

# SERS analiza prioritetnih onečišćivala

---

Kovačević, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:756329>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-22**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ema Kovačević

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja                     **Emma Kovačević**                    

Predala je izrađen završni rad dana:           4. rujna 2019.          

Povjerenstvo u sastavu:

Izv. prof. dr. sc. Šime Ukić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Dr. sc. Matija Cvetnić, asistent, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana:           9. rujna 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ema Kovačević

SERS ANALIZA PRIORITETNIH ONEČIŠĆIVALA  
ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

dr. sc. Matija Cvetnić

doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

Zagreb, rujan 2019.

*Ovaj završni rad izrađen je na Institutu Ruđer Bošković, u Zavodu za fiziku materijala, Laboratoriju za molekulsku fiziku i sinteze novih materijala.*

*Ovim putem želim se zahvaliti dr. sc. Mili Ivandi, voditelju laboratorija, na pruženoj prilici za suradnju, dr. sc. Lari Mikac, neposrednoj voditeljici ovog završnog rada, na neizmjernom strpljenju, razumijevanju i kvalitetnom usmjeravanju prilikom rješavanja uočenih problema, kao i svim članovima Zavoda za fiziku materijala na ugodnoj atmosferi i pristupačnosti.*

*Također, hvala i mojem mentoru, doc. dr. sc. Šimi Ukiću, na pomoći i savjetima oko izrade ovog rada.*

*Naposljetku, zahvaljujem se i svojoj obitelji na svojoj podršci koju su mi pružali tijekom dosadašnjeg studiranja.*

*Ovaj završni rad je izrađen u sklopu projekta „Modeliranje okolišnih aspekata napredne obrade voda za razgradnju prioriternih onečišćivala“ Hrvatske zaklade za znanost na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.*

## SAŽETAK

Pesticidi su kemijske ili biološke tvari koje se koriste s ciljem sprječavanja djelovanja različitih nametnika, korova i prijenosnika bolesti pri uzgoju hrane. Kao onečišćivači predstavljaju vrlo visok rizik za ljudsko zdravlje. Količina pesticida u hrani ograničena je zakonima postavljenim uz savjete Europske agencije za sigurnost hrane; ona odobrava korištenje pesticida pri zaštiti biljaka i životinja ovisno o mogućoj daljnjoj štetnosti na zdravlje i okoliš. Dopuštena količina ovisi i o samom proizvodu (npr. voće, mliječni proizvodi...), a vrijednosti variraju oko 1 mg/kg proizvoda.

Budući da se pesticidi u prehrambenim proizvodima pojavljuju u vrlo niskim koncentracijama, za njihovo otkrivanje potrebno je koristiti vrlo osjetljive metode. Količina pesticida u ovom radu analizirana je Ramanovim spektrometrom koristeći metodu površinski pojačanog Ramanovog raspršenja (engl. *Surface-Enhanced Raman Scattering*, SERS), koja pojačava odziv molekula adsorbiranih na nanostrukturama plemenitih metala. Za potrebe promatranja pesticida pripremljene su dvije vrste nanostrukture srebra: nanoprizme i nanosfere. SERS metoda korištena je u svrhu detekcije malih koncentracija pesticida, ali i za proučavanje utjecaja različitih nanostrukture (prizme, sfere) na samu detekciju.

**Ključne riječi:** pesticidi, adsorpcija, nanosfere, nanoprizme, SERS

## SUMMARY

Pesticides are chemical or biological substances used to prevent activity of different types of pests, weeds and diseases in food cultivation. Yet, they present a severe risk to human health as pollutants. The allowed amount of pesticides in food is limited by laws with the help of European agency for food safety which approves the usage of pesticides for plants and animal protection on EU territory, considering the possible side-effects on human health and environment. The allowed amount depends on the product in which the residue could be found (e.g. fruit, dairy products, etc.) but it usually varies around 1 mg/kg of product.

Considering that concentrations of pesticides in food products are rather low, a highly sensitive method must be applied for pesticide detection. In this paper pesticides were determined by Surface-Enhanced Raman Scattering; SERS, which increases response of molecules adsorbed on noble metals nanostructures. Two different types of nanoparticles were applied in this research: nanospheres and nanoprisms. SERS method was used to detect small concentrations of pesticides, but also to study the effect that different nanostructures (prisms or spheres) might have on the detection.

**Key words:** pesticides, adsorption, nanosphere, nanoprisms, SERS

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Fenomen adsorpcije .....	3
2.2. Pesticidi .....	3
2.2.1. Problem pesticida u okolišu .....	5
2.2.2. Uklanjanje pesticida iz okoliša .....	6
2.3. Atrazin .....	7
2.4. Simazin .....	8
2.5. Irgarol .....	9
2.6. Diuron.....	9
2.7. Analitičke metode u karakterizaciji adsorpcije .....	10
2.7.1. Ramanova spektroskopija .....	10
2.7.2. SERS analiza.....	11
2.8. Nanočestice.....	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	16
3.1. Priprava srebrnih nanočestica .....	17
3.1.1. Priprava srebrnih nanosfera .....	17
3.1.2. Priprava srebrnih nanoprizmi.....	17
3.2. Priprema uzoraka za SERS analizu .....	18
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	20
4.1. Priprema nanosfera .....	20
4.2. Priprema nanoprizmi .....	21



4.3. Ramanovi spektri pesticida u krutom obliku .....	24
4.4. Atrazin .....	26
4.5. Simazin .....	32
4.6. Diuron .....	35
4.7. Irgarol .....	38
5. ZAKLJUČAK .....	40
6. LITERATURA .....	41

# 1. UVOD

Pesticidi su prirodne ili sintetičke tvari stvorene za selektivno uništavanje određenih organizama. Iako pomažu u agrikulturi, mogu doprinijeti smanjenju kvalitete života čovjeka. Uporaba pesticida potiče se, osim iz ekonomskih razloga, i zbog svjetskih problema hranidbenih deficita. Jedan od glavnih razloga velike upotrebe pesticida jest njihova isplativost. Korištenjem pesticida uzgoj prehrambenih proizvoda pospješuje se i do tri puta. Njihova cijena, iako nije mala, raste veoma sporo kroz godine što ih čini još uvijek najisplativijem rješenjem. Primjerice, godišnja cijena pesticida u SAD-u 1994. godine bila je otprilike 4 milijarde dolara, što je dovelo do uštede od 12 bilijuna dolara dobivenih žetvom plodova koji bi u protivnom bili uništeni. [1] Količina pesticida ovisi o samom proizvodu za kojeg se koristi.

No pesticidi, stvoreni kao tvari za uništavanje organizama mogu u određenim mjerama i naštetiti našem organizmu. Stoga je važno kontrolirati količinu pesticida koja se koristi. Količina pesticida koja uspješno dospije do nametnika puno je manja od stvarne uporabljene količine pesticida. Ostatak zaostaje u okolišu, tlu i vodi. Pesticidi se mogu nanijeti direktnim špricanjem nametnika ili kontaminiranjem hrane nametnika. Dokazano je da je najbolja učinkovitost pesticida pri direktnom špricanju na korov ili drveće, a u ostalim slučajevima (poput špricanja komaraca koji lete u zraku) je udio pesticida koje djeluje na nametnike ispod 5%. Ako samo 5% pesticida ispuni svrhu uništavanja nametnika, 95% zaostaje u tlu i vodi gdje je pesticid korišten [2]. Zbog silne količine pesticida koja zaostaje, mnoge zemlje su pokrenule agresivne inicijative kako bi reducirali uporabu pesticida, poput Švedske koja je u razdoblju od 1986. – 1998. uspjela smanjiti uporabu pesticida za 75%. [1] Prema podacima Ministarstva poljoprivrede u Republici Hrvatskoj, dopuštena je upotreba čak 669 vrsta pesticida za zaštitu bilja. Uporaba pesticida je kontrolirana ispitivanjem uzoraka u ovlaštenim laboratorijima te su propisane visoke novčane kazne ako se pokaže količina pesticida većom nego dopuštenom. [3] Za svaki pesticid moguće je pronaći dopuštenu količinu zaostale aktivne tvari u Europskoj Uniji u bazi Europske komisije. Dopuštene količine pesticida u svijetu određuje Svjetska zdravstvena organizacija, prema Stockholmskoj konvenciji iz 2001. godine, prvom dogovoru koji je ograničio uporabu pesticida. [4] Budući da i veoma male količine mogu biti štetne, za određivanje prisutnosti pesticida potrebne su veoma osjetljive metode.

Ramanova spektroskopija je metoda mjerenja valne duljine i intenziteta neelastično raspršenog zračenja molekula. U slučaju korištenja za pronalaženje i identificiranje tragova pesticida potrebna je veća osjetljivost pa se stoga koristi površinski pojačana Ramanova spektroskopija (engl. *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, SERS) koja se temelji na pojačanju Ramanovog signala molekule pomoću nanostrukture plemenitih metala na koje se molekula adsorbira. Naime, korištenjem nanočestica te soli kao agregirajućeg sredstva, uzorci pesticida daju intenzivniji odziv od obične Ramanove spektroskopije. Stoga je SERS spektroskopijom moguće utvrditi postojanje puno manjih količina pesticida. Na ponovljivost SERS metode utječe vrsta korištenih nanočestica i soli. Različiti pesticidi imaju različit afinitet prema određenim nanočesticama i solima koje se mogu koristiti kao sredstva koja potiču agregaciju nanočestica. Stoga i rezultati analize variraju o navedenim uvjetima. [5]

U ovom radu analizirani su atrazin, simazin, diuron i irgarol, sva četiri pesticidi s EU liste prioritetnih onečišćivala. [6] Zbog njihove različite strukture, u ovom se radu ispitivao način adsorpcije pojedinog pesticida na nanočestice srebra. Na jačinu i način adsorpcije molekule na nanočesticu može utjecati više faktora, među kojima su i koncentracija molekula, oblik i veličina nanočestica te afinitet pesticida prema nanočesticama. Stoga svaki pesticid u kombinaciji s nanočesticama daje jedinstveni odziv. [5]

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1.Fenomen adsorpcije

Adsorpcija je pojava nagomilavanja molekula na površini određenog materijala (u našem slučaju nanočestica) pri čemu se uspostavlja adsorpcijska ravnoteža. Prilikom adsorpcije pesticida na nanostrukture odvija se heterogena ravnoteža čiji je uzrok privlačenje nanočestica i pesticida. Faktori koji utječu na adsorpciju su: površina, priroda adsorbata, pH otopine, temperatura i vrsta adsorbensa. Površina adsorbensa može biti polarna ili nepolarna, porozna ili neporozna, što utječe na brzinu i učinkovitost adsorpcije. Veća površina znači više aktivnih mjesta pri adsorpciji. Polarni adsorbati će se bolje adsorbirati na polarnu površinu. Porozne površine bolje će adsorbirati zbog nepravilne površine (udubine, pukotine, rupe). Na isti način djeluje i priroda adsorbata. Veća topljivost adsorbata (pesticida) će dati bolju adsorpciju tvari. pH otopine neće utjecati na odvijanje adsorpcije, ali može smanjiti ili povećati doseg adsorpcije. Adsorpcija je egzotermni proces, stoga mu pogoduje niža temperatura. Iz svega navedeno, vidljivo je da je adsorpcija kompleksan proces, stoga se za opisivanje adsorpcije koriste empirijski izrazi (BET izoterma, Freundlichova izoterma). Svaki empirijski izraz temelji se na drugačijoj početnoj pretpostavci te se bira onaj koji najbolje odgovara promatranom sustavu. S obzirom na tip veze koji se uspostavlja između adsorbensa i adsorbata razlikujemo: fizikalnu adsorpciju (Van der Waalsove veze), kemisorpciju (kemijske veze) i ionsku adsorpciju (elektrostatska privlačenja). Adsorpcija se najviše upotrebljava u čišćenju i pročišćavanju kapljevina i plinova te u analitičke svrhe. [7]

### 2.2.Pesticidi

Pesticidi su toksične tvari, sintetičkog kemijskog ili prirodnog podrijetla koje selektivno uništavaju nametnike. Svake godine, samo u SAD-u, koristi se 500 milijuna kilograma pesticida u agrikulturi, industriji drva i kućanstvima. 1940.-ih godina je potrošnja hrane toliko porasla, da je bilo potrebno uvesti sintetičke kemikalije kao način zaštite plodova. Prvi pesticidi korišteni su za zaštitu krava od krpelja pa čak i od ljudskih parazita (poput gliste). Jedan od najpoznatijih korištenih pesticida u to vrijeme bio je DDT (diklor-difenil-trikloretnan). Naime, DDT bio je prvi pesticid u širokoj uporabi u cijelom svijetu. Smatra se zahvalnim za eliminaciju malarije u agrikulturi te je korišten u doba drugog svjetskog rata za

sredstvo u borbi protiv uši i tifusa. Međutim, DDT je imao određene nuspojave, kao što su preznojavanje, gubitak sluha i mučnina. Stockholmskom konvencijom iz 2001. zabranjena je uporaba DDT-a. To je bio prvi dodir javnosti sa pesticidom te je ostavio velike posljedice. Ostaci DDT-a se mogu i danas naći čak i u ljudskom tijelu zbog spore razgradnje. U nerazvijenim zemljama se kod novorođenčadi javlja razina DDT-a iznad dopuštene. No, teško je i danas, 60 godina poslije, znati kolike će te posljedice ostaviti na njih. [8]

Pesticidi moraju biti efektivni, selektivni i sigurni. Postoji više podvrsta pesticida, no tri najvažnije su herbicidi, fungicidi i insekticidi. Naime, te vrste pesticida se koriste prije i poslije žetve zbog čega imaju i najveću ulogu u ljudskom dodiru s pesticidima. [9] Insekticidi su pesticidi namijenjeni za selektivno ubijanje neželjenih insekata bez da naude korisnim člankonošcima. Herbicidi su stvoreni za selektivno uništavanje korova tako da istovremeno ne oštete plodove. Fungicidi, koji se najčešće koriste za kontroliranje gljivične bolesti grožđa, stvoreni su za kontroliranje širenja gljivica, no ne smiju utjecati na proces fermentacije pri proizvodnji vina. S početkom uporabe pesticida bilo je potrebno oko 1 kg pesticida po 1000 četvornih metara, dok su efektivne doze danas 10 do 100 puta manje. Pesticidi danas su ne samo moćniji, nego i selektivniji prema organizmima. Razlog tome je bolje poznavanje pesticida i njihove selektivnosti. [10] Osim klasifikacije pesticida prema namjeni, postoji i klasifikacija pesticida prema kemijskoj građi i toksičnosti. Prema kemijskoj građi neki od vrsta pesticida su: klorirani ugljikovodici, organofosforni spojevi, karbamati, piretroidi, derivati uree i triazini. Klorirani ugljikovodici ili organokloridni spojevi se ponajviše koriste kao insekticidi. Djeluju kao neurotrovi jer ometaju transmisiju živčanih impulsa. Najpoznatiji predstavnik te grupe je već spomenuti pesticid DDT. Veoma su otporni i stoga sklone zadržavanju u okolišu. Organofosforni spojevi i karbamati djeluju tako da inhibiraju enzim acetilhidrolazu što uzrokuje nakupljanje acetilkolina u živčanom tkivu i organima. Karakteristični simptom je paraliza mišića. Ti spojevi su vrste pesticida koje se ne zadržavaju u okolišu već su sklone raspadu već nakon par sati, što ih čini manje opasnim od kloriranih ugljikovodika. S obzirom da su većinom esteri, njihovom hidrolizom (raspadom) nastaju neotrovne molekule. Piretroidi su sintetski pripremljeni pesticidi slične strukture kao prirodni pesticid piretrin. Piretrin je jedan od najstarijih insekticida ikad uporabljen, no ubrzo su ga zamijenili piretroidi zbog slabe izdržljivosti. Piretroidi su fotostabilniji i efektivniji. Utječu na živčane membrane tako da mijenjaju količinu natrija i kalija što rezultira depolarizacijom membrana. Triazini su pesticidi sa karakterističnim triazinskim prstenom (1,3,5-triazin) u strukturi. Glavni predstavnici triazina herbicida su atrazin i simazin. Iako većinom nisu

toksični za ljude, pokazali su kancerogeni utjecaj. [11] Od spomenutih vrsta pesticida, uporaba kloriranih ugljikovodika se smanjila zbog njihovog dugog zadržavanja u okolišu dok piretroidi, organofosforni spojevi i karbamati ne čine veliku opasnost na ljudsko zdravlje. Efikasnošću su se istaknuli triazini, no proteklih par godina se raspravlja o njihovom utjecaju na zdravlje i mogućoj štetnosti za okoliš. Toksičnost pesticida se označava uz pomoć vrijednosti  $LD_{50}$ .  $LD_{50}$  je količina pesticida koja je smrtonosna za 50% ispitivane populacije (npr. štakori). Vrijednosti su dane u miligramima pesticida po kilogramu težine životinje na kojoj je napravljeno ispitivanje. Pesticid sa nižim  $LD_{50}$  je otrovniji, jer je potrebna manja količina pesticida za smrt pola populacije. [12]

### 2.2.1. Problem pesticida u okolišu

Prva upotreba sintetičkog pesticida bila je sredinom 20. stoljeća. Od tada je njihova uporaba i proizvodnja u stalnom porastu. Uslijed svjesnosti prijetnje koju takva upotreba predstavlja, 2001. godine usvojena je Stockholmska konvencija koja definira načine sprječavanja organskih onečišćenja i kontrolira ispuštanje postojanih organskih nečistoća. Pesticidi su, kao što je već spomenuto, organske tvari koje svojim djelovanjem sprječavaju razmnožavanje ili nastanjivanje nametnika. Kako se najčešće koriste u agrikulturi i uzgoju biljaka, određene količine zaostaju u tlu i vodi. Iako su pesticidi namijenjeni za selektivno uništavanje nametnika, velikim konzumiranjem mogu uzrokovati pojavu akutnih i kroničnih bolesti kod ljudi. Zbog toga, u današnje doba, Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*, WHO) mora procijeniti rizik pesticida za ljudsko zdravlje naspram dobrobiti pesticida u obrani od nametnika. [13]

Utjecaj pesticida varira ovisno o kojem je pesticidu riječ, o količini te o načinu unosa pesticida u tijelo (putem hrane, prijenos kožom). Oni su među vodećim uzročnicima smrti trovanjem, pogotovo u slabo razvijenim zemljama. Kod akutne toksičnosti pesticida, može se primijetiti utjecaj pesticida već unutar 48 sati, pri čemu mogu uzrokovati probleme dišnih puteva, povraćanje, slabost te naposljetku smrt. Utjecaj malih doza pesticida nije primjetan odmah, no može kronično dovesti do astme, depresije, raka, leukemije i razvoja Parkinsonove bolesti. [14] No, pridržavajući se propisanih doza za primjenu, broja i rokova tretiranja, te primjene samo na kulturama na kojima je sredstvo za zaštitu bilja odobreno, zaostajanje pesticida može se svesti na minimum. Razina ostataka pesticida ovisit će o količini primijenjenog sredstva za zaštitu bilja, o poljoprivrednoj kulturi, o broju primjena i fizikalno –

kemijskim svojstvima sredstva za zaštitu bilja te o vremenu koje je prošlo otkako je plod tretiran pesticidom. [12] Pesticidi mogu dospjeti u okoliš i onečistiti tlo ili vodu. Onečišćenje tla pesticidima za sobom povlači moguće probleme bioloških efekata na organizme u tlu, na plodnost tla, na kontaminaciju podzemnih voda i smetanje budućim plodovima. [9] U vodonosnicima i podzemnim vodama su pesticidi otporniji zbog nižih temperatura, nedostatka svjetla i smanjene mikrobiološke aktivnosti. Primjerice, u istočnoj Engleskoj 90-ih godina otkrivena količina pesticida u vodi za piće bila je iznad maksimalne dopuštene zbog zadržavanja triazinskih i ugljikovodičnih pesticida. Također, pokazalo se da piretroidi, unatoč tome da se ne zadržavaju u okolišu i nisu opasni za sisavce, predstavljaju opasnost za beskralježnjake. [15]

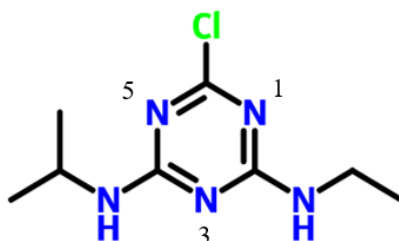
### 2.2.2. Uklanjanje pesticida iz okoliša

Pesticidi koji zaostaju u okolišu mogu se ili ukloniti i odstraniti ili razgraditi. Ovisno o vrsti pesticida, postoji mnogo načina uklanjanja pesticida iz okoliša. Razgradnja pesticida dijeli se na: fotokemijsku, katalitičku i mikrobiološku razgradnju. Fotokemijska razgradnja je naziv za razgradnju Sunčevom svjetlošću, koja je moguća samo u površinskim zagađenjima vode i tla. Katalitički način razgradnje pesticida odnosi se na međudjelovanje pesticida s ostalim organskim i anorganskim tvarima iz tla u reakcijama oksidacije, redukcije, hidrolize i raspada. [16] Stoga ovisno o vrsti tla/vode, odvijat će se različita razgradnja pesticida. Taj način razgradnje uzrokuje nastajanje novih spojeva iz primarne molekule koji se ponekad mogu pokazati još više toksičnima od početnog pesticida. Najčešći primjer raspada pesticida hidrolizom je raspad herbicida glifosfata (najčešće korišteni pesticid u svijetu) na aminometil fosforastu kiselinu. [9] Mikrobiološko razgrađivanje zasniva se na sposobnosti određenih mikroorganizama da razgrađuju pesticide, npr. *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, itd. Oni pesticide razgrađuju reduktivnom dekloracijom i dehidrokloriranjem ili pak hidrolizom alkilnih i arilnih veza, no proces je dugotrajan i spor. [17] Također se uz mikrobiološku razgradnju može spomenuti i fitoremedijacija. Fitoremedijacija je proces sličan mikrobiološkom razgrađivanju, no pesticide razgrađuju biljke. U fitoremedijaciji pesticida najčešće se primjenjuju biljke roda *Kochia*, za koje je utvrđeno da zbog interakcija biljke i mikroorganizama dolazi do razgradnje prisutnih pesticida. Najčešći načini, osim fitoremedijacije za uklanjanje organoklornih i organofosfornih pesticida su niskotemperaturna toplinska desorpcija i spaljivanje. Riječ je o načinima uklanjanja pesticida *ex situ* te su stoga skuplji zbog cijene transporta onečišćenog tla/vode. [16] Herbicidi, koje najbolje predstavljaju

triazini su se pokazali problematičnima za uklanjanje s obzirom na njihovu široku primjenu. Najefikasniji način uklanjanja triazina je pomoću aktivnog ugljena. No kod česte uporabe kao posljedica se može javiti prevelika količina ugljika u vodama što otežava proces uklanjanja. To se može spriječiti uklanjanjem organske tvari flokulacijom ili precipitacijom što povećava efikasnost aktivnog ugljena. [9]

### 2.3. Atrazin

Atrazin je bijeli, nereaktivan prah bez mirisa pripremljen u laboratoriju. Stabilan je u neutralnim ili slabo kiselim/bazičnim otapalima, dok je u jačim otapalima hidroliziran. Koristi se primarno kao herbicid, gdje ulaskom u korijenje i lišće biljaka sprječava fotosintezu. Najčešća uporaba atrazina je za ubijanje korova kod uzgoja kukuruza, zbog čega ulazi u vodu te se smatra velikim onečišćivačem voda. [9] IUPAC naziv atrazina je 6-klor-N-etil-N'-izopropil-triazin-2,4-diamin (Slika 1.) Atrazin u malim količinama neće naštetiti čovjeku te izlazi iz tijela između 24 i 48 sati nakon konzumacije ili inhalacije. U slučaju da je čovjek izložen većim količinama, atrazin može negativno utjecati na njegov reproduktivni sustav, uzrokovati bol u trbuhu, povraćanje i reakcije na koži. Specifična gustoća atrazina je 1,187, topljivost u vodi pri 25 °C iznosi 33 ppm, a u metanolu 18000 ppm. [18]



Slika 1. Shema molekule atrazina na kojoj su atomi dušika označeni brojevima

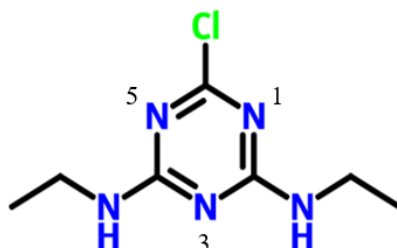
Atrazin je prvi put upotrijebljen 1950. godine te je danas najčešće korišten pesticid u SAD-u. No, proteklih par godina razvila se zabrinutost zbog ostataka atrazina u vodi i tlu. Najefektivniji je kada se koristi nakon kiše jer najbolje djeluje u mokrom tlu. Stoga je i sklon kontaminiranju podzemnih voda i površinskom ispiranju, pogotovo ako je upotrijebljen prije oluje. Atrazin ustraje u hladnim i suhim klimatski uvjetima sa stabilnim pH tla. Zabranjen je u sjevernim europskim zemljama poput Švedske. Koliko će se dugo atrazin zadržati u tlu ovisi o puno faktora, a samo neki od njih su: tip tla, postotak organske tvari, pH tla, i struktura tla.



Raspada se na metabolite, od kojih je svaki drugačije toksičnosti i otpornosti. Najčešći metaboliti atrazina su: hidroksiatrazin (HA), deetilatrazin (DEA), deisopropilatrazin (DIA), didealkilatrazin (DDA) i deetilhidroksiatrazin (DEHA). Pet je procesa koji kontroliraju brzinu raspada atrazina: hidroliza, adsorpcija, isparavanje/sublimacija, fotodegradacija i mikrobiološki raspad. DIA, DEA i DDA nastaju biodegradacijom atrazina dok HA i DEHA nastaju kemijskim reakcijama u tlu ili mikrobiološkim raspadom. DIA i DEA su fitotoksični. Fitotoksičnost je pojava oštećenja biljaka, a može se pojaviti ako je korišten pesticid na biljkama za koje nije preporučeno, ako je korišten pri jakom vjetru, kod uporabe previsokih doza ili primjenom u krivo vrijeme rasta biljke. To su samo neki od utjecaja atrazina na rast biljaka pri zaostajanju u tlu ili krivoj primjeni. Kod zaostajanja atrazina u vodi, može se primijetiti veliki utjecaj na alge. Kako je atrazin herbicid koji usporava fotosintezu, u vodama s većom koncentracijom atrazina količina algi se smanjila. Male koncentracije atrazina (1-10 µg) samo su usporile rast i razmnožavanje algi, veće koncentracije (10-20 µg) su uzrokovale smrt manje otpornih algi, dok su izdašne koncentracije (500 µg) u potpunosti zaustavile fotosintezu svih algi. [19]

#### 2.4. Simazin

Simazin je bijeli stabilni prah bez mirisa pripremljen u laboratoriju. Pri višim temperaturama je zapaljiv. Raspadom na visokim temperaturama otpušta otrovne okside dušika i ugljika i pare klorida. IUPAC naziv simazina je 6-klor-N,N'-dietil-1,3,5-triazin-2,4-diamin. Simazin u malim količinama nije toksičan za čovjeka (ispod 1 µg/L vode), no iznad te razine u svakodnevnoj konzumaciji može uzrokovati otkazivanje bubrega, jetre i reproduktivnog sustava. Simazin je klasificiran kao kancerogen. U manjim količinama izlazi iz tijela u urinu već unutar 24 sata, no u većim količinama može zaostati u tijelu i do 12 dana. Specifična gustoća simazina je 1,302, topljivost (pri 20 °C) u vodi je 3,5 ppm, a u metanolu 400 ppm. [20]

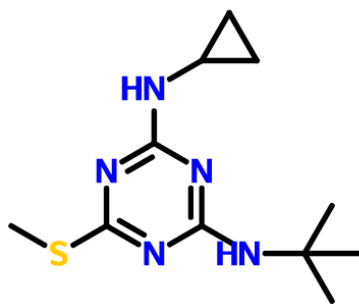


Slika 2. Shema molekule simazina na kojoj su atomi dušika označeni brojevima

Atrazin i simazin su oba triazinski herbicidi koji se razlikuju u samo jednoj skupini na ugljikovom atomu (atrazin izopropil i simazin etil). U skladu s njihovom strukturom možemo očekivati slično ponašanje pri analizi Ramanovom spektroskopijom.

## 2.5.Irgarol

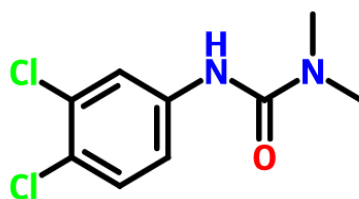
Irgarol (cibutrin) je bijeli nereaktivni prah bez mirisa. IUPAC naziv mu je 2-(tert-butilamino)-4-(ciklopropilamino)-6-(metiltio)-s-triazin. Koristi se kao inhibitor fotosinteze algi i kao fungicid. Zbog slabe topljivosti u vodi idealan je u industriji premaza brodova. 1994. godine provedeno je istraživanje na obalama Engleske i estuarijima Kenta, Sussexa i Hampshirea, gdje je dokazana prisutnost irgarola u vodi zahvaljujući bojama protiv obrastanja brodova. [21] Topljivost (pri 20 °C) u vodi mu je 7 ppm, a u metanolu 50580 ppm. Zasad je istraživana utjecaj irgarola samo na morski svijet (toksičnost prema morskom ježu). [22]



Slika 3. Shema molekule irgarola

## 2.6.Diuron

Diuron je bijeli nereaktivni prah bez mirisa. IUPAC naziv mu je N-(3,4-diklofenil)-N,N-dimetil urea. Stabilan je u neutralnom mediju te se hidrolizira i lužinama i kiselinama. Raspada se pri 180-190 °C. Diuron je slabo toksičan za čovjeka te se upozorenja za diuron odnose ponajviše na moguće iritacije oka i grla. U velikim količinama može utjecati na povećanje jetre i na razvoj fetusa. Izlazi veoma lako iz tijela s obzirom da je riječ o supstituiranom herbicidu uree. Koristi se za kontroliranje rasta mahovine i korova tako da inhibira fotosintezu. Ograničava proizvodnju visokoenergetskih spojeva poput ATP-a koji su važni u metaboličkim procesima biljaka. Topljivost diurona (pri 25 °C) je 42 ppm u vodi te 41500 ppm u acetonu. [23]



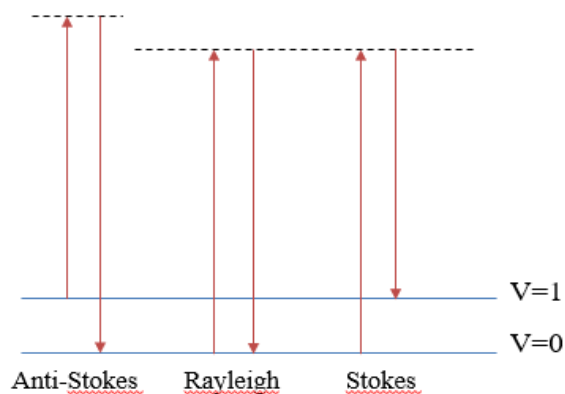
Slika 4. Shema molekule irgarola

## 2.7. Analitičke metode u karakterizaciji adsorpcije

### 2.7.1. Ramanova spektroskopija

Za razumijevanje SERS analize, potrebno je razumijevanje osnova Ramanove spektroskopije i Ramanovog efekta. Ramanov efekt je efekt raspršenja svjetlosti. Kada laser visokog intenziteta svjetlosti udari u uzorak, inducira se u molekuli virtualno stanje više energije. Većina molekula se iz tog višeg stanja energije vraća nazad u početno stanje i emitira se svjetlost iste valne duljine kao i pobuđene svjetlosti (Rayleighev efekt, elastično raspršenje). Mali dio molekula se vraća u vibracijski povišeno stanje, pri čemu se emitira zračenje manje valne duljine od valne duljine pobuđenja (neelastično raspršenje). Takvo raspršenje nazvano je Ramanovo raspršenje. Tijekom njega događa se promjena u rotacijskoj, vibracijskoj i elektronskoj energiji molekule. Primarno nas zanima promjena vibracijske energije. Razlika između energije dolaznog fotona i odlaznog raspršenog fotona jednaka je energiji vibracije molekule. S obzirom da veoma mali dio molekula tako reagira, Ramanovo raspršenje je malog intenziteta. No, tijekom njega mogu se primijetiti dva ishoda raspršenja, Stokesovo i anti-Stokesovo raspršenje. Stokesovo raspršenje karakterizira manja energija raspršenja od energije pobude zbog apsorpcije energije. Anti-Stokesovo raspršenje karakterizira veća energija raspršenja od energije pobude (fotona), atom ili molekula gubi energiju. Anti-Stokesovo raspršenje je slabije od Stokesovog, no na sobnim temperaturama dovoljno jako za promatranje vibracijskih frekvencija ispod  $1500\text{ cm}^{-1}$ . [24] Potrebno je istaknuti da Ramanova spektroskopija može služiti i kao metoda mjerenja temperature, kada direktnije metode nisu izvedive. Temperatura materijala na kojem se vrši spektroskopija može utjecati na položaj vrpce dobivenog spektra. No, kada nam nije u potpunosti poznat spektar ispitivane molekule kao mjera temperature može se koristiti omjer Stokesovog i anti-Stokesovog raspršenja. Takva metoda određivanja temperature materijala zahtjeva detektiranje svjetlosti iznad i ispod valne duljine lasera te točnu mjeru funkcije odziva instrumenta (odnos dolaznog toka fotona i odziva instrumenta). [25] Ramanova metoda

najčešće se koristi kao metoda komplementarna IR spektroskopiji. Veliki problem u korištenju Ramanovog raspršenja je fluorescencija. Fluorescencije je vrsta luminiscencije koja traje tijekom zračenja. Nakon što se ukloni izvor pobude, elektron se vraća u svoje osnovno stanje. Intenzitet fluorescencije je  $10^7$  puta jači od intenziteta Ramanovog raspršenja. Čak i veoma mali tragovi nečistoća mogu fluorescirati dovoljno jako da nije moguće proučavati Ramanov spektar analita. Da bi se izbjegla fluorescencija, razlika u virtualnom stanju energije i pobuđenom stanju energije mora biti dovoljno velika. [26] Iako postoje mnoge opcije za izbjegavanje fluorescencije, ona i dalje predstavlja veliko ograničenje Ramanove spektroskopije. Jedan od načina promatranja spektra molekule bez ometanja fluorescencija je korištenje SERS-a. [27] SERS metoda može pojačati ili smanjiti utjecaj fluorescencije interakcijom molekule koja posjeduje svojstvo fluorescencije i nanočestica, ovisno o obliku, orijentaciji dipolnog momenta molekule i preklapanju emisijskog spektra molekule sa spektrom površinskog plazmona nanočestica. [28] Spektroskopija se najčešće provodi sa zelenim, crvenim ili infracrvenim laserom.



Slika 5. Energetska promjena pri Stokesovom i anti-Stokesovom raspršenju

### 2.7.2. SERS analiza

SERS analizu osmislio je 1974. Martin Fleischmann, koji je promatrao raspršenje zračenja piridina apsorbiranog na srebrnoj elektrodi. Primijetio je veliki intenzitet koji je pripisao činjenici da je piridin apsorbiran na samoj elektrodi. [29] Kasnije je dokazano da je intenzitet raspršenja apsorbiranog piridina čak milijun puta veći od piridina samog. Priroda samog SERS mehanizma još nije u potpunosti razjašnjena, no smatra se da su za nju zaslužna dva glavna efekta: elektromagnetski i kemijski. Elektromagnetski efekt ne zahtjeva kemijsku vezu između molekule adsorbata i nanostrukture jer se temelji na interakciji površinskih

plazmona nanostrukture i adsorbata. Površinski plazmon je površinski pobuđeno stanje vodiča (nanostrukture). Pri udaru zračenja pobude na nanostrukturu, ona se polarizira. Kao posljedica toga vodljivi elektroni na površini kolektivno osciliraju. Takva rezonancija nastaje kada su kolektivna titranja elektrona jednake frekvencije kao i upadno zračenje. To se naziva lokalizirana površinska plazmonska rezonancija (engl. *Localized Surface Plasmon Resonance*, LSPR). Zračenje se apsorbira i raspršuje te se stvara snažno elektromagnetsko polje čestice zahvaljujući površinskom plazmonu. To polje inducira dipol u susjednim molekulama i tako povećava Ramanovo raspršenje na adsorbiranim molekulama. Intenzitet površinske plazmonske rezonancije ovisi o mnogo faktora, među kojima su i valna duljina zračenja i morfologija metalne strukture (hrapavost). To objašnjenje SERS efekta može se povezati i sa najčešće korištenim metalima za adsorpciju molekula: zlato, srebro, bakar i u novije doba alkalni metali. Valna duljina upadnog zračenja mora se slagati sa valnom duljinom plazmona metala. Naime, ti metali rezoniraju u polju koje odgovara vidljivim frekvencijama koje se koriste pri Ramanovom raspršenju. Ovisno o tome koji laser se koristi (koje valne duljine), mogu se koristiti drugi metali. Za zeleni laser (otprilike 382 nm) najbolje rezonira srebro, dok s crvenim laserom (650 nm) najbolje rezoniraju bakar i zlato. Ostalim metalima površinski plazmoni rezoniraju u drugim dijelovima elektromagnetskog polja. [30] Osim LSPR efekta, elektromagnetski efekt pojačanja čine i efekt gromobrana te efekt slike. Efekt gromobrana (engl. *lightning rod effect*) je potpuno geometrijski efekt koji stvara pojačanje na oštrim vrhovima i zakrivljenjima metalnih nanočestica. Efekt slike (engl. *image field effect*) nastaje kada zbog induciranog dipolnog momenta molekule dolazi do polarizacije površine. [31] Kemijski efekt zasniva se na eksperimentima koji su pokazali da određene molekule koje su vezane na istoj površini mogu dati različito povećanje intenziteta. Znači da povećanje nije posljedica samo međudjelovanja površine nanostrukture i upadnog zračenja, već i molekule adsorbirane na površini. Jedna od teorija dolazi od prof. Johna Lombardija uzima u obzir interakciju nepopunjenih i popunjenih orbitala adsorbata i površine uslijed rezonancije. Posljedice rezoniranja dovode do širenja i pomicanja elektronskih stanja adsorbata te nastajanje kemisorpcijskog međuprodukta površine i adsorbata. [5] Efekt je prvi put otkriven na molekuli piridina. Potvrđen je činjenicom da molekule sa slobodnim elektronskim parom ili elektronskim  $\pi$  oblakom imaju najveće pojačanje. Kemisorpcijski međuprodukt (kompleks) koji nastaje zaslužan je za prijenos naboja između površine i adsorbirane molekule, ali i za veći intenzitet. [29] Kemijski efekt pojačanja ovisi o mjestu adsorpcije, geometriji vezanja i energetskim nivoima molekule. Stoga se pomoću njega mogu objasniti promjene u intenzitetu i različita pojačanja za različite molekule. [31] SERS metoda se pokazala kao fleksibilna

metoda, s obzirom da voda (pozadina otopine) daje minimalan signal te je moguće *in situ* promatranje uzorka sa koloidnim česticama kao adsorbatima. Najveća prednost SERS metode je velika osjetljivost i selektivnost. No postoje i mnoga ograničenja korištenjem SERS metode. Da bi se postigao dobar odziv i jak efekt, SERS se može koristiti samo za adsorbate na limitiranom broju metalnih površina određene hrapavosti. Zbog samog efekta pojačanja signala odziva, bilo kakve nečistoće mogu toliko utjecati na uzorak da je nemoguće prepoznati željenu molekulu. Dodatna kompleksnost metode jest da se vrpce određenih molekula mogu mijenjati ovisno o načinu vezanja molekule i gustoći pakiranja molekula. Konačno, moguća je i pojava fotodekompozicije pri snimanju SERS uzorka. Najčešće se pojavljuje kod točno određenih adsorbata koji pokazuju pirolitička svojstva. SERS, se kao metoda pokazala korisnom kod uzoraka koji fluoresciraju. Dokazano je da kada fluorescencija ometa Ramanov spektar, nije prisutna pri snimanju SERS spektra. Iako to pomaže pri snimanju spektara takvih molekula, SERS spektri nisu nužno jednaki Ramanovim spektrima, stoga je teško koristiti tu metodu za prepoznavanje molekula bez već poznatih SERS vrpca. [27]

## 2.8. Nanočestice

Nanočestice su ključna komponenta SERS analize. Prvi korišteni oblik nanočestica u svrhu SERS-a, bila je srebrna elektroda nepravilne površine. Kako je morfologija površine na koju se vežu molekule važan faktor pri SERS-u, potrebno ju je kontrolirati. Najlakši način za to je putem koloida srebra. Za razliku od metalnih filmova ili metalnih elektroda, koloidi ne zahtijevaju skupe komore za naparavanje. Lako se pripremaju, mali je utrošak kemikalija i cijena pripreme. Osim same površine nanočestice, važan je i afinitet molekule prema površini. On će utjecati na to hoće li se molekula vezati na nanočestice i tako davati dobar odziv pri analizi. Ako se ustanovi da određene nanočestice mogu sudjelovati u SERS-u neke molekule, utjecanjem na oblik i veličinu nanočestica može se mijenjati rezultat analize (spektar) [32]. Veće nanočestice uzrokovat će pobuđivanje pri višim valnim duljinama. No, ako su čestice premale ili pak prevelike, neće se postići željeni efekt. Stoga je optimalna veličina nanočestica 30 do 100 nanometara. Varijacije u obliku nanočestica mogu pomoći pri karakterizaciji spektara. Naime, različite nanočestice mogu dati različite spektre istih molekula zbog različitog načina vezanja molekule na nanočestice. Ako molekula posjeduje više mogućih mjesta vezanja, ovisno o obliku nanočestica može se vezati preko onog aktivnog mjesta koje pokazuje najveći afinitet prema nanočesticama. Ovisno o metalu od kojeg su pripravljene

nanočestice te o atomima molekule koji pokazuju afinitet prema tom metalu mijenjat će se način vezanja molekule na nanočesticu, a tako i spektar. [33] I oblik nanočestice može utjecati na jačinu odziva. Nepravilnije čestice imaju više zakrivljenja poput kuteva, vrhova i šupljina koji uzrokuju jako elektromagnetsko pojačanje. Dva glavna pristupa pripravi nanočestica su takozvani *top-down* i *bottom-up* načini pripreme. *Top-down* način odnosi se na stvaranje velikih nanočestica koje se zatim razbijaju na manje, dok se *bottom-up* odnosi na stvaranje manjih nanočestica koje se zatim nadograđuju. *Bottom-up* način je lakše kontrolirati te je stabilniji. Najčešća takva metoda pripreme je kemijska redukcija. Veličina nanočestica u procesu pripreme ovisi najviše o reducirajućem agensu. Jači reducens (tvar manjeg elektrodnog potencijala) stvarati će manje nanočestice ( $\text{NaBH}_4$ ), dok će slabiji reducens stvarati veće nanočestice (citrati). Oblik nanočestica se može kontrolirati dodatkom surfaktanata ili vanjskim utjecajem (npr. UV svjetlost) koji mijenjaju površinsku energiju i kontroliraju agregaciju čestica. [34]

Prema tehnikama pripreme nanočestica, supstrati se dijele na : metalne nanočestice u suspenziji, metalne nanočestice imobilizirane na čvrstoj površini i nanostrukturirane metalne površine pripremljene primjerice nanolitografijom. Ovisno o uzorku i željenim rezultatima odabire se ona tehnika koja najbolje odgovara. U daljnjem tekstu pri pripravi nanočestica govorit će se o metalnim nanočesticama u suspenziji. Sferne nanočestice zlata i srebra najčešće se pripremaju redukcijom kationa metala. Jedan od najpopularnijih načina je koloid srebra pripremljen redukcijom srebrova nitrata s trinatrijevim citratom. Poželjno je da su dobivene nanočestice uniformne i stabilne, kako se prilikom SERS-a ne bi mijenjale (raspad, reakcija). Za stabilnost su odgovorne kemijske veze na površini nanočestica. Mogu se dodati i razne kemikalije u svrhu povećanja stabilnosti, no onda se mora uzeti u obzir njihov utjecaj pri snimanju spektara. U svrhu agregacije nanočestica, mogu se dodati razne soli. Takve agregirane nanočestice imati će pojačano raspršeno zračenje. Pretvaranjem pojedinačnih nanočestica u dimere ili grozdove omogućava se međusobna rezonancija površinskih plazmona i stvaranje 'vrućih mjesta' u kojima je elektromagnetsko polje izrazito jako. Koloidne nanočestice se najčešće agregiraju dodatkom anorganskih soli ( $\text{KCl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaNO}_3$ ). [35] Nanočestice se danas osim u spektroskopiji koriste u svim poljima znanosti i industrije. Osim metalnih, koriste se i bimetalne, metal-oksidne, sulfidne, polimerne i mnoge druge vrste nanočestica. Razvija se način proizvodnje nanočestica zbog pojačanih svojstava nanočestica i željene primjene. Smanjenjem dimenzija npr. feromagnetičnih čestica postiže se superparamagnetičnost čestica, koja se koristi u biomedicini. Drugačijim načinom pripreme

nanočestica, poput mikroemulzijske polimerizacije, veoma brzo se dobivaju uniformne čestice velikog stupnja polimerizacije. [36] Uz sintetsku proizvodnju, razvija se i prirodna proizvodnja nanočestica korištenjem kompleksnih živih eukariota (poput bakterija) za dobivanje nanočestica željenog oblika i veličine. [37]



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

Reagensi i otopine korišteni tijekom izrade ovog završnog rada navedeni su u tablici 1, a pri tome je korištena sljedeća instrumentacija:

- analitička vaga (Mettler Toledo, AB104-S)
- ultrazvučna kupelj (Elmasonic P, Elma)
- magnetska miješalica (IKA RCT basic (0-310 °C, 0-1500 rpm))
- UV lampa (izrađena na Institut Ruđer Bošković)
- UV-VIS-NIR spektrofotometar (UV-3600 Shimadzu)
- Raman spektrometar (Horriba Jobin Yvon T64000)
- FE-SEM (Jeol JSM 7000F, FE-SEM)

**Tablica 1.** Popis korištenih kemikalija

Naziv	Proizvođač	Čistoća
AgNO <sub>3</sub>	Gram-mol d.o.o.	p.a.
NaBH <sub>4</sub>	Acros organics	p.a.
Na <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	Gram-mol d.o.o.	p.a.
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	Gram-mol d.o.o.	p.a.
NaOH	Sigma Aldrich	p.a.
KBr	Fluka	Za IR-spektroskopiju
NaNO <sub>3</sub>	Kemika d.d.	p.a.
metanol	Kemika d.d.	p.a.
aceton	Kemika d.d.	p.a.

Korišten Raman spektrometar opremljen je Symphony® II 81024×256 Cryogenic Open-Electrode CCD detektorom (Horiba, Kyoto, Japan), hlađen tekućim dušikom do temperature 130 °C. Proces mjerenja i upravljanja kontroliran je LabSpec računalnim programom (također Horiba, Kyoto, Japan). Pri analizi je korišten diodni laser valne duljine 532 nm.

Rad UV/VIS spektrofotometra upravljani je UV Probe programskim paketom (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Grafički prikazi izrađeni su u programu OriginPro 8 (OriginLab, Massachusetts, USA).

### **3.1. Priprava srebrnih nanočestica**

Pripravljene su dvije vrste nanočestice, nanosfere i nanoprizme. Obje vrste nanočestica izrađene su od srebra zbog kompatibilnosti metala sa valnom duljinom korištenog lasera (514 nm). Obje pripreme uključuju citrat kao stabilizirajuće sredstvo. Priprava nanoprizmi sastoji se od dva koraka. Prvi korak je priprava nanosfera, a zatim se utjecajem UV lampe (vanjski faktor) postiže transformacija oblika iz nanosfera u nanoprizme. Ta transformacija praćena je na UV/VIS spektrometru kroz periode od četiri sata i deset sati (Slika 9 i Slika 12). Svrha toga bila je utvrditi ovisnost morfologije čestica o vremenu rada UV lampe. Za bolju usporedbu snimljen je i UV/VIS spektar čistih nanosfera (slika 7). Prema literaturi, očekivana vrpca za nanosfere je pri manjim valnim duljinama (oko 400 nm), dok je za nanoprizme očekivana vrpca pri većim valnim duljinama (600 – 700 nm). [38]

#### 3.1.1. Priprava srebrnih nanosfera

Koloidna suspenzija srebra pripremljena je redukcijom srebrova nitrata s askorbinskom kiselinom uz citrat kao stabilizirajuće sredstvo. Vodenoj otopini od 160 mL koja je sadržavala askorbinsku kiselinu ( $6,0 \cdot 10^{-4}$  M) i trinatrijev citrat ( $3,0 \cdot 10^{-3}$  M) namješten je pH na 9 – 10 korištenjem 1 M NaOH. Otopina je držana na temperaturi od 30 °C na uljnoj kupelji. [32] Snimljen je UV/VIS spektar (Slika 6) i mikrografije na SEM-u za potvrdu nastanka nanosfera (slika 7).

#### 3.1.2. Priprava srebrnih nanoprizmi

Koloidna suspenzija srebra pripremljena je redukcijom srebrova nitrata s borhidridom uz citrat kao stabilizirajuće sredstvo te naknadnim miješanjem pod UV lampom. Otopina trinatrijeva citrata ( $3,0 \cdot 10^{-2}$  M, 1 mL) i otopina srebrova nitrata ( $1,0 \cdot 10^{-2}$  M, 1 mL) dodane su u 97 mL vode uz jako miješanje. Otopina natrijeva borhidrida ( $5,0 \cdot 10^{-3}$  M, 1 mL) dodana je kap po kap uz vrtložno miješanje. Smjesa je poprimila žutu boju. Nakon 30 sekundi, smjesa je

stavljena pod UV lampu. Uzimani su uzorci svakih sat vremena tijekom 4 i 10 h zračenja kako bi se pratio nastanak nanoprizmi. Snimljen je UV/VIS spektar (Slika 9Slika 12) i mikrografije na SEM-u za potvrdu nastanka nanoprizmi (Slika 1010 i 13). [39]

### 3.2.Priprema uzoraka za SERS analizu

Korištene su koncentracije pesticida u skladu sa njihovom topljivosti (tablica 2.). Nanočestice, određena otopina soli i prethodno pripremljene otopine pesticida različitih koncentracija pomiješani su u omjerima koji su prethodnom provjerom dali najbolje rezultate (tablica 3.). Kod eksperimenata provedenih sa nanosferama korišteno je 80  $\mu\text{L}$  nanosfera, 10  $\mu\text{L}$  uzorka pesticida i 10  $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_3$ . Kod eksperimenta pesticida sa nanoprizmama korišteno je 50  $\mu\text{L}$  nanosfera, 100  $\mu\text{L}$  uzorka pesticida i 5  $\mu\text{L}$   $\text{KBr}$ . Koncentracija korištenih soli ( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KBr}$ ) bila je 1 M. Otopine pesticida snimane su laserom valne duljine 532 nm, jačinom oko 100 mW za sve nanočestice. Otopine su snimane od 400 do 1800  $\text{cm}^{-1}$ , a kruti uzorci pesticida u rasponu 4000  $\text{cm}^{-1}$  u svrhu usporedbe spektra Ramanovog zračenja i SERS spektra pesticida.

Tablica 2. Prikaz koncentracija korištenih pesticida

pesticid	koncentracije snimane uz nanosfere / M			koncentracije snimane uz nanoprizme / M	
	atrazin	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$
$2,5 \cdot 10^{-3}$		$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
simazin	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-3}$
	$5 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$1,25 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	
diuron	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$
				$1,25 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
irgarol	$5 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$		
	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-3}$			

Tablica 3. Prikaz pripreve uzoraka za analizu

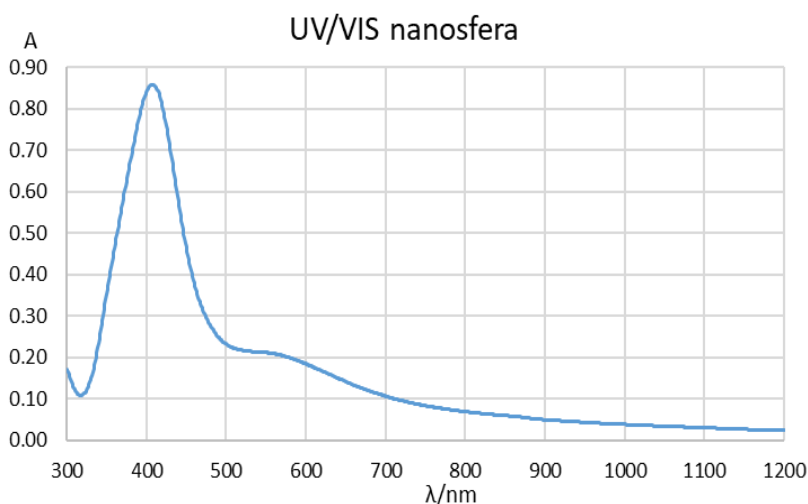
	volumen dodane otopine u uzorak		
	pesticidi	nanočestice	sol
nanosfere	10 $\mu\text{L}$	80 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$ 1 M $\text{NaNO}_3$
nanoprizme	50 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$ 1 M $\text{NaNO}_3$
	50 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	10 $\mu\text{L}$ 1 M $\text{KBr}$

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

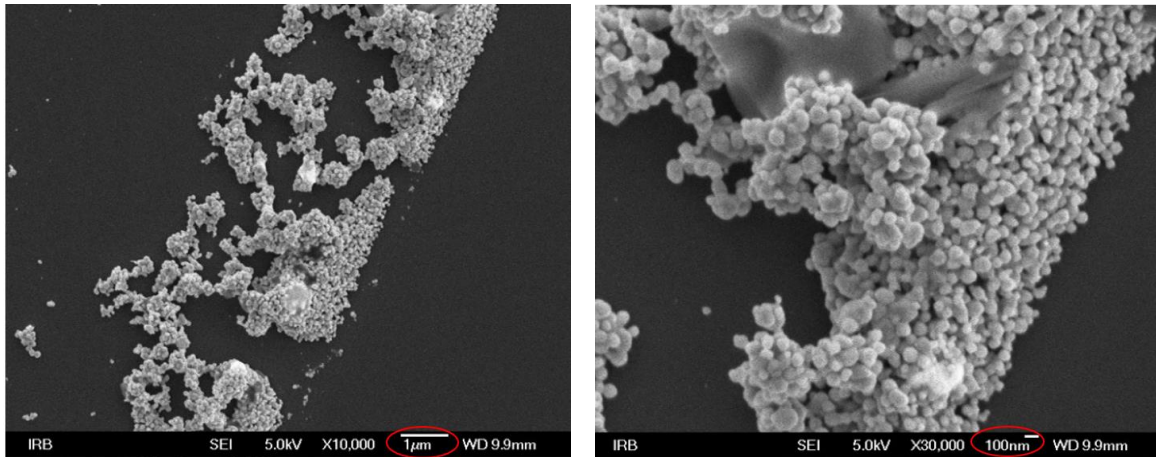
Cilj ovog rada je istražiti SERS metode u svrhu određivanja prioriternih zagađivala (pesticida). Prikazat će se modificiranje SERS metode ovisno o pesticidu (atrazin, simazin, diuron i irgarol), vrsti nanočestica (nanosfere i nanoprizme) i soli u uzorku. Rezultati će se razlikovati s obzirom na način vezanja pesticida, ovisno o njegovoj koncentraciji i agregaciji te obliku korištenih nanočestica.

### 4.1. Priprema nanosfera

Nakon sinteze nanočestica određena je morfologija nanočestica kako bi se provjerilo da li su zbilja nastale sfere ili neki drugi oblik. Za provjeru oblika uzorci nastalih nanočestica analizirani su najprije UV-VIS spektrometrijom kod koje bi uzorci sferne geometrije trebali dati odziv pri kraćim valnim duljinama (400 nm) [38]. U slučaju korištenja zlata, taj maksimum bi se nalazio na 520 nm. Na slici 6. se može primijetiti najveći odziv pri 400 nm ali i da se javlja drugi slabiji pik pri višim valnim duljinama (570 nm). To nam ukazuje da je jako teško postići uniformnu smjesu jednog oblika nanočestica te da će se uvijek javiti malen dio nanočestica (npr. štapića ili žica) drugog oblika. Pretpostavke izvedene na temelju UV-VIS rezultata potvrđene su SEM mikroskopijom (slika 7).



Slika 6. UV/VIS spektar uzorka nanosfera

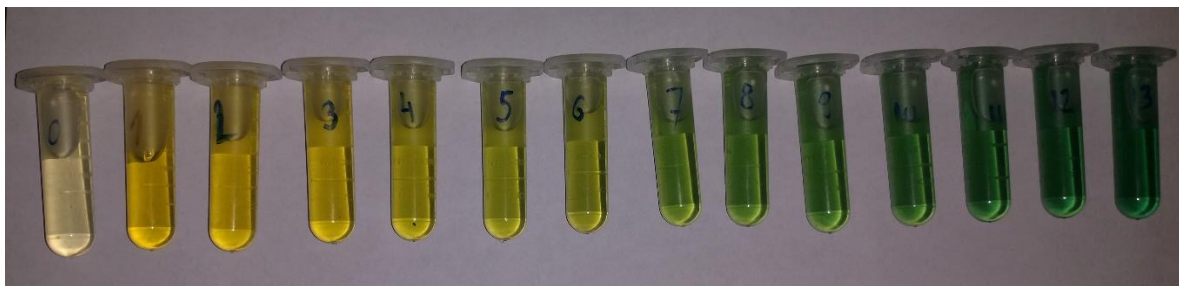


Slika 7. SEM mikrografije uzorka nanosfera uz povećanje 10000 i 30000 puta.

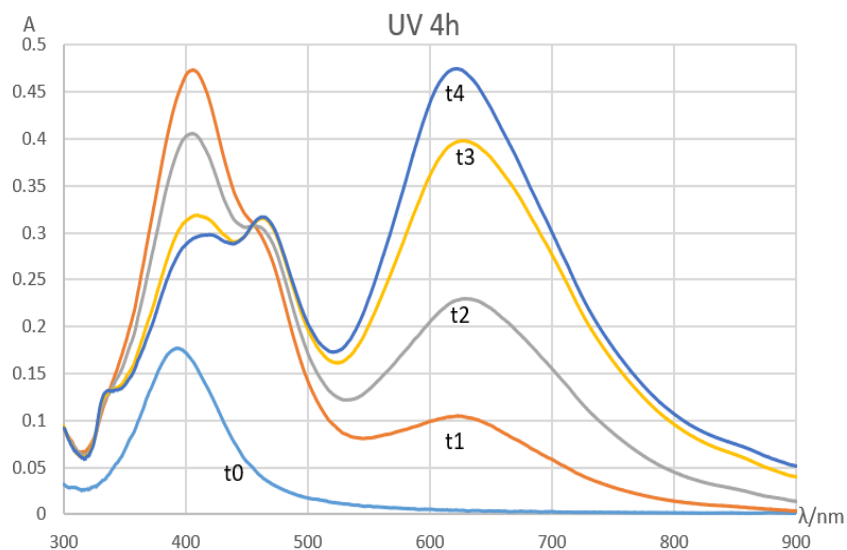
#### 4.2. Priprema nanoprizmi

Tijekom provedbe zračenja uočeno je kako uzorak poprima željenu plavo-zelenu boju već nakon 4 sata izloženosti (slika 8), no u literaturi [41] sugerira se izloženost u trajanju od 10 sati. Stoga su provedena ispitivanja obaju slučajeva: napravljena su dva uzorka nanoprizmi, jedan koji je stajao pod UV lampom četiri sata (u daljnjem tekstu U4ZR), a drugi 10 sati (u daljnjem tekstu U10ZR).

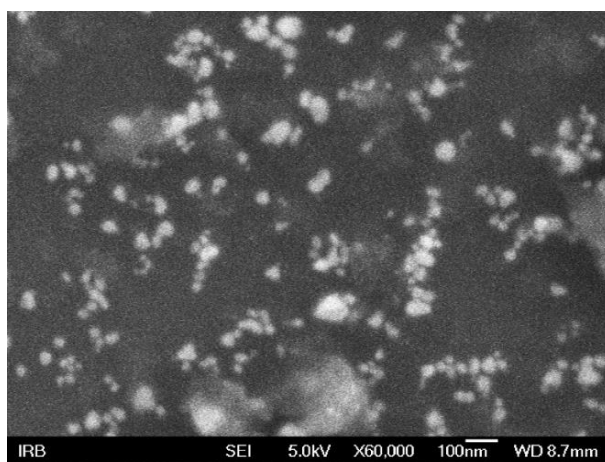
UV/VIS spektrometrijom U4ZR (slika 9) dobivene su dvije vrpce, jedna karakteristična za sferične nanočestice pri 410 nm i druga karakteristična za nanoprizme pri 620 nm [41]. Stoga se može zaključiti da je nastala smjesa obje forme nanočestica. SEM snimkom čestice teško je uočiti pravi oblik nanočestica (slika 10). To nam ukazuje da iako je UV/VIS spektar prikazao da je nastala većina čestica oblika prizmi, da su čestice premalene da bi se mogle promatrati na SEM-u. Stoga ih je bilo potrebno promotriti transmisijskim elektronskim mikroskopom koji nam u trenutku izrade završnog rada nije bio dostupan.



Slika 8. Prikaz promjene boje uzorka unutar 4 sata zračenja (uzorci uzimani svakih 20 minuta)



Slika 9. Promjena apsorbancije nanoprizmi tijekom četverosatne izloženosti UV zračenju: t0 označava početak zračenja, t1 izloženost od 1 sata, t2 2 sata, t3 3 sata, a t4 konačno vrijeme od 4 sata



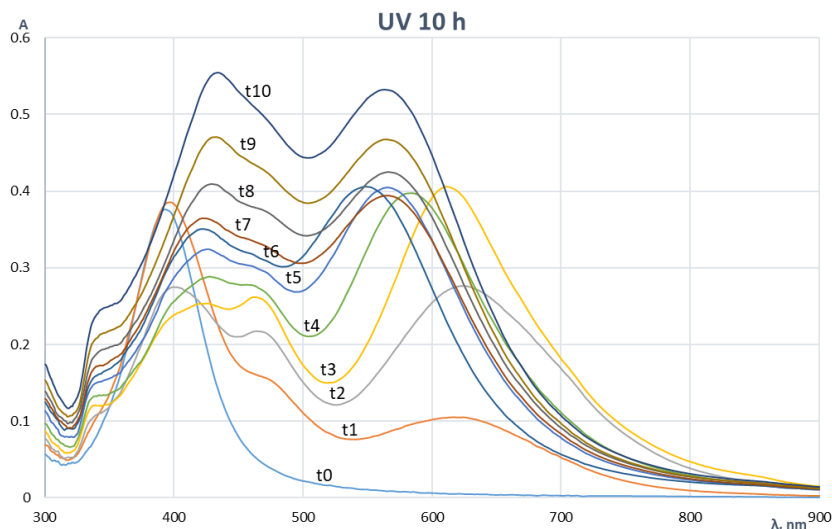
Slika 10. SEM mikrografija nanoprizmi nakon 4 sata izloženosti UV zračenja

Drugi uzorak, U10ZR, zračen je 10 sati. UV/VIS spektrometrijom uzorka (slika 12) dobivene su dvije vrpce (smjesa geometrijskih oblika, 410 nm – nanosfere, 570 nm - nanoprizme), no apsorbancija je veća. Vidljivo je da se druga valna duljina (karakteristična za prizme) smanjuje, što je moguća naznaka da se daljnjim zračenjem uzorka nanočestice smanjuje koncentracija nanoprizmi, a povećava koncentracija nanosferi. Makar je porast u apsorbanciji naspram U4ZR minimalan ( $\approx 0,1$ ), dao je znatne razlike među uzorcima. Veća

apsorbancija uzorka direktno je povezana s veličinom nanočestica. Snimkom na SEM-u ovaj put jasno su vidljive nanoprizme (slika 13). U usporedbi sa U4ZR, U10ZR ima puno veće i mnogobrojnije nanočestice, gdje se na mikrografijama smjese razaznaju i nanoprizme i nanosfere. Iz tih razloga, daljnje istraživanje provedeno je sa uzorkom U10ZR.

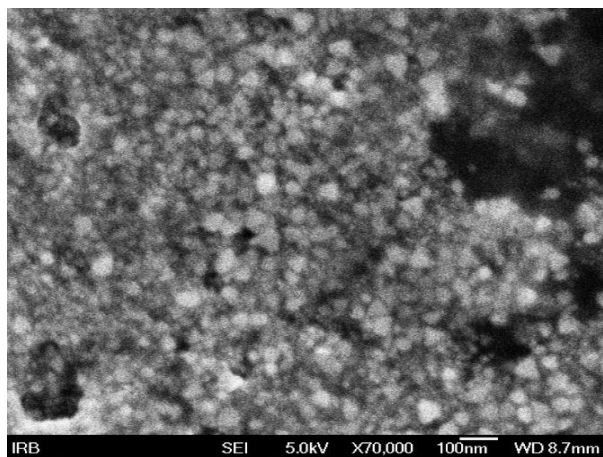


Slika 11. Prikaz promjene boje uzorka tijekom 10h UV zračenja



Slika 12. Promjena apsorbancije nanoprizmi tijekom desetosatne izloženosti UV zračenju: t0 označava početak zračenja, t1 izloženost od 1 sata, t2 2 sata, t3 3 sata, t4 4 sata, t5 5 sati, t6 6 sati, t7 7 sati, t8 8 sati, t9 9 sati, a t10 konačno vrijeme od 10 sati

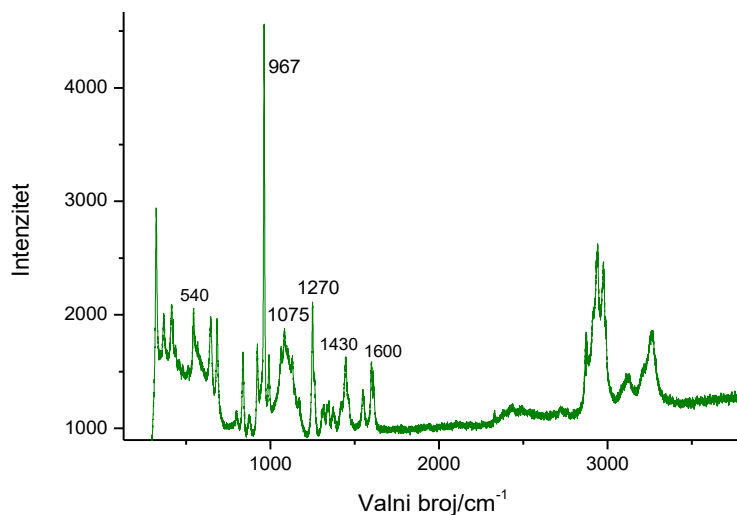




Slika 13. SEM mikrografija nanoprizmi nakon 10 sati izloženosti UV zračenja

#### 4.3. Ramanovi spektri pesticida u krutom obliku

Kao prvi korak snimljeni su spektri uzoraka pesticida u prahu (slika 14-17) kako bismo naknadno mogli usporediti spektre pesticida u prahu i suspenzijama. Spektar praša atrazina pokazuje karakteristične vrpce, od kojih je najintenzivnija ona pri  $980\text{ cm}^{-1}$  (Slika 14). Maksimum dostignutog intenziteta je 4500. Karakteristične vrpce komentirane su u tablici 4.

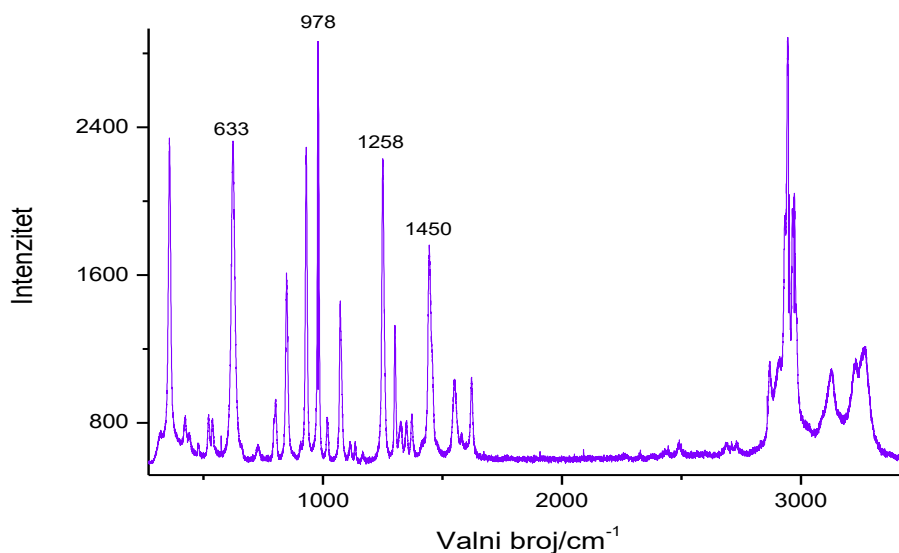


Slika 14. Ramanov spektar praša atrazina

Tablica 4. Vibracijski pomak molekule karakteriziran specifičnim vrpčama atrazina [40]

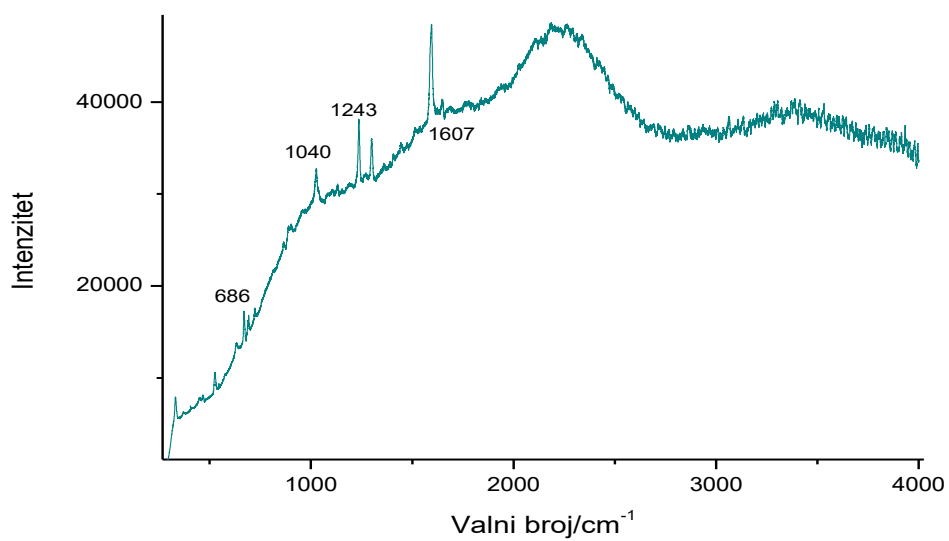
Ramanov pomak (valni broj)	Vibracijski pomak
546	izvijanje planarnog prstena
964	vibracija $\nu\text{C1}-\text{Cl}$
1084	$\delta\text{N}-\text{C}-\text{H}$ ili $\delta\text{C}-\text{C}-\text{H}$ mode
1448	deformacijski mode $\delta\text{CH}_3$
1599	deformacija prstena + $\delta\text{C5}-\text{N5}-\text{H}$

Spektar praha simazina (slika 15) pokazao je puno karakterističnih vrpca do  $1500\text{ cm}^{-1}$  te par vrpca u području oko  $3000\text{ cm}^{-1}$ .



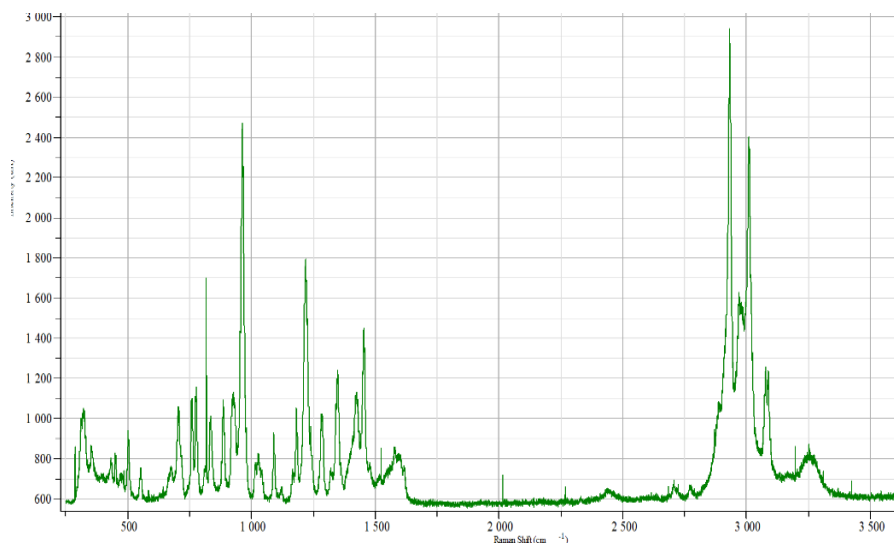
Slika 15. Raman spektrometru praha simazina

Spektar praha pesticida diurona (slika 16) pokazuje fotoluminiscenciju koja maskira signal. Do  $2000\text{ cm}^{-1}$  pokazuje se nagli pad intenziteta zbog kojeg se dio vrpca ne vidi, no dio je vidljiv na  $1250$  i  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Razlog ovakvom ponašanju spektra pesticida je već spomenuta fotoluminiscencija koja se pojavljuje kod određenih molekula i zaklanja Ramanov spektar.



Slika 16. Raman spektrometar praha diurona

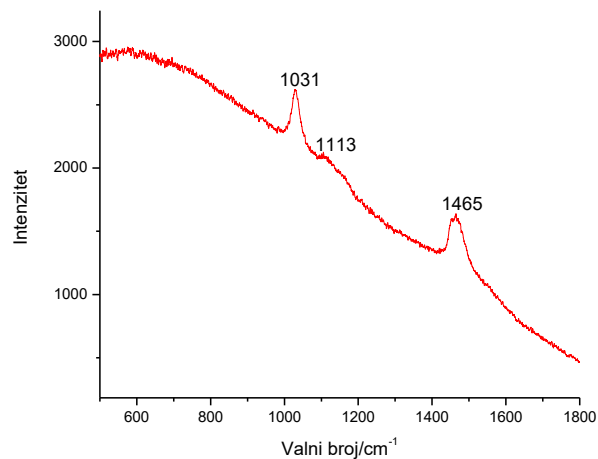
Ramanov spektar irgarola (slika 17) pokazao je karakteristične vrpce do  $1500\text{ cm}^{-1}$  te vrpce u području  $3000\text{ cm}^{-1}$ .



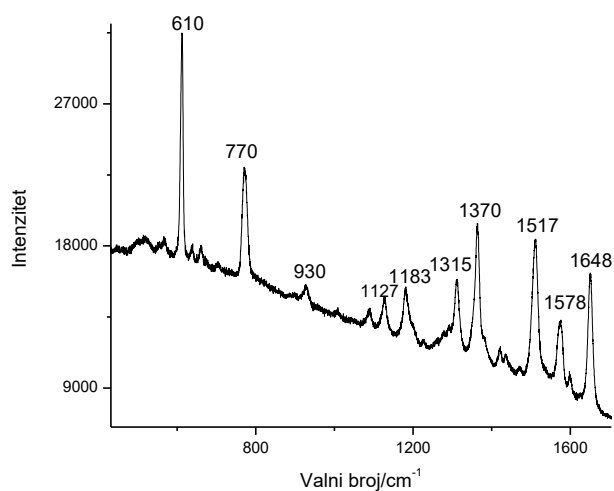
Slika 17. Raman spektrometru praha irgarola

#### 4.4. Atrazin

Otopina atrazina pripremljena je u otopini metanola. Za snimanje sa nanosferama napravljene su koncentracije:  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $5 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$  M s  $\text{NaNO}_3$ . Za snimanje sa nanoprizmama pripravljene su koncentracije:  $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $4 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$  M sa KBr. Vrpce metanola su pri  $1031$ ,  $1113$  i  $1465 \text{ cm}^{-1}$  (slika 18) te se tijekom rasprave pazilo da se ne zamijene sa vrpcaima pesticida. [41] Pri snimanju Ramanovih spektara primijetila se prisutnost onečišćenja od strane rodamina (Slika 19) zbog prethodnog analiziranja rodaminom u laboratoriju te se pazilo i na vrpce rodamina. Snimanjem spektra čistih nanočestica nisu dobivene vrpce.

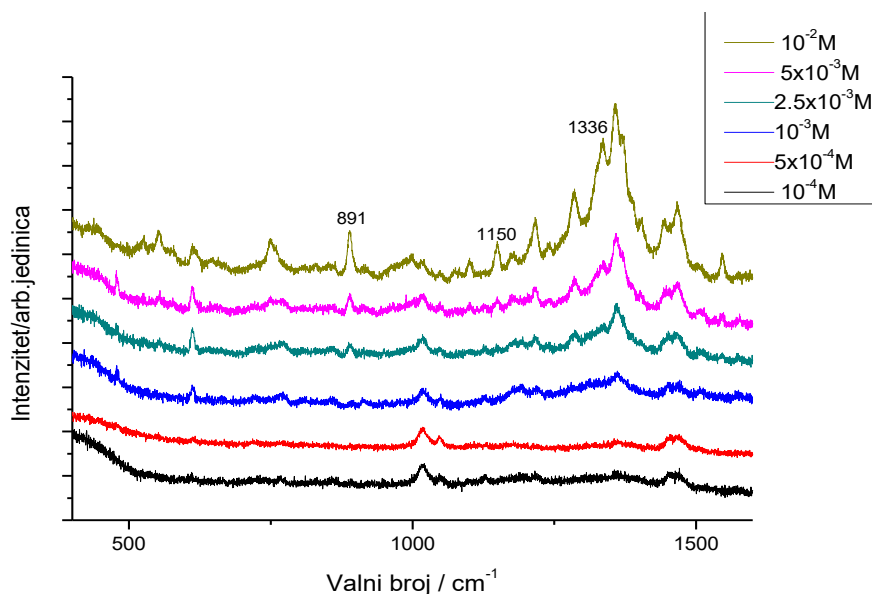


Slika 18. SERS spektar smjese metanola i  $\text{NaNO}_3$

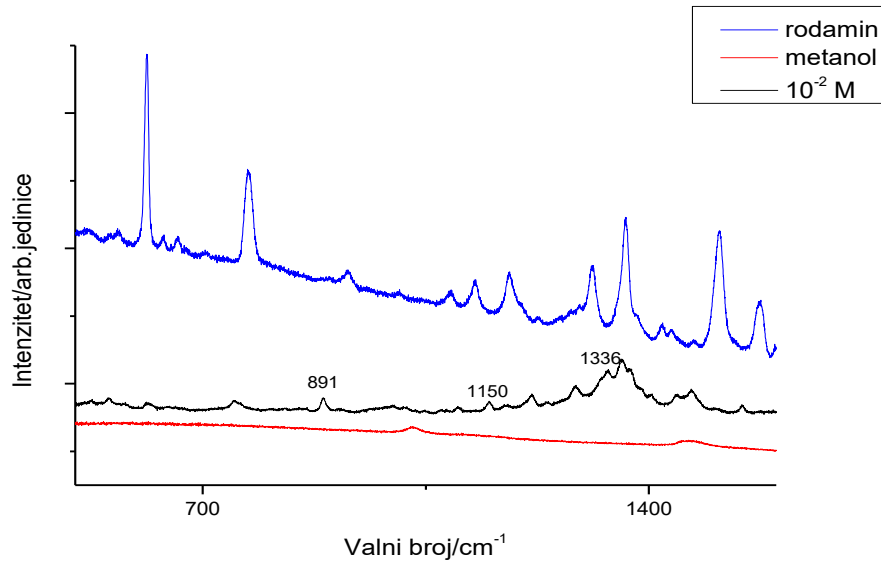


Slika 19. SERS spektar rodamina (onečišćenje)

Snimane su otopine atrazina koncentracija:  $1 \cdot 10^{-4}$ ,  $5 \cdot 10^{-4}$ ,  $1 \cdot 10^{-3}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$ ,  $1 \cdot 10^{-2}$  M. Od najmanje koncentracije ( $10^{-4}$  M) pa do najveće ( $10^{-2}$  M), vidljiv je porast intenziteta. Najveći porast primjećuje se na  $1300 \text{ cm}^{-1}$ , no kako su u tom području prisutne vrpce rodamina (onečišćenja), teško je reći sa sigurnošću koja točno određena vrpca atrazina je rasla. Također, promatra se koliko se spektar atrazina snimljen SERS metodom u otopini razlikuje od normalnog Ramanovog spektra praha atrazina što će se komentirati u nastavku. Oduzimanjem vrpca onečišćenja (rodamina) i metanola, mogu se primijetiti tri karakteristične vrpce atrazina:  $891 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1150 \text{ cm}^{-1}$  i  $1336 \text{ cm}^{-1}$  (slika 20). Za tu pretpostavku potrebno je usporediti vrpce atrazina, rodamina i otapala kako bismo potvrdili da primijećeni rast vrpce nije uzrokovan onečišćenjem ili pozadinom. Na slici 21. vidljivo je da su te tri vrpce zaista vrpce atrazina. Prema literaturi [33] te vrpce su moguća naznaka vezanja atrazina za nanočestice putem dušika N5 (Slika 1). Iako je moguće da se molekula atrazina vezala putem tog dušika na nanosfere, ne znači da će se na taj način vezati i pri uporabi drugih oblika, koncentracija i vrsti (metala) nanočestica.

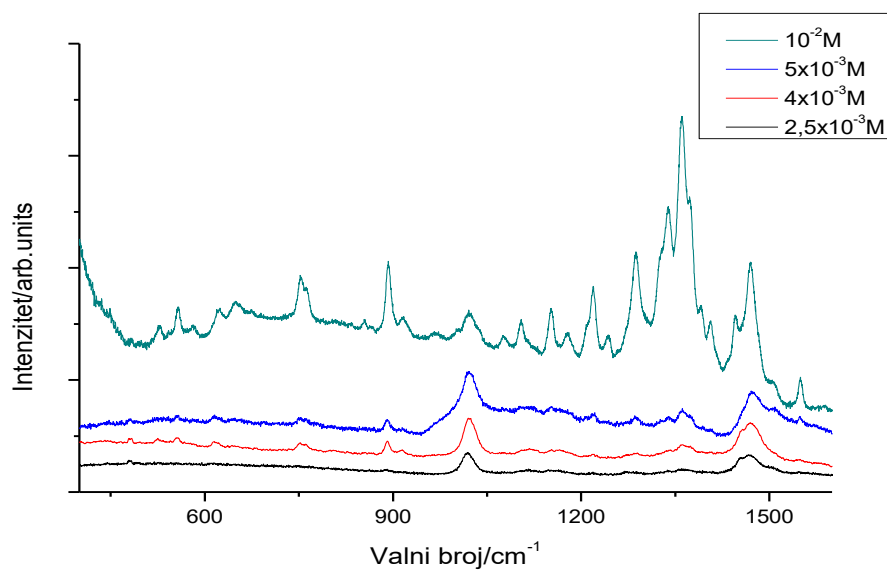


Slika 20. SERS spektar različitih koncentracija atrazina uz nanosfere kao adsorbens



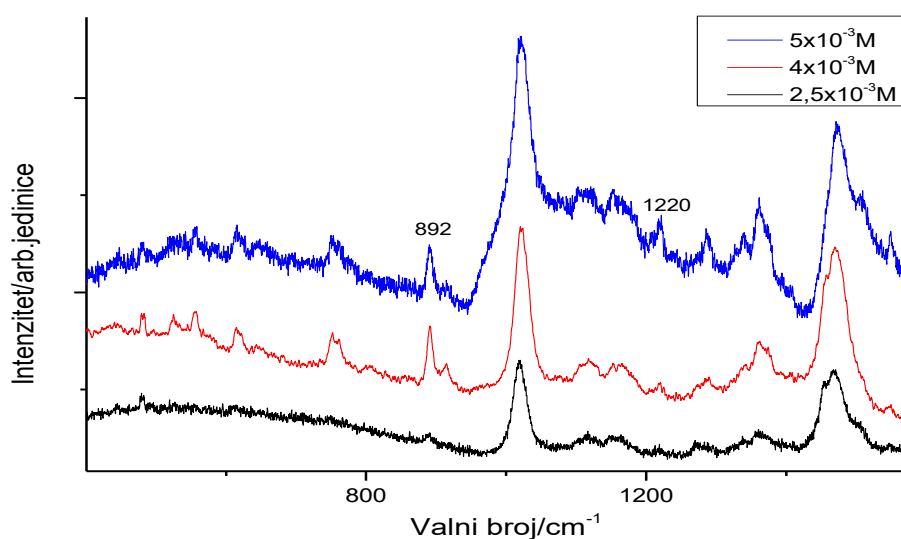
Slika 21. Usporedba SERS spektara atrazina  $10^{-2}$  M, rodamina i metanola

Kod snimanja atrazina s nanoprizmama (omjeri u tablici 3) kao sredstvo za agregiranje se koristila sol KBr jer je dala najbolje rezultate. Pri snimanju sa prizmama, korištene su veće koncentracije pesticida jer manje nisu bile vidljive. Pretpostavlja se da su razlike u pripravi nanočestice uzrokovale razliku u efektu pojačanja pri snimanju SERS spektara. Nanosfere su pripravljene koristeći askorbinskom kiselinom kao redukcijско sredstvo, dok su nanoprizme pripravljene korištenjem natrijev borhidrida. Korištenjem jačeg reducirajućeg sredstva poput natrijeva borhidrida se dobivaju manje nanočestice, što je mogući uzrok razlike u pojačanju.

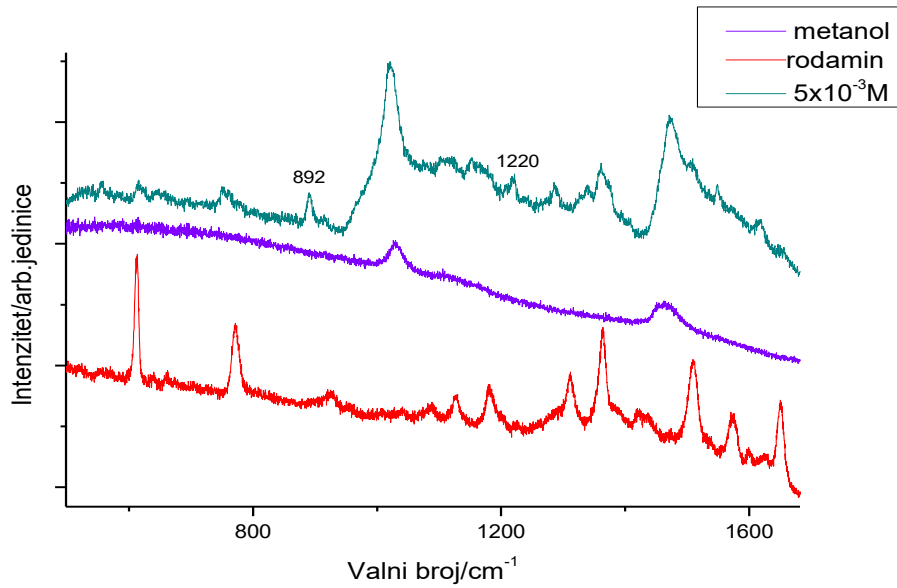


Slika 22. SERS spektri otopina atrazina s nanoprizmama

Prva tri spektra ( $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $4 \cdot 10^{-3}$  i  $5 \cdot 10^{-3}$  M) imaju spektre sa istim karakterističnim vrpčama ( $480 \text{ cm}^{-1}$ ,  $892 \text{ cm}^{-1}$  i  $1220 \text{ cm}^{-1}$ ), dok se četvrti spektar (0.01M) razlikuje (slika 22). No, u usporedbi spektara atrazina sa nanosferama (slika 20) sa spektrom atrazina 0.01 M sa prizmama, možemo vidjeti da se podudaraju. To znači da se taj uzorak atrazina vezao za nanoprizme srebra jednako kao i prethodni sa nanosferama, prema pretpostavci preko dušika N5. Kod prva tri uzorka (slika 23), vrpce pri  $1337 \text{ cm}^{-1}$  nema, ali su prisutne druge karakteristične vrpce (ponovno prisutna vrpca pri  $892 \text{ cm}^{-1}$ ). Na Slika 24 se vidi kako karakteristične vrpce prva tri spektra pripadaju atrazinu, a ne rodaminu ili metanolu. To znači da se pesticid u prva tri spektra vezao preko drugog dušika u prstenu (Slika 1). Jedina druga mogućnost vezanja prstena atrazina za nanočestice je putem dušika N3. Prema literaturi [33] najbolji pokazatelj vezanja atrazina putem N3 je intenzivna vrpca pri  $1555 \text{ cm}^{-1}$  koja u ovom slučaju na spektrima nije vidljiva. No bez obzira, kako je dobiven potpuno drugačiji spektar, možemo jedino pretpostaviti da je riječ o vezanju putem N3. Uzastopnim snimanjem dobivani su spektri različitih karakterističnih vrpci, gdje je za većinu ispitivanih koncentracija atrazina sa nanoprizmama prevladavao spektar vezanja putem N3 dušika. To nam govori kako je kod vezanja molekula pesticida moguće vezanje na oba načina, ali da kod korištenja prizmi prevlada vezanje putem dušika N3.

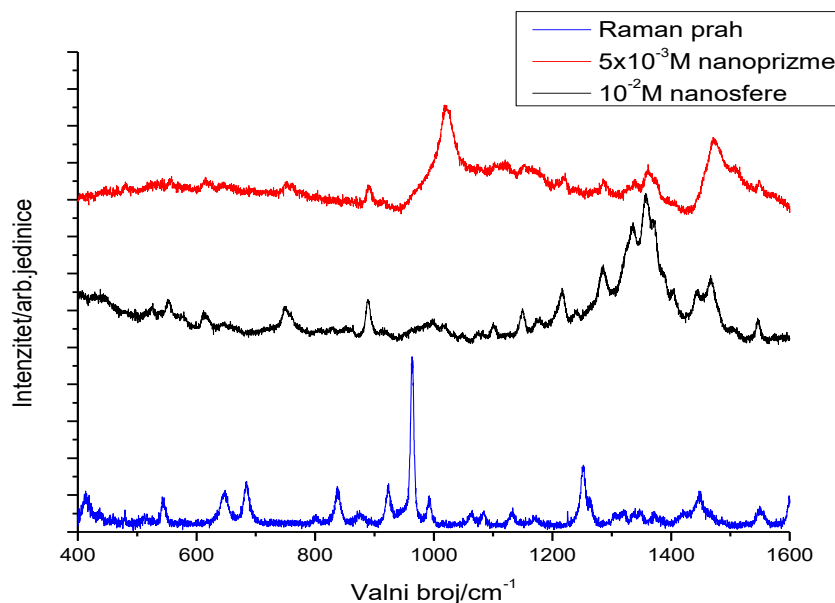


Slika 23 SERS spektri atrazina vezanog za nanoprizme putem N3



Slika 24. Usporedba SERS spektara atrazina ( $5 \cdot 10^{-3} \text{M}$ ) s nanoprizmama, metanola i rodamina

Pri usporedbi spektara otopina atrazina uz nanosfere i nanočestice s prahom atrazina, možemo vidjeti da spektar praha atrazina ima puno više karakterističnih vrpca (između  $1000$  i  $1200 \text{ cm}^{-1}$ ) sa najintenzivnijom vrpcom na  $980 \text{ cm}^{-1}$ . Drugačiji spektar dobiven je snimanjem pesticida u otopini metanola, gdje se pesticid ovisno o nanočesticama drugačije vezao za njih. Na slici 26. su prikazani Raman spektar praha atrazina, te SERS spektri atrazina sa nanoprizmama i atrazina sa nanosferama. Vidljivo je da sva tri spektra imaju različite karakteristične vrpce. Možemo pretpostaviti da je Ramanov spektar atrazina različit od njegova SERS spektra te da ovisi o načinu vezanja na nanočestice (slika 25).



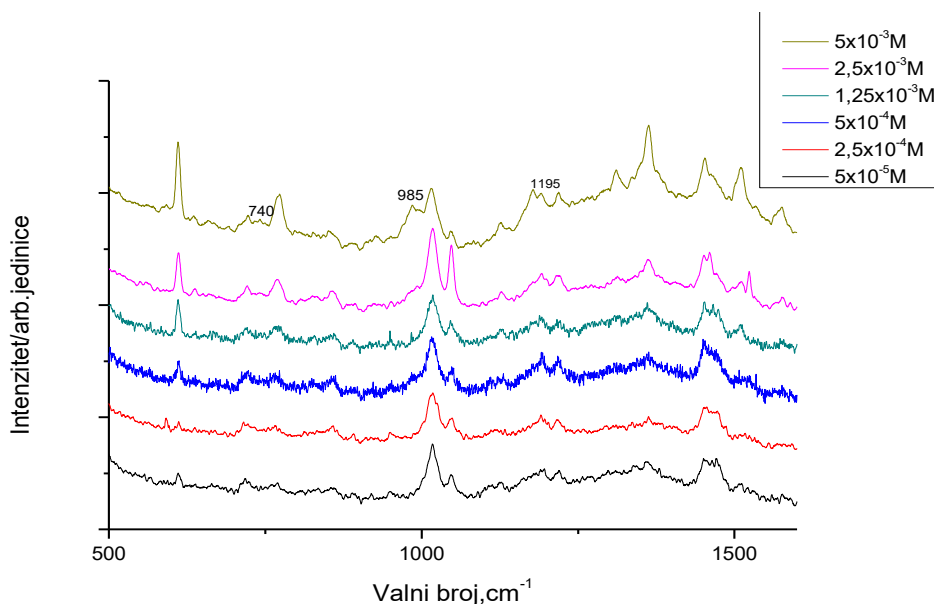


Slika 25. Usporedba Raman spektra atrazina u prahu sa SERS spektrima atrazina adsorbiranog na nanočestice

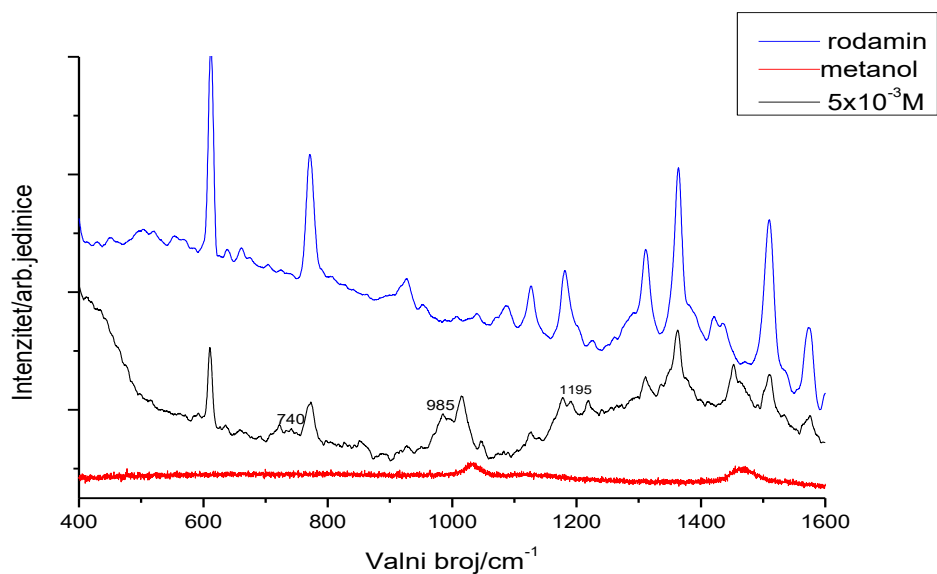
#### 4.5. Simazin

Otopina simazina pripravljena je otapanjem praha u metanolu. Pomiješana je sa  $\text{NaNO}_3$  soli kao agregirajućim sredstvom i nanočesticama u omjerima koji su dali najbolji rezultat (tablica 3). Potrebno je obratiti pozornost ponovo na vrpce na  $1032$ ,  $1113$  i  $1469 \text{ cm}^{-1}$  jer kao i prethodno kod atrazina pripadaju metanolu (slika 18). Također se pazi i na vrpce pri  $600$  i  $1350 \text{ cm}^{-1}$  zbog onečišćenja rodaminom (slika 19).

Karakteristične vrpce su vidljive kod snimanja sa nanosferama pri svim analiziranim koncentracijama, dok kod snimanja sa nanoprizmama samo pri višim koncentracijama. Oduzimanjem pozadine i onečišćenja, vidljivo je da je SERS spektar simazina dao signale pri  $1195 \text{ cm}^{-1}$ , na  $985 \text{ cm}^{-1}$  i  $740 \text{ cm}^{-1}$  (slika 26). Prema literaturi [33] vezanje simazina putem N5 dušika (slika 2) karakteriziraju prevladavajuće vrpce pri  $1040$ ,  $1326$  i  $1441 \text{ cm}^{-1}$ . Vrpce  $1040 \text{ cm}^{-1}$  i  $1441 \text{ cm}^{-1}$  nisu vidljive zbog prevladavanja vrpce otapala. No, kako nije prisutna ni vrpca pri  $1326 \text{ cm}^{-1}$ , možemo pretpostaviti da se simazin sa nanosferama vezao putem N3 (slika 2). [33]. Vezanje putem N3 karakteriziraju vrpce pri  $700$ ,  $1260$  i  $1450 \text{ cm}^{-1}$ , što više odgovara dobivenom spektru (slika 27).

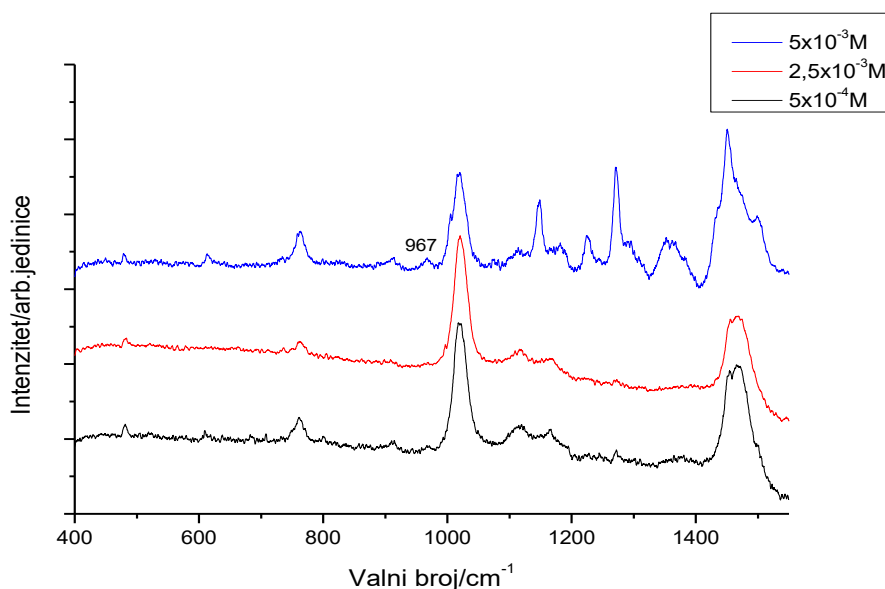


Slika 26. SERS spektari otopina simazina sa nanosferama i  $\text{NaNO}_3$

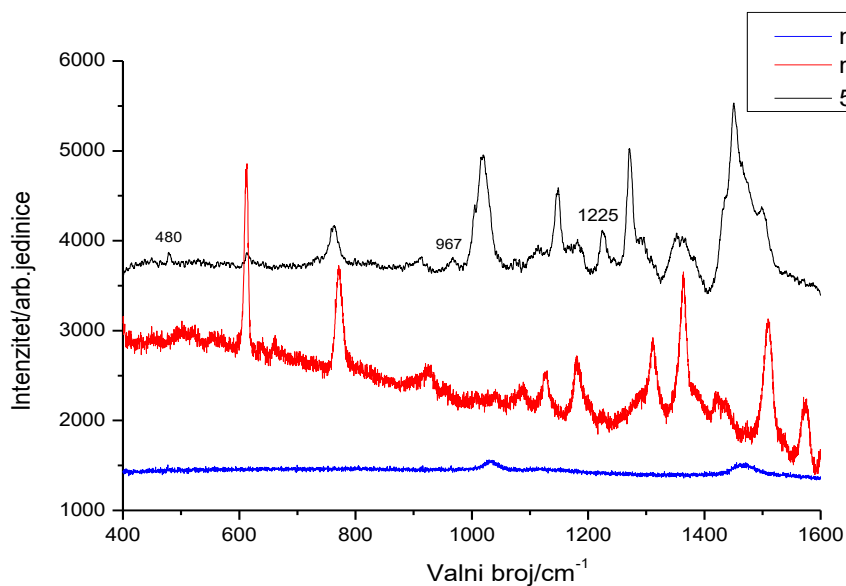


Slika 27. SERS spektri simazina  $5 \cdot 10^{-3}$  M, rodamina i metanola

Kod snimanja SERS spektra simazina s nanoprizmama, jako su slabo vidljive karakteristične vrpce simazina. Kod prikaza svih snimljenih koncentracija (slika 28) vidljiva je samo vrpca pri  $967 \text{ cm}^{-1}$ . Usporedbom SERS spektra simazina koncentracija  $5 \cdot 10^{-3}$  M sa rodaminom i metanolom, ustanovljene su 3 karakteristične vrpce:  $480 \text{ cm}^{-1}$ ,  $967 \text{ cm}^{-1}$  i  $1225 \text{ cm}^{-1}$  (slika 29).

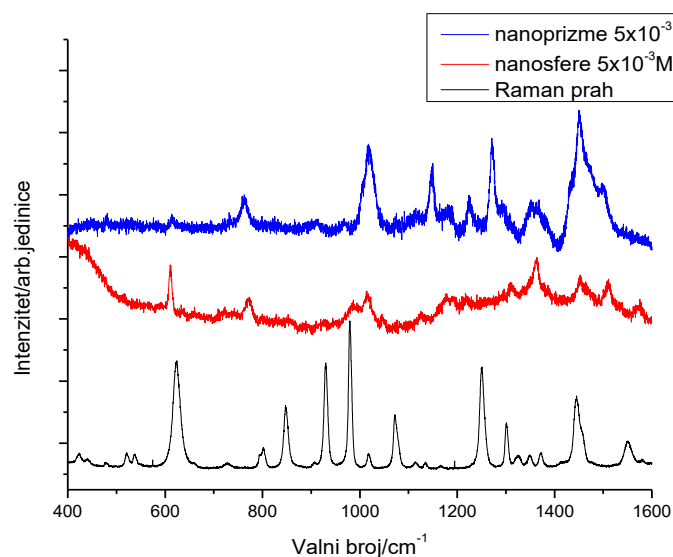


Slika 28. SERS spektari simazina s nanoprizmama



Slika 29. SERS spektri simazina ( $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ), rodamina i metanola

S obzirom da je dobiveni spektar drugačiji od spektra simazina sa nanosferama, možemo zaključiti da se simazin na nanoprizme veže drugačije nego za nanosfere (pretpostavka putem N5 prema usporedbi sa literaturom [33]) (slika 30).

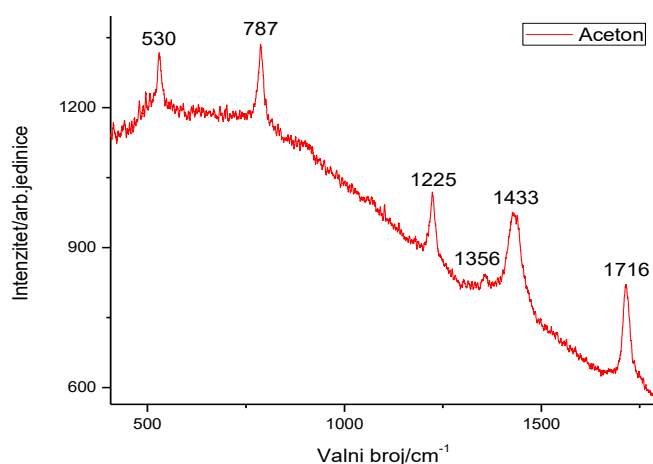


Slika 30. Raman spektar praha simazina, SERS spektri simazina sa nanoprizmama i nanosferama

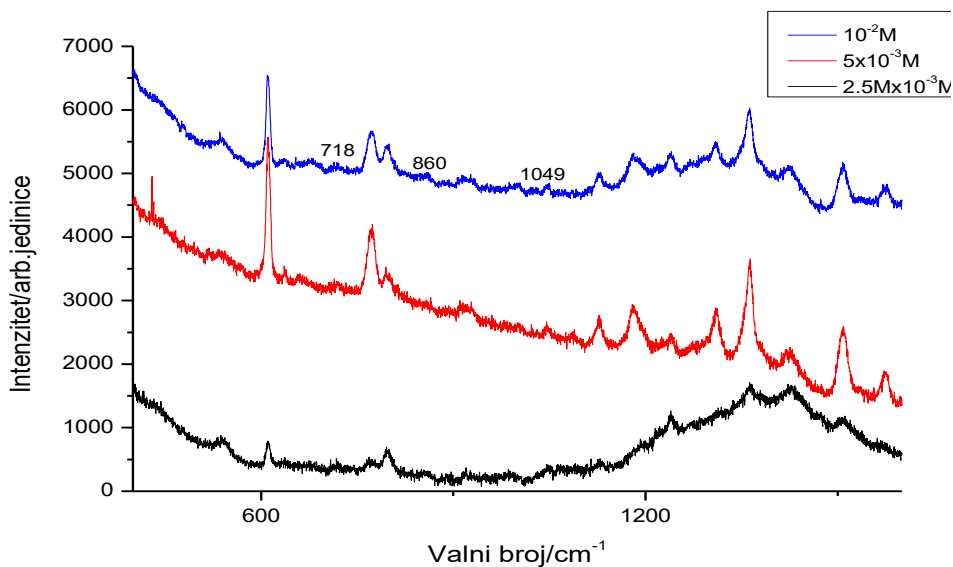
Kod usporedbe SERS-a simazina kao praha i otopine simazina, možemo zaključiti isto što i kod atrazina. Atrazin i simazin su oba triazinski herbicidi, stoga pokazuju velike sličnosti. U oba slučaja, spektar koji pesticidi daju ovisi o načinu vezanja na nanočestice te o načinu snimanja spektra (prah ili otopina). Spektri snimljeni sa nanosferama su imali intenzivnije vrpce, što ukazuje da su u ovim uvjetima nanosfere prikladnije za SERS analizu simazina i atrazina. Kao što je prikazano (slika 25 i 30) pesticid može dati različite spektre ovisno o tome preko kojeg se atoma dušika veže na nanočestice. Prema literaturi [33] navedeno svojstvo različitog vezanja može poslužiti kao selektivnost SERS metode kod korištenja srebrnih nanočestica. Iako su nanosfere prikladnije, teško je predvidjeti koji karakteristični spektar pesticida će biti vidljiv snimanjem, stoga je i teško prilagoditi poželjno otapalo i sol za agregiranje. Kao otapalo je u ovom slučaju korišten metanol. Metanol daje najveću topljivost pesticida (veću od vode, moguće pripremiti veće koncentracije) no ima karakteristične vrpce u blizini  $1000$  i  $1430\text{ cm}^{-1}$  te stoga može zakloniti vrpce pesticida bitne za njegovu kvalifikaciju.

#### 4.6. Diuron

Diuron je pripremljen otapanjem u acetonu. Pripremljene su koncentracije:  $1,25 \cdot 10^{-3}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  i  $1 \cdot 10^{-2}$  M. Pomiješane su sa  $\text{NaNO}_3$  kao agregirajućom soli i nanočesticama u omjerima danim u tablici 3. Već u obliku praha, diuron je pokazao drugačije rezultate od ostalih pesticida u prahu zbog fluorescencije pri snimanju (slika 16). Diuron je otopljen u acetonu, koji ima pikove na  $528$ ,  $788$ ,  $1225$ ,  $1356$ ,  $1433$  i  $1716\text{ cm}^{-1}$ . [42] Također se pojavilo i onečišćenje rodaminom čije su vrpce već spomenute.

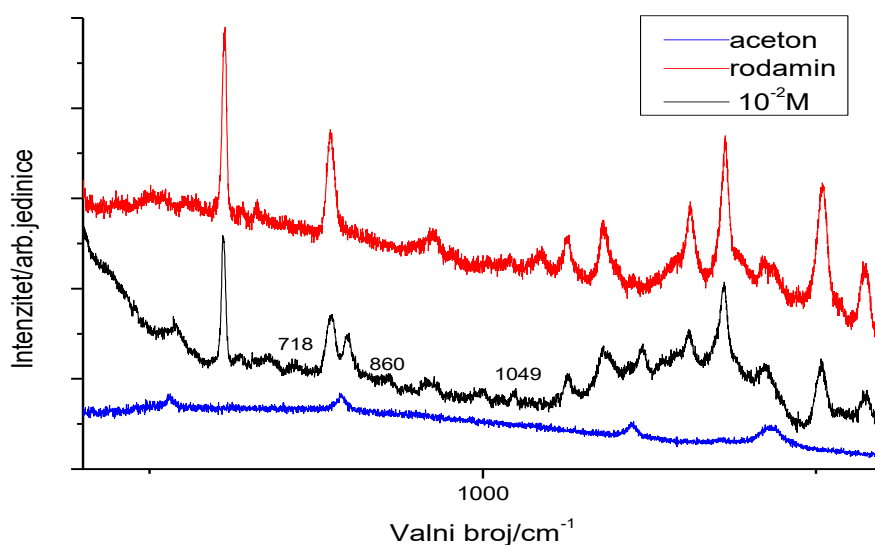


Slika 31. Spektar acetona – pozadina



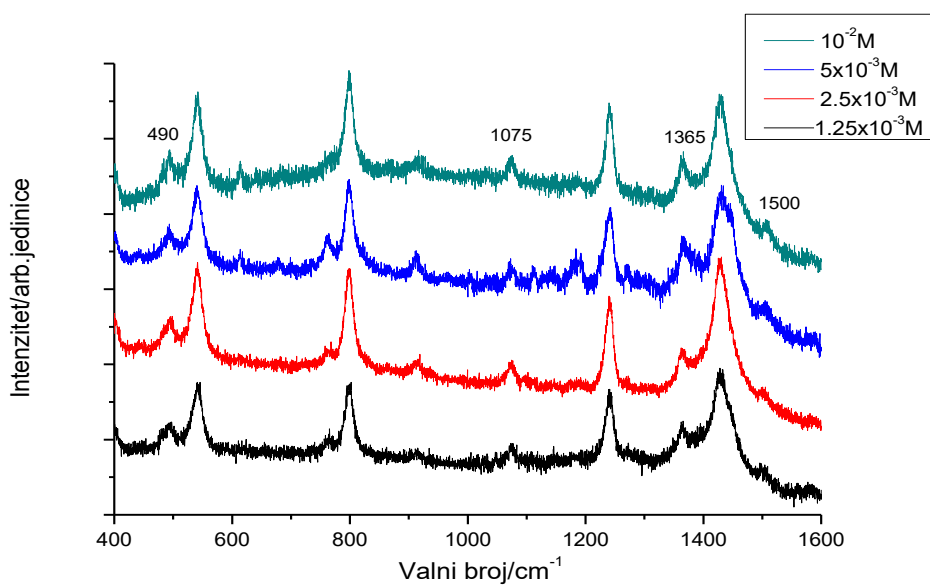
Slika 32. SERS spektar diurona sa nanosferama

Oduzimanjem vrpce rodamina i otapala (slika 31), primijećeno je da su ponavljajuće vrpce diurona 718, 1049 i 860 cm<sup>-1</sup> (slika 32). Također možemo vidjeti da su vrpce već pri koncentraciji 10<sup>-2</sup> M veoma slabo vidljive, te da su pri 2,5·10<sup>-3</sup> M teško prepoznatljive. Iako je moguće da postoji još vrpce diurona koje su zaklonjene zbog onečišćenja ili otapala, i ove koje su vidljive su veoma slabog intenziteta što nam ukazuje da nanosfere i diuron nisu najoptimalnije rješenje za određivanje diurona pri korištenim koncentracijama.

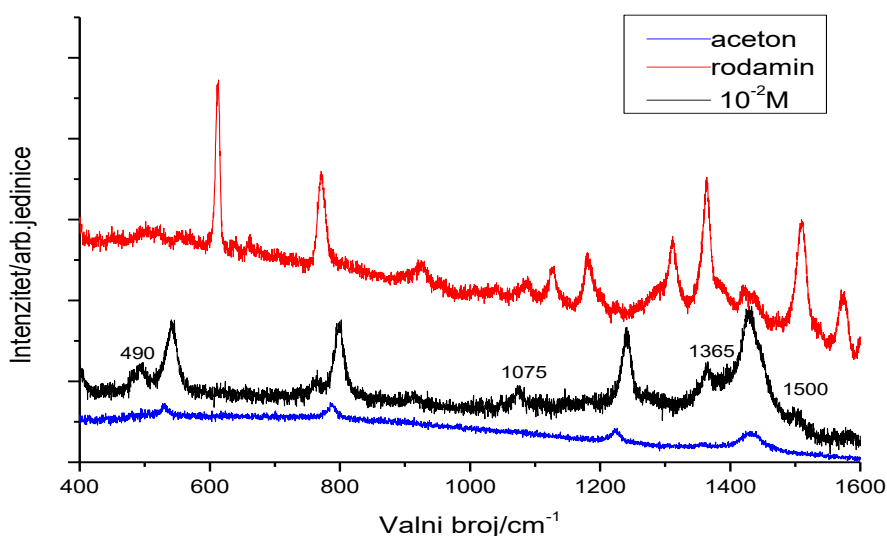


Slika 33. Spektri diurona 10<sup>-2</sup> M, rodamina i acetona

Diuron je snimljen i sa prizmama pri koncentracijama  $1,25 \cdot 10^{-3}$ ,  $2,5 \cdot 10^{-3}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$  i  $10^{-2}$  M. Na slici 34. su jasno vidljive karakteristične vrpce pri 490, 1075, 1365 i 1500  $\text{cm}^{-1}$ . Na slici 35. potvrđeno je da to zaista jesu vrpce diurona. Obilje vrpce i jasan spektar ukazuju nam na to da diuron daje intenzivnije vrpce sa nanoprizmama nego sa nanosferama. Također, mogu se primijetiti opet različite vrpce naspram diurona snimljenog sa nanosferama, što pokazuje da se i diuron različito veže ovisno o nanočesticama.

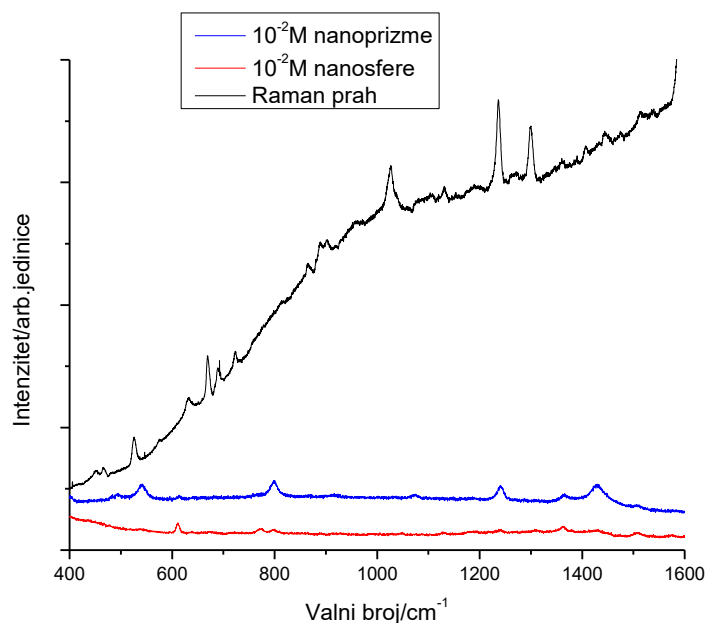


Slika 34. SERS spektra pesticida diurona sa nanoprizmama



Slika 35. Usporedba SERS spektara diurona  $10^{-2}$ M, rodamina i acetona

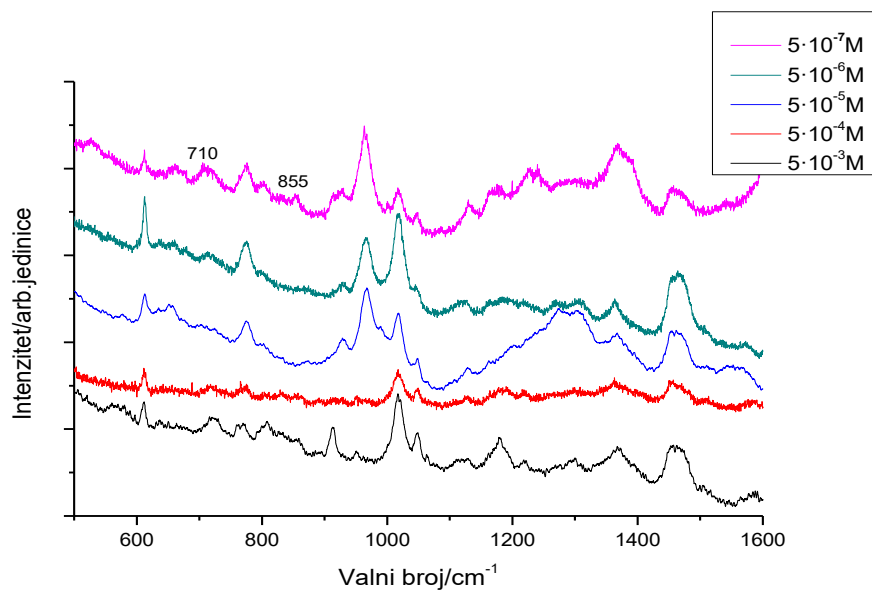
Usporedbom spektra diurona u prahu sa SERS spektrima otopina (slika 36), možemo primijetiti da su osim velike razlike intenziteta zbog fluorescencije dobivena tri različita spektra. Kod snimanja spektra praha Ramanovom spektrometrijom prisutna je fluorescencija uzorka diurona, no kod SERS analize otopina diurona nema tragova fluorescencije. Fluorescencija je, prethodno spomenuto, jedan od najčešćih problema pri snimanju Ramanovih spektara. Jedna od glavnih prednosti SERS analize uzoraka je gašenje fluorescencije pomoću interakcije između molekule koja pokazuje fluorescentna svojstva i nanočestica. Diuron se pokazao kao molekula podložna fluorescenciji, stoga je SERS metoda prikladna za određivanje diurona.



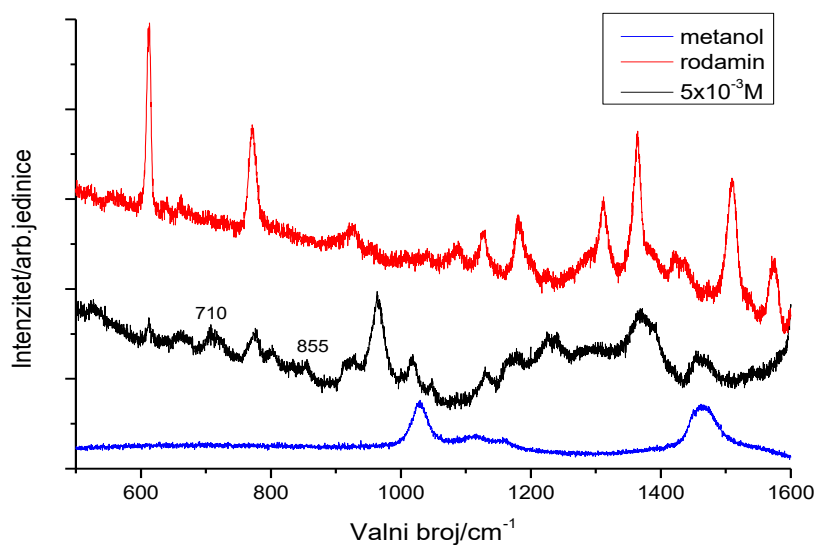
Slika 36. Raman spektar diurona i SERS spektri diurona sa nanosferama i nanoprizmama

#### 4.7. Irgarol

Irgarol je pripremljen otapanjem u metanolu. Pripremljene su koncentracije:  $5 \cdot 10^{-7}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-5}$ ,  $5 \cdot 10^{-4}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$  M. Pomiješane su sa  $\text{NaNO}_3$  kao agregirajućim sredstvom i nanočesticama u omjerima u tablici 3. Snimljeni su SERS spektri sa nanosferama. Sa nanoprizmama irgarol nije dao rezultate. Oduzimanjem spektra rodamina i metanola od spektra irgarola dobivene su karakteristične vrpce irgarola pri 710 i 855  $\text{cm}^{-1}$ .



Slika 37. Prikaz snimljenih SERS spektara irgarola



Slika 38. SERS spektri irgarola 5 · 10<sup>-3</sup>M, metanola i rodamina

Na slici 38 je vidljivo kako vrpce na 710 i 855 cm<sup>-1</sup> pripadaju irgarolu. Na slici 38 može se vidjeti porast tih vrpca sa koncentracijom, izuzev koncentracije 5 · 10<sup>-7</sup> M. Irgarol je veoma slabo vidljiv snimanjem sa nanosferama, dok sa nanoprizmama nije dao rezultate.



## 5. ZAKLJUČAK

Površinski pojačanim Ramanovim raspršenjem (SERS) analizirani su pesticidi adsorbirani na površinama dviju geometrijski različitih nanočestica: nanosfera i nanoprizmi. Pri tome je svaki pesticid dao jedinstven spektar.

Metanol se koristio kao otapalo za atrazin i simazin zbog velike moći otapanja no pokazao se neprikladnim otapalom zbog zaklanjanja karakterističnih vrpce pesticida bitnih za njegovu kvalifikaciju. Kod diurona je kao otapalo korišten aceton, no nažalost nije poznato postoje li karakteristične vrpce diurona ispod vrpce acetona.

Analiza atrazin i simazina (oba triazini), pokazala je da postoje razlike u karakterističnim vrpcama ovih pesticida kod Raman spektra praha i Raman spektra pesticida adsorbiranog na nanočestice. U slučaju atrazina su se nanosfere pokazale prikladnijim od nanoprizmi zbog konzistentnosti dobivenog spektra, a intenzitet karakterističnih vrpce je rastao s koncentracijom atrazina. Iako je simazin pokazao dobre rezultate s obje vrste nanočestica, i u ovom slučaju čini se kako su nanosfere bolji odabir jer daju odziv pri nižim koncentracijama pesticida. Iako nepravilniji oblik prisutan kod nanoprizmi pojačava elektromagnetsko polje kod SERS analize, izgledno je da je prevladao utjecaj veličine nanočestica (korištene nanoprizme su manje veličine od nanosfera).

Raman analiza diurona u prahu ukazala je na postojanje fluorescencije, koja nije uočena kod SERS analize. SERS analizom dobivene su karakteristične vrpce koje su se i u ovom slučaju razlikovale u ovisnosti o vrsti primijenjenih nanočestica. Uz nanoprizme uočeno je više karakterističnih vrpce nego uz nanosfere.

Irgarol nije dao rezultate koristeći nanoprizme, no vidljive su karakteristične vrpce analizom sa nanosferama.

U uvjetima provedbe istraživanja, može se zaključiti da je SERS analiza korištenjem nanosfera pogodna za atrazin, simazin i irgarol pa je za pretpostaviti da bi bila bolji izbor i kod ostalih triazina. Suprotno tome, rezultati su pokazali da je za analizu diurona prikladnija geometrija prizme.

## 6. LITERATURA

1. D.A. Wright, P. Welbourn, Environmental toxicology, Cambridge University Press, 2002, str. 356–357
2. D. Pimentel, L. Levitan, Amounts Applied and Amounts Reaching Pests, BioScience **36** No.2 (1986) 86-91
3. <http://fisportal.mps.hr/hr/sve/propisi/> (15.03.2019.)
4. <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN> (30.02.2019.)
5. A.C. Kambhampati, P. Kambhampati, Surface-enhanced Raman scattering, Chemical Society Reviews **27** (1998) 241-250
6. <http://www.propisi.hr/print.php?id=3919> (20.08.2019.)
7. K. Košutić, Zbirka nastavnih tekstova za studente Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije dodiplomskog studija, 88-93
8. J. Beard, DDT and human health, Science of The Total Environment, **355** (2006) 78-89
9. S.E. Manahan, Environmental chemistry (9.izd.), CRC Press, Boca Raton, 2010, str.175, 180, 436, 212
10. J.E. Casida, Pest Toxicology: The Primary Mechanisms of Pesticide Action, Chemical Research in Toxicology, **22** (2009) 609-619
11. E. Hodgson, A Textbook of modern toxicology (3.izd.), John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 1932, str.57-61
12. D. Horvatić, Utjecaj zaštitnih sredstava u poljoprivredi na onečišćenje tla i podzemne vode, završni rad, Geotehnički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Varaždin (2018) str.5,8.
13. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food> (20.02.2019.)
14. <http://www.pan-uk.org/health-effects-of-pesticides/> (21.02.2019.)
15. R.M. Harrison, Understanding Our Environment: An Introduction to Environmental Chemistry and Pollution (3.izd), The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999, str.131
16. M. Dokić, N. Bilandžić, F. Briški, Postupci uklanjanja pesticida iz okoliša, Kemija u industriji : Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske **61** No.7-8 (2012) 341-348
17. A. Galijot, Opasnosti za zdravlje pod utjecajem pesticida u gradskom okolišu, diplomski rad, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb (2015) str.8-9

18. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/atrazine-ext.html>  
(20.06.2019.)
19. M. Graymore, F. Stagnitti, G. Allison, Impacts of atrazine in aquatic ecosystems, *Environment International* **26** No.7-8 (2001) 483-495
20. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/simazine-ext.html>.  
(20.06.2019.)
21. M.A. Gough, J. Fothergill, J.D. Hendrie, A survey of southern England coastal waters for the s-triazine antifouling compound irgarol 1051, *Marine Pollution Bulletin* **28** No.10 (1994) 613-620
22. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cybutryne#section=Safety-and-Hazards>  
(25.02.2019.)
23. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/45463?lang=en&region=HR>  
(20.06.2019.)
24. B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*, VCH Publishers, Inc., New York, 1995, str. 499
25. D. Tuschel, *Raman Thermometry, Spectroscopy* **31** No.12 (2016) 8-13
26. G. Gauglitz, T. Vo-Dinh, *Handbook of Spectroscopy*, WILEY-VCH, Weinheim 2003, str. 72-73
27. <https://www.microtrace.com/use-of-surface-enhanced-raman-spectroscopy-sers-applied-to-the-study-of-fluorescing-pigments-and-dyes/> (23.03.2019.)
28. D. Wei, S. Chen, Q. Liu, Review of Fluorescence Suppression Techniques in Raman Spectroscopy, *Applied Spectroscopy Reviews* **50** No. 5 (2015) 387-406
29. M. Kerker, D.S. Wang, H. Chew, Enhanced Raman Scattering by Molecules Adsorbed at the Surface of Colloidal Particles, u R.K.Chang, T.E.Furtak (ur.) *Surface Enhanced Raman Scattering*, Springer, Boston 1982, str.109-126
30. <https://andor.oxinst.com/learning/view/article/raman-spectroscopy> (20.06.2019.)
31. L. Mikac, Površinski pojačano Ramanovo raspršenje : Od koloidne otopine do stabilnog supstrata, doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (2006) str.13
32. C. H. Munro, W. E. Smith, M. Garner, J. Clarkson, P. C. White, Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering, *Langmuir* **11** No. 10 (1995) 3712-3720
33. J.C.S. Costa, R.A. Ando, P.H.C. Camargo, P. Corio, Understanding the Effect of Adsorption Geometry over Substrate Selectivity in the Surface-Enhanced Raman

- Scattering Spectra of Simazine and Atrazine, *The Journal of Physical Chemistry* **115** No. 10 (2011) 4184–4190
34. N.D. Israelsen, C. Hanson, E. Vargis, Nanoparticle Properties and Synthesis Effects on Surface-Enhanced Raman Scattering Enhancement Factor: An Introduction, *The Scientific World Journal* **2015** (2014) 12
35. M. Ratkaj, Primjena spektroskopije površinski pojačanog Ramanovog raspršenja u istraživanju farmaceutski aktivnih tvari, doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb (2013) 12-15
36. T. Jurkin, M. Gotić, Mikroemulzijska sinteza nanočestica, *Kemija u industriji* **62** No.11-12 (2013) 401-415
37. P.M.K. Yadav, K. RanaSudesh, Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications, *Journal of Nanoparticle Research* **10** No.3 (2008.) 507-517
38. A. Pyatenko, M. Yamaguchi, M. Suzuki, Synthesis of Spherical Silver Nanoparticles with Controllable Sizes in Aqueous Solutions, *The Journal of Physical Chemistry* **111** No. 22 (2007) 7910-7917
39. S. Ciou, Y. Cao, H. Huang, D. Su, C. Huang, SERS Enhancement Factors Studies of Silver Nanoprism and Spherical Nanoparticle Colloids in The Presence of Bromide Ions. *The Journal of Physical Chemistry C* **113** No.22 (2009) 9520-9525
40. S. Bonora, E. Benassi, A. Maris, V. Tugnoli, S. Ottani, M. Di Foggia, Raman and SERS study on atrazine, prometryn and simetryn triazine herbicides, *Journal of Molecular Structure* **1040** (2013) 139-148
41. Z. Meng, S. Cheng, Raman Spectroscopy Using Time-correlated Photon-counting Detection, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 8572 No.40 (2013) 85721G
42. [https://www.sacher-laser.com/applications/overview/raman\\_spectroscopy/acetone](https://www.sacher-laser.com/applications/overview/raman_spectroscopy/acetone) (16.04.2019.)