ³³⁴	95,2	0,00993	
^{59}Co	Ar	2,20 (0,125)	2,20 ⁴¹⁹	100,0	0,0134	
			$2,06 \pm 0,08$ ⁴¹⁷	106,8		
^{65}Cu		49,7 (1,56)	$49,3 \pm 1,7$ ³³⁴	100,8	0,162	
^{52}Cr		2,101 (0,0793)	$2,26 \pm 0,16$ ³³⁴	93,0	0,456	
^{56}Fe		65,9 (4,34)	65,0 ⁴¹⁹	101,4	5,66	
			71 ± 1 ⁴¹⁸	92,8		
			$43,8 \pm 5,8$ ⁴¹⁷	150,5		
^{55}Mn		199 (6,57)	177,7 ⁴¹⁹	112,0	0,129	
			170 ± 1 ⁴¹⁸	117,1		
			180 ± 1 ⁴¹⁷	110,6		
^{60}Ni		15,3 (0,505)	$15,4 \pm 0,9$ ³³⁴	99,4	0,042	
$^{206+207+208}\text{Pb}$		3,08 (0,103)	$3,18 \pm 0,21$ ³³⁴	96,9	0,149	
^{51}V		0,354 (0,0759)	0,43 ⁴¹⁹	82,3	0,132	
^{66}Zn		210 (12,8)	205 ± 6 ³³⁴	102,4	0,255	

Tablica 43. Vrijednosti instrumentnih parametara kod određivanja bioraspoložive frakcije u sedimentu metodom ICP-MS

NAČIN RADA	Ar	Ar+He
Protoci Ar / (L / min)		
za plazmu	9,0	9,0
pomoći plin	1,70	1,50
kroz raspršivač	1,00	1,02
Udaljenost plazmenika od konusa / mm	6,0	5,0
RF snaga / kW	1,25	1,45
Brzina pumpe / rpm	20	15
Trajanje stabilizacije / s	30	20
Parametri ionske optike / V		
<i>1st Extraction Lens</i>	-140	-20
<i>2nd Extraction Lens</i>	-600	-166
<i>3rd Extraction Lens</i>	-500	-234
<i>Corner Lens</i>	-404	-206
<i>Mirror Lens Left</i>	70	24
<i>Mirror Lens Right</i>	70	28
<i>Mirror Lens Bottom</i>	56	35
<i>Entrance Lens</i>	6	2
<i>Entrance Plate</i>	-100	-92
<i>Fringe Bias</i>	-5,1	-4,4
<i>Pole Bias</i>	0,0	0,0
Parametri CRC		
<i>Plin</i>	-	He
<i>Protok plina / (mL / min)</i>	0	80
Vremena integracije / µs		
<i>51V, 55Mn, 56Fe, 59Co, 60Ni, 65Cu, 66Zn</i>	10000	-
<i>52Cr, 206+207+208Pb</i>	20000	-
<i>75As</i>	-	10000
<i>114Cd</i>	-	30000
<i>interni standardi osim In</i>	10000	30000
<i>115In</i>	5000	30000

Udjeli bioraspoložive frakcije (BF_s) prema izrazu 18 (poglavlje 3.9) u ukupnim koncentracijama pojedinog elementa prikazani su na Slici 52 i u Tablici 44. Mase ekstrahiranih uzoraka su bile u intervalu od 0,99 g do 1,15 g. U ovom intervalu nije primjećen utjecaj mase na ekstrakcijsku moć etanske kiseline, no pri većim odvagama ekstrakcije nisu bile potpune. Tako je provedena ekstrakcija 1,74 g materijala BCR-701, no analize ovog ekstrakta pokazale su značajno niža iskorištenja prema referentnim vrijednostima za sve ispitivane elemente u odnosu na ekstrakte uzoraka približnih masâ 1 g. Vrijednost BF_s do 15 % nađena je kod As, Cr, Co, Fe i Pb te uz iznimke kod Cu, Ni i Zn. Najniži udjeli dobiveni su za Fe (srednja vrijednost 0,21 %) i Cr (srednja vrijednost 2,96 %) pa je prikaz za ove elemente izostavljen na Slike 52. Do 30 % ukupnih koncentracija čine bioraspoložive frakcije Cu i Zn u točki u blizini brodogradilišta (PU-S5, odnosno PU-S6 i PU-S7). Najviši udio Zn je pronađen u blizini marine (PU-S10) i iznosi 39,1 %. Vrijednosti za Mn su bile od 10,7 % do 28,6 %, a za Cd su dobivene vrijednosti BF_s u rasponu od oko 20 % (PU-S3, PU-S5) do 54,4 %. Prema indikativnim vrijednostima ukupnih koncentracija, bioraspoloživa frakcija Cd na referentnoj točki uzorkovanja (PU-S1) iznosi gotovo 95 %. Udjeli dobiveni prema indikativnim vrijednostima koncentracija Cd označeni su sivo u Tablici 44. Na temelju visokih udjela bioraspoloživih Mn i Cd može se pretpostaviti prisutnost karbonatnih minerala kao što su otavit ($CdCO_3$) i rodokrozit ($MnCO_3$) u uzorkovanom sedimentu.⁴²¹ U prvoj frakciji dobivenoj prema protokolu BCR se uz karbonate očekuju elementi koji su slabo vezani ili adsorbirani na čestice sedimenta, elementi koji se mogu osloboediti izmjenom iona te oni koji su u kemijskim oblicima topivima u vodi i blagokiselim medijima.⁴²²⁻⁴²⁵ Dobiveni udjeli se za sve elemente dobro slažu s literurnim podacima, iako se u literaturi za udjele bioraspoložive frakcije As u uzorcima sedimenta redovito nalaze široki rasponi vrijednosti.^{331,426-430}

Rastući slijed udjela bioraspoloživih frakcija elemenata u površinskom horizontu sedimenta u nizu $Fe < Cr < As \approx Co \approx Cu \approx Pb < Ni < Zn < Mn < Cd$ relativno je u skladu s nizom nađenim u uzorcima morske vode metodom DGT ($Cu < Co \approx Ni \approx Pb < Zn < Cd$) i literurnim podacima.^{411,426,428} Za niz elemenata (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb) vidljive su više vrijednosti BF_s na referentnoj točki (PU-S1) u odnosu na točke unutar zaljeva, što nije bio slučaj s morskom vodom (vrijednosti BF , poglavje 4.1.6).



Slika 52. Ukupne koncentracije elemenata (zeleni stupci) i koncentracije u bioraspoloživoj frakciji sedimenta (plavi stupci) te udio bioraspoložive frakcije (crvena linija, sekundarna y-os) prema točkama uzorkovanja (x-os)

Tablica 42. Koncentracije u bioraspoloživoj frakciji sedimenta sa standardnim devijacijama (mg / kg), udio frakcije u ukupnoj koncentraciji pojedinog elementa (%) i srednje vrijednosti ($x_{sr.}$). Sivo označeni udjeli su izračunati prema indikativnim ukupnim koncentracijama Cd

POSTAJA (PU-S)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	$x_{sr.}$
As	mg / kg	0,418 (0,0184)	1,02 (0,000448)	1,68 (0,0770)	1,90 (0,0578)	1,33 (0,0153)	0,954 (0,0317)	1,07 (0,103)	1,50 (0,119)	1,59 (0,110)	0,810 (0,0100)	0,878 (0,0560)	1,20
	%	4,7	5,6	11,8	15,0	11,5	6,4	3,4	6,4	15,6	4,1	7,3	8,3
Cd	mg / kg	0,0711 (0,0184)	0,047 (0,0193)	0,0567 (0,0102)	0,0701 (0,0172)	0,174 (0,0651)	0,255 (0,00961)	0,553 (0,0426)	0,299 (0,00888)	0,068 (0,0120)	0,183 (0,0166)	0,096 (0,0129)	0,170
	%	94,7	26,6	17,7	46,4	23,9	56,4	40,8	35,6	50,8	62,5	53,0	46,1
Co	mg / kg	0,295 (0,00768)	0,295 (0,00313)	1,82 (0,0695)	0,361 (0,0377)	0,198 (0,0224)	0,331 (0,00510)	0,446 (0,0213)	0,329 (0,0245)	0,166 (0,00251)	0,328 (0,0357)	0,240 (0,0216)	0,439
	%	3,4	3,6	14,3	4,7	2,1	4,8	4,1	7,0	3,5	4,2	3,1	5,0
Cr	mg / kg	2,71 (0,141)	2,55 (0,169)	2,17 (0,278)	2,19 (0,318)	1,36 (0,651)	0,211 (0,0927)	1,94 (0,138)	1,75 (0,0904)	0,481 (0,325)	1,87 (0,0544)	2,05 (0,0751)	1,80
	%	7,1	6,6	2,1	2,4	0,9	1,2	2,1	1,9	0,7	2,5	5,0	3,0
Cu	mg / kg	7,44 (0,696)	3,15 (0,356)	3,03 (1,05)	3,30 (0,972)	10,1 (4,37)	3,93 (0,107)	3,33 (0,284)	3,64 (0,359)	3,40 (1,77)	8,66 (0,453)	5,78 (0,628)	5,07
	%	29,2	16,3	1,5	5,4	21,6	3,0	1,7	1,2	5,5	9,3	4,6	9,0
Fe	mg / kg	41,4 (1,36)	38,8 (0,140)	36,9 (2,98)	42,7 (4,49)	32,7 (5,68)	27,9 (0,737)	35,1 (2,37)	29,7 (1,93)	31,7 (3,52)	76,3 (4,19)	66,5 (3,53)	41,9
	%	0,4	0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,4	0,2
Mn	mg / kg	98,2 (3,82)	88,4 (5,33)	110 (1,01)	89,5 (2,22)	65,4 (0,310)	47,5 (0,804)	42,5 (2,18)	60,9 (4,13)	45,2 (0,351)	45,2 (1,25)	50,6 (0,584)	67,6
	%	28,6	28,8	26,6	28,4	27,1	22,6	10,7	23,7	18,4	14,9	16,6	22,4

Tablica 42. (nastavak)

POSTAJA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	$x_{sr.}$	
Ni	mg / kg	3,72 (0,375)	3,42 (0,00267)	9,15 (0,615)	3,70 (0,469)	4,01 (0,856)	3,99 (0,0141)	4,12 (0,224)	3,27 (0,189)	3,83 (0,418)	2,92 (0,0190)	2,50 (0,332)	4,06
	%	26,2	13,4	12,3	7,6	8,0	7,9	16,0	6,3	9,4	9,5	15,7	12,0
Pb	mg / kg	1,19 (0,105)	1,84 (0,811)	4,26 (1,02)	7,61 (0,255)	9,90 (0,604)	10,4 (0,899)	16,2 (0,425)	5,22 (0,642)	8,49 (0,557)	12,2 (0,000)	8,21 (0,155)	7,77
	%	9,2	3,8	1,8	4,1	3,6	3,5	5,0	3,3	5,6	11,8	7,1	5,3
Zn	mg / kg	1,89 (0,156)	3,12 (1,23)	19,6 (0,692)	19,9 (0,295)	17,3 (0,617)	117 (0,669)	182 (17,2)	41,7 (3,10)	25,5 (0,205)	91,1 (3,69)	30,8 (0,862)	50,3
	%	3,8	3,9	6,7	8,8	7,5	27,9	22,2	15,1	12,3	39,1	18,8	15,2

Vrijednosti BF_s ne prate nužno kretanja ukupnih koncentracija elemenata u uzorcima, što potvrđuju Pearsonovi koeficijenti korelacije ukupnih koncentracija i koncentracija bioraspoložive frakcije, kako je prikazano u Tablici 45 (za skup od 11 parova vrijednosti, kritična vrijednost koeficijenta iznosi 0,602, uz 95 % pouzdanosti). Veoma visoka korelacija dobivena je za Cd i Zn ($r > 0,9$), dok visoku korelaciju pokazuju Co, Ni i Pb.³⁸⁶ Razlog tome može biti prisutnost elemenata antropogenog podrijetla u kemijskim vrstama koje se ne ekstrahiraju etanskom kiselinom, odnosno nisu u bioraspoloživoj (izmjenjivoj) frakciji.^{424,425}

Tablica 45. Pearsonovi koeficijenti korelacije između koncentracija elemenata u bioraspoloživoj frakciji i ukupnih koncentracija u sedimentu Pulske luke. Podebljane vrijednosti su više od kritične vrijednosti koeficijenta za 11 parova vrijednosti

ELEMENT	PEARSONOV KOEFICIJENT, r
As	-0,012
Cd	0,930
Co	0,670
Cr	-0,331
Cu	-0,386
Fe	-0,273
Mn	0,474
Ni	0,702
Pb	0,673
Zn	0,903

Slične razlike u udjelima bioraspoloživih frakcija između uzoraka uzetih na područjima različitih intenziteta antropogenog učinka mogu se naći i u literaturi. Cuong i Obbard prijavljuju niže udjele Zn u bioraspoloživoj frakciji u neonečišćenim uzorcima u odnosu na uzorce iz urbanog područja (3,5 % u odnosu na 12,4 %), dobiven odnos udjela Ni je obrnut u odnosu na nalaze ovog istraživanja, a udjeli Cr, Cu i Pb nisu pokazivali značajne razlike.⁴²⁶

4.4. Procjene rizika

4.4.1. Procjena rizika za živi svijet u morskoj vodi

4.4.1.1 Usporedba sa standardima kakvoće vode

Na temelju dobivenih vrijednosti koncentracija Zn, Cd, Pb, Cu, Ni i Co u uzorcima morske vode tijekom sezonskih uzorkovanja provedena je procjena rizika za živi svijet. Dobivene vrijednosti jednoparametarskih indeksa onečišćenja (p_i) i indeksa onečišćenja prema Nemerowu (P_N) na temelju standarda kakvoće vodenog okoliša prikazane su u Tablici 46 (europski kriteriji) i Tablici 47 (američki kriteriji).

Tablica 46. Indeksi onečišćenja prema vrijednostima u Uredbi o standardu kakvoće vode.³¹⁶

Indeks p_i označava jednoparametarski indeks onečišćenja, P_1 je srednja vrijednost pojedinačnih vrijednosti p_i , a P_N indeks onečišćenja po Nemerowu

POSTAJA / KAMPANJA / SLOJ	ELEMENT	γ / ($\mu\text{g/L}$)	p_i	P_1	P_N
PU-14 / ljetno / dno	Cd	0,009	0,045	0,169	0,311
	Ni	0,461	0,054		
	Pb	0,529	0,407		
PU-19 / jesen / dno	Cd	0,020	0,100	0,160	0,257
	Ni	0,465	0,054		
	Pb	0,424	0,326		
PU-13 / jesen / dno	Cd	0,013	0,065	0,111	0,165
	Ni	0,529	0,062		
	Pb	0,267	0,205		

Prikazane su vrijednosti za uzorke u kojima su izmjerene najviše koncentracije reguliranih elemenata (podebljane vrijednosti γ): Cd, Ni i Pb za procjenu prema europskim te Cd, Ni, Pb, Cu i Zn za procjenu prema američkim kriterijima. Rezultati pokazuju nizak rizik (ili izostanak rizika) prema važećim standardima kakvoće, bilo da se radi o maksimalno izmjerenim koncentracijama pojedinog elementa (sve vrijednosti p_i su niže od 1) ili o interakcijskom djelovanju svih promatranih elemenata ($P_N < 0,59$ što odgovara prvoj kategoriji kakvoće, odnosno izostanku onečišćenja).

Tablica 47. Indeksi u odnosu na maksimalno dopuštene koncentracije prema USEPA-i.³¹⁸ Indeks p_i označava jednoparametarski indeks onečišćenja, P_1 je srednja vrijednost pojedinačnih vrijednosti p_i , a P_N indeks onečišćenja po Nemerowu

POSTAJA / KAMPANJA / SLOJ	ELEMENT	γ / (µg / L)	p_i	P_1	P_N
PU-14 / ljetno / dno	Cd	0,009	0,001	0,071	0,160
	Ni	0,461	0,056		
	Pb	0,529	0,065		
	Cu	0,668	0,215		
	Zn	1,611	0,018		
PU-19 / jesen / dno	Cd	0,020	0,003	0,080	0,201
	Ni	0,465	0,057		
	Pb	0,424	0,052		
	Cu	0,844	0,272		
	Zn	1,248	0,014		
PU-13 / jesen / dno	Cd	0,013	0,002	0,075	0,196
	Ni	0,529	0,065		
	Pb	0,267	0,033		
	Cu	0,829	0,267		
	Zn	0,938	0,010		
PU-18 / ljetno / površina	Cd	0,008	0,001	0,133	0,407
	Ni	0,491	0,060		
	Pb	0,161	0,020		
	Cu	1,736	0,560		
	Zn	0,022	0,022		
PU-20 / proljeće / površina	Cd	0,012	0,001	0,111	0,322
	Ni	0,308	0,060		
	Pb	0,322	0,017		
	Cu	1,142	0,442		
	Zn	3,183	0,035		

Zahvaljujući značajno višim kriterijima za Cd i Pb, indeksi P_N su prema kriterijima USEPA-e niži u odnosu na europske, dok je američki kriterij za Ni neznatno niži od europskog ($8,1 \mu\text{g} / \text{L}$ u odnosu na $8,6 \mu\text{g} / \text{L}$).

U Tablici 48 prikazane su dobivene vrijednosti indeksa prema kriterijima australskog i novozelandskog vijeća nadležnog za zaštitu okoliša (ANZECC), najstrožim kriterijima prikazanima u ovom radu. Ovdje su također prikazane vrijednosti za uzorke u kojima su nađene maksimalne vrijednosti koncentracija reguliranih elemenata. Crvenom bojom su naznačene vrijednosti koje ukazuju na mogućnost pojave štetnih učinaka na živi svijet ($p_i > 1$), odnosno vrijednosti koje morski okoliš svrstavaju u neku od kategorija povezanih s onečišćenjem ($P_N \geq 0,59$, odnosno kategorije od II do V prema Nemerowu, Tablica 11, poglavlje 2.7.1). Koncentracije Cu i Co u svim navedenim slučajevima prelaze granice za očuvanje 99 % živih vrsta i to do 5,8 (Cu), odnosno 8,4 puta (Co). Kadmij, Pb ni Ni nisu nađeni u koncentracijama višima od zadanih kriterija. Posljedično, koncentracije Cu i Co imaju najveći utjecaj na vrijednosti indeksa po Nemerowu pa je na temelju kriterija za zaštitu 99 % živih vrsta, u jednom od prikazanih slučajeva morski okoliš svrstan u kategoriju IV (umjерено onečišćenje, $1,00 \leq P_N \leq 3,50$), dok ostali ulaze u kategoriju V, tj. kategoriju jakog onečišćenja. Prema kriterijima za zaštitu 95 % živih vrsta, u jednom je slučaju jednoparametarski indeks za Cu viši od 1. U tom je slučaju morski okoliš svrstan u kategoriju III prema Nemerowu (blago onečišćenje). U uzorku u kojem je izmjerena najviša koncentracija Co, jednoparametarski indeksi ne prelaze granicu prema kriterijima o zaštiti 95 % živog svijeta, dok se okoliš prema Nemerovoj skali svrstava u kategoriju kakvoće II (upozoravajuća granica). Sve dobivene vrijednosti zadovoljavaju kriterije za zaštitu 90 % živih vrsta pa izračuni prema kriterijima za zaštitu 80 % vrsta nisu prikazani.

Dobiveni indeksi pokazuju da je prema najstrožem skupu kriterija (ANZECC) negativan utjecaj prisutnog Cu i Co na živi svijet veoma izražen. Kriteriji za Zn postavljeni od strane ANZECC ne odgovaraju uvjetima saliniteta i vrijednosti pH koji vladaju u Pulskom zaljevu, no na temelju dostupnih kriterija (za područje praktičnog saliniteta od 25 do 36 i vrijednosti pH od 6,5 do 8,0) može se očekivati da bi koncentracije izmjerene za potrebe izrade ove disertacije također rezultirale kategorijama kvalitete okoliša koje ukazuju na onečišćenje.

Tablica 48. Indeksi onečišćenja prema kriterijima ANZECC-a.³¹⁷ Indeks p_i označava jednoparametarski indeks onečišćenja, P_1 je srednja vrijednost pojedinačnih vrijednosti p_i , a P_N indeks onečišćenja po Nemerowu

POSTAJA / KAMPANJA / SLOJ	ELEMENT	$\gamma / (\mu\text{g} / \text{L})$	KRITERIJI ZA ZAŠTITU 99 % ŽIVIH VRSTA			KRITERIJI ZA ZAŠTITU 95 % ŽIVIH VRSTA			KRITERIJI ZA ZAŠTITU 90 % ŽIVIH VRSTA		
			p_i	P_1	P_N	p_i	P_1	P_N	p_i	P_1	P_N
PU-14 / ljetno / dno	Cd	0,009	0,013	1,469	3,550	0,002	0,133	0,375	0,001	0,061	0,163
	Ni	0,461	0,066			0,007			0,002		
	Pb	0,529	0,240			0,120			0,080		
	Cu	0,668	2,227			0,514			0,223		
	Co	0,024	4,800			0,024			0,002		
PU-19 / jesen / dno	Cd	0,020	0,029	1,620	3,717	0,004	0,156	0,472	0,001	0,070	0,205
	Ni	0,465	0,066			0,007			0,002		
	Pb	0,424	0,193			0,096			0,064		
	Cu	0,844	2,813			0,649			0,281		
	Co	0,025	5,000			0,025			0,002		
PU-13 / jesen / dno	Cd	0,013	0,019	1,516	3,425	0,002	0,146	0,463	0,001	0,064	0,201
	Ni	0,529	0,076			0,008			0,003		
	Pb	0,267	0,121			0,061			0,040		
	Cu	0,829	2,763			0,638			0,276		
	Co	0,023	4,600			0,023			0,002		

Tablica 48. (nastavak)

POSTAJA / KAMPANJA / SLOJ	ELEMENT	γ / ($\mu\text{g} / \text{L}$)	KRITERIJI ZA ZAŠTITU 99 % ŽIVIH VRSTA			KRITERIJI ZA ZAŠTITU 95 % ŽIVIH VRSTA			KRITERIJI ZA ZAŠTITU 90 % ŽIVIH VRSTA		
			p_i	P_1	P_N	p_i	P_1	P_N	p_i	P_1	P_N
PU-18 / ljetno / površina	Cd	0,008	0,011	1,868	4,300	0,001	0,279	0,965	0,001	0,121	0,418
	Ni	0,491	0,070			0,007			0,002		
	Pb	0,161	0,073			0,037			0,024		
	Cu	1,736	5,787			1,335			0,579		
	Co	0,017	3,400			0,017			0,001		
PU-20 / proljeće / površina	Cd	0,012	0,017	2,483	6,194	0,002	0,200	0,637	0,001	0,087	0,276
	Ni	0,308	0,044			0,004			0,002		
	Pb	0,322	0,146			0,073			0,049		
	Cu	1,142	3,807			0,878			0,381		
	Co	0,042	8,400			0,042			0,003		

Bakar, Co i Zn nisu uzeti u obzir u europskom ni hrvatskom zakonodavstvu, prema kojima su najviši indeksi dobiveni u slučajevima viših koncentracija Pb iako oni ne ukazuju ni na kakvo onečišćenje.

U SAD-u su postavljeni kriteriji i za Cu i Zn. Na temelju tih vrijednosti dobiveni su viši indeksi prema Nemerowu nego za Cd, Pb i Ni prema europskim standardima kakvoće. Sve navedeno ukazuje na očite nedostatke europskog i hrvatskog zakonodavstva u pogledu zaštite morskog okoliša.

Također, uz *jednostavnu usporedbu* s postavljenim kriterijima za pojedini element, vidljiva je potreba za procjenom pojačanog negativnog učinka uslijed prisutnosti više štetnih tvari u okolišu. To je izraženo na primjeru uzorka u kojem nijedan od promatranih elemenata nije prelazio pojedinačne zadane kriterije (sve vrijednosti p_i su niže od 1), dok je morski okoliš prema indeksu onečišćenje po Nemerowu u kategoriji upozoravajuće granice (Tablica 48, PU-20 / proljeće / površina u odnosu na kriterije za zaštitu 95 % živih vrsta).

4.1.5.2 Procjena rizika na temelju frakcije DGT

Tablica 49 prikazuje indekse onečišćenja prema predloženim vrijednostima za metodu DGT (DGT-EQS).²⁷³ Ponovno su prikazani samo slučajevi u kojima su nađene maksimalne vremenski usrednjene koncentracije Cd, Pb i Ni, metala za koje su predložene vrijednosti standarda kakvoće (pojedini metal je označen uz oznaku postaje u zagradi). Radi usporedbe, prikazani su isti izračuni za kompozitne uzorke dobivene iz uzorka na pojedinoj točki uzorkovanja. Vidljivo je da na temelju europske i hrvatske zakonske regulative nisu dobiveni indeksi koji bi ukazivali na onečišćenje, dok prema metodi DGT Pb prelazi postavljeni standard kakvoće na postaji PU-DGT-9 u uzorku iz kolovoza ($p_i = 1,500$). Morski okoliš je u tom slučaju svrstan u kategoriju umjerenog onečišćenja (kategorija IV s $P_N = 1,127$). U uzorku u kojem je izmjerena najviša koncentracija Cd (PU-DGT-4 iz svibnja) indeks prema Nemerowu svrstava okoliš u kategoriju II (upozoravajuća granica), iako su svi jednoparametarski indeksi niži od 1. Za uzorak u kojem je izmjerena najviša koncentracija Ni nema naznake onečišćenja što je očekivano s obzirom na to da se radi o uzorku na referentnoj postaji (PU-DGT-1), a kod Ni nije ustanovljen porast koncentracije ulaskom u zaljev kako pri točkastim (sezonskim) uzorkovanjima, tako ni provedbom istraživanja metodom DGT.

Treba napomenuti da prema autorima vrijednosti DGT-EQS, predloženi sustav treba dodatno validirati, posebno u područjima visokih koncentracija s obzirom na to da na mjestima uzimanja uzorka čije su analize korištene za modeliranje (priobalne vode zapadne

Europe) nije nađeno dovoljno uzoraka s koncentracijama Cd, Ni ni Pb blizu ili iznad zadanih maksimalnih dopuštenih koncentracija prema WFD-u.²⁷³

Tablica 49. Indeksi onečišćenja prema DGT-EQS i usporedba s koncentracijama u kompozitnom uzorku prema SKVO (Uredbi o standardu kakvoće vode).^{273,316} Indeks p_i označava jednoparametarski indeks onečišćenja, $P1$ je srednja vrijednost pojedinačnih vrijednosti p_i , a P_N indeks onečišćenja po Nemerowu

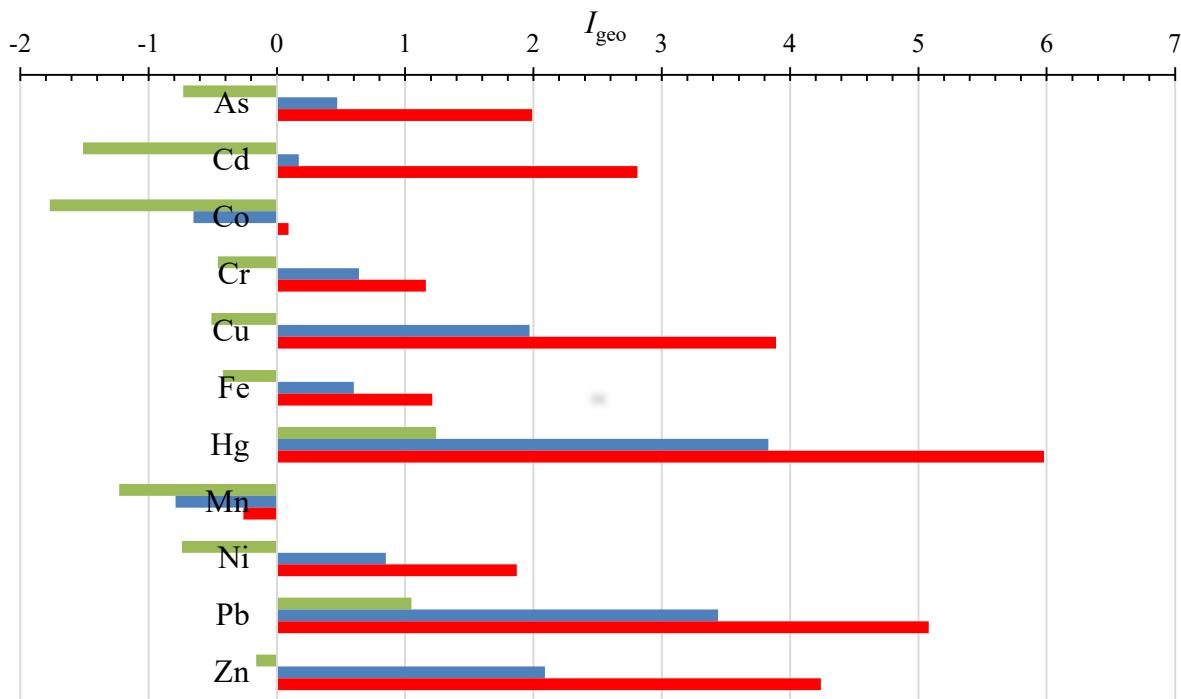
POSTAJA / MJESEC	ELEMENT	METODA	p_i	$P1$	P_N
PU-DGT-4 / kolovoz (Cd)	Cd	DGT	0,044	0,356	0,712
	Pb		0,942		
	Ni		0,083		
	Cd	KOMPOZIT	0,035	0,068	0,101
	Pb		0,125		
	Ni		0,043		
PU-DGT-9 / kolovoz (Pb)	Cd	DGT	0,039	0,538	1,127
	Pb		1,500		
	Ni		0,075		
	Cd	KOMPOZIT	0,035	0,079	0,125
	Pb		0,158		
	Ni		0,044		
PU-DGT-1 / svibanj (Ni)	Cd	DGT	0,039	0,105	0,149
	Pb		0,183		
	Ni		0,093		
	Cd	KOMPOZIT	0,030	0,032	0,040
	Pb		0,021		
	Ni		0,046		

4.4.2. Procjena rizika za sediment

4.4.2.1 Indeksi geoakumulacije

Indeksi geoakumulacije izračunati su prema srednjoj vrijednosti koncentracija pojedinog elementa na svim dubinama na referentnoj točki PU-S1 (C_n u izrazu 13, poglavlje 2.7.2) iz

raniye navedenih razloga. Na Slici 53 su prikazani maksimalni, srednji i minimalni indeksi geoakumulacije za pojedini element. Za sve elemente, izuzev Co i Mn, indeksi geoakumulacije su u minimalno dva uzorka bili viši od 1 što ih svrstava najmanje u kategoriju umjerenog onečićenja. Za Co i Mn dobiveni su indeksi približni nuli ili negativni, što znači da nema onečićenja sedimenta ovim elementima.



Slika 53. Minimalni (zeleno), srednji (plavo) i maksimalni (crveno) indeksi geoakumulacije za pojedini element

Najviše vrijednosti I_{geo} izračunate su za Hg i Pb. Svi uzorci u kojima su analizirane koncentracije ovih elemenata pokazuju vrijednosti indeksa između 1 i 4, što ukazuje na onečićenje unutar zaljeva. Najviši razred onečićenja (iznimno jako onečićenje, $I_{\text{geo}} > 5$) utvrđen je za oba elementa na točki PU-S3 (plovni put između vojne zone Muzil i luke Zonki) u horizontu dubine 5 cm do 10 cm (5,98 za Hg, 5,08 za Pb) i na PU-S7 (područje brodogradilišta) u horizontu dubine 10 cm do 15 cm (5,27 za Hg, 5,05 za Pb). U potonjem uzorku zabilježen je i maksimalni indeks geoakumulacije za Zn (razred jakog do iznimno jakog onečićenja, $4 < I_{\text{geo}} \leq 5$).

Cink se pokazao kao sljedeća najznačajnija onečićujuća tvar u Pulskom zaljevu s vrijednostima indeksa višima od 1 u svim uzorcima uzorkovanima na točkama unutar zaljeva (PU-S3 do PU-S11). Najviše vrijednosti indeksa za Zn dobivene su u uzorcima uzetima na

točki PU-S3 (umjereni do jednog onečišćenja), u području brodogradilišta (PU-S6 i PU-S7, razredi umjerenog do jednog, jednog i jednog do iznimno jednog onečišćenja) i u dubljim horizontima iz šireg područja jedne od marina (PU-S10, umjereni i umjereni do jednog onečišćenja). Rezultati analize Zn u uzorcima uzorkovanima na samom ulasku u zaljev (PU-S2) svrstavaju te uzorke u razred neonečišćenog (najdublji horizont) i neonečišćenog do umjereni onečišćenog sedimenta (horizonti do 10 cm dubine).

Intenzitet onečišćenja Cu očekivano prati Zn, no s nešto nižim vrijednostima. Na ulazu u luku vrijednosti I_{geo} su za ovaj element negativni ili niži od 1; vrijednosti između 2 i 3 (razred umjerenog do jednog onečišćenja) dobivene su na točkama PU-S3, PU-S6 i PU-S7, a između 3 i 4 (jednog onečišćenja) na točki PU-S8 (plovni put između brodogradilišta i marine). Na ovoj je točki razred onečišćenja Cu viši od onog za Zn. U uzorcima s točke PU-S11 (priobalno područje uz marinu i bivšu vojnu zonu Katarina-Monumenti) je slična situacija, uz jedan razred onečišćenja niže (umjereni do jednog onečišćenja za Cu, umjereni onečišćenje za Zn).

Maksimalno onečišćenje Cd spada u razred umjerenog do jednog onečišćenja ($2 < I_{geo} < 3$) i ono je prisutno u tek dva uzorka: površinski horizont s točke PU-S6 i horizont od 10 cm do 15 cm dubine s točke PU-S7. Na navedenim točkama su vrijednosti indeksa ostalih uzoraka između 1 i 2 (umjereni onečišćenje), kao i u površinskom horizontu na točki PU-S8. Iako se radi o indikativnim vrijednostima ukupnih koncentracija, vrijednosti indeksa u uzorcima s ostalih točaka uzorkovanja su niži od 1, a više od 48 % svih uzoraka spada u razred neočišćenih ($I_{geo} < 0$).

Onečišćenje ostalim određivanim elementima spada maksimalno u razred umjerenog onečišćenja ($1 < I_{geo} < 2$). U slučaju As, onečišćenje ovog intenziteta prisutno je u točki PU-S2 (ulazak u zaljev) i u području brodogradilišta (PU-S7 i PU-S8). Koncentracije Cr daju I_{geo} vrijednosti više od 1 samo u uzorcima s točke PU-S7, Fe u uzorcima s točaka PU-S4 i PU-S6, a Ni u cijelom zaljevu izuzev točaka PU-S7, PU-S10 i PU-S11. S druge strane, bez obzira na vrijednosti I_{geo} , vrijednosti ukupnih koncentracija Cr i Ni su na razini pozadinskog signala.^{394,395}

4.4.2.2 Usporedba sa standardima kakvoće sedimenta

Za standarde kakvoće sedimenta odabrane su vrijednosti ERL i ERM, a procjena rizika napravljena je po principu jednoparametarskog indeksa onečišćenja p_i (izraz 10, poglavlje 2.7.1).¹²⁹ Minimalne ($p_{i, \min}$), maksimalne ($p_{i, \max}$) i srednje ($p_{i, \text{sr.}}$) vrijednosti dobivenih

indeksa kao i postotak uzoraka s vrijednostima p_i višima od 1 ($p_i > 1$) prikazane su u Tablici 50.

Tablica 50. Minimalne, maksimalne i srednje vrijednosti jednoparametarskih indeksa onečišćenja sedimenta te postotak uzoraka čiji su indeksi viši od 1

ELEMENT	ERL				ERM			
	p_i , min	p_i , max	p_i , sr.	($p_i > 1$) / %	p_i , min	p_i , max	p_i , sr.	($p_i > 1$) / %
As	0,31	5,94	2,22	91,4	0,04	0,70	0,26	0,00
Cd	0,06	2,23	0,47	11,4	0,01	0,025	0,06	0,00
Cr	0,35	1,46	1,00	62,9	0,08	0,032	0,22	0,00
Cu	0,40	11,84	3,75	85,7	0,05	1,49	0,47	8,57
Hg	1,51	255,97	62,43	100,0	0,32	54,08	13,19	91,43
Ni	0,60	3,79	1,94	80,0	0,24	1,54	0,79	34,29
Pb	0,19	12,15	4,34	88,6	0,04	2,60	0,93	31,43
Zn	0,29	8,94	2,30	82,9	0,11	3,27	0,84	22,86

Rezultati pokazuju moguće štetne učinke uslijed djelovanja svih ispitivanih elemenata na većem ili manjem broju uzorkovanih mjestâ ($p_i > 1$ u odnosu na granice ERL). U svim su ispitanim uzorcima koncentracije Hg više od praga ERL, a slijedi As s više od 90 % uzoraka s koncentracijama iznad tog praga. Treba naglasiti da su za As i Hg vrijednosti ERL premašene i na referentnoj točki koja se smatrala neonečišćenom (PU-S1): indeksi p_i u površinskom horizontu na ovoj točki za As i Hg iznose 1,10 (8,99 mg / kg suhe tvari) odnosno 3,52 (0,527 mg / kg suhe tvari), indeks Hg na dubini od 5 cm do 10 cm iznosi 3,09 (0,464 mg / kg suhe tvari), za As 0,31 (2,55 mg / kg suhe tvari), a za oba elementa na dubini od 10 cm do 15 cm jednoparametarski indeksi onečišćenja iznose približno 1,5 (ukupna koncentracija As od 13,0 mg / kg suhe tvari, a Hg od 0,227 mg / kg suhe tvari). Najviša prijavljena koncentracija As u pozadinskom signalu iznosi 9 mg / kg suhe tvari.³⁹⁴ U više od 80 % ispitanih uzoraka koncentracije Ni, Pb, Cu i Zn su iznad praga ERL. Rezultati za ove elemente pokazuju da sediment u referentnoj točki (PU-S1) nije onečišćen (indeks p_i niži od 1 je za Cu dobiven i u uzorcima s postaje PU-S10, a za Zn i s postaje PU-S2). Koncentracije Cr niže od praga ERL izmjerene su u uzorcima s referentne točke te s točaka PU-S2, PU-S8, PU-S9 (samo

površinski horizont) i PU-S10. Značajan je udio uzoraka u kojima je indeks p_i blizak vrijednosti 1.

Uspoređujući dobivene koncentracije s pragovima ERL i ERM, Hg se pokazuje kao najznačajnija onečišćujuća tvar u sedimentu Pulskog zaljeva. U više od 90 % analiziranih uzoraka koncentracije ovog elementa su iznad praga ERM koji označava granicu iznad koje se očekuju štetni utjecaji na živi svijet. Koncentracije Hg su niže od praga ERM samo na referentnoj točki uzorkovanja (PU-S1). Ovo ukazuje na izvore Hg čak i izvan zaljeva iako se iz faktora obogaćenja i indeksa geoakumulacije vidi da su oni prisutni i u zaljevu. Sjeverni Jadran, a pogotovo Tršćanski zaljev pod utjecajem je rijeke Soče (tal. *Isonzo*) koja je onečišćena ovim elementom. Razlog su njezini pritoci, u prvom redu rijeka Idrijica i podzemne vode koje su stoljećima ispirale područje rudnika cinabarita (HgS) u blizini grada Idrije u sjeverozapadnoj Sloveniji. Idrijski rudnik Hg bio je drugi najveći rudnik ovog elementa u svijetu. Bio je u funkciji gotovo 500 godina, sve do zatvaranja 1994. godine. Približno 25 % Hg iskopane na ovom mjestu nikada nije izdvojeno iz početne rude. Mobilizacija materijala rezultirala je akumulacijom Hg na riječnim obalama, u sedimentu i u tlu, a Hg se još uvijek doprema riječnim tokom do Tršćanskog zaljeva. Istraživanja pokazuju da se Hg taložena u tlu relativno sporo ispušta u kopnene vode, kao i da samo manji dio Hg koji se transportira rijekama dospijeva u more zbog izraženijeg zadržavanja Hg u područjima nižeg saliniteta (u estuarijima i obalnim vodama).^{431,432} Radi spomenute akumulacije u području nižeg saliniteta, sediment ušća Soče tvori *rezervoar* Hg koja se postepeno ispušta u more, a primjer ove rijeke i Jadranskog mora je jedan od značajnijih primjera ljudske aktivnosti kao najvažnijeg izvora Hg u nekom morskom okolišu.^{399,433,434} Ležišta cinabarita na Mediteranu su brojna i uz podmorske vulkane te geotermalne izvore osnovni su uzrok prosječno visoke koncentracije Hg, koja je ovdje dvostruko viša od svjetskog prosjeka i iznosi 0,1 mg / kg.⁴³⁵

Udjeli uzoraka u kojima su izmjerene koncentracije Cu, Ni, Pb i Zn iznad praga ERM su također značajni te se kreću od 8,57 % (Cu) do 34,3 % (Ni), dok koncentracije iznad praga ERM za As, Cd i Cr nisu nađene.

Procjena rizika prema pragovima ERL i ERM se vrlo dobro slaže s ranijim istraživanjem sedimenta u Pulskom zaljevu.³²⁹ Pulski zaljev nije izolirani slučaj među lukama Sjevernog Jadrana kad su relativno visoke koncentracije elemenata kao što su As, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb i

Zn u pitanju. Koncentracije Ni iznad pragova ERL i ERM nađene su i u sedimentu otvorenog mora i u horizontima sedimenta nastalima u predindustrijsko doba.^{57,394,395}

4.4.2.3 Procjena rizika na temelju udjela bioraspoložive frakcije

Usporedba s granicama procjene rizika na temelju udjela bioraspoložive frakcije pokazuje da je u svim uzorcima prisutan rizik za vodeni okoliš. Od ukupno 110 rezultata (u 11 uzoraka površinskog sedimenta analizirana je bioraspoloživa frakcija 10 elemenata) tek je u 11,8 % rezultata udio bioraspoložive frakcije u ukupnim koncentracijama niži od 1 % što znači da ne postoji rizik za živi svijet (Tablice 44, odnosno 14). Polovina svih rezultata svrstava se u drugu kategoriju (nizak rizik), a 30 % u treću (srednji rizik). Četiri rezultata (3,6 %) pokazuje visok rizik, a radi se o koncentracijama Cd u uzorcima s točaka PU-S4, PU-S7 i PU-S8 te Zn u uzorku s točke PU-S10. Vrlo visok rizik (udio bioraspoložive frakcije viši od 50 %) prisutan je u pet uzoraka (4,5 %) na temelju koncentracija Cd (PU-S1, PU-S6, PU-S9, PU-S10 i PU-S11). Dio ovih rezultata su indikativne vrijednosti. Kadmij ima prosječno najviše udjele bioraspoložive frakcije (46,1 %), slijedi Mn (22,4 %) pa Zn i Ni (15,1 %, odnosno 12,0 %). Jedino su udjeli bioraspoložive frakcije Fe redovito niži od 1 %.

Kategorizacija rizika prema udjelu bioraspoložive frakcije razvijena je na premisi da elementi ne stvaraju veze jednakе jakosti s različitim fazama sedimenta te da nisu jednakо bioraspoloživi, no predloženi sustav u ovom slučaju pokazuje određene nelogičnosti.³³¹ Naime, najviši udio bioraspoložive frakcije dobiven je za Zn u uzorku s točke PU-S10: 91,1 mg / kg suhe tvari bioraspoložive frakcije prema ukupnoj koncentraciji od 233 mg / kg suhe tvari čini udio od 39,1 % i predstavlja visok rizik. Najviša ukupna koncentracija Zn u nekom od uzorkovanih površinskih horizonata dobivena je u uzorku s točke PU-S7 (821 mg / kg suhe tvari), gdje je pronađen udio bioraspoložive frakcije od 22,2 % (koncentracija u bioraspoloživoj frakciji iznosi 182 mg / kg suhe tvari). Udio bioraspoloživog Zn svrstava ovaj uzorak u kategoriju rizika niže od, primjerice, površinskog uzorka s točke PU-S10 iako se radi o 3,5 puta višoj ukupnoj koncentraciji i dvostruko višoj koncentraciji bioraspoložive frakcije u uzorku s točke PU-S7 u odnosu na uzorak s PU-S10. Ovaj primjer nije jedini za Zn, a sličan se princip može primijeniti i na druge elemente, pogotovo one kod kojih su dobivene značajne, ali ne i potpune korelacije između koncentracija u bioraspoloživoj frakciji i ukupnih koncentracija (Cd, Zn, Ni i Pb, Tablica 43). Kod Cd je pojava najizraženija, no značajan utjecaj vjerojatno ima visoka mjerna nesigurnost kod većine izmjerениh koncentracija Cd tehnikom ETAAS.

Iako se ranije predstavljene metode procjene rizika uglavnom baziraju na ukupnim koncentracijama elemenata, a bioraspoloživa frakcija Hg nije određivana u ovom istraživanju, u prilog tezi o problematičnosti ove metodologije ide i raspon udjela bioraspoložive frakcije Pb od 1,77 % do 11,8 % (niska ili srednja razina rizika), a radi se o elementu koji se pokazao kao jedan od glavnih onečišćivila u sedimentu Pulskog zaljeva.

§ 5. ZAKLJUČAK

U ovom radu su prikazane raspodjela, frakcionacija i specijacija elemenata u tragovima te elemenata rijetkih zemalja u morskoj vodi i sedimentu Pulskog zaljeva. Upotrebom programa *Visual MINTEQ* modelirana je specijacija u uzorcima morske vode.

U svrhu kvantitativnog određivanja elemenata u morskoj vodi razvijena je metoda pretkoncentracije na kelirajućoj smoli Nobias Chelate-PA1 i instrumentna metoda mjerenja kvadrupolnim spektrometrom masâ s induktivno spregnutom plazmom (ICP-MS). Napravljena je operativna frakcionacija metala (ukupne koncentracije i koncentracije u otopljenoj fazi), modelirana je njihova specijacija i određena je potencijalno bioraspoloživa frakcija metala metodom DGT te metodom s protočnim kolonama punjenim smolom Chelex-100 koja je razvijena tijekom ovog istraživanja.

Ukupne koncentracije metala u uzorcima sedimenta određene su tehnikama atomske apsorpcijske spektrometrije, a bioraspoloživa frakcija je nakon modificiranog prvog koraka sekvencijske ekstrakcije BCR određena metodom ICP-MS. Sve metode razvijene tijekom ovog istraživanja detaljno su opisane i validirane analizom certificiranih referentnih materijala, a dobiveni rezultati analize realnih uzoraka uspoređeni su s dostupnim podacima iz literature.

Istraživanja morske vode u kojoj su uz metale u tragovima (Zn, Cd, Pb, Cu, Ni, Co) i elemente rijetkih zemalja (Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) određeni i fizikalno-kemijski parametri te otopljeni organski ugljik (OOU) pokazala su sljedeće:

1. Koncentracije Zn, Pb i Cu rastu od referentne točke izvan zaljeva prema unutarnjem zaljevu, dostižući prosječne vrijednosti faktora obogaćenja (EF_v) od 4,3, 8,5 odnosno 3,2, za otopljene frakcije spomenutih metala. Više koncentracije Zn, Cu i Pb izmjerene su tijekom toplijeg dijela godine vjerojatno zbog intenzivnijih nautičkih aktivnosti. Pridneni sloj vode ima veću koncentraciju Pb, dok se Zn i Cu nalaze u višim koncentracijama na površini. Ovo je jasan pokazatelj izvora metala unutar zaljeva. Međutim, nije identificirano nikakvo specifično izvorište, s izuzetkom marina, za koje je poznato da su izvor Cu i Zn.

2. Koncentracije Cd, Ni i Co su relativno homogene na cijelom području. Za njih nisu ustanovljene razlike koje se mogu povezati s godišnjim dobima ili slojem vodenog stupca.
3. Većina metala prisutna je u otopljenoj frakciji. Najviši udio otopljene frakcije utvrđen je za Cd i Ni, a najniži za Pb.
4. Rezultati analizâ elemenata rijetkih zemalja (lantanoida i Y) u morskoj vodi dobiveni tijekom ovog istraživanja zasad su jedini podaci o vrijednostima koncentracija ovih elemenata u Jadranskom moru.
5. Koncentracije lantanoida i Y kreću se prema Oddo-Harkinsovom pravilu, u intervalu koncentracija od 0,09 ng / L do 24,2 ng / L. Ove vrijednosti se ne bi mogle odrediti dostupnim kvadrupolnim instrumentom ICP-MS bez pretkoncentracije. Iz normaliziranih podataka vidljive su anomalije karakteristične za morskou vodu s iznimkom pozitivne anomalije Ce, što može biti posljedica uvjeta redoks potencijala.
6. Utvrđene su očekivano niže koncentracije u frakciji DGT u odnosu na koncentracije u otopljenoj frakciji ispitivanih metala, a korelacija između dviju frakcija vidljiva je za Zn, Pb i Cu. Prosječni udjeli frakcije DGT u otopljenoj frakciji kreću se od 34 % (Cu) do 92 % (Cd) nizu Cu < Pb ≈ Ni ≈ Co < Zn < Cd.
7. Metodom određivanja potencijalno bioraspoložive frakcije Cu u morskoj vodi na sustavu s protočnim kolonama ispunjenim kelirajućom smolom Chelex-100 utvrđeni su nešto niži udjeli ove frakcije u odnosu na DGT-labilnu frakciju. Razlog tomu je vjerojatno kraće vrijeme zadržavanja u kolonama u odnosu na vrijeme izlaganja uzorkivača DGT.
8. Jednoparametarski indeks onečišćenja te indeks onečišćenja prema Nemerowu ne pokazuju mogućnost negativnih utjecaja na okoliš i ljudsko zdravlje u odnosu na vrijednosti propisane u hrvatskom, europskom i američkom zakonodavstvu. U usporedbi s kriterijima australskog i novozelandskog vijeća nadležnog za zaštitu okoliša, oba indeksa ukazuju na mogućnost pojave štetnih učinaka, a dio se uzoraka svrstava i u najvišu, V. kategoriju onečišćenja prema Nemerowu (kategorija jakog onečišćenja). Najviša kategorija onečišćenja prema Nemerowu u usporedbi s predloženim vrijednostima DGT-EQS je kategorija umjerenog onečišćenja (IV. kategorija).

Modeliranje specijacije je pokazalo sljedeće:

1. Rezultati modeliranja računalnim programom *Visual MINTEQ* se mogu usporediti s eksperimentalno određenom potencijalno bioraspoloživom frakcijom (frakcijom DGT) za Zn, Cd, Ni i Co.
2. Iako s vrlo visokim faktorom korelacije, niže koncentracije labilnih specija predviđenih modelom za Cu i Pb vjerojatno su posljedica nepotpune adekvatnosti upotrebljenog modela za specijacijske analize u morskoj vodi te primijenjenog izraza za izračunavanje labilne frakcije.

Istraživanja morskog sedimenta iz Pulskog zaljeva u kojem su određene ukupne koncentracije (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Zn) i potencijalno bioraspoložive frakcije elemenata (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn), pokazala su sljedeće:

1. Unutar zaljeva generalno su izmjerene više koncentracije svih elemenata izuzev Mn, koji pokazuje ujednačene koncentracije na svim uzorkovanim mjestima. Isto pokazuju i vrijednosti indeksa geoakumulacije (I_{geo}). Intervali koncentracijâ Co, Cr, Fe i Ni odgovaraju koncentracijama pozadinskih signala Sjevernog Jadrana. Najviše koncentracije nađene su u horizontima na dubinama od 10 cm do 20 cm. Najveće obogaćenje prema vrijednostima faktora obogaćenja (EF) u sedimentu Pulskog zaljeva pokazuju Hg i Pb, a najniže Co. Vrijednosti EF izračunate prema Fe kao konzervativnom elementu pokazuju niže kategorije obogaćenja u odnosu na vrijednosti izračunate prema Mn kao konzervativnom elementu.
2. Koncentracije elemenata rijetkih zemalja u sedimentu Pulskog zaljeva značajno su više od dostupnih literarnih podataka o sedimentima s istočnojadranske obale, Crnog i Baltičkog mora te europskog dijela Atlantske obale. Iako mogući razlozi dobivanja ovakvih vrijednosti nisu posebno ispitivani, vjerojatno se radi o pozadinskim koncentracijama koje su u skladu s koncentracijama danim u geološkom atlasu za ovo područje. Normalizacijom podataka dobivena je anomalija Eu karakteristična za morski sediment, ali i anomalije koje se potencijalno mogu povezati s antropogenom aktivnošću.
3. Koncentracije u bioraspoloživim frakcijama sedimenata kreću se u nizu $Fe < Cr < As \approx Co \approx Cu \approx Pb < Ni < Zn < Mn < Cd$. Navedeni niz se relativno dobro slaže s nizom nađenim u uzorcima morske vode metodom DGT i literarnim

podacima. Srednje vrijednosti udjela bioraspoloživih frakcija u ukupnim koncentracijama kreću se od 0,21 % (Fe) do 54,4 % (Cd). Korelacije između dvaju skupa podataka nađene su za Cd, Co, Ni, Pb i Zn.

4. Kako vrijednosti faktorâ obogaćenja (*EF*), tako i procjena rizika na temelju rezultata analize sedimenta ukazuje na Hg kao najznačajnije onečišćivo u sedimentu Pulskog zaljeva. Za ovaj element su dobivene najviše vrijednosti indeksa geoakumulacije koje sežu i do najvišeg razreda onečišćenja sedimenta (iznimno jakog onečišćenja), a vrijednosti su više i od pragova ERL i ERM. Prema indeksu geoakumulacije, sljedeće najveće onečišćivo je Pb, slijede Zn i Cu pa Cd. U usporedbi s pragovima ERL i ERM, nakon Hg slijedi As pa Ni, Pb i Zn prema ERL, odnosno Cu, Ni, Pb i Zn prema ERM.

Za potrebe izrade doktorske disertacije razvijene su nove metode pripreme i analize uzorka. Zaključci na temelju usporedbe s drugim metodama i tehnikama su sljedeći:

1. Razvijena je metoda pretkoncentracije na smoli Nobias Chelate-PA1 kojom se uspješno mogu odrediti Zn, Cd, Pb, Cu, Ni, Co i elementi rijetkih zemalja u uzorcima morske vode.
2. Usporedba s voltametrijskim mjeranjima pokazala je dobro slaganje trendova kretanja rezultata uz određena sustavna mjerna odstupanja i prihvatljive pogreške uslijed kojih se metodom ICP-MS nakon pretkoncentracije dobivaju niže vrijednosti koncentracija Zn, a više Cu i Pb. Analiza varijance pokazala je statistički značajne razlike između dva skupa podataka za Cd i Co iako se radi o maksimalnim apsolutnim pogreškama od 2,9 ng / L za Cd i 32,9 ng / L za Co.
3. Ispitivanja razvijenom metodom određivanja potencijalno bioraspoložive frakcije na sustavu s protočnim kolonama pokazala su nešto niže rezultate u odnosu na metodu DGT, no sustav ima veliki potencijal za implementaciju *in-situ* čime bi se značajno smanjila manipulacija uzorcima i vrijeme od uzorkovanja do početka obrade uzorka.
4. Razrađena je metoda potpune mikrovalne digestije i analize uzorka sedimenta tehnikama atomske spektrometrije: FAAS (Zn, Fe, Mn), ETAAS (As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni i Pb), CVAAS (Hg) i ICP-MS (elementi rijetkih zemalja). Osjetljivosti metodâ dovoljne su za analizu svih elemenata u uzorcima iz Pulskog zaljeva izuzev Cd, čije su koncentracije u pojedinim uzorcima niže od granice detekcije.

5. Razrađena je metoda ICP-MS za određivanje bioraspoložive frakcije u sedimentu nakon modifikacije prvog koraka sekvencijalne ekstrakcije BCR. Osjetljivost multielementne metode dovoljna je za analizu svih elemenata u bioraspoloživoj frakciji sedimenata iz Pulskog zaljeva.

§ 6. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

A	maseni broj
AAS	atomska apsorpcijska spektrometrija
Abs	apsorbanca
AES	atomska emisijska spektrometrija
AFS	atomska fluorescencijska spektrometrija
ANZECC	Australian and New Zealand Environment and Conservation Council
ANZECC-DGV	zadane smjernice ANZECC-a
APCD	amonijev pirolidinditiokarbamant
ASV	anodna voltametrija otapanja
BCR	Community Bureau of Reference
BF	bioraspoloživa frakcija u vodi
BFs	bioraspoloživa frakcija u sedimentu
c	množinska koncentracija
CE	kapilarna elektroforeza
CHEAQS	Chemical Equilibria in Aquatic Systems
CLE-AdCSV	adsorptivna katodna voltametrija otapanja s kompetitivnom izmjenom iona
CRC	kolizijsko-reakcijska ćelija
CRM	certificirani referentni materijal
CSV	katodna voltametrija otapanja
CV	tehnika hladnih para
DDDC	dietilamonijev dietilditiokarbamant
DGT	difuzijski gradijenti u tankom sloju
DGT-EQS	standard kakvoće okoliša za metodu DGT
DMA	direktni analizator Hg
DPASV	anodna voltametrija otapanja s diferencijalno-impulsnom promjenom potencijala
EDL	lampa s bezelektrodnim izbojem
EDTriA	etendiaminrietanska kiselina

EF	faktor obogaćenja za sediment
EFv	faktor obogaćenja za vodu
ERL	prag NOAA-e iznad kojeg su mogući štetni učinci
ERM	prag NOAA-e iznad kojeg se očekuju štetni učinci
ETAAS	atomska apsorpcijska spektrometrija s elektrotermičkom pobudom (grafitnom peći)
FAAS	atomska apsorpcijska spektrometrija s plamenom pobudom
FAES	plamena fotometrija
FEP	fluorirani etilenpropilen
FI	tehnika ubrizgavanja u protok
GC	plinska kromatografija
Gd _{ant}	koncentracija antropogenog Gd
GFAAS	atomska apsorpcijska spektrometrija s grafitnom peći (elektrotermičkom pobudom)
HCL	lampa sa šupljom katodom
HDPE	polietilen visoke gustoće
HG	hidridna tehnika
HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
HR-ICP-MS	ICP-MS visoke rezolucije
HREE	teški elementi rijetkih zemalja
<i>I</i>	jakost struje
IAEA	Međunarodna agencija za atomsku energiju
IAEA-MESL	Laboratorij za morski okoliš IAEA-e
ICP-MS	spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom
ICP-OES	atomska emisijska spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom
IDA	iminodietanska kiselina
IDMS	spektrometrija masa s izotopskim razrjeđivanjem
<i>I_{geo}</i>	indeks geoakumulacije
INAA	instrumentna analiza neutronskom aktivacijom
ISE	Ion-selektivna elektroda
IUPAC	Međunarodna unija za čistu i primjenjenu kemiju
<i>k</i>	faktor proširenja nesigurnosti

LA	laserska ablacija
LC	tekućinska kromatografija
LDPE	polietilen niske gustoće
LLE	ekstrakcija tekuće-tekuće
LOD	granica detekcije
LP	krajnja točka linearнog kalibracijskog područja
LREE	laki elementi rijetkih zemalja
M	modifikator
<i>m</i>	masa
m_k	karakteristična masa
MAP	Mediteranski akcijski plan
MC-ICP-MS	višekanalni ICP-MS
MED POL	Program za procjenu i kontrolu onečišćivanja u Sredozemnoj regiji
MeHg	metilživa
MGK-SKVO	standard kakvoće vodenog okoliša – maksimalne godišnje koncentracije
NICA	Model Non-ideal competitive adsorption
NMDG	<i>N</i> -metil- <i>D</i> -glukamin
NN	Narodne novine
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration
NRCC	National Research Council Canada
NTA	nitriloetanska kiselina
OF	otopljena frakcija
OOU	otopljeni organski ugljik
P	visina plamenika
P_1	srednja vrijednost pojedinačnih indeksa onečišćenja p_i
p_i	jednoparametarski indeks onečišćenja
P_N	indeks onečišćenja prema Nemerowu
PAAS	Post-Archean Australian Shale – sustav normalizatora elemenata rijetkih zemalja
PES	hidrofilni polietersulfon
PFA	perfluoroalkoksialkan
PGK-SKVO	standard kakvoće vodenog okoliša - prosječne godišnje koncentracije

PVDF	poliviniliden fluorid
QQQ	trostruki kvadrupol
r	Pearsonov koeficijent korelacije
R^2	koeficijent determinacije
RAC	risk assesment code – procjena rizika na temelju bioraspoložive frakcije sedimenta
REE	elementi rijetkih zemalja
RF	radiofrekvencijski (generator)
RSD	relativna standardna devijacija
S	praktični salinitet
SF	sektorski ICP-MS
SHE	standardna vodikova elektroda
SHM	Stockholm Humic Model
SKVO	standard kakvoće vodenog okoliša
SM&T	Standards, Measurements and Testing Programme
SPE	ekstrakcija na čvrstoj fazi
SQG	standard kakvoće sedimenta
SWASV	anodna voltametrija otapanja s pravokutnom diferencijalno-impulsnom promjenom potencijala
T_a	temperatura atomizacije
TBT	tributilkositreni spojevi
TCE	tehnološki-kritični elementi
TIMS	spektrometrija masâ s termalnom ionizacijom
TOF-ICP-MS	ICP-MS s mjeranjem vremena leta
T_p	temperatura pirolize
TWA	vremenski usrednjena koncentracija određena metodom DGT
UNEP	Program Ujedinjenih naroda za okoliš
USEPA	United States Environmental Protection Agency
USEPA-CCC	kriteriji USEPA-e za kroničnu izloženost
UV	ultraljubičasto (zračenje / digestija)
\dot{V}	protok
VG	tehnika generacije parâ

w	maseni udio
WFD	Okvirna direktiva Europske unije o vodama (Direktiva 2000/60/EZ Europskog parlamenta i vijeća)
WHAM	Windermere Humic Aqueous Model
X^*	anomalija elementa X
X_n	normalizirana koncentracija elementa X
XRF	rendgenska fluorescentna spektroskopija
γ	masena koncentracija
γ_K	karakteristična koncentracija
γ_{PK}	koncentracija nakon postupka pretkoncentracije
ε	iskorištenje
λ	valna duljina
φ	volumni udio

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. K. W. Bruland i M. C. Lohan, *Controls of Trace Metals in Seawater*, Vol. 6, 2003, str. 23-44.
2. J. H. Duffus, *Pure Appl. Chem.*, **74** (2002) 793-807.
3. A. Cobelo-García, M. Filella, P. Croot, C. Frazzoli, G. Du Laing, N. Ospina-Alvarez, S. Rauch, P. Salaun, J. Schäfer i S. Zimmermann, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **22** (2015) 15188-15194.
4. W. Gwenzi, L. Mangori, C. Danha, N. Chaukura, N. Dunjana i E. Sanganyado, *Sci. Total Environ.*, **636** (2018) 299-313.
5. J. R. Lead, W. Davison, J. Hamilton-Taylor i J. Buffle, *Aquat. Geochem.*, **3** (1997) 213-232.
6. D. M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelis, L.-G. Danielsson, H. Muntau, H. P. v. Leeuwen i R. Lobinski, *Pure Appl. Chem.*, **72** (2000) 1453-1470.
7. D. M. Templeton i H. Fujishiro, *Coord. Chem. Rev.*, **352** (2017) 424-431.
8. A. A. Menegário, L. N. M. Yabuki, K. S. Luko, P. N. Williams i D. M. Blackburn, *Anal. Chim. Acta*, **983** (2017) 54-66.
9. J. P. Riley i R. Chester, *Introduction to marine chemistry*, Academic Press, London, 1971.
10. W. Stumm i J. J. Morgan, u W. Stumm, J. J. Morgan (ur.), *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*, Wiley, New York, 1996, str. 252-348.
11. M. E. Hodson, *Environ. Pollut.*, **129** (2004) 341-343.
12. R. Hübner, K. B. Astin i R. J. H. Herbert, *J. Environ. Monit.*, **12** (2010) 1511-1514.
13. Z. Hu, S. Haneklaus, G. Sparovek i E. Schnug, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **37** (2006) 1381-1420.
14. J. Crnički, *Rud.-geol-naft.zb.*, **1** (1989) 41-46.
15. D. R. Lide i W. M. Haynes, *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 2009-2010*, Vol. 131, American Chemical Society, Boca Raton, SAD, 2009, str. 14-18.
16. R. L. Rudnick i S. Gao, u R. L. Rudnick (ur.), *The crust*, Vol. 3, Elsevier, Amsterdam, 2005, str. 1-64.
17. K. H. Johannesson i W. B. Lyons, *Chem. Geol.*, **119** (1995) 209-223.
18. V. Hatje, J. Schijf, K. H. Johannesson, R. Andrade, M. Caetano, P. Brito, B. A. Haley, M. Lagarde i C. Jeandel, *Global Biogeochem. Cy.*, **38** (2024) e2024GB008125.
19. R. G. Eggert, *Nat. Chem.*, **3** (2011) 688-691.
20. M. Filella i J. C. Rodríguez-Murillo, *Chemosphere*, **182** (2017) 605-616.
21. J. Rétif, A. Zalouk-Vergnoux, N. Briant i L. Poirier, *Sci. Total Environ.*, **856** (2023) 158890.
22. L. Brioschi, M. Steinmann, E. Lucot, M.-C. Pierret, P. Stille, J. Prunier i P.-M. Badot, *Plant Soil*, **366** (2013) 143-163.
23. P.-Y. Cardon, O. Roques, A. Caron, M. Rosabal, C. Fortin i M. Amyot, *Environ. Pollut.*, **258** (2020) 113804.
24. J. a. Cui, Z. Zhang, W. Bai, L. Zhang, X. He, Y. Ma, Y. Liu i Z. Chai, *J. Environ. Sci.*, **24** (2012) 209-213.

25. R. Freitas, S. Costa, C. E. D Cardoso, T. Morais, P. Moleiro, A. C. Matias, A. F. Pereira, J. Machado, B. Correia, D. Pinheiro, A. Rodrigues, J. Colónia, A. M. V. M. Soares i E. Pereira, *Chemosphere*, **244** (2020) 125457.
26. H. Hanana, P. Turcotte, C. André, C. Gagnon i F. Gagné, *Chemosphere*, **181** (2017) 197-207.
27. J. Pinto, M. Costa, C. Leite, C. Borges, F. Coppola, B. Henriques, R. Monteiro, T. Russo, A. Di Cosmo, A. M. V. M. Soares, G. Polese, E. Pereira i R. Freitas, *Aquat. Toxicol.*, **211** (2019) 181-192.
28. G. Trapasso, S. Chiesa, R. Freitas i E. Pereira, *Sci. Total Environ.*, **781** (2021) 146273.
29. C. Martino, T. Chianese, R. Chiarelli, M. C. Roccheri i R. Scudiero, *Int. J. Mol. Sci.*, **23** (2022) 2876.
30. C. Chen, P. Zhang i Z. Chai, *Anal. Chim. Acta*, **439** (2001) 19-27.
31. C. Koeberl i P. M. Bayer, *J. Alloys Compd.*, **180** (1992) 63-70.
32. A. A. Brouziotis, A. Giarra, G. Libralato, G. Pagano, M. Guida i M. Trifuggi, *Front. Environ. Sci.*, **10** (2022) 1-14.
33. P. Neira, A. Romero-Freire, M. D. Basallote, H. Qiu, A. Cobelo-García i C. R. Cánovas, *Front. Mar. Sci.*, **9** (2022) 1-14.
34. A. Masuda, *J. Earth Sci.*, **10** (1962) 173-187.
35. M. Bau, K. Schmidt, A. Pack, V. Bendel i D. Kraemer, *J. Appl. Geochem.*, **90** (2018) 142-149.
36. W. B. Nance i S. R. Taylor, *GCA*, **40** (1976) 1539-1551.
37. S. M. McLennan, u R. L. Bruce, G. A. McKay (ur.), *Geochemistry and Mineralogy of Rare Earth Elements*, De Gruyter, Berlin, Boston, 1989, str. 169-200.
38. A. Pourmand, N. Dauphas i T. J. Ireland, *Chem. Geol.*, **291** (2012) 38-54.
39. M. Lawrence, A. Greig, K. Collerson i B. Kamber, *Aquat. Geochem.*, **12** (2006) 39-72.
40. A. Cobelo-García, P. Bernárdez, C. Mendoza-Segura, E. González-Ortegón, D. Sánchez-Quiles, R. Sánchez-Leal i A. Tovar-Sánchez, *Front. Mar. Sci.*, **11** (2024) 1-10.
41. W. Stumm i J. J. Morgan, u W. Stumm, J. J. Morgan (ur.), *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*, Wiley, New York, 1996, str. 206-251.
42. J. Gaillardet, J. Viers i B. Dupré, u J. I. Drever (ur.), *Treatise on Geochemistry, Surface and Groundwater, Weathering and Soils*, Vol. 5, Elsevier, Amsterdam, 2003, str. 225-272.
43. R. P. Mason, *Trace Metals in Aquatic Systems*, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 2013, str. 219-309.
44. J. Richir i S. Gobert, *J. Environ. Anal. Toxicol.*, **6** (2016) 1-19.
45. W. Stumm i J. J. Morgan, u W. Stumm, J. J. Morgan (ur.), *Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters*, Wiley, New York, 1996, str. 614-725.
46. R. Chiarelli, C. Martino i M. C. Roccheri, *Cell Stress Chaperones*, **24** (2019) 675-687.
47. A. Tagliabue, u J. K. Cochran, H. J. Bokuniewicz, P. L. Yager (ur.), *Encyclopedia of Ocean Sciences (Third Edition)*, Academic Press, Oxford, 2019, str. 122-127.
48. F. G. W. Stig, G. A. Leif, O. J. H. Per, I. Åke, M. R. Michiel i S. Bjørn, *GCA*, **50** (1986) 1289-1296.
49. N. Cukrov, N. Cukrov i D. Omanović, *J. Mar. Sci. Eng.*, **12** (2024) 466.
50. T. Bianchi, *Biogeochemistry of Estuaries*, 2007, str. 706.
51. J. F. Peng, Y. H. Song, P. Yuan, X. Y. Cui i G. L. Qiu, *J. Hazard. Mater.*, **161** (2009) 633-640.

52. G. Du Laing, R. De Vos, B. Vandecasteele, E. Lesage, F. M. G. Tack i M. G. Verloo, *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **77** (2008) 589-602.
53. P. M. Chapman i F. Wang, *Environ. Toxicol. Chem.*, **20** (2001) 3-22.
54. K. S. Smith, u G. S. Plumlee, M. J. Logsdon, L. F. Filipek (ur.), *The Environmental Geochemistry of Mineral Deposits*, Vol. 6, Society of Economic Geologists, Littleton, 1997, str. 161-182.
55. A. Tessier i P. G. C. Campbell, *Hydrobiologia*, **149** (1987) 43-52.
56. E. D. Burton, I. R. Phillips i D. W. Hawker, *Soil Sedim. Contam.*, **15** (2006) 253-276.
57. N. Cukrov, S. Frančišković-Bilinski, B. Hlača i D. Barišić, *Mar. Pollut. Bull.*, **62** (2011) 154-167.
58. L. J. Ehlers i R. G. Luthy, *Environ. Sci. Technol.*, **37** (2003) 295A-302A.
59. K. Soetaert, A. F. Hofmann, J. J. Middelburg, F. J. R. Meysman i J. Greenwood, *Mar. Chem.*, **105** (2007) 30-51.
60. B. Jørgensen, u H. D. Schulz, M. Zabel (ur.), *Marine Geochemistry*, Springer Berlin, Heidelberg, 2006, str. 169-206.
61. B. B. Jørgensen, F. Wenzhöfer, M. Egger i R. N. Glud, *Earth-Sci. Rev.*, **228** (2022) 103987.
62. P. N. Froelich, G. P. Klinkhammer, M. L. Bender, N. A. Luedtke, G. R. Heath, D. Cullen, P. Dauphin, D. Hammond, B. Hartman i V. Maynard, *GCA*, **43** (1979) 1075-1090.
63. R. Tostevin i S. W. Poulton, u M. Gargaud, W. M. Irvine, R. Amils, H. J. Cleaves, D. Pinti, J. Cernicharo Quintanilla, M. Viso (ur.), *Encyclopedia of Astrobiology*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2019, str. 1-4.
64. P. Kelderman i A. A. Osman, *Water Res.*, **41** (2007) 4251-4261.
65. D. J. Burdige, *Earth-Sci. Rev.*, **35** (1993) 249-284.
66. E. R. Weiner, *Applications of Environmental Aquatic Chemistry: A Practical Guide*, CRC Press, Boca Raton, 2013, str. 456.
67. G. Ciceri, C. Maran, W. Martinotti i G. Queirazza, *Hydrobiologia*, **235** (1992) 501-517.
68. B. Von der Heyden i A. Roychoudhury, *Mar. Chem.*, **177** (2015) 9-19.
69. D. Emerson, u (ur.), *Environmental Microbe-Metal Interactions*, 2000, str. 31-52.
70. W. G. Sunda i D. J. Kieber, *Nature*, **367** (1994) 62-64.
71. D. A. Dzombak i F. M. M. Morel, *J. Hydraul. Eng.*, **113** (1987) 430-475.
72. L. A. Warren i E. A. Haack, *Earth-Sci. Rev.*, **54** (2001) 261-320.
73. B. K. G. Theng, *Clay Miner.*, **15** (1980) 99-99.
74. L. M. Whitby i M. Schnitzer, *Can. J. Soil Sci.*, **58** (1978) 167-178.
75. J. A. Baldock, C. A. Masiello, Y. Gélinas i J. I. Hedges, *Mar. Chem.*, **92** (2004) 39-64.
76. C. Zhang, Z.-g. Yu, G.-m. Zeng, M. Jiang, Z.-z. Yang, F. Cui, M.-y. Zhu, L.-q. Shen i L. Hu, *Environ. Int.*, **73** (2014) 270-281.
77. I. Ali i H. Aboul-Enein, *Instrumental Methods in Metal Ion Speciation*, 2006, str. 5-13.
78. O. Giuffrè, A. Napoli i C. Rey-Castro, *Front. Chem.*, **9** (2021) 1-3.
79. R. Heena i A. K. Malik, u Y. Pico (ur.), *Chemical Analysis of Food*, Academic Press, Cambridge, 2020, str. 813-868.
80. R. Moriyasu i J. W. Moffett, *Mar. Chem.*, **239** (2022) 104073.
81. M. Pesavento, R. Biesuz, F. Baffi i C. Gnecco, *Anal. Chim. Acta*, **401** (1999) 265-276.
82. F. Quattrini, J. Galceran, C. Rey-Castro, J. Puy i C. Fortin, *Environ. Chem.*, **16** (2019) 151-164.

83. D. G. Kinniburgh, C. J. Milne, M. F. Benedetti, J. P. Pinheiro, J. Filius, L. K. Koopal i W. H. Van Riemsdijk, *Environ. Sci. Technol.*, **30** (1996) 1687-1698.
84. J. P. Gustafsson, *J. Colloid. Interface Sci.*, **244** (2001) 102-112.
85. S. Meylan, N. Odzak, R. Behra i L. Sigg, *Anal. Chim. Acta*, **510** (2004) 91-100.
86. E. R. Unsworth, K. W. Warnken, H. Zhang, W. Davison, F. Black, J. Buffel, J. Cao, R. Cleven, J. Galceran, P. Gunkel, E. Kalis, D. Kistler, H. P. Van Leeuwen, M. Martin, S. Noël, Y. Nur, N. Odzak, J. Puy, W. Van Riemsdijk, L. Sigg, E. Temminghoff, M. L. Tercier-Waeber, S. Toepperwien, R. M. Town, L. Weng i H. Xue, *Environ. Sci. Technol.*, **40** (2006) 1942-1949.
87. L. Balistrieri i R. Blank, *J. Appl. Geochem.*, **23** (2008) 3355-3371.
88. A.-M. Cindrić, N. Cukrov, G. Durrieu, C. Garnier, I. Pižeta i D. Omanović, *Croat. Chem. Acta*, **92** (2017) 187-185.
89. A. M. Cindrić, S. Marcinek, C. Garnier, P. Salaün, N. Cukrov, B. Oursel, V. Lenoble i D. Omanović, *Sci. Total Environ.*, **721** (2020) 137784.
90. T. Huynh, D. Mulligan i B. Noller, u *11th International Conference on Biogeochemistry of Trace Elements*, ICOBTE, Firenze, **2011**.
91. S. Han, W. Naito i S. Masunaga, *Water Sci. Technol.*, **74** (2016) 896-903.
92. D. Omanović, I. Pižeta, P. Vukosav, E. Kovács, S. Frančíšković-Bilinski i J. Tamás, *Sci. Total Environ.*, **511** (2015) 423-434.
93. J. R. Lead i K. J. Wilkinson, u J. R. Lead, K. J. Wilkinson (ur.), *IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems*, Vol. 10, John Wiley & Sons, New York, 2007, str. 1-17.
94. J. Buffel i H. P. Van Leeuwen, *Environmental particles. Vol. 1 (IUPAC Environmental analytical and physical chemistry series)*, Lewis Publishers, Boca Raton, 1992, str. 208-272.
95. D. H. Everett, *Pure Appl. Chem.*, **31** (1972) 577-638.
96. M. Filella, u K. Wilkinson, J. Lead (ur.), *Environmental Colloids and Particles: Behaviour, Separation and Characterisation - Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems*, Vol. 10, John Wiley & Sons, New York, 2007, str. 6, 17-23.
97. M. L. Wells, u D. A. Hansell, C. A. Carlson (ur.), *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*, Vol. 1, Academic Press, Cambridge, 2002, str. 367-404.
98. A.-M. Cindrić, C. Garnier, B. Oursel, I. Pižeta i D. Omanović, *Mar. Pollut. Bull.*, **94** (2015) 199-216.
99. P. H. Santschi, J. J. Lenhart i B. D. Honeyman, *Mar. Chem.*, **58** (1997) 99-125.
100. D. Tang, K. W. Warnken i P. H. Santschi, *Mar. Chem.*, **78** (2002) 29-45.
101. W. Wang, M. Chen, L. Guo i W.-X. Wang, *Sci. Total Environ.*, **603** (2017) 434-444.
102. S. Marcinek, A. M. Cindrić, J. Pađan i D. Omanović, *Appl. Sci.*, **12** (2022) 5816.
103. B. Oursel, C. Garnier, G. Durrieu, S. Mounier, D. Omanović i Y. Lucas, *Mar. Pollut. Bull.*, **69** (2013) 137-149.
104. V. Tanguy, M. Waeles, J. Gigault, J.-Y. Cabon, F. Quentel i R. D. Riso, *Mar. Freshw. Res.*, **62** (2011) 329-341.
105. M. Waeles, V. Tanguy i R. D. Riso, *Chemosphere*, **119** (2015) 1176-1184.
106. C.-g. Yuan, J.-b. Shi, B. He, J.-f. Liu, L.-n. Liang i G.-b. Jiang, *Environ. Int.*, **30** (2004) 769-783.
107. Y. Qiao, Y. Yang, J. Gu i J. Zhao, *Mar. Pollut. Bull.*, **68** (2013) 140-146.
108. A. Lerman, *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.*, **6** (1978) 281-303.
109. J. Eggleton i K. V. Thomas, *Environ. Int.*, **30** (2004) 973-980.

110. A. Ciutat, M. Gerino i A. Boudou, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **68** (2007) 108-117.
111. M. Xie, S. L. Simpson i W.-X. Wang, *Environ. Pollut.*, **250** (2019) 87-96.
112. J. Yang, L. Chen, L. Z. Liu, W. L. Shi i X. Z. Meng, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **102** (2014) 129-135.
113. J. R. Bacon i C. M. Davidson, *Analyst*, **133** (2008) 25-46.
114. O. Hanay, H. Hasar, N. N. Kocer i S. Aslan, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **81** (2008) 42-46.
115. K. Nemati, N. K. Abu Bakar, M. R. Abas, E. Sobhanzadeh i K. H. Low, *Environ. Monit. Assess.*, **176** (2011) 313-320.
116. M. Pueyo, G. Rauret, D. Lück, M. Yli-Halla, H. Muntau, P. Quevauviller i J. F. López-Sánchez, *J. Environ. Monit.*, **3** (2001) 243-250.
117. C. Bettoli, L. Stievano, M. Bertelle, F. Delfino i E. Argese, *J. Appl. Geochem.*, **23** (2008) 1140-1151.
118. U. Förstner, *J. Environ. Anal. Chem.*, **51** (1993) 5-23.
119. M. Kersten i U. Förstner, *Mar. Chem.*, **22** (1987) 299-312.
120. W. Salomons i U. Förstner, *Environ. Technol. Lett.*, **1** (1980) 506-517.
121. A. Tessier, P. G. C. Campbell i M. Bisson, *Anal. Chem.*, **51** (1979) 844-851.
122. P. Quevauviller, G. Rauret, H. Muntau, A. M. Ure, R. Rubio, J. F. López-Sánchez, H. D. Fiedler i B. Griepink, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349** (1994) 808-814.
123. G. Rauret, J. F. López-Sánchez, A. Sahuquillo, R. Rubio, C. Davidson, A. Ure i P. Quevauviller, *J. Environ. Monit.*, **1** (1999) 57-61.
124. A. M. Ure, P. Quevauviller, H. Muntau i B. Griepink, *J. Environ. Anal. Chem.*, **51** (1993) 135-151.
125. Y. Gao, C. Zhou, C. Gaulier, A. Bratkic, J. Galceran, J. Puy, H. Zhang, M. Leermakers i W. Baeyens, *TrAC Trends Anal. Chem.*, **116** (2019) 92-101.
126. K. Hirose, *Analytical Sciences*, **22** (2006) 1055-1063.
127. S. N. Luoma, *Sci. Total Environ.*, **28** (1983) 1-22.
128. S. N. Luoma, *Hydrobiologia*, **176** (1989) 379-396.
129. J. G. A. Burton, *Limnol.*, **3** (2002) 65-76.
130. A. Kot-Wasik i J. Namieśnik, *TrAC Trends Anal. Chem.*, **19** (2000) 69-79.
131. C. A. Atkinson, D. F. Jolley i S. L. Simpson, *Chemosphere*, **69** (2007) 1428-1437.
132. Y. Huang, D. Zhang, Z. Xu, S. Yuan, Y. Li i L. Wang, *Arch. Environ. Prot.*, **43** (2017) 28-36.
133. X. Zhu, B. Shan, W. Tang, S. Li i N. Rong, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **23** (2016) 5516-5526.
134. G. Henze, *Introduction to Polarography and Voltammetry*, Metrohm Ltd., Herisau, 2003, str. 1, 11-16.
135. I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, 2010, str. 391-399, 424-446, 535-554.
136. D. Monticelli i S. Caprara, *Environ. Chem.*, **12** (2015) 683-705.
137. D. Omanović, C. Garnier, K. Gibbon-Walsh i I. Pižeta, *Electrochim. Commun.*, **61** (2015) 78-83.
138. A. Cobelo-García, J. Santos-Echeandía, D. E. López-Sánchez, C. Almécija i D. Omanović, *Anal. Chem.*, **86** (2014) 2308-2313.
139. M. Jakubowska, *Electroanalysis*, **23** (2011) 553-572.
140. K. W. Bruland, *Limnol. Oceanogr.*, **34** (1989) 269-285.
141. K. W. Bruland, *Limnol. Oceanogr.*, **37** (1992) 1008-1017.
142. G. Capodaglio, K. H. Coale i K. W. Bruland, *Mar. Chem.*, **29** (1990) 221-233.

143. K. H. Coale i K. W. Bruland, *Deep Sea Res.*, **37** (1990) 317-336.
144. H. H. Willard, L. L. Merritt Jr., J. A. Dean i J. Settle, F A, *Instrumental methods of analysis*, Wadsworth Publishing Company, Florence, 1988, str. 707-717.
145. J. Buffe, *Complexation Reaction in Aquatic Systems: An Analytical Approach*, Ellis Harwood, Chichester, 1988, str. 467-536.
146. D. Omanović i M. Branica, *J. Electroanal. Chem.*, **543** (2003) 83-92.
147. D. A. Skoog, S. R. Crouch i F. J. Holler, *Principles of instrumental analysis*, Cengage Learning, Boston, 2016, str. 681-684.
148. J. Pađan, S. Marcinek, A.-M. Cindrić, N. Layglon, C. Garnier, P. Salaün, A. Cobelo-García i D. Omanović, *Environ. Chem.*, **17** (2020) 77-84.
149. J. Wang, u A. J. Bard (ur.), *Electroanalytical chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York, 1989, str. 1-88.
150. J. Feldmann, P. Salaun i E. Lombi, *Environ. Chem.*, **6** (2009) 275-289.
151. C. M. G. van den Berg, *Anal. Proc.*, **25** (1988) 265-266.
152. A. Sanz-Medel, R. Pereiro i J. Costa-Fernandez, u J. Andrade-Garda (ur.), *RSC Analytical Spectroscopy Series*, RSD Publishing, London, 2009, str. 1-50.
153. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler i S. R. Crouch, *Fundamentals of analytical chemistry*, Brooks/Cole, Belmont, 2014, str. 781-784.
154. E. Bulska i A. Ruszczyńska, *Phys. Sci. Rev.*, **2** (2017) 20178002.
155. X. Huang, M. Guan, Z. Lu i Y. Hang, *J. Anal. Chem.*, **2018** (2018) 1-8.
156. K. Kremling, M. O. Andreae, L. Brügmann, C. M. G. van den Berg, A. Prange, M. Schirmacher, E. Koroleff, K. Kremling i J. Kus, u K. Grasshoff, K. Kremling, M. Ehrhardt (ur.), *Methods of Seawater Analysis*, John Wiley & Sons, New York, 1999, str. 253-364.
157. M. Hoenig, Spectrometrie d'absorption atomique electrothermique: contribution a l'établissement d'une méthodologie rationnelle pour la détermination des éléments traces dans les milieux naturels, Doktorski rad, L'Université des sciences et techniques de Lille Flandre Artois, 1990, str. 144.
158. B. Welz, G. Schlemmer i J. R. Mudakavi, *J. Anal. At. Spectrom.*, **7** (1992) 1257-1271.
159. E. Lima, J. Brasil i A. Santos, *Anal. Chim. Acta*, **484** (2003) 233-242.
160. E. Vassileva, H. Baeten i M. Hoenig, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369** (2001) 491-495.
161. M. T. C. de Loos-Vollebregt, u R. A. Meyers (ur.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Application, Theory and Instrumentation*, John Wiley & Sons, Ltd, New York, 2013, str. 1-17.
162. B. V. L'Vov, V. G. Nikolaev, E. A. Norman, L. K. Polzik i M. Mojica, *Spectrochim. Acta B*, **41** (1986) 1043-1053.
163. W. Slavin i G. R. Carnrick, *Spectrochim. Acta B*, **39** (1984) 271-282.
164. G. O'Connor i H. Evans, u S. J. Hill (ur.), *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, John Wiley & Sons, New York, 2007, str. 134-159.
165. J.-M. Mermet, u S. J. Hill (ur.), *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 2007, str. 27-61.
166. S. J. Hill, A. Fisher i M. Foulkes, u S. J. Hill (ur.), *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, John Wiley & Sons, New York, 2006, str. 61-97.
167. F. Vanhaecke, L. Balcaen i P. Taylor, u S. J. Hill (ur.), *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*, John Wiley & Sons, New York, 2006, str. 160-225.
168. D. Weiss, E. A. Boyle, V. Chavagnac, M. Herwegen i J. Wu, *Spectrochim. Acta B*, **55** (2000) 363-374.
169. J. Wu i E. A. Boyle, *Anal. Chem.*, **69** (1997) 2464-2470.

170. D. D. Bussan, R. F. Sessums i J. V. Cizdziel, *J. Anal. At. Spectrom.*, **30** (2015) 1668-1672.
171. V. S. Bagotsky, u (ur.), *Fundamentals of Electrochemistry*, 2005, str. 387-403.
172. J. Rachou, C. Gagnon i S. Sauvé, *Environ. Chem.*, **4** (2007) 90-97.
173. S. Marcinek, A. Chapoulie, P. Salaün, S. Smith i D. Omanović, *Talanta*, **226** (2021) 122170.
174. D. V. Biller i K. W. Bruland, *Mar. Chem.*, **130-131** (2012) 12-20.
175. A. Milne, W. Landing, M. Bizimis i P. Morton, *Anal. Chim. Acta*, **665** (2010) 200-207.
176. K. Ndung'u, R. Franks, K. Bruland i A. Flegal, *Anal. Chim. Acta*, **481** (2003) 127-138.
177. D. Omanović, Ž. Kwokal, A. Goodwin, A. Lawrence, C. E. Banks, R. G. Compton i Š. Komorsky-Lovrić, *J. Iran. Chem. Soc.*, **3** (2006) 128-139.
178. M. A. Saito i J. W. Moffett, *Mar. Chem.*, **75** (2001) 49-68.
179. M. Vega i C. M. van den Berg, *Anal. Chem.*, **69** (1997) 874-881.
180. K. W. Bruland, R. P. Franks, G. A. Knauer i J. H. Martin, *Anal. Chim. Acta*, **105** (1979) 233-245.
181. M. Ellwood i C. M. G. van den Berg, *Mar. Chem.*, **68** (2000) 295-306.
182. M. Gledhill i C. M. G. van den Berg, *Mar. Chem.*, **47** (1994) 41-54.
183. G. E. Batley i D. Gardner, *Water Res.*, **11** (1977) 745-756.
184. H. Matusiewicz, *Phys. Sci. Rev.*, **2** (2017) 20178001.
185. C. Ugliesti, P. Gabrielli, A. Lutton, J. Olesik i L. G. Thompson, The effect of acidified sample storage time on the determination of trace element concentration in ice cores by ICP-SFMS, 2012, Zbornik radova, str. C13A-0591
186. J. Nakajima, Y. Hirano i K. Oguma, *Anal. Sci.*, **19** (2003) 585-588.
187. E. A. Boyle i J. M. Edmond, *Anal. Chim. Acta*, **91** (1977) 189-197.
188. K. Akatsuka i I. Atsuya, *Anal. Chim. Acta*, **202** (1987) 223-230.
189. Q. Zhang, H. Minami, S. Inoue i I. Atsuya, *Anal. Chim. Acta*, **407** (2000) 147-153.
190. J. P. Riley i D. Taylor, *Anal. Chim. Acta*, **40** (1968) 479-485.
191. H. M. Kingston, I. L. Barnes, T. J. Brady, T. C. Rains i M. A. Champ, *Anal. Chem.*, **50** (1978) 2064-2070.
192. S.-C. Pai, P.-Y. Whung i R.-L. Lai, *Anal. Chim. Acta*, **211** (1988) 257-270.
193. K. C. Bowles, S. C. Apte, G. E. Batley, L. T. Hales i N. J. Rogers, *Anal. Chim. Acta*, **558** (2006) 237-245.
194. J. Søndergaard, G. Asmund i M. M. Larsen, *MethodsX*, **2** (2015) 323-330.
195. P. Figura i B. McDuffie, *Anal. Chem.*, **51** (1979) 120-125.
196. M. Majone, M. P. Papini i E. Rolle, *Environ. Technol.*, **17** (1996) 587-595.
197. J. K. Kiptoo, J. C. Ngila i N. D. Silavwe, *J. Hazard. Mater.*, **172** (2009) 1163-1167.
198. M. Agarwal, R. B. Bennett, I. G. Stupm i J. M. D'Avria, *Anal. Chem.*, **47** (1975) 924.
199. W. F. Bosron, F. S. Kennedy i B. L. Vallee, *Clin. Biochem.*, **14** (1975) 2275.
200. Bio-Rad Laboratories, *Chelex®-100 and Chelex®-20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual*, Bio-Rad Laboratories, Hercules, 2000, str. 2, 3, 8.
201. H. Ernstberger, H. Zhang i W. Davison, *Anal. Bioanal. Chem.*, **373** (2002) 873-879.
202. A. M. Yusof, C. H. Chia i A. K. H. Wood, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **273** (2007) 533-538.
203. J. M. Lee, E. A. Boyle, Y. Echegoyen-Sanz, J. N. Fitzsimmons, R. Zhang i R. A. Kayser, *Anal. Chim. Acta*, **686** (2011) 93-101.
204. T. Minami, W. Konagaya, L. Zheng, S. Takano, M. Sasaki, R. Murata, Y. Nakaguchi i Y. Sohrin, *Anal. Chim. Acta*, **854** (2015) 183-190.

205. M. E. Lagerström, M. P. Field, M. Séguret, L. Fischer, S. Hann i R. M. Sherrell, *Mar. Chem.*, **155** (2013) 71-80.
206. T. Mellett i K. N. Buck, *Mar. Chem.*, **227** (2020) 103891.
207. Y. Sohrin, S. Urushihara, S. Nakatsuka, T. Kono, E. Higo, T. Minami, K. Norisuye i S. Umetani, *Anal. Chem.*, **80** (2008) 6267-6273.
208. F. Quéroué, A. Townsend, P. Merwe, D. Lannuzel, G. Sarthou, E. Bucciarelli i A. Bowie, *Anal. Methods* (2014) 2837-2847.
209. I. Rapp, C. Schlosser, D. Rusiecka, M. Gledhill i E. P. Achterberg, *Anal. Chim. Acta*, **976** (2017) 1-13.
210. A. Sahuquillo, G. Rauret, A. Rehnert i H. Muntau, *Anal. Chim. Acta*, **476** (2003) 15-24.
211. E. Vassileva i P. Mandjukov, u H. Matusiewicz, E. Bulska (ur.), *Inorganic Trace Analytics: Trace Element Analysis and Speciation*, De Gruyter, Berlin, 2018, str. 118, 119, 128, 129.
212. J. R. Dean, u D. J. Ando (ur.), *Analytical Techniques in the Sciences*, John Wiley & Sons, Chichester, 2003, str. 51-64.
213. P. J. Walter, S. Chalk i H. M. Kingston, u H. M. Kingston, S. J. Haswell (ur.), *Microwave-Enhanced Chemistry: Fundamentals, Sample Preparation, and Applications*, American Chemical Society, Washington, DC, 1997, str. 93-128.
214. D. H. Loring i R. T. T. Rantala, *Earth-Sci. Rev.*, **32** (1992) 235-283.
215. V. Sandroni, C. M. M. Smith i A. Donovan, *Talanta*, **60** (2003) 715-723.
216. M. Bettinelli, G. M. Beone, S. Spezia i C. Baffi, *Anal. Chim. Acta*, **424** (2000) 289-296.
217. M. Pinna, A. Signorelli, G. Binda, C. Dossi, L. Rampazzi, D. Spanu i S. Recchia, *Methods Protoc.*, **5** (2022) 30.
218. N. M. Hassan, P. E. Rasmussen, E. Dabek-Zlotorzynska, V. Celo i H. Chen, *Water Air Soil Pollut.*, **178** (2007) 323-334.
219. USEPA, *Method 3052: Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceaus and Organically Based Matrices*, USEPA, Washington DC, 1996, str. 3052-2.
220. A. M. Hernández-Martínez, C. Padrón-Sanz, M. E. Torres Padrón, Z. S. Ferrera i J. J. Santana Rodríguez, *J. Anal. At. Spectrom.*, **30** (2015) 435-442.
221. Z. Begum, V. Balaram, S. Ahmad, M. Satyanarayanan i T. Rao, *At. Spectrosc.*, **28** (2007) 41.
222. H. M. Kingston i L. B. Jassie, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, **93** (1988) 269 - 274.
223. H. Matusiewicz i R. E. Sturgeon, *Prog. Anal. Spectr.*, **12** (1989) 21-39.
224. V. Sandroni i C. M. M. Smith, *Anal. Chim. Acta*, **468** (2002) 335-344.
225. C. Y. Zhou, M. K. Wong, L. L. Koh i Y. C. Wee, *Anal. Chim. Acta*, **314** (1995) 121-130.
226. J. W. McLaren, D. Beauchemin i S. S. Berman, *Anal. Chem.*, **59** (1987) 610-613.
227. S. Nakashima, R. E. Sturgeon, S. N. Willie i S. S. Berman, *Analyst*, **113** (1988) 159-163.
228. C. Esen i A. Balci, *J. Biol. Chem.*, **36** (2008) 123-128.
229. J. G. S. Gupta i N. B. Bertrand, *Talanta*, **42** (1995) 1595-1607.
230. J. Ivanova, R. Djingova, S. Korhammer i P. D. B. Markert, *Talanta*, **54** (2001) 567-574.
231. H. Matusiewicz, u M. Henryk, B. Ewa (ur.), *Inorganic Trace Analytics*, De Gruyter, Berlin, Boston, 2018, str. 5-68.

232. J. Aldabe, C. Santamaría, D. Elustondo, E. Lasheras i J. M. Santamaría, *Anal. Methods*, **5** (2013) 554-559.
233. S. Wu, Y.-H. Zhao, X. Feng i A. Wittmeier, *J. Anal. At. Spectrom.*, **11** (1996) 287-296.
234. IAEA-MESL, *Laboratory Procedure Book: I-1. Digestion of sediment for determination of trace metals*, IAEA-MESL, Monako, 2019, str. 4-5.
235. A. Fisher i D. Kara, *Anal. Chim. Acta*, **935** (2016) 1-29.
236. I. Wysocka, *Talanta*, **221** (2021) 121636.
237. T. C. C. Rousseau, J. E. Sonke, J. Chmeleff, F. Candaudap, F. Lacan, G. Boaventura, P. Seyler i C. Jeandel, *J. Anal. At. Spectrom.*, **28** (2013) 573-584.
238. H. Takata, K. Tagami, T. Aono i S. Uchida, *At. Spectrosc.*, **30** (2009) 10-19.
239. Y. Zhu, T. Umemura, H. Haraguchi, K. Inagaki i K. Chiba, *Talanta*, **78** (2009) 891-895.
240. Y. Zhu, A. Itoh, T. Umemura, H. Haraguchi, K. Inagaki i K. Chiba, *J. Anal. At. Spectrom.*, **25** (2010) 1253-1258.
241. E. Hathorne, B. Haley, T. Stichel, P. Grasse, M. Zieringer i M. Frank, *Geochem. Geophys.*, **13** (2012) 1-12.
242. Y. Zhu, A. Hioki i K. Chiba, *J. Anal. At. Spectrom.*, **28** (2013) 883-889.
243. V. Hatje, K. Bruland i A. Flegal, *Mar. Chem.*, **160** (2014) 4159-4198.
244. M. K. Behrens, J. Muratli, C. Pradoux, Y. Wu, P. Böning, H.-J. Brumsack, S. L. Goldstein, B. Haley, C. Jeandel, R. Paffrath, L. D. Pena, B. Schnetger i K. Pahnke, *Mar. Chem.*, **186** (2016) 110-120.
245. I. Wysocka i E. Vassileva, *Spectrochim. Acta B*, **128** (2017) 1-10.
246. M. F. Soto-Jiménez, A. I. Martinez-Salcido, O. Morton-Bermea i M. J. Ochoa-Izaguirre, *MethodsX*, **9** (2022) 101625.
247. C. Guéguen, J. Dominik i D. Perret, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370** (2001) 909-912.
248. T. Yabutani, F. Mouri, A. Itoh i H. Haraguchi, *Anal. Sci.*, **17** (2001) 399-406.
249. H. Sawatari, T. Toda, T. Saizuka, C. Kimata, A. Itoh i H. Haraguchi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68** (2006) 3065-3070.
250. Y. Zhu, A. Itoh, E. Fujimori, T. Umemura i H. Haraguchi, *J. Alloys Compd.*, **408-412** (2006) 985-988.
251. P. Censi, M. Sprovieri, F. Saiano, S. I. Di Geronimo, D. Larocca i F. Placenti, *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **71** (2007) 569-579.
252. I. Kim, S. Kim i G. Kim, *Aquat. Geochem.*, **16** (2010) 611-620.
253. H. Sakamoto, K. Yamamoto, T. Shirasaki i Y. Inoue, *Bunseki Kagaku*, **55** (2006) 133-139.
254. G. Bayon, G. B. Douglas, G. J. Denton, L. Monin i P. De Deckker, *Front. Mar. Sci.*, **7** (2020) 1-15.
255. J. Delgado, R. Pérez-López, L. Galván, J. M. Nieto i T. Boski, *Mar. Pollut. Bull.*, **64** (2012) 1799-1808.
256. E. R. Sholkovitz, *Chem. Geol.*, **88** (1990) 333-347.
257. r. A. w. Abouelkher, a. M. Abdel Lateef i A. e.-f. I. Helal, *Arab J. Nucl. Sci. Appl.*, **56** (2023) 81-90.
258. P. J. Adeti, G. Amoako, J. B. Tandoh, O. Gyampo, H. Ahiamadjie, A. S. K. Amable, C. Kansaana, R. A. T. Annan i A. Bamford, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., B*, **540** (2023) 122-128.
259. A. N. Abbott, B. A. Haley i J. McManus, *Geology*, **43** (2015) 1035-1035.

260. N. Bačić, N. Mikac, M. Lučić i I. Sondi, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **81** (2021) 574-588.
261. M. Lučić, N. Vdović, N. Bačić i N. Mikac, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **81** (2021) 541-552.
262. G. M. Patton, R. Francois, D. Weis, E. Hathorne, M. Gutjahr, M. Frank i K. Gordon, *GCA*, **301** (2021) 1-29.
263. A. Ruban, O. Dudarev, M. Rudmin i I. Semiletov, *Quaternary*, **7** (2024) 12.
264. G. Tranchida, E. Oliveri, M. Angelone, A. Bellanca, P. Censi, M. D'Elia, R. Neri, F. Placenti, M. Sprovieri i S. Mazzola, *Mar. Pollut. Bull.*, **62** (2011) 182-191.
265. A. H. Bu-Olayan i B. V. Thomas, *Environ. Pollut.*, **265** (2020) 115064.
266. W. Davison i H. Zhang, *Nature*, **367** (1994) 546-548.
267. L. Gao, B. Gao, D. Xu i L. Liu, *Sci. Total Environ.*, **715** (2020) 136810.
268. C. Li, S. Ding, L. Yang, Y. Wang, M. Ren, M. Chen, X. Fan i E. Lichtfouse, *Environ. Chem. Lett.*, **17** (2018) 801-831.
269. H. Zhang i W. Davison, *Anal. Chem.*, **67** (1995) 3391-3400.
270. A. Altier, M. Jiménez-Piedrahita, R. Uribe, C. Rey-Castro, J. Galceran i J. Puy, *Anal. Chim. Acta*, **1060** (2019) 114-124.
271. R. J. K. Dunn, P. R. Teasdale, J. Warnken i R. R. Schleich, *Environ. Sci. Technol.*, **37** (2003) 2794-2800.
272. H. Zhang i W. Davison, *Anal. Chem.*, **72** (2000) 4447-4457.
273. I. Amouroux, J.-L. Gonzalez, S. Guesdon, M. J. Belzunce-Segarra, P. Bersuder, T. Bolam, M. Caetano, M. Correia Dos Santos, J. Larreta, L. Lebrun, B. Marras, V. Millán Gabet, B. McHugh, I. Menchaca, F. Menet-Nédélec, N. Montero, O. Perceval, O. Pierre-Duplessix, F. Regan, J. G. Rodríguez, M. Rodrigo Sanz, M. Schintu, B. White i H. Zhang, *Environ. Sci. Europe*, **35** (2023) 1-12.
274. H. M. Conesa, R. Schulin i B. Nowack, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **17** (2010) 657-664.
275. N. Montero, M. J. Belzunce-Segarra, J. L. Gonzalez, J. Larreta i J. Franco, *Mar. Pollut. Bull.*, **64** (2012) 31-39.
276. W. Davison i H. Zhang, *Environ. Chem.*, **9** (2012) 1-13.
277. P. Diviš, H. Docekalová, L. Brulík, M. Pavliš i P. Hekera, *Anal. Bioanal. Chem.*, **387** (2007) 2239-2244.
278. J. Drozdak, M. Leermakers, Y. Gao, V. Phrommavanh i M. Descostes, *Anal. Chim. Acta*, **889** (2015) 71-81.
279. Y. Gao, L. Lesven, D. Gillan, K. Sabbe, G. Billon, S. De Galan, M. Elskens, W. Baeyens i M. Leermakers, *Mar. Chem.*, **117** (2009) 88-96.
280. M. Leermakers, V. Phrommavanh, J. Drozdak, Y. Gao, J. Nos i M. Descostes, *Chemosphere*, **155** (2016) 142-151.
281. Z. Song, L. Dong, B. Shan i W. Tang, *Chemosphere*, **191** (2018) 218-225.
282. Z. Wu, M. He i C. Lin, *Environ. Pollut.*, **159** (2011) 1123-1128.
283. J. Huang, J. Hills, P. R. Teasdale, J. G. Panther, F. Wang i D. T. Welsh, *Talanta*, **230** (2021) 122315.
284. W. W. Bennett, P. R. Teasdale, J. G. Panther, D. T. Welsh i D. F. Jolley, *Anal. Chem.*, **82** (2010) 7401-7407.
285. V. Fauvelle, T. T. Nhu-Trang, T. Feret, K. Madarassou, J. Randon i N. Mazzella, *Anal. Chem.*, **87** (2015) 6004-6009.
286. J. G. Panther, P. R. Teasdale, W. W. Bennett, D. T. Welsh i H. Zhao, *Environ. Sci. Technol.*, **44** (2010) 9419-9424.
287. O. Clarisse, D. Foucher i H. Hintemann, *Environ. Pollut.*, **157** (2009) 987-993.

288. C. Fernández-Gómez, J. M. Bayona i S. Díez, *J. Environ. Anal. Chem.*, **92** (2012) 1689-1698.
289. I. Cattani, S. Spalla, G. M. Beone, A. A. M. Del Re, R. Boccelli i M. Trevisan, *Talanta*, **74** (2008) 1520-1526.
290. C. Fernández-Gómez, B. Dimock, H. Hintelmann i S. Díez, *Chemosphere*, **85** (2011) 1452-1457.
291. Y. S. Hong, E. Rifkin i E. J. Bouwer, *Environ. Sci. Technol.*, **45** (2011) 6429-6436.
292. P. Pelcová, H. Dočekalová i A. Kleckerová, *Anal. Chim. Acta*, **866** (2015) 21-26.
293. Y. Pan, D. X. Guan, D. Zhao, J. Luo, H. Zhang, W. Davison i L. Q. Ma, *Environ. Sci. Technol.*, **49** (2015) 14267-14273.
294. S. Ding, Y. Wang, L. Zhang, L. Xu, M. Gong i C. Zhang, *RSC Adv.*, **6** (2016) 88143-88156.
295. S. Ding, D. Xu, Y. Wang, Y. Wang, Y. Li, M. Gong i C. Zhang, *Environ. Sci. Technol.*, **50** (2016) 7572-7580.
296. H. Osterlund, S. Chlot, M. Faarinen, A. Widerlund, I. Rodushkin, J. Ingri i D. C. Baxter, *Anal. Chim. Acta*, **682** (2010) 59-65.
297. J. G. Panther, R. R. Stewart, P. R. Teasdale, W. W. Bennett, D. T. Welsh i H. Zhao, *Talanta*, **105** (2013) 80-86.
298. S. Zhang, P. N. Williams, C.-Y. Zhou, L. Q. Ma i J. Luo, *Chemosphere*, **184** (2017) 812-819.
299. C. Destro Colaço, L. Yabuki, A. Alcântara i A. Menegário, *Quím. Nova*, **35** (2011) 1360-1364.
300. H. Docekalová i P. Divis, *Talanta*, **65** (2005) 1174-1178.
301. Y. Wang, S. Ding, M. Gong, S. Xu, W. Xu i C. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **945** (2016) 47-56.
302. A. H. Shiva, P. Teasdale, D. Welsh i W. Bennett, *Environ. Sci. Process Impacts*, **19** (2017) 742-751.
303. A.-M. Desaulty, M. Méheut, C. Guerrot, C. Berho i R. Millot, *Chem. Geol.*, **450** (2017) 122-134.
304. A. M. C. M. Rolisola, C. A. Suárez, A. A. Menegário, D. Gastmans, C. H. Kiang, C. D. Colaço, D. L. Garcez i R. E. Santelli, *Analyst*, **139** (2014) 4373-4380.
305. L. N. Yabuki, C. D. Colaço, A. A. Menegário, R. N. Domingos, C. H. Kiang i D. Pascoaloto, *Environ. Monit. Assess.*, **186** (2014) 961-969.
306. C. Pichette, H. Zhang, W. Davison i S. Sauvé, *Talanta*, **72** (2007) 716-722.
307. E. Uher, H. Zhang, S. Santos, M. H. Tusseau-Vuillemin i C. Gourlay-Francé, *Anal. Chem.*, **84** (2012) 3111-3118.
308. J. Galceran i J. Puy, *Environ. Chem.*, **12** (2015) 112-122.
309. J. L. Levy, H. Zhang, W. Davison, J. Puy i J. Galceran, *Anal. Chim. Acta*, **717** (2012) 143-150.
310. J. Puy, J. Galceran, S. Cruz-González, C. A. David, R. Uribe, C. Lin, H. Zhang i W. Davison, *Anal. Chem.*, **86** (2014) 7740-7748.
311. K. W. Warnken, A. J. Lawlor, S. Loftus, E. Tipping, W. Davison i H. Zhang, *Environ. Sci. Technol.*, **43** (2009) 7230-7236.
312. R. Cleven, Y. Nur, P. Krystek i G. Berg, *Water Air Soil Pollut.*, **165** (2005) 249-263.
313. R. Dahlqvist, H. Zhang, J. Ingri i W. Davison, *Anal. Chim. Acta*, **460** (2002) 247-256.
314. M. Jiménez-Piedrahita, A. Altier, J. Cecilia, J. Puy, J. Galceran, C. Rey-Castro, H. Zhang i W. Davison, *Anal. Chem.*, **89** (2017) 6567-6574.
315. S. Tankéré-Muller, W. Davison i H. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **716** (2012) 138-144.

316. Vlada Republike Hrvatske, *Uredba o standardu kakvoće voda* (NN 96/19, 20/23, 50/23), www.nn.hr (preuzeto 15. lipnja 2023. god.)
317. <https://www.waterquality.gov.au/anz-guidelines/guideline-values/default/water-quality-toxicants/search> (preuzeto 15. lipnja 2023. god.)
318. <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table> (preuzeto 15. lipnja 2023. god.)
319. K. Su, Q. Wang, L. Li, R. Cao, Y. Xi i G. Li, *PLOS ONE*, **17** (2022) e0273305.
320. J. B. Kowalska, R. Mazurek, M. Gąsiorek i T. Zaleski, *Environ. Geochem. Health*, **40** (2018) 2395-2420.
321. N. L. Nemerow, *Stream, Lake, Estuary, and Ocean Pollution*, Van Nostrand Reinhold, New York, 1991, str. 275.
322. G. Qingjie, D. Jun, X. Yunchuan, W. Qingfei i Y. Liqiang, *J. China Univ. Geosci.*, **19** (2008) 230-241.
323. J.-l. Cheng, Z. Shi i Y.-w. Zhu, *J. Environ. Sci.*, **19** (2007) 50-54.
324. Y. Ning i F. Yin, *J. Centr. China Norm. Univ. Nat. Sci.*, **54** (2020) 149-155.
325. Q. Zhang, M. Feng i X. Hao, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, **128** (2018) 012160.
326. B. Prasad Ahirvar, P. Das, V. Srivastava i M. Kumar, *Total Environ. Res. Themes*, **6** (2023) 100039.
327. N. Yan, W. Liu, H. Xie, L. Gao, Y. Han, M. Wang i H. Li, *J. Environ. Sci.*, **39** (2016) 45-51.
328. G. Müller, *Umschau*, **79** (1979) 133-149.
329. A. Di Cesare, P. Pjevac, E. Eckert, N. Curkov, M. Miko Šparica, G. Corno i S. Orlić, *Environ. Pollut.*, **265** (2020) 114823.
330. E. R. Long, D. D. Macdonald, S. L. Smith i F. D. Calder, *Environ. Manage.*, **19** (1995) 81-97.
331. Z. B. Lu i M. Kang, *J. Environ. Sci. Health A*, **53** (2018) 278-293.
332. L. Perin, L. Craboledda, M. Lucchese, R. Cirillo, L. Dotta, M. L. Zanette i A. A. Orio, *Heavy Met. Environ.* (1985) 454-456.
333. S. Sander, J. P. Kim, B. Anderson i K. A. Hunter, *Environ. Chem.*, **2** (2005) 56-62.
334. D.-G. f. R. I. European Commission, H. Muntau, J. López-Sánchez, P. Quevauviller, D. Lück, M. Yli-Halla i G. Rauret, *The certification of the extractable contents (mass fractions) of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in freshwater sediment following a sequential extraction procedure – BCR-701, Corrigendum 2012*, Publications Office, 2012, str. 43, 71, 72.
335. D. Omanović i M. Branica, *Croat. Chem. Acta*, **71** (1998) 421-433.
336. A. M. Cindrić, Distribution, speciation and fate of trace metals in the stratified Krka river estuary, Doktorski rad, Sveučilište u Zagreb, 2015, str. 102, 118.
337. American Public Health Association, American Water Works Association i W. E. Federation, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, APHA Press, Washington DC, SAD, 2023, str. 210-212.
338. K. A. Anderson, u R. A. Meyers, M. P. Miller (ur.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey, 2006, str. 1-14.
339. M. E. Q. Pilson, *An Introduction to the Chemistry of the Sea*, Prentice Hall, Hoboken, 1998, str. 67.
340. S. A. Sinex i G. R. Helz, *Environ. Geol.*, **3** (1981) 315-323.
341. W. H. Zoller, E. S. Gladney i R. A. Duce, *Science*, **183** (1974) 198-200.
342. M. Nowrouzi i A. Pourkhabbaz, *Chem. Spec. Bioavailab.*, **26** (2014) 99-105.

343. Q. Guan, A. Cai, F. Wang, L. Wang, T. Wu, B. Pan, N. Song, F. Li i M. Lu, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **23** (2016) 24768-24780.
344. D. Liu, B. Lin, S. Kandasamy, H. Wang, Q. Liu, W. Zou, A. Zhu, J. Zou, J.-Y. Lou i X. Shi, *Front. Mar. Sci.*, **6** (2019) 1-17.
345. E. Resongles, C. Casiot, R. Freydier, L. Dezileau, J. Viers i F. Elbaz-Poulichet, *Sci. Total Environ.*, **481** (2014) 509-521.
346. A. Zahra, M. Z. Hashmi, R. N. Malik i Z. Ahmed, *Sci. Total Environ.*, **470-471** (2014) 925-933.
347. D. H. Loring, *ICES Mar. Sci.*, **48** (1991) 101-115.
348. L. F. Niencheski, B. Baraj, R. Franca i N. Mirlean, *Aquat. Ecosyst. Health Manage.*, **5** (2002) 473-483.
349. H. Belhadj, D. Aubert i N. Dali Youcef, *C. R. Geosci.*, **349** (2017) 412-421.
350. R. A. Sutherland, *Environ. Geol.*, **39** (2000) 611-627.
351. D. Komar, M. Dolenec, Ž. Belak, S. Slavica Matešić, S. Lojen, G. Kniewald, P. Vrhovnik, T. Dolenec i N. Rogan Šmuc, *Geol. Croat.*, **58** (2015) 79-92.
352. Y. Xu, Q. Sun, L. Yi, X. Yin, A. Wang, Y. Li i J. Chen, *Sci. Total Environ.*, **493** (2014) 729-736.
353. P. R. Pinet, *Essential Invitation to Oceanography*, Jones & Bartlett Learning, Sudbury, 2014, str. 100.
354. I. Ciglenečki, I. Vilibić, J. Dautović, V. Vojvodić, B. Čosović, P. Zemunik, N. Dunić i H. Mihanović, *Sci. Total Environ.*, **730** (2020) 139104.
355. S. Lee, J. Chung i Y.-W. Lee, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **101** (2018) 185-190.
356. J. Sandberg, I. Odnevall Wallinder, C. Leygraf i M. Virta, *Mater. Corros.*, **58** (2007) 165-172.
357. E. Mena, L. Veleva i R. M. Souto, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **10** (2015) 7596-7605.
358. C. Rousseau, F. Baraud, L. Leleyter i O. Gil, *J. Hazard. Mater.*, **167** (2009) 953-958.
359. A. Penezić, B. Gašparović, V. Cuculić, S. Strmečki, T. Djakovac i M. Mlakar, *Water*, **14** (2022) 349.
360. C. Zago, G. Capodaglio, C. Barbante, M. Giani, I. Moret, G. Scarponi i P. Cescon, *Chem. Ecol.*, **18** (2002) 39-51.
361. S. Illuminati, A. Annibaldi, C. Truzzi, M.-L. Tercier-Waeber, S. Nöel, C. B. Braungardt, E. P. Achterberg, K. A. Howell, D. Turner, M. Marini, T. Romagnoli, C. Totti, F. Confalonieri, F. Graziottin, J. Buffle i G. Scarponi, *Mar. Chem.*, **212** (2019) 47-63.
362. N. Rossi i J. L. Jamet, *Mar. Pollut. Bull.*, **56** (2008) 1862-1870.
363. B. Pérez-Cid, E. Falqué i J. Simal-Gandara, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **18** (2021) 2136.
364. V. Cuculić, N. Cukrov, Ž. Kwokal i M. Mlakar, *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **81** (2009) 311-320.
365. <https://georem.mpch-mainz.gwdg.de> (preuzeto 1. lipnja 2024. god.)
366. D. H. Dang, Z. Zhang, W. Wang, B. Oursel, F. Juillot, C. Dupouy, H. Lemonnier i S. Mounier, *Chem. Geol.*, **576** (2021) 120278.
367. D. H. Dang, W. Wang, A. Sikma, A. Chatzis i A. Mucci, *GCA*, **317** (2022) 488-506.
368. E. Garcia-Solsona i C. Jeandel, *Chem. Geol.*, **532** (2020) 119372.
369. J. Schijf i H. J. W. De Baar, *GCA*, **59** (1995) 3503-3509.
370. H. Elderfield i M. J. Greaves, *Nature*, **296** (1982) 214-219.
371. S. Kulaksız i M. Bau, *Earth Planet. Sci. Lett.*, **260** (2007) 361-371.

372. K. Wang, Q. Lu, Z. Jiang, Y. Yi, J. Yi, B. Niu, J. Ma i H. Hu, *Int. J. Corros.*, **2018** (2018) 4071352.
373. S. K. Samanta, S. K. Mitra i T. K. Pal, *Mater. Sci. Eng. A*, **430** (2006) 242-247.
374. D. E. Al Momani, Z. Al Ansari, M. Ouda, M. Abujayyab, M. Kareem, T. Agbaje i B. Sizirici, *J. Water Process Eng.*, **55** (2023) 104223.
375. C. N. H. Atinkpahoun, M.-N. Pons, P. Louis, J.-P. Leclerc i H. H. Soclo, *Chemosphere*, **251** (2020) 126398.
376. T. Kim, H. Kim i G. Kim, *Mar. Pollut. Bull.*, **160** (2020) 111589.
377. R. L. B. Andrade, V. Hatje, R. M. A. Pedreira, P. Böning i K. Pahnke, *Chem. Geol.*, **532** (2020) 119303.
378. I. Kim i G. Kim, *Mar. Chem.*, **160** (2014) 11-17.
379. J. Rogowska, E. Olkowska, W. Ratajczyk i L. Wolska, *Environ. Toxicol. Chem.*, **37** (2018) 1523-1534.
380. D. Z. Piper i M. Bau, *Am. J. Anal. Chem.*, **4** (2013) 69-83.
381. C. R. German i H. Elderfield, *Paleoceanography*, **5** (1990) 823-833.
382. R. Brünjes i T. Hofmann, *Water Res.*, **182** (2020) 115966.
383. V. Hatje, K. W. Bruland i A. R. Flegal, *Environ. Sci. Technol.*, **50** (2016) 4159-4198.
384. S. Kulaksız i M. Bau, *Appl. Geochem.*, **26** (2011) 1877-1885.
385. L. Yang, K. Nadeau, J. Meija, P. Grinberg, E. Pagliano, F. Ardini, M. Grotti, C. Schlosser, P. Streu, E. P. Achterberg, Y. Sohrin, T. Minami, L. Zheng, J. Wu, G. Chen, M. J. Ellwood, C. Turetta, A. Aguilar-Islas, R. Rember, G. Sarthou, M. Tonnard, H. Planquette, T. Matoušek, S. Crum i Z. Mester, *Anal. Bioanal. Chem.*, **410** (2018) 4469-4479.
386. M. M. Mukaka, *Malawi Med. J.*, **24** (2012) 69-71.
387. O. Grozdanić, A.-M. Cindrić, I. Finderle i D. Omanović, *J. Mar. Sci. Eng.*, **12** (2024) 440.
388. M. Rodrigo Sanz, V. Millán Gabet i J.-L. Gonzalez, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **18** (2021) 11582.
389. J. G. Rodríguez, I. Amouroux, M. J. Belzunce-Segarra, P. Bersuder, T. Bolam, M. Caetano, I. Carvalho, M. M. Correia dos Santos, G. R. Fones, J.-L. Gonzalez, S. Guesdon, J. Larreta, B. Marras, B. McHugh, F. Menet-Nédélec, I. Menchaca, V. Millán Gabet, N. Montero, M. Nolan, F. Regan, C. D. Robinson, N. Rosa, M. Rodrigo Sanz, M. Schintu, B. White i H. Zhang, *Sci. Total Environ.*, **783** (2021) 147001.
390. C. S. Sjöstedt, J. P. Gustafsson i S. J. Köhler, *Environ. Sci. Technol.*, **44** (2010) 8587-8593.
391. S. Han, Y. Zhang, S. Masunaga, S. Zhou i W. Naito, *Environ. Pollut.*, **189** (2014) 215-222.
392. H. Zhang, *Environ. Sci. Technol.*, **38** (2004) 1421-1427.
393. J. Sierra, N. Roig, G. Giménez Papiol, E. Pérez-Gallego i M. Schuhmacher, *Sci. Total Environ.*, **605-606** (2017) 211-218.
394. T. Dolenc, J. Faganeli i S. Pirc, *Geol. Croat.*, **51** (1998) 59-73.
395. D. Fabbri, G. Gabbianelli, C. Locatelli, D. Lubrano, C. Trombini i I. Vassura, *Water Air Soil Pollut.*, **129** (2001) 143-153.
396. N. Cukrov, V. Cuculić i Ž. Kwokal, Ecotoxic metals in water and sediment of the southeastern part of the Šibenik harbor, Croatia, 3rd International Conference on Ports and Waterways, Dubrovnik, Hrvatska, 2008, Zbornik radova, str. 278-286
397. S. Covelli, G. Fontolan, J. Faganeli i N. Ogrinc, *Mar. Geol.*, **230** (2006) 29-51.

398. R. Zonta, M. Botter, D. Cassin, R. Pini, M. Scattolin i L. Zaggia, *Mar. Pollut. Bull.*, **55** (2007) 529-542.
399. S. Covelli, J. Faganeli, M. Horvat i A. Brambati, *J. Appl. Geochem.*, **16** (2001) 541-558.
400. I. V. O. Gallmetzer, A. Haselmair, A. Tomašovych, A.-K. Mautner, S.-M. Schnedl, D. Cassin, R. Zonta i M. Zuschin, *Palaios*, **34** (2019) 121-145.
401. Ž. Fiket, M. Mlakar i G. Kniewald, *Geosciences*, **8** (2018) 301.
402. R. Hannigan, E. Dorval i C. Jones, *Chem. Geol.*, **272** (2010) 20-30.
403. C. Hissler, E. Montarges-Pelletier, H. Kanbar, M. Meur i C. Gauthier, *Front. Earth Sci.*, **10** (2023) 1056919.
404. R. Salminen, M. Batista, M. Bidovec, A. Demetriades, B. De Vivo, W. De Vos, M. Duris, A. Gilucis, V. Gregorauskienė, J. Halamić, P. Heitzmann, A. Lima, G. Jordan, G. Klaver, P. Klein, J. Lis, J. Locutura, K. Marsina, A. Mazreku i T. Tarvainen, *FOREGS Geochemical Atlas of Europe, Part 1: Background Information, Methodology and Maps* (2005), <http://weppi.gtk.fi/publ/foregsatlas/index.php> (preuzeto 24. kolovoza 2024. god.)
405. V. I. Ryabushko, S. V. Kapranov, E. V. Gureeva, N. I. Bobko i S. S. Barinova, *J. Mar. Sci. Eng.*, **11** (2023) 2021.
406. S. Z. Mikulski, R. Kramarska i G. Zieliński, *Gospod. Surowcami. Min.*, **32** (2016) 5-27.
407. N. López-González, J. Borrego, B. Carro, J. A. Grande, M. De la Torre i T. Valente, *Bol. Geol. Min.*, **123** (2012) 55-56.
408. G. Chaillou, P. Anschutz, G. Lavaux i G. Blanc, *Mar. Chem.*, **100** (2006) 39-52.
409. E. Petranich, S. Croce, M. Crosera, E. Pavoni, J. Faganeli, G. Adami i S. Covelli, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **25** (2018) 26887-26902.
410. D. H. Dang, V. Lenoble, G. Durrieu, D. Omanović, J.-U. Mullot, S. Mounier i C. Garnier, *Mar. Pollut. Bull.*, **92** (2015) 113-124.
411. A. Emili, A. Acquavita, S. Covelli, L. Spada, A. Di Leo, S. Giandomenico i N. Cardelluccio, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **23** (2016) 12582-12595.
412. K. C. Crocket, E. Hill, R. E. Abell, C. Johnson, S. F. Gary, T. Brand i E. C. Hathorne, *Front. Mar. Sci.*, **5** (2018) 1-22.
413. J. Du, B. A. Haley, A. C. Mix, A. N. Abbott, J. McManus i D. Vance, *Earth Planet. Sci. Lett.*, **596** (2022) 117792.
414. J. Schijf, E. A. Christenson i R. H. Byrne, *Mar. Chem.*, **177** (2015) 460-471.
415. J. Schijf i R. H. Byrne, *Chem. Geol.*, **584** (2021) 120479.
416. J. A. Baig, T. G. Kazi, M. B. Arain, A. Q. Shah, R. A. Sarfraz, H. I. Afridi, G. A. Kandhro, M. K. Jamali i S. Khan, *J. Hazard. Mater.*, **167** (2009) 745-751.
417. M. Chatterjee, S. Massolo, S. K. Sarkar, A. K. Bhattacharya, B. D. Bhattacharya, K. K. Satpathy i S. Saha, *Environ. Monit. Assess.*, **150** (2009) 307-322.
418. J. Kubová, V. Stresko, M. Bujdos, P. Matús i J. Medved, *Anal. Bioanal. Chem.*, **379** (2004) 108-114.
419. M. Leermakers, B. E. Mbachou, A. Husson, V. Lagneau i M. Descostes, *Talanta*, **199** (2019) 80-88.
420. Hrvatski zavod za norme, *HRN EN ISO 15587-2: 2002: Kakvoća vode - Digestija za određivanje odabranih elemenata u vodi - 2. dio: Digestija dušičnom kiselinom (ISO 15587-2:2002; EN ISO 15587-2:2002)*, Državni zavod za normizaciju i mjeriteljstvo, Zagreb, 2002., str. 5.

421. F. Burgay, O. Abollino, S. Buoso, E. Costa, A. Giacomino, C. La Gioia, S. F. Garofalo, G. Pecoraro i M. Malandrino, *Mar. Geol.*, **428** (2020) 106286.
422. B. Marin, M. Valladon, M. Polve i A. Monaco, *Anal. Chim. Acta*, **342** (1997) 91-112.
423. K. Gouws i P. P. Coetzee, *WaterSA*, **23** (1997) 217-226.
424. O. Abollino, A. Giacomino, M. Malandrino, E. Mentasti, M. Aceto i R. Barberis, *Water Air Soil Pollut.*, **173** (2006) 315-338.
425. K. R. Reddy, C. Y. Xu i S. Chinthamreddy, *J. Hazard. Mater.*, **84** (2001) 279-296.
426. D. T. Cuong i J. P. Obbard, *J. Appl. Geochem.*, **21** (2006) 1335-1346.
427. A. R. Wijaya, I. Farida, S. Wonorahardjo, Y. Utomo, H. Daupor, M. S. Hossain i T. Kunisue, *J. Phys. Conf. Ser.*, **1093** (2018) 012002.
428. Z. Yao, *Chinese J. Oceanol. Limnol.*, **26** (2008) 14-22.
429. A. Bettoschi, A. Marrucci, B. Marras, M. Atzori i M. Schintu, *Soil Sedim. Contam.*, **27** (2018) 723-735.
430. A. Ribeiro, K. Tramonte, M. Batista, A. Majer, C. Silva, G. Demane, P. Ferreira, R. Montone i R. Figueira, *INCT-APA Annual Activity Report*, **1** (2012) 130-134.
431. D. Cossa, M. Coquery, C. Gobeil i J. M. Martin, u W. Baeyens, R. Ebinghaus, O. Vasiliev (ur.), *Global and Regional Mercury Cycles: Sources, Fluxes and Mass Balances*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1996, str. 229-247.
432. R. P. Mason, N. M. Lawson i K. A. Sullivan, *Atmos. Environ.*, **31** (1997) 3531-3540.
433. J. Faganeli, M. Horvat, S. Covelli, V. Fajon, M. Logar, L. Lipej i B. Cermelj, *Sci. Total Environ.*, **304** (2003) 315-326.
434. M. Horvat, S. Covelli, J. Faganeli, M. Logar, V. Mandić, R. Rajar, A. Širca i D. Žagar, *Sci. Total Environ.*, **237-238** (1999) 43-56.
435. F. Baldi, R. Bargagli, S. Focardi i C. Fossi, *Mar. Pollut. Bull.*, **14** (1983) 108-111.

§ 8. ŽIVOTOPIS

Ozren Grozdanić rođen je 23. srpnja 1988. u Puli, gdje završava opću gimnaziju i srednju glazbenu školu. Godine 2007. upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, smjer Kemijsko inženjerstvo. Diplomski rad pod nazivom *Utjecaj procesnih parametara na izomerizaciju C5-C6 ugljikovodika* izradio je pod mentorstvom dr. sc. Katice Sertić-Bionda i obranio 2012. godine, a dodiplomski studij završava s prosjekom ocjena 5,0 i nagradom *magna cum laude*. Poslijediplomski doktorski studij Kemija, smjer Analitička kemija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2019. godine, pod mentorstvom dr. sc. Darija Omanovića, znanstvenog savjetnika u trajnom zvanju.

Od diplome radi u struci, u industriji nafte i plina te na područjima antikorozivne zaštite i analize materijala. Od 2017. godine zaposlen je na Nastavnom zavodu na javno zdravstvo Istarske županije, u Službi za zdravstvenu ekologiju kao stručni suradnik u Laboratoriju za instrumentalnu analitiku. Od 2021. godine je voditelj Laboratorija za ispitivanje pitkih i površinskih voda u istoj Službi.

Znanstveni radovi vezani uz temu doktorskog rada:

- O. Grozdanić, A.-M. Cindrić, I. Finderle i D. Omanović, *J. Mar. Sci. Eng.*, **12** (2024) 440.

Sudjelovanja na skupovima vezana uz temu doktorskog rada:

- znanstveni skup *DGT Conference 2023*, Pariz, Francuska, 2023. – usmeno izlaganje
- znanstveno-stručni skup *Voda i javna vodoopskrba*, Novi Vinodolski, Hrvatska, 2023. – usmeno izlaganje
- znanstveni skup *22nd European Meeting on Environmental Chemistry*, Ljubljana, Slovenija, 2022. – postersko priopćenje, glavni autor