



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
DEPARTMAN ZA HEMIJU, BIOHEMIJU I  
ZAŠTITU ŽIVOTNE SREDINE



Zsigmond Papp

**Voltametrijska karakterizacija i određivanje  
odabranih neonikotinoida primenom različitih  
elektroda na bazi ugljenika**

- doktorska disertacija -

Novi Sad, 2010.

Ovaj doktorski rad je urađen u Laboratoriji za instrumentalnu analizu i Laboratoriji za elektrohemiju Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu pod rukovodstvom **doc. dr. Valerije Gužvanj (Valéria Guzsvány)**. Ovim putem joj izražavam svoju zahvalnost na svestranoj pomoći, savetima i pokazanom interesovanju pri izradi i pisanju ovog rada.

Pojedini delovi eksperimentalnog rada su urađeni na Departmanu za analitičku hemiju Fakulteta za hemijsku tehnologiju Univerziteta u Pardubicama, Pardubice, Češka Republika i Departmanu za neorgansku i analitičku hemiju Fakulteta za hemijski i bioinženjering Budimpeštanskog Tehničkog i Ekonomskog Univerziteta (Istraživačka grupa za tehničku analitičku hemiju Mađarske akademije nauka), Budimpešta, Republika Mađarska. Posebnu zahvalnost dugujem **prof. dr. Karel Vytřasu**, **prof. dr. Ivanu Švancari** i **akademiku prof. dr. Kláři Tóth** na ljudskosti, gostoprimstvu i pomoći koju su mi pružali tokom mog eksperimentalnog rada u njihovim laboratorijama.

Zahvaljujem se **prof. dr. Andrzej Bobrowskom** (Fakultet za inženjerstvo materijala i keramike, AGH Univerzitet, Krakow, Republika Poljska) na plodnoj naučnoj saradnji.

Zahvalan sam članovima komisije **prof. dr. Luki Bjelici**, **prof. dr. Biljani Abramović** i **prof. dr. Sanji Lazić** na pokazanom interesovanju i korisnim savetima tokom pisanja ove disertacije.

Takođe dugujem zahvalnost **akademiku prof. dr. Ferencu Gaálu** na pružanoj podršci tokom mojih studija.

Hvala **kolegama i prijateljima** na interesovanju tokom izrade rada.

Najzad, najveću zahvalnost dugujem **mojoj porodici**, koja je uvek bila uz mene sa svojom podrškom.

Disertacija je rađena uz finansijsku podršku Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj, CEEPUS II i Pokrajinskog sekretarijata za nauku i tehnološki razvoj u okviru projekata "Razvoj novih i poboljšanje postojećih postupaka praćenja i unapređenja kvaliteta životne sredine", "Education of Modern Analytical and Bioanalytical Methods" i "Razvoj hemijskih metoda analize neonikotinoida i derivata piridin-karboksilne kiseline".

# SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD</b> .....	1
<b>2.</b>	<b>TEORIJSKI DEO</b> .....	4
2.1.	<i>ELEKTRODE NA BAZI UGLJENIKA</i> .....	4
2.2.	<i>NEONIKOTINOIDI</i> .....	19
2.3.	<i>ANALITIKA NEONIKOTINOIDA</i> .....	30
<b>3.</b>	<b>CILJ RADA</b> .....	46
<b>4.</b>	<b>EKSPERIMENTALNI DEO</b> .....	47
4.1.	<i>HEMIKALIJE, RASTVORI I ISPITIVANI UZORCI</i> .....	47
4.2.	<i>INSTRUMENTI</i> .....	49
4.3.	<i>POSTUPCI</i> .....	51
<b>5.</b>	<b>REZULTATI I DISKUSIJA</b> .....	57
5.1.	<i>VOLTAMETRIJSKO ISPITIVANJE NEONIKOTINOIDA POMOĆU ELEKTRODA OD UGLJENIČNE PASTE</i> .....	57
5.1.1.	Osnovne karakteristike elektroda od ugljenične paste .....	57
5.1.2.	Karakterizacija i određivanje neonikotinoida pomoću elektroda od ugljenične paste u model-rastvorima .....	63
5.1.3.	Primena elektrode od ugljenične paste za određivanje odabranih neonikotinoida u realnim uzorcima .....	76
5.1.4.	Primena elektrode od ugljenične paste za praćenje fotorazgradnje odabranih neonikotinoida .....	80

5.2.	<i>VOLTAMETRIJSKO ISPITIVANJE NEONIKOTINOIDA POMOĆU ELEKTODA OD STAKLASTOG UGLJENIKA</i> .....	100
5.2.1.	Karakterizacija i određivanje neonikotinoida pomoću nemodifikovane elektrode od staklastog ugljenika u model-rastvorima .....	100
5.2.2.	Primena nemodifikovane elektrode od staklastog ugljenika za praćenje fotorazgradnje imidakloprida .....	107
5.2.3.	Karakterizacija i određivanje neonikotinoida pomoću bizmut-filmom modifikovane elektrode od staklastog ugljenika u model-rastvorima .....	110
5.2.4.	Primena bizmut-filmom modifikovane elektrode od staklastog ugljenika za praćenje fotorazgradnje imidakloprida i acetamiprida .....	116
<b>6.</b>	<b>REZIME</b> .....	129
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b> .....	134
<b>8.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	139
<b>9.</b>	<b>LISTA PUBLIKACIJA</b> .....	148
<b>10.</b>	<b>BIOGRAFIJA</b> .....	151
	KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA .....	152
	KEYWORDS DOCUMENTATION .....	154

## 1. UVOD

Neonikotinoidi predstavljaju noviju grupu sistemskih i kontaktnih insekticida. Za njihovu strukturu je karakteristično da sadrži aromatični heterociklični fragment, koji je vezan za cikličnu ili acikličnu elektronegativnu *N*-nitroiminsku, 2-nitrometilensku ili *N*-cijanoiminsku farmakoforu. Svi neonikotinoidi se vezuju za nikotin-acetilholinske receptore (nAChR) i imaju specifično delovanje na nervni sistem insekata. Sto i više puta su selektivniji za nAChR insekata nego kičmenjaka. Ovaj jedinstveni način delovanja čini ih veoma traženim u pokušaju suzbijanja insekata koji su razvili rezistentnost na konvencionalne organofosfate, karbamate i piretroide. Nakon pojave imidakloprida na tržištu 1991. godine ubrzo se pojavilo još šest neonikotinoida u praktičnoj primeni i to: acetamiprid, nitenpiram, tiametoksam, tiakloprid, klotianidin i dinotefuran. Imidakloprid je trenutno najprodavaniji insekticid na svetu. Upravo zbog stalno rastuće upotrebe neonikotinoida, postoji velika potreba za njihovim određivanjem u veoma različitim tipovima realnih uzoraka. Pored najčešće primenjivanih, ali materijalno i vremenski zahtevnijih, tečnohromatografskih metoda za njihovo određivanje, postoji potreba za razradom alternativnih, jednostavnih i brzih načina detekcije i određivanja ove grupe jedinjenja. Elektroanalitičke metode, u prvom redu voltometrija, često predstavljaju pogodnu alternativu za određivanje različitih zagađivača. Prednosti voltometrijskih metoda su visoka osetljivost, selektivnost prema elektroaktivnim supstancama, širok

linearni opseg, jeftina i lako prenosna instrumentacija, mogućnost specijacije i širok izbor elektroda, što omogućava merenja u veoma različitim okruženjima. Elektrode na bazi ugljenika su u veoma širokoj upotrebi u elektroanalitičkoj hemiji, pre svega zbog širokog potencijalskog prozora, niske rezidualne struje, bogate površinske hemije, niske cene i hemijske inertnosti.

Upravo zbog toga, zadatak ove disertacije je da ispituje primenljivost i da razvije različite voltametrijske metode za karakterizaciju i određivanje pet neonikotinoida u model-rastvorima i različitim realnim uzorcima koristeći različite elektrode na bazi ugljenika.

Rad se sastoji od sledećih glavnih celina: *Uvod*, *Teorijski deo*, *Eksperimentalni deo*, *Rezultati i diskusija* i *Rezime* (na srpskom i engleskom jeziku).

U *Teorijskom delu* je dat kratak literaturni pregled o elektrodama na bazi ugljenika, osobinama neonikotinoida i analitici neonikotinoida. *Eksperimentalni deo* obuhvata korišćene hemikalije, rastvore, ispitivane uzorke, instrumente i primenjene postupke. *Deo Rezultati i diskusija* se sastoji iz dva podpoglavlja. U prvom delu su opisani rezultati koji se odnose na voltametrijsku karakterizaciju i određivanje odabranih neonikotinoida na elektrodama od ugljenične paste (engl.: carbon paste electrode, CPE). Prikazani su rezultati ispitivanja primenjenog grafitnog praha i dobijenog elektrodnog materijala skenirajućom elektronskom mikroskopijom sa detektorom na bazi energetske disperzije (engl.: scanning electron microscopy/energy dispersive spectroscopy, SEM/EDS). Opisani su rezultati ispitivanja imidakloprida, tiametoksama, klotianidina i nitenpirama u model-rastvorima, kao i primena razvijenih postupaka diferencijalne pulsne voltametrije (DPV) za određivanje imidakloprida i tiametoksama u realnim uzorcima, kao što su

komercijalne formulacije i uzorci rečne vode. Opisana je i primena DPV metode za praćenje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitenpirama, klotianidina, imidakloprida i tiametoksama. Prikazani su rezultati komparativne tečnehromatografske metode sa detektorom od niza dioda (engl.: high-performance liquid chromatography/diode array detection, HPLC/DAD). U drugom delu su opisana ispitivanja neonikotinoide na elektrodama od staklastog ugljenika (engl.: glassy carbon electrode, GCE). Opisana je primena nemodifikovane GCE za karakterizaciju i određivanje klotianidina i nitenpirama u model-rastvorima, kao i za praćenje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida. Prikazani su rezultati ispitivanja površine GCE pomoću SEM/EDS, nakon njene primene za praćenje fotokatalitičke razgradnje. Pored toga, prikazana je primena bizmut-film elektrode (BiFE), napravljena izdvajanjem bizmuta na GCE, za karakterizaciju i određivanje klotianidina, acetamiprida, imidakloprida i 6-hlornikotinske kiseline (6-HNK) u model-rastvorima. Dati su i rezultati praćenja fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje acetamiprida i imidakloprida pomoću BiFE. Nadalje, navedeni su i rezultati komparativne HPLC/DAD i infracrvene spektrometrijske (FTIR) metode. Najzad, prikazani su i rezultati tečnehromatografske metode sa tandemskom masenospektrometrijskom detekcijom (HPLC/MS/MS) za detekciju pojedinih degradacionih intermedijera nastalih u toku ispitivanih fotodegradacionih procesa.

## 2. TEORIJSKI DEO

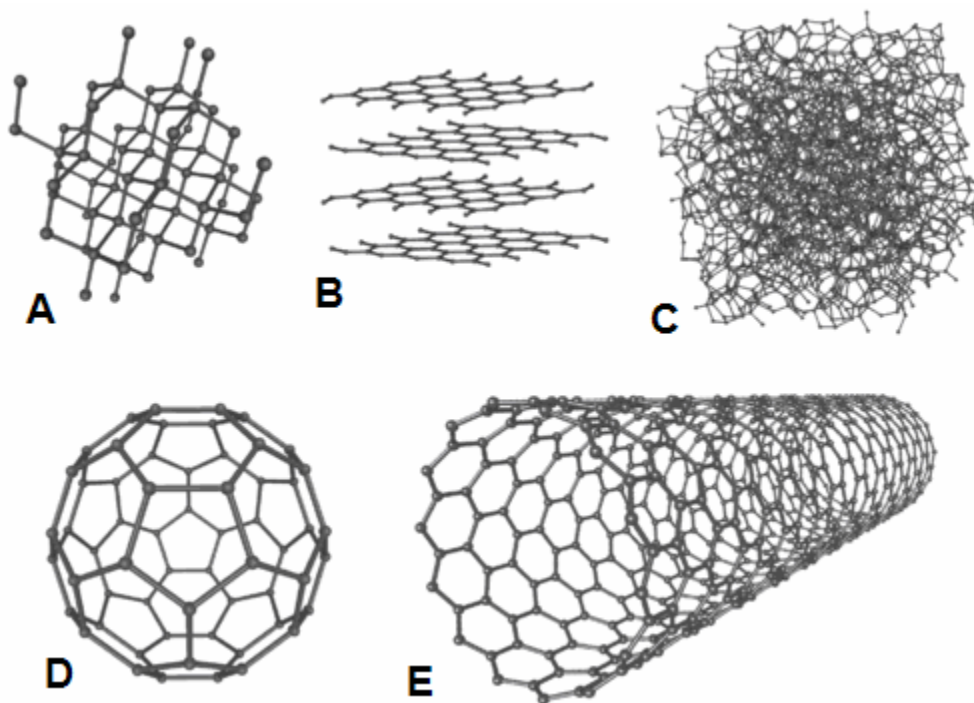
### 2.1. ELEKTRODE NA BAZI UGLJENIKA

Od prve primene grafitnih elektroda za elektrohemijsko dobijanje alkalnih metala od strane Humphrey-a Davy-a, ugljenični materijali se široko primenjuju i u analitičkoj i u industrijskoj elektrohemiji. Prednosti ugljeničnih elektroda u odnosu na druge elektrodne materijale su niska cena, širok opseg primenljivih potencijala, relativna inertnost i izražena elektrokatalitička aktivnost za različite redoks reakcije. Različitost elektrodnih materijala na bazi ugljenika proizilazi u velikoj meri iz njihovih strukturnih raznolikosti, hemijske postojanosti, bogate površinske hemije i jakih veza ugljenik-ugljenik koje postoje i u unutrašnjosti ugljeničnog materijala, a često i između ugljeničnog materijala i modifikatora površine. Najpoznatije alotropske modifikacije ugljenika su grafit, dijamant, amorfni ugljenik i fulereni (slika 1) [1-3].

Struktura grafita se sastoji od slojeva "grafena". Svi ugljenikovi atomi u grafitu su  $sp^2$  hibridizovani, sa interplanarnim vezama od 1,42 Å. Udaljenost između slojeva grafita je 3,354 Å. Dijamant se sastoji u potpunosti od  $sp^3$  hibridizovanih atoma ugljenika, sa dužinom C-C veza od 1,54 Å. U elektrohemijskim primenama, dijamant najčešće sadrži neki dopant, da bi elektroda imala adekvatnu provodnost. Amorfni ugljenik je ugljenični materijal bez kristalne makrostrukture, koji sadrži i  $sp^2$  i  $sp^3$  hibridizovane ugljenikove atome. Fulereni imaju strukturu sličnu grafitu, sa razlikom da umesto čisto

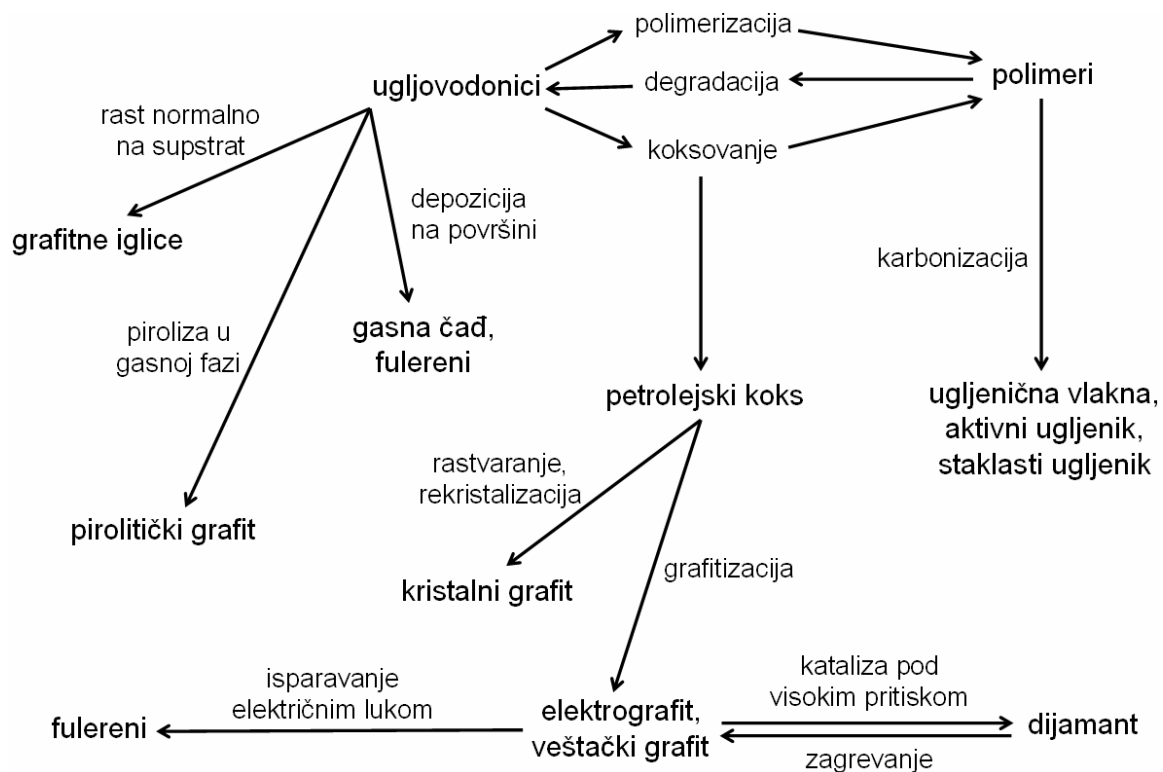


heksagonalnog rasporeda atoma, oni sadrže i pentagone ili pak heptagone, koji zatim formiraju sfere, elipse ili cilindre (nanocevi). Najčešće korišćeni oblici fullerena u elektrohemiji su jednozidne i višezidne ugljenične nanocevi, sastavljene od slojeva grafitnih listova tako da oni formiraju tube sa različitim prečnikom, dužinom i terminacijom (pojam terminacija u ovom radu označava završetak, kraj neke ugljenične strukture) [1-4].



Slika 1. Neke alotropske modifikacije ugljenika: dijament (A), grafit (B), amorfni ugljenik (C), fuleren C60 (D) i jednozidna ugljenična nanocevi (E) [4].

Ugljenični materijali se mogu dobiti i veštačkim putem. U zavisnosti od polaznog materijala i načina njihovog tretiranja dobijaju se veoma slični ili pak potpuno različiti oblici u odnosu na one nađene u prirodi. Neke od mogućnosti dobijanja veštačkih ugljeničnih materijala su prikazane na slici 2 [5].



Slika 2. Neke mogućnosti dobijanja veštačkih ugljeničnih materijala [5].

Bez obzira na opsežna istraživanja ugljeničnih materijala u prošlosti, i trenutno se pojavljuju fundamentalne inovacije u ovoj oblasti. Borom dopovani dijamant, staklasti ugljenik, fulereni, ugljenični filmovi, mikrofabrikovane ugljenične nanostrukture, kompoziti na bazi ugljeničnih materijala i različite modifikacije tih materijala pružaju različita svojstva u poređenju sa grafitom, koji je bio najčešće korišćeni elektrodni materijal do devedesetih godina prošlog veka i omogućavaju nove primene u analitičkoj hemiji, elektrokatalizi i elektronici [1-3].

Osobine ugljeničnih elektroda se mogu podeliti u dve podgrupe: zapremnske osobine koje potiču od unutrašnje strukture, i površinske, kao što su efekti terminacije i površinske modifikacije. Zapremnske osobine uključuju npr. električnu provodnost, tvrdoću, trakastu strukturu i optičku apsorpciju. S druge strane, ugljenični materijali

imaju mnogo kompleksniju površinsku hemiju nego metali, ne samo zbog osnovne mikrostrukture, nego zbog toga što ugljenik formira različite površinske veze i funkcionalne grupe. Pošto se elektrohemija temelji u osnovi na interfejsnim procesima, priroda površine ugljениčne elektrode je od presudnog značaja. Postojanje različitih alotropskih modifikacija, različiti načini terminacije ugljениčnih struktura, prisustvo funkcionalnih grupa sa kiseonikom, procesi adsorpcije itd., menjaju osnovne osobine ugljениčnih materijala u velikoj meri. Zbog toga se veoma velika pažnja posvećuje pripremi elektrodne površine pre merenja. Iscrpni revijalni radovi su objavljeni na temu poliranja elektroda i o elektrohemijskoj, laserskoj i termičkoj obradi. Poliranje ima veoma dugačku tradiciju u pripremi ugljениčnih površina (pre svega GCE) za elektrohemijske primene. Najčešće se primenjuju poliranje silicijum-karbidom (SiC) i aluminijum-oksikom. Poliranje pomoću SiC daje relativno hrapavu i reaktivnu površinu. Komercijalno dostupna abrazivna sredstva na bazi  $Al_2O_3$  često sadrže različite agense protiv zgrudvavanja, koji mogu negativno da utiču na elektrodnu površinu. Zato je najbolje primeniti suspenziju praha čistog  $Al_2O_3$  u ultračistoj vodi. Ako se umesto vode za pravljenje suspenzije koristi npr. cikloheksan, atomski odnos kiseonika i ugljenika na površini se može smanjiti sa 10–15% na 4%. Radi uklanjanja sredstva za poliranje kao i ugljениčnih čestica nastalih tokom poliranja, često se koristi obrada ultrazvukom. Mnogo moderniji način pripreme elektrodne površine je tretiranje organskim rastvaračem, koji sadrži aktivni ugljenik (AC). AC prikuplja nečistoće sa elektrodne površine. Primena organskih rastvarača bez prisustva AC može u znatnoj meri da smanji reaktivnost elektrodne površine zbog njegove izražene adsorpcije. S druge strane, aktivacija elektrode može da dovede do povećane reaktivnosti elektrode. Elektrohemijska oksidacija ili

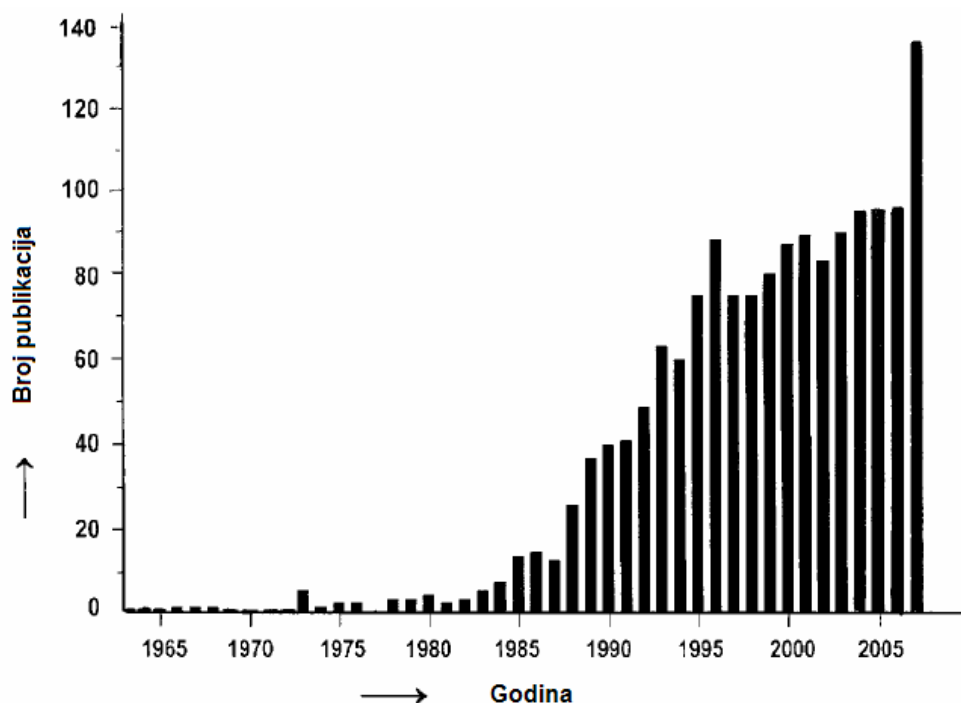
redukcija u različitim medijumima se odavno koristi za aktivaciju elektroda. Polarizacija elektrode izvan njegovog opsega primenljivih potencijala (cikliranjem ili samo nametanjem odgovarajućeg potencijala) dovodi do pojave značajne struje, koja potiče od reakcija elektrolita, a i same elektrode. Najčešće se primenjuje anodizacija u oblasti od 1–2 V u odnosu na zasićenu kalomelsku elektrodu (ZKE), što dovodi do oksidacije elektrodne površine. Cikličko menjanje potencijala u potencijalskom prozoru elektrode se najčešće naziva kondicioniranjem. Ovim postupkom se najčešće ne menja hemijska struktura površine u značajnoj meri, nego samo dolazi do konzervacije postojeće površinske strukture i samim tim do stabilizacije signala [1-3, 6, 7].

U daljem delu ovog poglavlja biće dat opis primenjenih elektrodnih materijala. Biće dat iscrpni prikaz CPE, a sa druge strane biće opisane osnovne karakteristike GCE i BiFE.

U opštem slučaju, **CPE** su elektrohemijski senzori sastavljeni ne samo od jedne supstance, već od elektroprovodnog materijala postavljenog u tečni ili čvrst matriks. Prema komponentama, i provodnik i matriks se mogu uzeti kao kriterijumi za klasifikaciju, ali takođe i drugi aspekti se mogu iskoristiti u ove svrhe, kao što su fizička svojstva (npr. čvrsti materijali ili materijali u obliku paste), hemijska svojstva (modifikovane ili nemodifikovane elektrode) ili način izrade [8].

Prva CPE je bila predstavljena od strane Ralph Norman Adams-a i njegovih saradnika krajem 50-ih godina 20. veka, kao alternativa kapljućoj živinoj elektrodi. Vrhunac svoje popularnosti CPE je dostigla 25 godina kasnije nakon uspešne modifikacije paste, koja je rezultovala u značajno povećanoj selektivnosti i osetljivosti elektrode. I danas, CPE drži istaknuto mesto u izradi elektrohemijskih biosenzora i upotrebi u elektrohemijskim studijama, što dokazuje impozantan broj od preko 2000 objavljenih naučnih radova u

periodu od 1958–2007. godine [8-12]. Grafički prikaz broja radova koji se odnose na CPE u ovom periodu je dat na slici 3.



Slika 3. Broj radova koji se odnose na CPE, objavljenih u periodu od 1958–2007 [8].

Klasične CPE, napravljene od grafitnog praha i inertnih tečnih vezivnih supstanci, čine najviše korišćenu grupu senzora na bazi ugljeničnih pasti. Postoje i CPE sa elektroaktivnim vezivnim supstancama, npr. neorganskim elektrolitima kao što su koncentrovani rastvori mineralnih kiselina ili alkalnih hidroksida. Na konzistenciju CPE utiče sadržaj vezivne supstance i razlikuju se "suve" i "vlažne" CPE. Zatim slede čvrste CPE koje se sastoje od mešavine ugljenika i lako topljive vezivne supstance (npr. fenantren ili parafinski vosak). Prema modifikovanosti, razlikuju se nemodifikovane (od grafitnog praha i vezivne supstance) i modifikovane (od originalnih binarnih smeša kojima se dodaju jedna ili više komponenti kao modifikatori) CPE. Prema svojstvima

modifikatora, modifikovane CPE se dalje mogu deliti na hemijski modifikovane i biološki modifikovane elektrode (CP-biosenzori) [8-10].

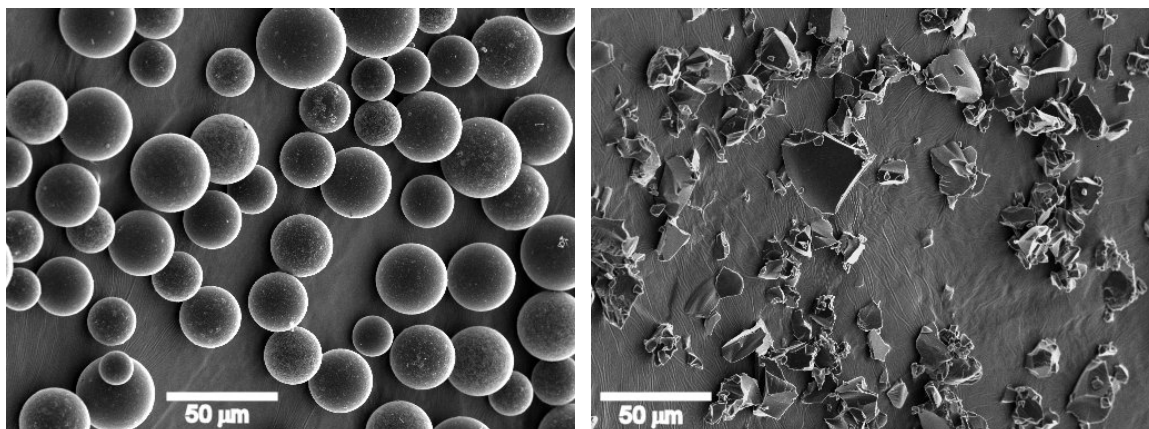
Velika većina binarnih (nemodifikovanih) ugljeničnih pasti se priprema od komercijalno dostupnog grafitnog praha sledećih karakteristika [8, 9]:

- Prosečna veličina čestice kreće se od nekoliko desetina mikrometara, sa izuzetkom nekih ugljeničnih pasti gde se mogu naći i grafitne čestice veličine oko 100 nm. Tako male dimenzije grafitnih čestica dobijaju se usitnjavanjem konvencionalnih grafitnih prahova u laboratorijskim drobilicama.
- Poželjne su grafitne čestice identične veličine ili uniformno raspoređene u uskom intervalu od nekoliko mikrometara. Ove osobine obično zadovoljavaju komercijalno dostupni spektroskopski grafiti poznatih proizvođača.
- Adsorpcioni afinitet prema kiseoniku treba da bude što niži. Naime, površina elektrode bi u svim slučajevima trebalo da bude koliko je god moguće inertna i stoga bi grafitne čestice trebalo da budu oslobođene adsorpcionih svojstava. Termičkom obradom (na približno 400 °C) u prisustvu inertnog gasa se obično uklanja kiseonik sa površine grafita.
- Ugljenični prah ne sme da sadrži bilo kakve nečistoće koje bi ometale odziv elektrode. Ovo je veoma važno kod eksperimenata sa merenjem vrlo niskih vrednosti struja, kod kojih i neznatni tragovi nečistoća daju značajan signal.

Osim spektroskopskog grafitnog praha, u novije vreme koriste se i drugi savremeniji provodni ugljenični materijali, kao što su [8-12]:

- specijaleni prahovi staklastog ugljenika (slika 4),
- jednozidne i višezidne nanocevi na bazi ugljenika,

- ugljenična nanovlakna,
- dijamantski prah,
- čađ, ćumur i dr.



*Slika 4. Prahovi staklastog ugljenika sa različitom morfologijom čestica [13].*

Vezivna supstanca, uključujući i visoko-inertne, određuje većinu fizičko-hemijskih i elektrohemijjskih svojstava CPE [8-12]. Postoji relativno široki izbor organskih jedinjenja koja mogu da obezbede ugljenične paste zadovoljavajućeg kvaliteta:

- parafinska (mineralna) ulja, pre svega Nujol<sup>®</sup>, koji je i dan danas konstituent većine CPE,
- alifatični i aromatični ugljovodonici,
- halogenovani ugljovodonici i srodni derivati,
- silikonska ulja i masti, koje formiraju ugljenične paste sa gotovo identičnim svojstvima kao što je ugljenična pasta na bazi mineralnih ulja i
- druge vezivne tečnosti.

Postoje podaci i o upotrebi atipičnih pasti na bazi trikrezil-fosfata i dioktil-ftalata. S obzirom na njihovu karakterističnu hemijsku reaktivnost (jonoizmenjivačke osobine), rezultujuće CPE mogu biti klasifikovane kao veza između modifikovanih i nemodifikovanih ugljениčnih pasti [8, 9, 11, 12].

Osnovni zahtevi za vezivne tečnosti koje se koriste u pripremanju pasti su praktična nerastvorljivost u analiziranom rastvoru (obično vodenom), čime se sprečava dezintegracija materijala od kojeg je napravljena elektroda; nizak napon pare da bi se obezbedila mehanička stabilnost elektrode na duži period i elektrohemijska inertnost u ispitivanom intervalu potencijala, da bi se sprečila visoka rezidualna struja i promenljivost sastava elektrodnog materijala u voltametrijskim merenjima [8, 9, 12].

Ugljениčne paste su karakteristični multikomponentni materijali koji ispoljavaju donekle jedinstvenu mikrostrukturu zbog prisustva tečne vezivne supstance. Karakteristike CPE prvobitno su ispitivane indirektnim elektrohemijskim eksperimentima, zasnovanim na merenju provodnosti, zatim ispitivanjem elektrolitičkih i polarizacionih fenomena i elektroluminescencije. Najkompletniji uvid u mikrostrukturu ugljениčnih pasti ostvareni su uz pomoć modernih mikroskopskih tehnika, kao što je skenirajuća tunelska mikroskopija, optička mikroskopija i SEM, povremeno kombinovano sa mikroanalizom uz pomoć rentgenskih zraka [8-10].

Najznačajnija karakteristika i jedinstvenost elektroda od ugljениčne paste ogleda se u mogućnosti njene lake i brze modifikacije direktnom inkorporacijom hemijskih i bioloških supstanci u matriks paste. Takođe, jedna od važnijih karakteristika ugljениčnih pasti u elektrohemijskim merenjima je njihova visoka provodnost. Ovo je posebno bitno svojstvo u potenciometriji, s obzirom na stabilan i brz odziv koji se zahteva od



indikatorske elektrode. Uobičajene smeše sa parafinom ili silikonskim uljima imaju otpornost od oko 10  $\Omega$ , dok sa manje kompaktnim ugljeničnim pastama, kao što su one sa prahom staklastog ugljenika, vrednost otpora je oko 100  $\Omega$  [8, 10].

Tokom merenja, smeše ugljeničnih pasti ispoljavaju obično tri karakteristična perioda, koji se mogu pripisati efektima starenja. Naime, postoje: nestabilan ili čak neproduktivan odziv sveže napravljenih ugljeničnih pasti tokom perioda od nekoliko do 48 sati; relativno stabilan signal u intervalu od dve-tri nedelje do nekoliko meseci, i najzad postepeno pogoršavanje odziva zbog početka sušenja [8]. Iz ovoga se može zaključiti da je krajnji upotrební vek usko povezan sa kvalitetom vezivne supstance i u nekim slučajevima sa odnosom ugljeničnog praha i vezivne tečnosti.

Najvažnija fizičko-hemijska osobina koja ima veliki uticaj na rezultujuće elektrohemijsko ponašanje CPE je lipofilno svojstvo materijala ugljenične paste. Hidrofobnost se ogleda u efektu odbijanja jona i molekula na površini ugljenične paste, kao i u specifičnim interakcijama sa nekim supstancama u modifikovanim ugljeničnim pastama [8].

Niska rezidualna struja ugljeničnih pasti je jedna od njihovih značajnih pogodnosti. Pozadinske struje kod CPE često ne prelaze vrednosti od 1  $\mu\text{A}$ , osim u nekim specijalnim eksperimentima koji se odnose na vrlo složene matrikse. Specijalnom obradom površine elektrode rezidualna struja može se smanjiti i do nA nivoa [8].

Polarizacione mogućnosti CPE određuje praktičnu primenljivost elektroda u merenjima faradejske struje. Opseg potencijala polarizacije uobičajenih ugljeničnih pasti napravljenih od spektroskopskog grafita i parafina ili silikonskih ulja može se porediti sa istim kod grafitnih elektroda. Ovaj opseg zavisi od sastava pomoćnog elektrolita, pre

svoga od njegove ukupne kiselosti. Stoga je podatke o opsegu primenljivih potencijala najbolje posmatrati preko odgovarajućih graničnih potencijala [8]:

- veoma kisela sredina ( $\text{pH} < 1$ ; jake kiseline u intervalu koncentracija od  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  i više). Katodna granica,  $E_{c,\text{lim}}$ , je obično negativnija od  $-1,0 \text{ V}$  sa maksimumom od oko  $-1,2 \text{ V}$ ; anodna granica,  $E_{a,\text{lim}}$ , se kreće od  $+1,0$  do  $+1,4 \text{ V}$  (u zavisnosti od kiseline i njene koncentracije);
- srednje i slabo kisela sredina ( $\text{pH}$  od  $1-5$ ; razblaženi rastvori mineralnih kiselina, acetatni ili citratni pufer itd.).  $E_{c,\text{lim}}$  je do  $-1,5 \text{ V}$ , a  $E_{a,\text{lim}}$  maksimalno  $+1,3 \text{ V}$ ;
- neutralna i slabo bazna sredina ( $\text{pH}$  od  $6-10$ ; rastvori nehidrolizujućih soli, kao što su  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaSO}_4$  i puferi, kao što su fosfatni i amonijačni).  $E_{c,\text{lim}}$  je do  $-1,7 \text{ V}$ , a  $E_{a,\text{lim}}$  od  $+0,8$  do  $+1,2 \text{ V}$  i
- srednje i jako bazna sredina ( $\text{pH}$  od  $10-14$ ; rastvori alkalnih hidroksida ( $\text{NaOH}$  ili  $\text{KOH}$ ), boratni ili karbonatni pufer itd.).  $E_{c,\text{lim}}$  ide do  $-1,5 \text{ V}$ , a  $E_{a,\text{lim}}$  se kreće u opsegu od  $+0,4$  do  $+0,8 \text{ V}$ .

Katodna i anodna granica zavise prvenstveno od tipa grafitnog praha. Na primer, grafitne čestice impregnirane cerezinskim voskom mogu dati ugljeničnu pastu sa značajno proširenim prozorom potencijala u anodnom intervalu (do  $+1,8 \text{ V}$  u odnosu na ZKE).

Jedna od najkarakterističnijih osobina lipofilnih vezivnih tečnosti je njihov uticaj na reakcije prenosa naelektrisanja. Ovaj efekat je od samog početka bio od primarnog značaja u elektrohemijskim laboratorijama. Atipična kinetika na CPE često potiče od sposobnosti vezivne supstance da usporava brojne faradejske procese u blizini aktivnih

mesta ugljeničnog materijala. Stoga, reverzibilni redoks-procesi na elektrodama od kompaktnih materijala, kao što su staklasti ugljenik, platina i zlato, postaju kvazi-reverzibilni procesi na CPE [8].

Na osnovu svega izloženog, može se zaključiti sledeće:

- Na površini ugljenične paste, hidrofobni molekuli vezivnih tečnosti formiraju brojna hidrofobna mesta i regione za koje je vrlo verovatno da će odbiti hidrofilne vrste od granične površine elektroda/rastvor i tako usporiti njihovu redoks transformaciju (prenos elektrona).
- Što je površina ugljenične paste hidrofobnija, time je znatnije usporavanje elektrodnih procesa. Tipične hidrofilne supstance su praktično svi neorganski joni i većina molekula, ali takođe i brojna organska jedinjenja čiji molekuli imaju funkcionalne grupe koje lako učestvuju u protonaciji, hidroksilaciji ili pokazuju induktivne ili mezomerne efekte, kao što su  $-OH$ ,  $=O$ ,  $-NO_2$ ,  $-N=O$  ili  $-NH_2$ .
- Postojanje hidrofobnih regiona na površini ugljeničnih pasti je u direktnoj vezi sa tipom i količinom tečne vezivne supstance u smeši ugljenične paste. Kako se količina vezivne supstance povećava, površina postaje hidrofobnija i efekat odbijanja izraženiji (inhibicija elektrodnog procesa). Stepem hidrofobnosti tada određuje da li je konačan elektrodni proces reverzibilan, kvazi-reverzibilan ili ireverzibilan. U elektrohemiji, za razliku od termodinamičkih pravila, ireverzibilan proces ne znači krajnji status. Konačan karakter elektrodne reakcije je određen njenom aktuelnom brzinom.
- Obradom površine ugljenične paste hemijskim i elektrolitičkim postupcima, tipičan hidrofobni karakter CPE može biti pretvoren u više hidrofilno stanje i time brojni

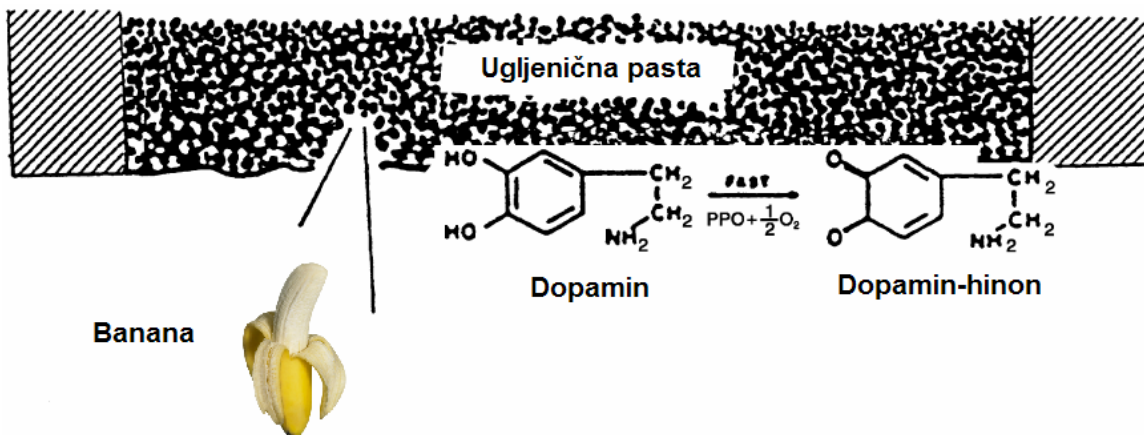
spori i ireverzibilni procesi mogu biti ubrzani. Upotreba hidrofilnijih vezivnih tečnosti može takođe da poveća brzinu reakcija na CPE. U povoljnim slučajevima, reakcije na CPE imaju gotovo identičnu brzinu kao i one koje se odvijaju na uobičajenim čvrstim elektrodama.

CPE se pripremaju uglavnom veoma jednostavno, mešanjem sastojaka pomoću tučka u laboratorijskom avanu. Optimalni odnos ugljenika i tečne vezivne supstance obično varira u intervalu od jednog grama praha prema  $0,4 - 1 \text{ cm}^3$  tečnosti. Neke smeše mogu sadržavati i veće količine tečne vezivne supstance zato što je rezultujući odnos dve glavne komponente zavisao takođe i od njihove međusobne adhezije. Odgovarajući odnos konstituenata paste se najbolje može proveriti eksperimentalno [8].

Kao kalupi za ugljenu pastu često se koriste plastične cevi sa odgovarajućim metalnim električnim kontaktom. Danas se najčešće primenjuju teflonske cevi sa mikrometarskim zavrtnjem, koji služi za istiskivanje paste iz kalupa. Istisnuta pasta se zatim može jednostavno ispolirati vlažnim i mekanim papirom [8].

Primena CPE i u nemodifikovanom i u modifikovanom obliku je veoma široka. Primenjuju se za određivanje velikog broja neorganskih jona, kompleksa i molekula; moguća je detekcija gotovo polovine poznatih elemenata periodnog sistema elemenata. CPE su korišćene za više od 150 supstanci iz grupe lekova i droga. Analiza biološki važnih supstanci (aminokiselina, nukleinskih kiselina, hormona, steroida, saharida, vitamina, dopamina, katehola, laktata, flavonoida) u serumu, moždanom tkivu, urinu, hrani se takođe uspešno izvodi korišćenjem CPE kao radne elektrode. Uspešno se primenjuju i kao detektori u različitim biosenzorima [8-10].

Prvi biosenzor na bazi CPE predstavljen je od strane poljskih naučnika Matuszewskog i Trojanowicza, 1988. godine i predstavljao je jednostavnu konfiguraciju za amperometrijsku detekciju glukoze [8, 14]. Interesantan primer je i dopaminski biosenzor (slika 5), koji je napravljen inkorporacijom tkiva banane u ugljenu pastu (tkivo banane predstavlja bogat izvor enzima polifenol-oksidge) [6, 15].

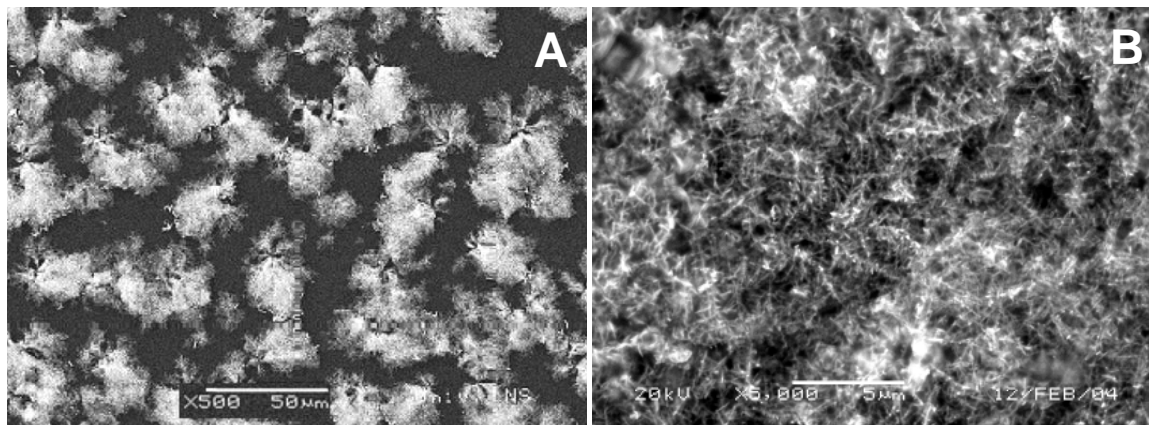


Slika 5. Dopaminski biosenzor [6].

**Staklasti ugljenik** je postao popularan elektrodni materijal pre svega zbog njegovih izvanrednih mehaničkih i električnih osobina, širokog potencijalskog prozora, hemijske inertnosti, nepropusnosti prema gasovima i relativno velike reproduktivnosti u elektrohemijским merenjima. Staklasti ugljenik se pravi kontrolisanim zagrevanjem polimerskih smola u inertnoj atmosferi. Proces karbonizacije se izvodi u temperaturskoj oblasti od 300–1200 °C, veoma sporo da bi se obezbedila eliminacija kiseonika, azota i vodonika. Struktura staklastog ugljenika uključuje tanke, međusobno isprepletane trake ugljenika. Novija istraživanja dokazuju i postojanje fullerenskih struktura u tom materijalu [16]. Zbog velike gustine i malih dimenzija pora, nakon procesa karbonizacije nema potrebe za impregnacijom. Međutim, priprema površine je često potrebna da bi se

dobila aktivna i reproduktivna GCE. To se najčešće postiže poliranjem (do ogledalskog sjaja) suspenzijom  $\text{Al}_2\text{O}_3$  uz uzastopno smanjenje čestica sredstva za poliranje sve do  $0,05 \mu\text{m}$ . Elektrodu je potrebno oprati (po mogućstvu i u ultrazvučnom kupatilu) u dejonizovanoj vodi pre upotrebe. Poboľšana elektron-transfer reaktivnost je verovatno posledica uklanjanja površinskih nečistoća, otkrivanja svežih ugljeničnih ivica i povećanja gustine površinskih funkcionalnih grupa sa kiseonikom, koje funkcionišu kao površinski medijatori [1, 6, 7].

Površinska modifikacija GCE radi postizanja veće osetljivosti, selektivnosti, itd. je veoma često primenjivana metoda [1, 7]. Međutim, istorija modifikacije GCE filmom od bizmuta je relativno kratka [17]. Prvi rad iz ove oblasti se pojavio pre 10 godina. Relativno je nepoznato da je **BiFE** prvi put predstavljena na 7<sup>th</sup> Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry u Gracu 2000. godine [18]. Desilo se to par meseci pre objavljivanja svetski poznatog rada o određivanju tragova metala na *in situ* pripremljenoj BiFE, koji većina istraživača iz ove oblasti smatra početkom ere BiFE [19]. Već u prvim radovima je istaknut veliki značaj te elektrode, pre svega iz ugla zaštite životne sredine. BiFE je predstavljena kao alternativa decenijama primenjenoj kapljućoj živinoj elektrodi (i elektrodi na bazi filma od žive) za određivanje tragova metala. Uskoro nakon toga se pojavilo mnoštvo radova o daljem razvoju i primeni BiFE kao "zelenog" senzora za različite elektroanalitičke primene. BiFE je postala veoma popularna elektroda zbog svoje relativne netoksičnosti i neosetljivosti prema rastvorenom kiseoniku [17]. Nepostojanje potrebe za uklanjanjem kiseonika iz analiziranih rastvora umnogome pojednostavljuje analizu, pre svega u slučaju terenskih ispitivanja. Na slici 6 je prikazana mikrostruktura bizmut-filma na dve različite elektrode na bazi ugljenika.



Slika 6. Primeri mikrostrukture bizmut-filma izdvojenih na GCE (A) [20] i CPE (B) [21].

Nakon početnih istraživanja, u kojima su pre svega analizirani metali u model-rastvorima i jednostavnijim realnim uzorcima, ubrzo su se pojavili i radovi u kojima su ispitivani veoma kompleksni uzorci, kao što su krv, pankreas, očna tečnost, a zatim hrana, kao što su krompir, kukuruz, celer, paradajz i voćni sokovi [17, 22-25]. Pored primene u neorganskoj analizi, ubrzo su se pojavili rezultati vezani za određivanje različitih organskih jedinjenja, uključujući pesticide [21, 26-28], boje [29] i lekove [30].

## 2.2. NEONIKOTINOIDI

Otkrivanje neonikotinoidnih insekticida se može smatrati najvećom prekretnicom u agrohemijским istraživanjima u poslednje tri decenije. Danas, neonikotinoidi predstavljaju najbrže rastuću klasu insekticida. U 2006. godini, promet neonikotinoida bio je vredan 1,56 milijardi američkih dolara, što je predstavljalo oko 17% vrednosti

svetskog prometa insekticida. Taj procenat se do 2008. godine povećao na 23,7. U zaštiti semena, udeo neonikotinoida je postigao skoro neverovatnih 80% [31, 32].

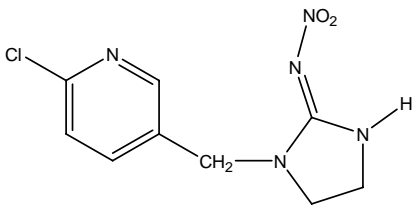
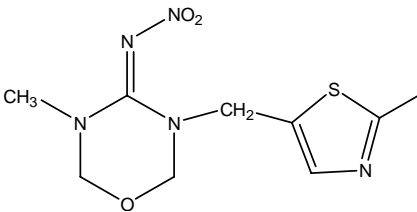
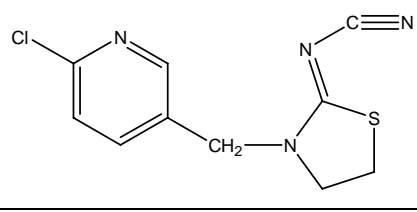
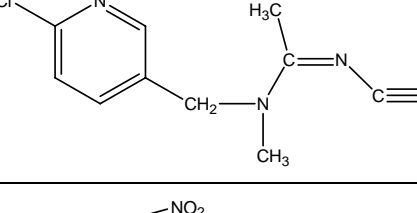
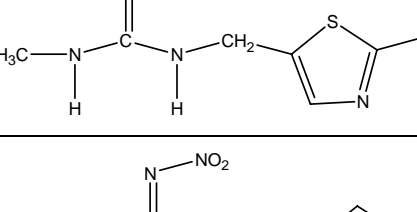
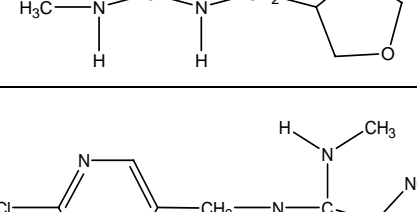
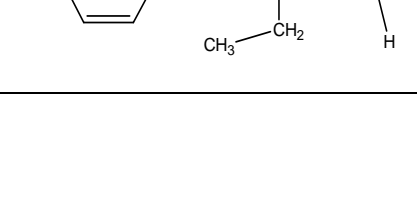
Slično prirodnom alkaloidu (*S*)-(-)-nikotinu, svi neonikotinoidi su agonisti postsinaptičkih nAChR. Kao rezultat njihovog efikasnog delovanja i njihove relativno niske toksičnosti na ne-ciljne organizme i životnu sredinu, neonikotinoidi su počeli da zamenjuju piretroide, organofosfate i mnoge druge klase insekticida u zaštiti najznačajnijih biljaka od štetnih insekata [31-34].

Za njihovu strukturu je karakteristično da sadrži aromatični heterociklični fragment (hlorpiridilmetilni, hlortiazolmetilni ili tetrahidrofurilmetilni), koji je vezan za cikličnu ili acikličnu elektronegativnu *N*-nitroiminsku, 2-nitrometilensku ili *N*-cijanoiminsku farmakoforu [31, 32]. Trenutno se na tržištu nalazi sedam neonikotinoida (tablica 1): tri jedinjenja, kod kojih je farmakoforna grupa u okviru peto- ili šesto-članog prstena (imidakloprid, tiametoksam, tiakloprid) i četiri jedinjenja, kod kojih se farmakofora nalazi u otvorenom lancu (nitenpiram, acetamiprid, klotianidin i dinotefuran).

Već sada se intenzivno radi na daljem razvoju insekticida iz ove grupe i pojavljuju se nove strukturne modifikacije postojećih neonikotinoida: *bis*-neonikotinoidi [35], *cis*-nitrometilenski neonikotinoidi [36], trifluoracetil neonikotinoidi [37], neonikotinoidi modifikovani krunskim etrima [38], 1,4-dihidropiridinski analozi neonikotinoida [39], itd.

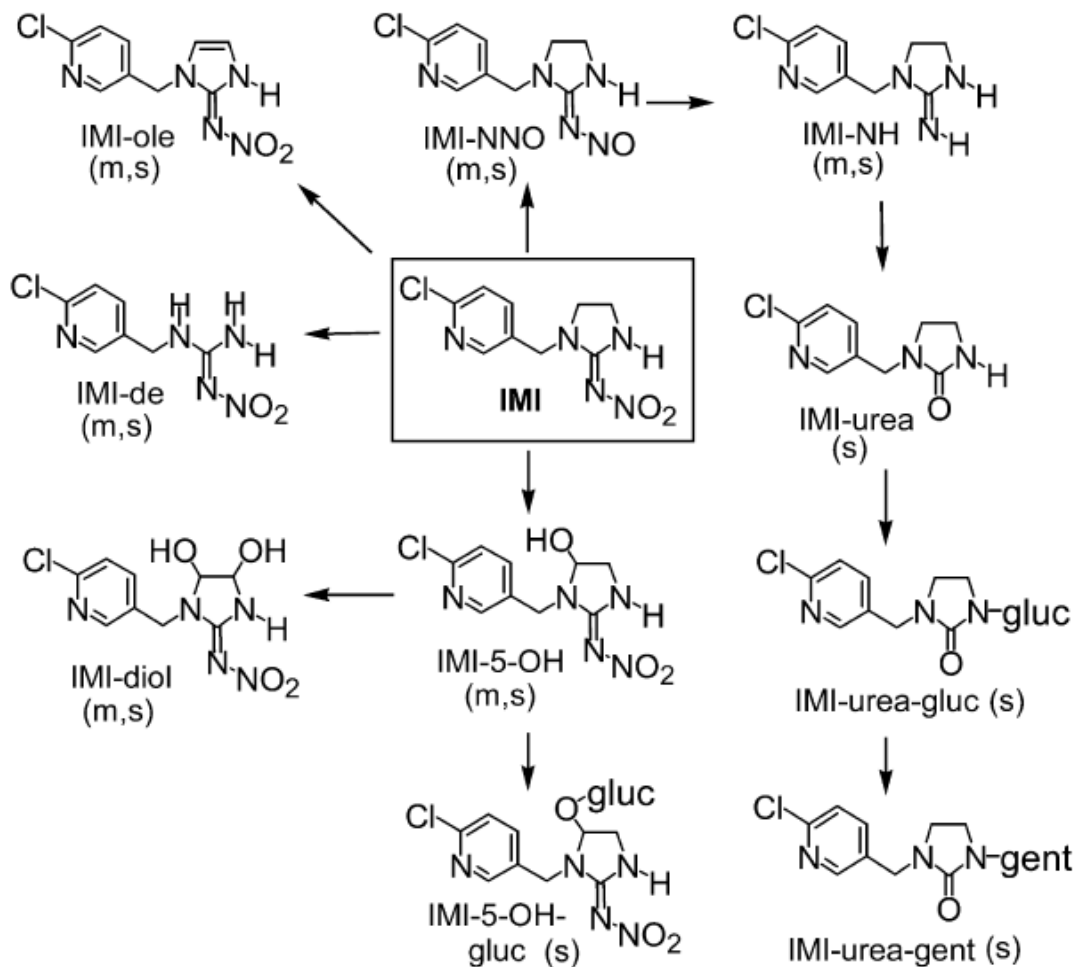


Tablica 1. Komercijalizovani neonikotinoidni insekticidi [40].

Trivijalni naziv	Naziv po IUPAC-u	Strukturna formula
Imidaklopid	( <i>E</i> )-1-(6-hlor-3-piridilmetil)- <i>N</i> -nitroimidazolidin-2-ilidenamin	
Tiametoksam	3-(2-hlor-1,3-tiazol-5-ilmetil)-5-metil-1,3,5-oksadiazinan-4-iliden(nitro)amin	
Tiaklopid	( <i>Z</i> )-3-(6-hlor-3-piridilmetil)-1,3-tiazolidin-2-ilidencijanamid	
Acetamiprid	( <i>E</i> )- <i>N</i> <sup>1</sup> -[(6-hlor-3-piridil)metil]- <i>N</i> <sup>2</sup> -cijano- <i>N</i> <sup>1</sup> -metilacetamidin	
Klotianidin	( <i>E</i> )-1-(2-hlor-1,3-tiazol-5-ilmetil)-3-metil-2-nitrogvanidin	
Dinotefuran	( <i>RS</i> )-1-metil-2-nitro-3-(tetrahidro-3-furilmetil)gvanidin	
Nitenpiram	( <i>E</i> )- <i>N</i> -(6-hlor-3-piridilmetil)- <i>N</i> -etil- <i>N</i> <sup>1</sup> -metil-2-nitrovinilidendiamin	

U nastavku ovog poglavlja biće opisane osnovne karakteristike ispitivanih neonikotinoida.

**Imidakloprid** je prvi komercijalizovani neonikotinoid, uveden od strane Bayer AG i Nihon Tokushu Noyaku Seizo KK 1991. godine. Njegovi osnovni fizičko-hemijski parametri su prikazani u tablici 2. Imidakloprid je trenutno najprodavaniji insekticid na svetu, registrovan je u više od 120 zemalja i primenjuje se za zaštitu više od 140 vrsta biljaka. Takođe se koristi za suzbijanje buva na domaćim životinjama. Primenjuje se u dozi od 25–100 g ha<sup>-1</sup> u slučaju folijarne aplikacije, od 0,50–1,75 g kg<sup>-1</sup> za obradu semena (3,50–7,00 g kg<sup>-1</sup> u slučaju pamuka). Na tržištu se može naći pod zaštićenim imenima *Admire*, *Confidor*, *Confidate*, *Gaicho*, *Midas*, *Macho*, *Picador*, *Tiddo*, *Warrant*, itd. Prodaje se i u smeši sa različitim drugim sredstvima za zaštitu biljaka. Oralna akutna doza LD<sub>50</sub> (doza koja prouzrokuje smrt 50% eksperimentalnih životinja) za pacove iznosi 450 mg kg<sup>-1</sup>. Ne pokazuje mutagene i teratogene efekte. Kod sisara pokazuje brzu eliminaciju (96% u toku 48 časova u slučaju pacova), pre svega preko urina. Samo oko 15% se eliminise kao originalna komponenta. Glavni metaboliti su mu hidroksilni derivati (hidroksilacija imidazolidinskog prstena), imidakloprid-gvanidin, 6-hlornikotinska kiselina (6-HNK) i njen konjugat sa glicinom [40]. Na slici 7 je predstavljen parcijalni metabolički put imidakloprida u spanaću i miševima.



Slika 7. Parcijalni metabolički put imidakloprida u spanaću (s) i miševima (m) [41].

U biljkama prvo dolazi do gubitka nitro-grupe, zatim do hidroksilacije imidazolidinskog prstena i hidrolize do 6-HNK i formiranja njenih konjugata. Svi glavni metaboliti sadrže 6-hlorpiridilmetilni fragment. U zemljištu prvo dolazi do oksidacije imidazolidinskog fragmenta, redukcije ili gubitka nitro-grupe, hidrolize do 6-HNK i mineralizacije.

Tablica 2. Važniji fizičko-hemijski parametri imidakloprida [40].

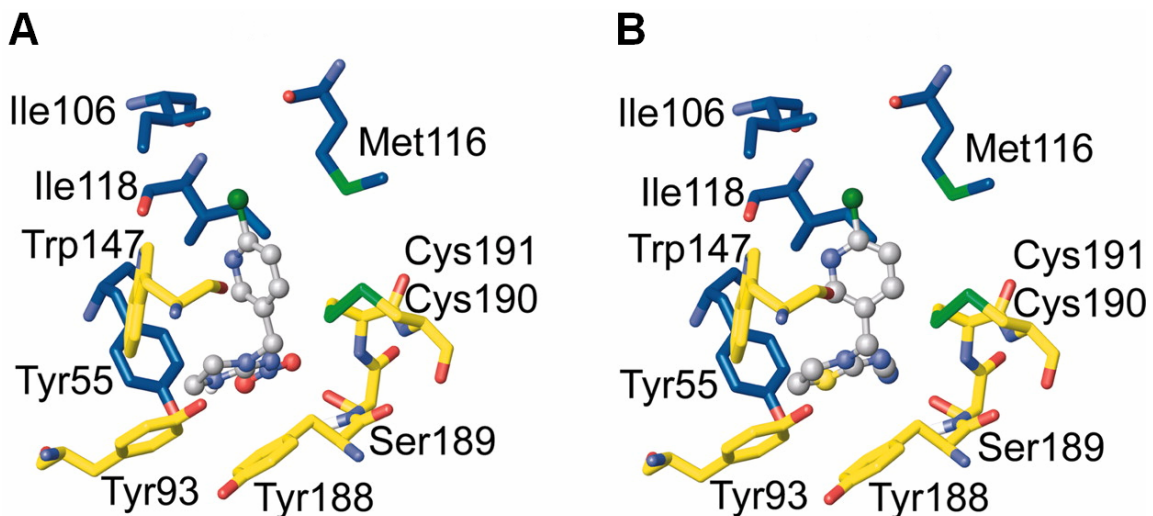
Parametar	Vrednost / opis
Izgled	Bezbojni kristali sa slabim karakterističnim mirisom
Molekulska masa	255,7 g mol <sup>-1</sup>
Rastvorljivost na 20 °C, u:	
- vodi	0,61 g dm <sup>-3</sup>
- dihlormetanu	67 g dm <sup>-3</sup>
- izopropanolu	2,3 g dm <sup>-3</sup>
- toluenu	0,69 g dm <sup>-3</sup>
- <i>n</i> -heksanu	< 0,1 g dm <sup>-3</sup>
Tačka topljenja	144 °C
Napon pare	4 x 10 <sup>-7</sup> mPa (na 20 °C) 9 x 10 <sup>-7</sup> mPa (na 25 °C)
Henry-eva konstanta	1,7 x 10 <sup>-10</sup> Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Logaritam koeficijenta raspodele oktanol–voda ( <i>K<sub>ow</sub></i> )	0,57 (na 21 °C)

**Tiametoksam** je prvi put komercijalizovan 1997. godine na Novom Zelandu od strane Ciba (danas Syngenta AG). Njegovi osnovni fizičko-hemijski parametri su prikazani u tablici 3. Tiametoksam je drugi najprodavaniji neonikotinoid, registrovan u više od 64 zemalja i primenjuje se za zaštitu više od 115 vrsta biljaka. Takođe se koristi u borbi protiv muva. Primenjuje se u dozi od 10–200 g ha<sup>-1</sup>. Na tržištu se može naći pod zaštićenim imenima Actara, Cruiser, Agita i Sun-Victor. Oralna akutna doza LD<sub>50</sub> za pacove iznosi 1563 mg kg<sup>-1</sup>. Kod sisara pokazuje brzu eliminaciju. Slika 8 prikazuje način vezivanja imidakloprida i tiametoksama za nAChR.

Tablica 3. Važnji fizičko-hemijski parametri tiametoksama [40].

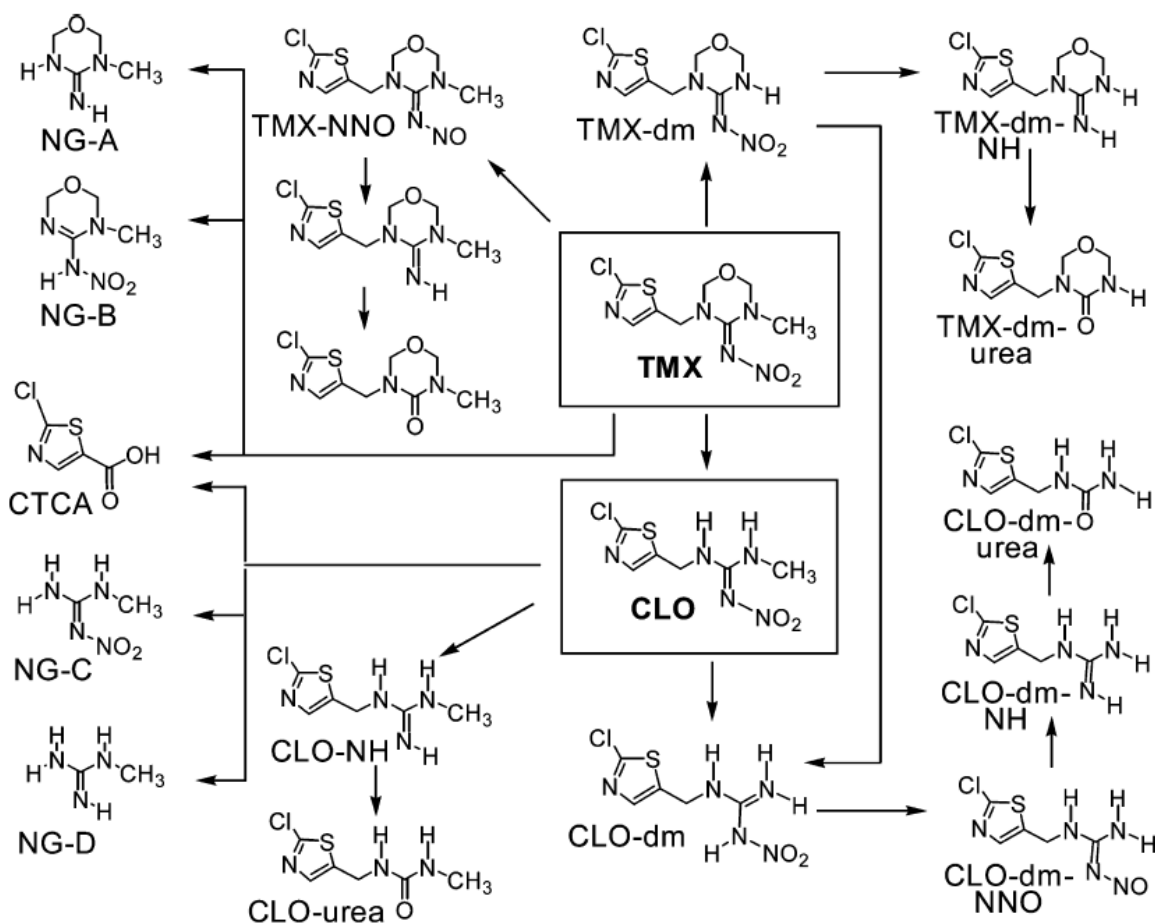
Parametar	Vrednost / opis
Izgled	Beli kristalni prah
Molekulska masa	291,7 g mol <sup>-1</sup>
Rastvorljivost na 20 °C, u:	
- vodi	4,1 g dm <sup>-3</sup>
- dihlormetanu	110 g dm <sup>-3</sup>
- etil-acetatu	7,0 g dm <sup>-3</sup>
- toluenu	0,68 g dm <sup>-3</sup>
- <i>n</i> -heksanu	< 0,001 g dm <sup>-3</sup>
Tačka topljenja	139,1 °C
Napon pare	6,6 x 10 <sup>-6</sup> mPa (na 25 °C)
Henry-eva konstanta	4,7 x 10 <sup>-10</sup> Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Logaritam koeficijenta raspodele oktanol–voda ( <i>K<sub>ow</sub></i> )	-0,13 (na 25 °C)

Tiametoksam pokazuje zajednički metabolički put sa klotianidinom (tiametoksam mu je prekursor) [40, 43]. Na slici 9 je predstavljen parcijalni metabolički put tiametoksama i klotianidina u spanaću i miševima.



Slika 8. Vezivanje imidakloprida (A) i tiametoksama (B) za nAChR [42].

**Klotianidin** je prvi put komercijalizovan 2002. godine u Japanu od strane Takeda Chemical Industries Ltd. (danas Sumitomo Chemical Takeda Co. Ltd.). Njegovi osnovni fizičko-hemijski parametri su prikazani u tablici 4. Primenjuje se u najvećoj meri protiv sisajućih i grickajućih insekata kod oko 40 biljnih kultura. Na tržištu se može naći pod imenima Dantotsu, Poncho i Clutch. Oralna akutna doza LD<sub>50</sub> za pacove iznosi > 5000 mg kg<sup>-1</sup>. Kod sisara pokazuje brzu eliminaciju i ograničeni metabolizam [40].



Slika 9. Parcijalni metabolički put tiametoksama i klotianidina u spanaću i miševima [41].

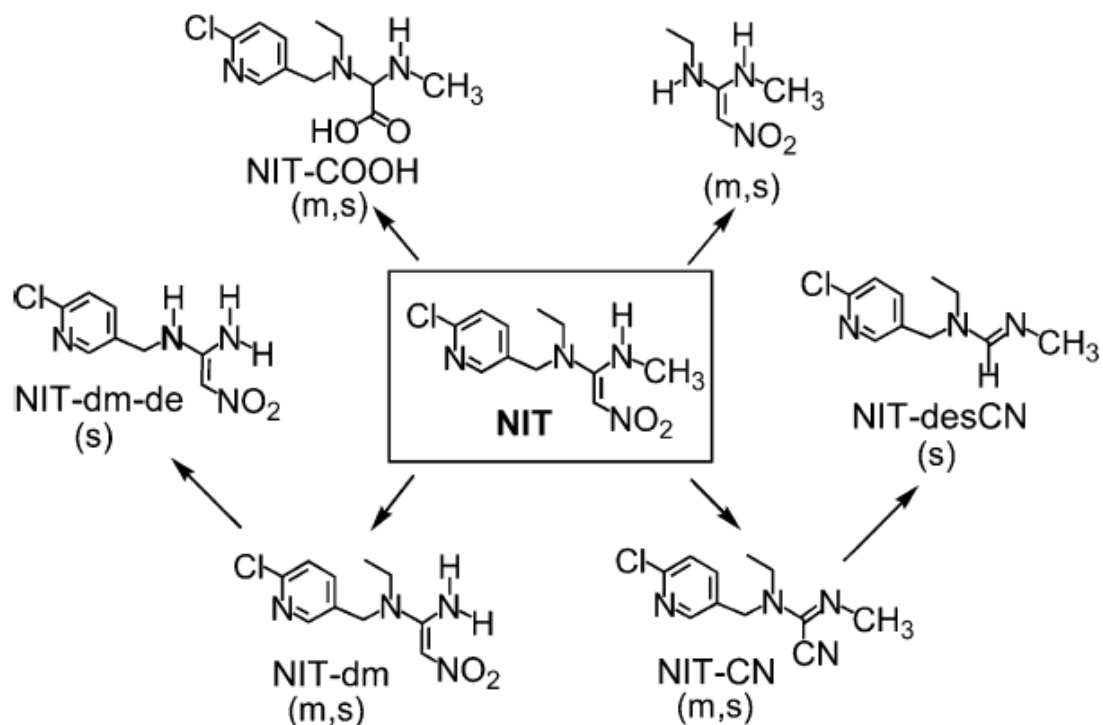
Tablica 4. Važniji fizičko-hemijski parametri klotianidina [40].

Parametar	Vrednost / opis
Izgled	Bezbojan prah bez mirisa
Molekulska masa	249,7 g mol <sup>-1</sup>
Rastvorljivost na 20 °C, u:	
- vodi (pH 4,0)	0,304 g dm <sup>-3</sup>
- dihlormetanu	1,32 g dm <sup>-3</sup>
- etil-acetatu	2,3 g dm <sup>-3</sup>
- acetonu	15,2 g dm <sup>-3</sup>
- oktanolu	0,938 g dm <sup>-3</sup>
Tačka topljenja	176,8 °C
Napon pare	3,8 x 10 <sup>-8</sup> mPa (na 20 °C)
Henry-eva konstanta	2,9 x 10 <sup>-11</sup> Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Logaritam koeficijenta raspodele oktanol–voda ( $K_{ow}$ )	0,7 (na 25 °C)

**Nitenpiram** je prvi put komercijalizovan 1995. godine od strane Takeda Chemical Industries Ltd. (danas Sumitomo Chemical Takeda Co. Ltd.). Njegovi osnovni fizičko-hemijski parametri su prikazani u tablici 5. Primenjuje se u najvećoj meri protiv afida, tripsa i drugih sisajućih insekata. U domaćinstvima se koristi protiv buva. Primenjuje se u dozi od 15–75 g ha<sup>-1</sup> u slučaju folijarne aplikacije, 75–100 g ha<sup>-1</sup> u slučaju tretiranja iz vazduha i 300–400 g ha<sup>-1</sup> u slučaju tretiranja zemljišta. Na tržištu se može naći pod imenima Bestguard i Capstar. Oralna akutna doza LD<sub>50</sub> za pacove iznosi oko 1625 mg kg<sup>-1</sup>. Najnestabilniji je među komercijalizovanim neonikotinooidima (u zemljištu se razgradi 50% za 1–15 dana) [40]. Na slici 10 je predstavljen parcijalni metabolički put nitenpirama u spanaću i miševima.

Tablica 5. Važniji fizičko-hemijski parametri nitenpirama [40].

Parametar	Vrednost / opis
Izgled	Bledožuti kristali
Molekulska masa	270,7 g mol <sup>-1</sup>
Rastvorljivost na 20 °C, u:	
- vodi (pH 7,0)	> 590 g dm <sup>-3</sup>
- dihlormetanu	> 1000 g dm <sup>-3</sup>
- etil-acetatu	34,7 g dm <sup>-3</sup>
- toluenu	10,6 g dm <sup>-3</sup>
- heksanu	0,0047 g dm <sup>-3</sup>
Tačka topljenja	82,0 °C
Napon pare	1,1 x 10 <sup>-6</sup> mPa (na 20 °C)
Logaritam koeficijenta raspodele oktanol–voda ( <i>K<sub>ow</sub></i> )	-0,66 (na 25 °C)



Slika 10. Parcijalni metabolički put nitenpirama u spanaću (s) i miševima (m) [41].

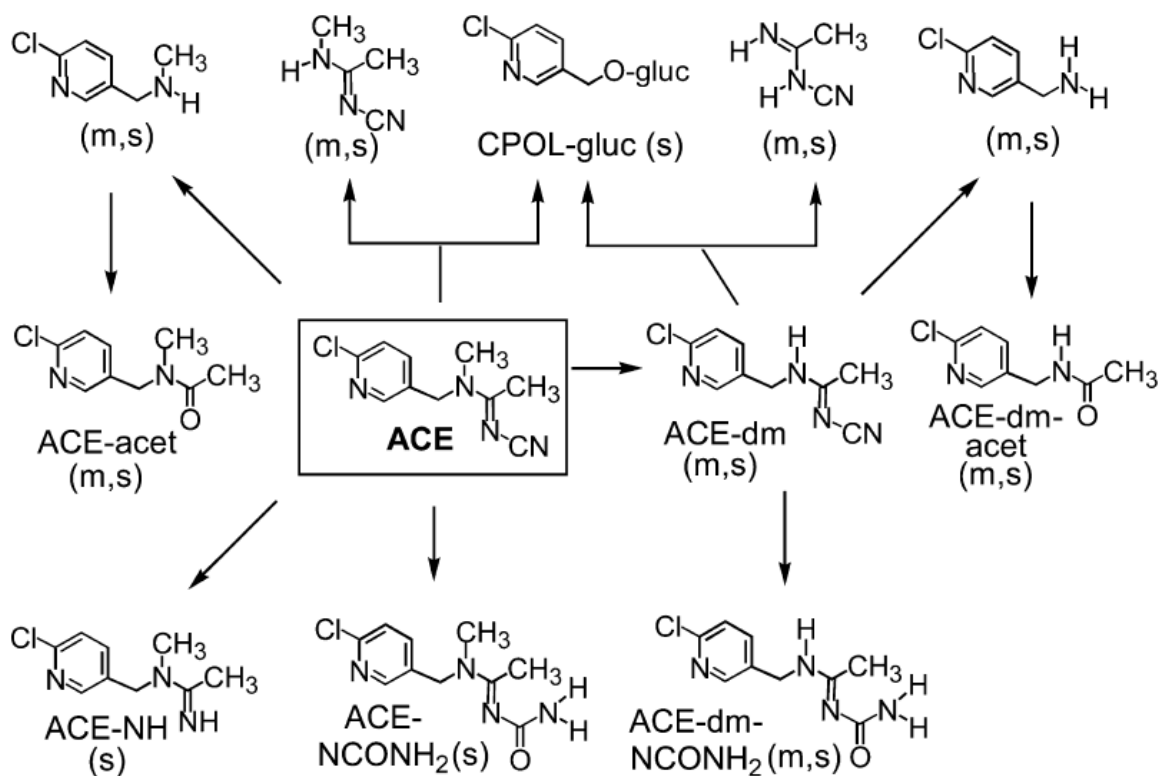


**Acetamiprid** je prvi put komercijalizovan 1995. godine od strane Nippon Soda Co. Ltd. Njegovi osnovni fizičko-hemijski parametri su prikazani u tablici 6.

*Tablica 6. Važniji fizičko-hemijski parametri acetamiprida [40].*

Parametar	Vrednost / opis
Izgled	Beli kristali
Molekulska masa	222,7 g mol <sup>-1</sup>
Rastvorljivost u vodi na 25 °C	4,25 g dm <sup>-3</sup>
Tačka topljenja	98,9 °C
Napon pare	< 1 x 10 <sup>-3</sup> mPa (na 25 °C)
Henry-eva konstanta	< 5,3 x 10 <sup>-8</sup> Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>
Logaritam koeficijenta raspodele oktanol–voda ( $K_{ow}$ )	0,8 (na 25 °C)

Primenjuje se u najvećoj meri protiv afida, Thysanoptera i Lepidoptera, pre svega u povrtarstvu i voćarstvu. Primenjuje se u dozi od 75–300 g ha<sup>-1</sup> u slučaju povrća i 100–700 g ha<sup>-1</sup> u slučaju voćnjaka. Na tržištu se može naći pod imenima Mospilan, Dyken, Fertilan, Masuta, Mospildate, itd. Oralna akutna doza LD<sub>50</sub> za pacove je između 146–217 mg kg<sup>-1</sup>. Brzo i potpuno se apsorbuje u organizmu, a elimiše se više od 90% nakon 96 časova, pre svega preko urina. Metabolizam acetamiprida se zasniva pre svega na oksidaciji i demetilaciji [40]. Na slici 11 je predstavljen parcijalni metabolički put acetamiprida u spanaću i miševima. Zajedno sa tiaklopridom, acetamiprid pokazuje najveću stabilnost među komercijalnim neonikotinoidima.



Slika 11. Parcijalni metabolički put acetamiprida u spanaću (s) i miševima (m) [41].

### 2.3. ANALITIKA NEONIKOTINOIDA

Zbog njihove sve veće upotrebe, prisustvo neonikotinoida (kao i njihovih degradacionih proizvoda) u životnoj sredini i namirnicama predstavlja veoma ozbiljan problem. Iz tog razloga su neophodne analitičke metode koje su pogodne za identifikaciju i određivanje pomenutih jedinjenja. U ovom poglavlju je dat kratak pregled objavljenih rezultata iz oblasti analitike neonikotinoida.

U ovom trenutku postoji relativno malo podataka o primeni **spektrofotometrijskih metoda** za analizu neonikotinoida. Primenu ove jednostavne tehnike za analizu kompleksnih uzoraka često otežavaju ili pak onemogućavaju različiti efekti matriksa. O spektrofotometriji kao načinu detekcije u tečnoj hromatografiji, biće reći kasnije. Veoma se često dešava, pre svega u analizama vezanim za životnu sredinu, da se određivana komponenta nalazi u prisustvu drugih, smetajućih komponenti. Derivativna spektrofotometrija omogućava određivanje i onih supstanci u smeši kod kojih postoji značajno preklapanje apsorpcionih spektara. Prvi pokušaji primene derivativne spektrofotometrije za proučavanje neonikotinoida u jednostavnijim sistemima su publikovani tek 2005. godine.

*Guzsvány et al.* [44] opisuju primenu derivativne spektrofotometrije za određivanje imidakloprida i tiametoksama u smeši u model-sistemima. Pri određivanju su korišćeni prvi izvodi apsorpcionih spektara, a radne talasne dužine su bile 227 i 270 nm za imidaklopid i tiametoksam, respektivno. Postignute su granice detekcije od oko 1,2  $\mu\text{mol dm}^{-3}$ , a vrednost relativne standardne devijacije (RSD) je manja od 1,4%.

*Gaál et al.* [45] su predložili sličnu metodu za proučavanje acetamiprida i njegovog degradacionog proizvoda, 6-HNK, u smeši. Radna talasna dužina za određivanje acetamiprida je bila 245 nm, a za 6-HNK 218 nm. Analitički parametri su slični onima u prethodnom saopštenju.

*Guzsvány et al.* [46] su opisali jednostavnu spektrofotometrijsku metodu na bazi prvog izvoda za istovremeno određivanje imidakloprida i 6-HNK. Primenjujući pristup nultog preseka imidaklopid je određivan u model-sistemu na 249 nm, a 6-HNK na 236 nm, sa granicama detekcije od 0,32 i 0,17  $\mu\text{g cm}^{-3}$ , respektivno i RSD manjom od 1,2%.

Predložena metoda je primenjena za određivanje imidakloprida i 6-HNK u komercijalnim preparatima imidakloprida. Konvencionalna spektrofotometrijska metoda (na 270 nm) je takođe primenjena za određivanje sadržaja imidakloprida u istim komercijalnim preparatima. Rezultati predložene spektrofotometrijske metode su u dobroj saglasnosti sa rezultatima dobijenim metodom HPLC/DAD.

*Guzsvány et al.* [47, 48] su primenili konvencionalnu spektrofotometriju za praćenje fororazgradnje acetamiprida i imidakloprida. Metoda je pogodna za praćenje kinetike nestajanja piridinskog jezgra, tj. ukupnog organskog zagađenja. Zbog sličnosti apsorpcionih spektara ispitivanih neonikotinoida i piridinskih intermedijera (npr. 6-HNK), metoda ne omogućava objektivno praćenje koncentracije polaznih jedinjenja.

U literaturi su se pojavili i prvi rezultati o primeni **nuklearne magnetne rezonancije** (NMR) za proučavanje stabilnosti nekih neonikotinoida u vodenom rastvoru u zavisnosti od pH-vrednosti, a takođe i za praćenje fotokatalitičke razgradnje acetamiprida i 6-HNK.

*Guzsvány et al.* [49] koriste  $^1\text{H}$  NMR tehniku za ispitivanje stabilnosti imidakloprida, tiametoksama, acetamiprida i tiakloprida u Britton-Robinson puferima različite pH-vrednosti (4,0, 7,0 i 9,0) pri konstantnoj temperaturi. Hidroliza tiametoksama i imidakloprida u baznoj sredini je primetna već nakon nekoliko dana, a mesecima su stabilni u neutralnom i kiselom rastvoru. Obrnuto od njih, acetamiprid i tiakloprid pokazuju veću stabilnost u baznoj sredini. Rezultati ovih autora potvrđuju ranije podatke o vremenu perzistencije ispitivanih neonikotinoida.

*Guzsvány et al.* [47] su opisali praćenje fotokatalitičke razgradnje acetamiprida u sistemu  $\text{O}_2/\text{TiO}_2$   $^1\text{H}$  NMR tehnikom. Utvrđeno je da reakcija razgradnje prati kinetiku pseudo-prvog reda. Od degradacionih proizvoda identifikovani su acetaldehid, mravlja i

sirćetna kiselina. Dokazana je i pojava degradacionih intermedijera sa piridinskim jezgrom (npr. 6-HNK).

**Fluorimetrijske metode** spadaju među veoma selektivne i osetljive analitičke metode. Pokazalo se da je upotreba UV-zračenja u cilju dobijanja fluorescentnih fotoprodukata pogodna metoda za brzu analizu nefluorescentnih jedinjenja u životnoj sredini. Do sada se u literaturi pojavilo samo nekoliko radova na temu fluorimetrijskog određivanja imidakloprida.

*Vilchez et al.* [50] predlažu fotohemijski indukovanu fluorimetrijsku metodu za osetljivo i brzo određivanje imidakloprida u uzorcima vode, zasnovanu na hemijskoj transformaciji imidakloprida u fluoroforu (1-(6-hlor-3-piridilmetil)-2-(hidroksiimino)-3,4-didehidroimidazoliden), jedinjenje koje u vodenoj sredini pokazuje fluorescenciju sa ekscitacionim maksimumom na 334 nm i emisionim maksimumom na 337 nm. Postignuta je niska granica detekcije od 0,7 ng ml<sup>-1</sup> i RSD od 1,6%.

*Vilchez et al.* [51], u cilju određivanja imidakloprida u uzorcima vode su takođe razvili i protočnu injekcionu analizu (PIA) sa fotohemijski indukovanom fluorescencijom u linearnom opsegu koncentracija od 1,0–60,0 ng cm<sup>-3</sup> imidakloprida, sa RSD od 2,1% (za 10 ng cm<sup>-3</sup>) i granicom detekcije od 0,3 ng cm<sup>-3</sup>.

*López Flores et al.* [52] su razvili protočni optosenzor zasnovan na fotohemijski indukovanoj fluorescenciji za brzo, osetljivo i selektivno određivanje imidakloprida. Imidakloprid je preveden u visokofluorescentni oblik *on line* derivatizacijom pomoću UV zračenja. Metoda je primenjena za određivanje imidakloprida u paprici i prirodnim vodama. Postignuta je granica određivanja od 0,015 mg kg<sup>-1</sup>.

*Lagalante et al.* [53] su primenili PIA za određivanje imidakloprida zasnovanu na fotohemijskoj disocijaciji uz oslobađanje nitrita, redukciji nitrita do azot-monoksida pomoću jodida u kiseloj sredini, uklanjanju tog gasa pomoću membranskog separatora i njegovoj detekciji pomoću hemiluminescentne reakcije sa ozonom. Granica detekcije metode iznosi 1,5 ng, a preciznost je oko 0,4%. Linearni opseg razrađene metode je veoma širok i iznosi više od četiri reda veličine.

U literaturi su 2004. godine objavljeni prvi rezultati o primeni **infracrvene spektrometrije** za određivanje imidakloprida u komercijalno dostupnim formulacijama.

*Quintás et al.* [54] su koristili FTIR tehniku za određivanje imidakloprida u komercijalnim formulacijama. Određivanja su vršena u hloroformu, merenjem površine pikova na 1577–1567  $\text{cm}^{-1}$  ili određivanjem visine pika na 1572  $\text{cm}^{-1}$ . Postignuta je granica detekcije od 9  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Rezultati merenja su upoređivani sa podacima dobijenim HPLC/DAD tehnikom. Prednost razrađene metode je pre svega u velikoj brzini i maloj potrošnji rastvarača u odnosu na komparativnu hromatografsku metodu.

Zahvaljujući svojoj osetljivosti i selektivnosti, **voltametrijske metode** se sve češće koriste u analizi tragova. Primenom pulsni tehnika (DPV i diferencijalna pulsna polarografija) se postiže niska granica detekcije, širok dinamički opseg, dobra reproduktivnost i niski troškovi. Dakle, ove metode mogu da budu alternativne pri rutinskoj analizi elektroaktivnih pesticida.

*Navalón et al.* [55] su ispitivali uticaj pH na polarografsko ponašanje imidakloprida koristeći diferencijalnu pulsnu polarografiju i istu primenili za određivanje sadržaja imidakloprida u komercijalnim formulacijama. Postignuti linearni opseg merenja je 10–200  $\text{ng cm}^{-3}$ .

*Blanc et al.* [56] takođe opisuju primenu DPV pri određivanju imidakloprida, pri čemu je postignuta granica detekcije od  $4,54 \times 10^{-10} \text{ mol dm}^{-3}$ .

*Guiberteau et al.* [57] su razradili elektroanalitičku metodu za detekciju i određivanje imidakloprida u rečnoj vodi pomoću adsorpcione stripping voltametrije sa pravougaonim signalom na visećoj živinoj kapi (HMDE) u vodenom rastvoru sa Britton-Robinsonovim puferom kao pomoćnim elektrolitom. Najbolji adsorpcioni uslovi su postignuti pri pH 7,2, akumulacionom potencijalu od -1,05 V u odnosu na Ag/AgCl/  $3 \text{ mol dm}^{-3}$  KCl referentnu elektrodu i akumulacionom vremenu od 50 s. U slučaju određivanja nižih koncentracija imidakloprida, primenjena je prekoncentracija pre određivanja (tečno-tečna ekstrakcija sa dihlormetanom i ekstrakcija na čvrstoj fazi pomoću Sep-Pak C18 kolone). Granica detekcije metode iznosi  $1,6 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}$ .

*Guzsvány et al.* [58] su razvili jednostavnu voltametrijsku metodu za određivanje imidakloprida i tiametoksama korišćenjem GCE. Pokazalo se da voltametrijski odziv u velikoj meri zavisi od prethodne obrade površine elektrode i od načina polarizacije. Granica određivanja u slučaju imidakloprida iznosi  $7,7 \mu\text{g cm}^{-3}$ , a u slučaju tiametoksama  $8,5 \mu\text{g cm}^{-3}$ . Razrađena metoda je primenjena za određivanje gore navedenih insekticida u krompiru.

*Guzsvány et al.* [59] su razradili diferencijalnu pulsnu polarografsku metodu za određivanje tiametoksama u različitim komercijalnim formulacijama i nekim realnim uzorcima (krompir i kukuruz). Opisana metoda je brza, jednostavna i osetljiva. Postignuta vrednost granice određivanja iznosi  $31,1 \text{ ng cm}^{-3}$ , pri čemu RSD ne prelazi 1,6%.

*Guzsvány et al.* [20] opisuju primenu BiFE za određivanje tiametoksama pomoću DPV. Optimizovani su uslovi izgradnje bizmut-filma, a primenljivost razrađene metode

je bila testirana na realnim uzorcima (krompir i kukuruz). Granica određivanja tiametoksama iznosi  $1,26 \mu\text{g cm}^{-3}$ .

*Guzsvány et al.* [26] su primenili GCE i BiFE za određivanje imidakloprida, tiametoksama, acetamiprida i nitenpirama koristeći cikličku voltometriju (CV) i DPV metodu.

Razvijeni su i **enzim-vezujući imunosorbentski testovi** (ELISA) za određivanje neonikotinoidnih insekticida. ELISA je osetljiva i specifična tehnika, jednostavna za izvođenje i pogodna za brzo određivanje. Zahvaljujući ovim karakteristikama, veoma velika pažnja se posvećuje razradi imunohemijskih metoda analize, o čemu svedoči i veliki broj radova objavljenih u renomiranim međunarodnim časopisima.

*Watanabe et al.* [60] razvijaju ELISA metodu baziranu na monoklonalnim antitelima za određivanje imidakloprida i acetamiprida. Direktni kompetitivni ELISA testovi su ispitivani prilikom određivanja gore navedenih neonikotinoida u uzorcima voća i povrća, i to bez prečišćavanja. Postignuta je granica detekcije od  $3,3 \text{ ng cm}^{-3}$  u slučaju imidakloprida i  $1,0 \text{ ng cm}^{-3}$  za acetamiprid.

*Kim et al.* [61] razvijaju ELISA test za određivanje tiametoksama. Tri antiseruma su izolovana iz zečeva imunizovanih sa haptent-KLH (engl.: keyhole limpet hemocyanin) konjugatom. Antiserumi su karakterisani indirektnom kompetitivnom ELISA tehnikom. Ispitivani su unakrsna reaktivnost, efekti organskih rastvarača, pH-vrednosti i jonske jačine. Antiserum je bio specifičan za tiametoksam. Granica detekcije je  $0,1 \mu\text{g dm}^{-3}$ . Metoda je primenjena za određivanje tiametoksama u vodi.

*Kim et al.* [62] razvijaju ELISA metodu baziranu na monoklonalnim antitelima za određivanje imidakloprida. Indirektni kompetitivni ELISA test sa pogodnim antitelima je



ispitivana za određivanje imidakloprida u uzorcima vode i krastavca. Efikasnost metode je od 70 do 120%. Razvijenom metodom se može detektovati imidaklopid u koncentraciji od  $0,1 \mu\text{g dm}^{-3}$ .

*Watanabe et al.* [63] proučavaju analitičke karakteristike komercijalno dostupnog ELISA testa za imidaklopid. Test je primenjen za određivanje navedenog insekticida u različitim poljoprivrednim proizvodima bez prečišćavanja ekstrakta. Postignuta je granica detekcije od  $0,5 \mu\text{g dm}^{-3}$ . Ista grupa autora opisuje primenu ovog testa za rutinsku analizu imidakloprida u voćnim sokovima [64] i uzorcima jabuke [65].

*Xu et al.* [66] su primenili ELISA test za određivanje imidakloprida u *Erythrina sandwicensis* O. Deg., endemičnoj biljci sa Havajskih ostrva. Spomenuta biljka se tretira imidaklopidom radi zaštite od insekata *Quadrastichus erythrinae*. Karakteristike razrađene metode su upoređivane sa rezultatima HPLC tehnike i dobijene su izuzetno visoke vrednosti korelacije.

*Kim et al.* [67] su razvili automatizovanu, ultrasenzitivnu ELISA metodu zasnovanu na merenju fluorescencije za kvantitativno određivanje tiametoksama u uzorcima vode, krompira, krastavca i jabuke. Postignuta je izuzetno niska granica detekcije od  $16,0 \text{ pg cm}^{-3}$ .

*Xu et al.* [68] su primenili ELISA test za određivanje imidakloprida i tiametoksama u voćnim sokovima bez ikakve prethodne obrade uzoraka. Granice detekcije razrađene metode su  $20 \text{ ng g}^{-1}$  za imidaklopid i  $5 \text{ ng g}^{-1}$  za tiametoksam.

*Girotti et al.* [69] su razvili hemiluminescentnu ELISA metodu za određivanje imidakloprida u pčelama. Postignuta je granica detekcije od  $0,11 \text{ ng cm}^{-3}$ . Ispitan je uticaj acetamiprida i različitih metabolita imidakloprida na određivanje ciljnog molekula.

Razvijene su brojne metode određivanja pesticida bazirane na **gasnoj hromatografiji** (GC). Ipak, veliki broj jedinjenja koja su u primeni, odnosno njihovi metaboliti se ne mogu direktno analizirati pomoću GC zbog niske isparljivosti, termolabilnosti ili polarnosti, pa postoji potreba za derivatizacijom.

*Vilchez et al.* [70] određuju imidaklopid u uzorcima vode i zemljišta primenom gasne hromatografije sa masenim spektrometrijskim detektorom (GC/MS). Određivanju je prethodila ekstrakcija hloroformom i hidroliza imidakloprida u baznoj sredini. Granica detekcije za uzorke vode je bila  $0,16 \mu\text{g dm}^{-3}$ , a za uzorke zemljišta  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$  sa RSD od 0,3–1%, uz prinos od 100%. Metoda je primenjena za analizu voda i zemljišta iz Granade.

*Navalón et al.* [71] razrađuju metodu određivanja imidakloprida u povrću (paradajz, krastavac, paprika i zeleni biber) primenom GC/MS tehnike. Ekstrakcija je vršena dihlorometanom. Imidaklopid je podvrgnut hidrolizi u baznoj sredini pre merenja. Postignuta granica određivanja je bila  $12,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ , a RSD na nivou od  $125 \mu\text{g kg}^{-1}$  je bila 0,7%. Prinos metode je bio između 94,3–105,8%.

*Zheng i Liu* [72] primenjuju GC/MS tehniku za ispitivanje hidrolize imidakloprida i identifikaciju degradacionog proizvoda. Hidroliza imidakloprida je najbrža u baznoj sredini, pri čemu je glavni degradacioni proizvod je 1-[(6-hlor-3-piridil)metil]-2-imidazolidon.

*Mateu-Sánchez et al.* [73] su razvili brzu i jednostavnu GC metodu za određivanje acetamiprida u voću i povrću, koristeći MS i MS/MS detektor. Ekstrakciju su vršili etil-acetatom, a primenom sistema GC/MS/MS su postigli granicu određivanja od  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Postignuti prinos je bio između 82,4–85,7%, a RSD je bila manja od 12,2%.

*Tokieda et al.* [74] opisuju GC metodu za određivanje acetamiprida i četiri degradaciona proizvoda u uzorcima voća. Ekstrakcija je vršena metanolom, a zatim je izvedena derivatizacija alkalnom hidrolizom, posle čega je sledila oksidacija kalijum-permanganatom i esterifikacija primenom diazometana. Vrednost granice detekcije je bila  $0,01 \text{ g kg}^{-1}$ , a prinos "spajkovanih" uzoraka između 74–92%. Primenjen je detektor sa elektronskim zahvatom.

Za analizu pesticida i njihovih metabolita najčešće se primenjuje **tečna hromatografija visoke efikasnosti** sa različitim detektorima kao što su MS, DAD, optotermički i fluorimetrijski detektor, a razvijene su i elektrohemijske metode detekcije. Kod HPLC tehnike priprema uzoraka je često složena i skupa, ponekad obuhvata i posebne faze prečišćavanja (ekstrakcije, pretkolone, itd.). U literaturi postoji veliki broj radova koji se odnose na HPLC tehniku, od kojih će biti navedeni samo neki.

*Hernández et al.* [75] su predložili vrlo brzu, osetljivu i specifičnu metodu za određivanje 35 pesticida (među njima i imidakloprida) u uzorcima zemljišta i površinskih voda. Njihova metoda je zasnovana na *on line* kombinaciji ekstrakcije na čvrstoj fazi i HPLC/MS/MS sa elektrosprej jonizacijom (engl.: electrospray ionization, ESI).

*Blasco et al.* [76] opisuju tečnehromatografsku metodu sa masenospektrometrijskom detekcijom (HPLC/MS) primenom jonizacije pri atmosferskom pritisku (engl.: atmospheric pressure chemical ionization, APCI) za određivanje imidakloprida i još tri pesticida u uzorcima breskve i nektarine. Ekstrakcija je vršena etil-acetatom u prisustvu velike količine anhidrovanog natrijum-sulfata. Granica detekcije za sva četiri pesticida iznosi  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ .

*Obana et al.* [77] su razvili brzu i jednostavnu metodu za simultano određivanje neonikotinoidnih insekticida. Dvanaest različitih uzoraka voća i povrća je ekstrahovano metanolom i prečišćeno uz pomoć ekstrakcionog filtera od grafitizovanog ugljenika ispunjenog sa 20% metanolnim rastvorom. Koncentrovani rastvor nakon daljeg razblaživanja metanolom je analiziran na pesticidne ostatke pomoću HPLC/MS u pozitivnom APCI modu. Vrednosti RSD su bile niže od 10% za sve ispitivane koncentracije. Metoda je brza, lako izvodljiva i mogla bi biti uvrštena u metode redovnog monitoringa pesticidnih ostataka.

*Schöning i Schmuck* [78] su razvili novu HPLC/MS/MS metodu sa ESI za određivanje imidakloprida i nekih njegovih metabolita (5-hidroksi-imidakloprida i olefin-imidakloprida) u veoma različitim uzorcima kao šta su polen, cvetovi, nektar, med, vosak i pčele. Detaljno su prikazane primenjene metode ekstrakcije i prekoncentracije ciljnih komponenti koje su primenljive za sve gore navedene uzorke. U prvoj fazi se vrši ekstrakcija pomoću 75%-og metanola, a zatim pomoću kolona sa dijatomejskom zemljom i silikagelom. Granica detekcije je 0,0015 mg kg<sup>-1</sup> za imidaklopid i 5-hidroksi-imidaklopid, a 0,003 mg kg<sup>-1</sup> za olefin-imidaklopid.

*Ferrer et al.* [79] su koristili tečnu hromatografiju sa masenospektrometrijskom detekcijom na bazi vremena preleta (engl.: high-performance liquid chromatography/time of flight mass spectrometry, HPLC/TOF-MS) sa ESI za određivanje imidakloprida, acetamiprida i tiakloprida u različitim biljnim uzorcima. RSD iznosi oko 5% za sve uzorke. Postignute su niske granice detekcije za sva tri insekticida (0,002–0,01 mg kg<sup>-1</sup>).

*Seccia et al.* [80] opisuju HPLC/MS metodu sa ESI za detekciju i određivanje acetamiprida, imidakloprida, tiakloprida i tiametoksama u smeši u uzorcima pijaće vode.

Insekticidi su izdvojeni iz vode ekstrakcijom na čvrstoj fazi. RSD je manja od 20 %. Granica detekcije za sva četiri neonikotinoide iznosi  $0,03 \mu\text{g dm}^{-3}$ .

*Proença et al.* [81] su primenili HPLC/MS tehniku za identifikaciju i određivanje imidakloprida u post-mortem uzorcima (krv, urin, jetra, bubreg, pluća, sadržaj želuca) uzetih iz tela dva muškarca nakon fatalne intoksikacije pomenutom supstancom. Imidakloprid je izdvojen iz uzoraka tečno-tečnom ekstrakcijom pomoću dihlormetana. Razdvajanje je vršeno na reversnofaznoj koloni upotrebom mobilne faze od acetonitrila i 0,1% mravlje kiseline u odnosu 15:85, v/v. Granica detekcije metode je  $2 \text{ ng cm}^{-3}$ .

*Fidente et al.* [82] su razvili HPLC/MS metodu sa ESI za određivanje imidakloprida, tiametoksama, tiakloprida i acetamiprida u uzorcima meda nakon prečišćavanja uzorka pomoću Extrelut NT20 kolone. Postignute granice detekcije su u intervalu od 0,01–0,1  $\mu\text{g cm}^{-3}$ .

*Di Muccio et al.* [83] predlažu HPLC/MS metodu sa ESI za određivanje imidakloprida, tiametoksama, tiakloprida i acetamiprida u uzorcima voća i povrća sa granicama određivanja od 0,1–0,5  $\text{mg kg}^{-1}$ . Za prečišćavanje uzorka je primenjena ekstrakcija na čvrtoj fazi (Extrelut NT20 kolona).

*Totti et al.* [84] su razradili ekstrakcioni postupak (disperzija matriksa na čvrstoj fazi) za izdvajanje imidakloprida, 6-HNK, karbarila i aldikarba iz pčela koristeći kolone C18 i smešu dihlormetana i metanola (85:15, v/v) kao eluent. Određivanje ciljnih jedinjenja je vršeno na C18 koloni, primenjujući gradijentno eluiranje koristeći metanol i rastvor trifluorsirćetne kiseline (pH 3) u različitim odnosima tokom analize. Granice detekcije za ispitivane komponente su bile u opsegu od 4–90  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

*Liu et al.* [85] su razradili UPLC/MS/MS (ultraperformansna tečna hromatografija/tandem masena spektrometrija) metodu za simultano određivanje svih sedam komercijalnih neonikotinoide u različitim namirnicama (jabuka, kupus, krompir, pirinač, piletina, govedina i jaja). Postignute granice određivanja se nalaze u opsegu od 0,1–6  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

*Kamel* [86] je razvio kompleksnu metodu za ekstrakciju i HPLC/MS/MS određivanje imidakloprida, tiametoksama, dinotefurana, klotianidina i nekih njihovih metabolita u uzorcima pčela i pčelinjih proizvoda. Granice detekcije su oko 0,2  $\text{ng g}^{-1}$  za neonikotinoide, a za metabolite između 0,2–15  $\text{ng g}^{-1}$ .

*Fernández-Alba et al.* [87] opisuju HPLC metodu za određivanje rezidua imidakloprida u povrću u koncentracijama od 0,01–0,60  $\text{mg kg}^{-1}$ . Detekcija se vrši pomoću DAD na 270 nm. Ispitivana je i kombinacija termosprej-masenog spektrometra sa HPLC tehnikom. Efikasnost metode iznosi 95%, a RSD 4,7%. Dinamički opseg se kreće između 2,0–120,0  $\text{ng}$  (0,01–0,60  $\text{mg kg}^{-1}$ ). Granica detekcije iznosi 0,01  $\text{ng kg}^{-1}$ .

*Martínez Galera et al.* [88] primenjuju HPLC/DAD metodu za određivanje imidakloprida i 6-HNK u smeši uz razlaganje preklapajućih pikova ispitivanih jedinjenja matematičkom metodom. Postignuta je dobra ponovljivost i visoka osetljivost.

*Mandić et al.* [89] su razradili HPLC/DAD metodu za određivanje rezidua imidakloprida u uzorcima crnog luka i krompira. Tragovi insekticida su ekstrahovani dihlormetanom. Kao mobilna faza je primenjena smeša 0,01  $\text{mol dm}^{-3}$  fosfatnog pufera i acetonitrila u odnosu 75:25, v/v. Radna talasna dužina DA detektora je bila 270 nm. RSD je iznosila 5%, a prosečan prinos 94–99%. Postignute su granice detekcije od 0,015 i 0,012  $\text{mg kg}^{-1}$  za krompir i crni luk, respektivno.

*Watanabe et al.* [90] su razradili HPLC/DAD metodu za određivanje sedam neonikotinoida u smeši u različitim poljoprivrednim proizvodima. Razrađena je efektivna ekstrakciona metoda za izolovanje neonikotinoida iz realnih uzoraka. Razdvajanje komponenata je vršeno na C-18 koloni (RP) uz primenu gradijentnog eluiranja (metanol-fosfatni pufer). Postignute su granice detekcije u opsegu od 0,01–0,03 mg kg<sup>-1</sup>.

*Seccia et al.* [91] su primenili HPLC/DAD metodu za simultano određivanje acetamiprida, imidakloprida, tiakloprida i tiametoksama u kravljem mleku. Uzorci mleka su prekoncentrisani pomoću kolona sa dijatomejskom zemljom, a analiti su zatim ekstrahovani dihlormetanom. Granice određivanja su u opsegu od 0,01–0,04 mg kg<sup>-1</sup>.

*Guzsvány et al.* [92] su razradili HPLC/TLS (engl.: high-performance liquid chromatography/thermal lens spectrometry) metodu za određivanje imidakloprida, tiametoksama, tiakloprida i acetamiprida u smeši. Razdvajanje je vršeno pri izokratskim uslovima na C18 reversnofaznoj koloni primenom mobilne faze od acetonitrila i 0,2% fosforne kiseline u odnosu 3:7. Postignute su granice detekcije u opsegu od 10–89 µg dm<sup>-3</sup> u zavisnosti od insekticida. Razrađena metoda je primenjena za određivanje navedenih insekticida u uzorcima rečne vode i krompira. Izuzev imidakloprida, HPLC/TLS tehnika se pokazala oko 8,5 puta osetljivijom od HPLC/DAD.

*Gil García et al.* [93] primenjuju tečnehromatografsku metodu sa fluorescentnim detektorom za određivanje imidakloprida i 6-HNK u pčelama. Metoda uključuje *on line* uklanjanje većine polarnih interferencija na kratkoj 5 µm Aquasil C18 koloni, zatim se određivani analiti razdvajaju i derivatizuju u fotohemijском reaktoru u baznoj sredini. Velika prednost razrađene metode u odnosu na konvencionalnu HPLC/DAD i HPLC/MS

tehniku je u tome što se analiziraju samo komponente od interesa a efekti matriksa se *on line* uklanjaju pre razdvajanja ciljnih komponenti.

*Ruiz de Erenchun et al.* [94] proučavaju i razvijaju HPLC metodu sa pulsnom reduktivnom amperometrijskom detekcijom za određivanje imidakloprida i njegovog glavnog metabolita u zemljištu.

*Rancan et al.* predlažu tečnehromatografsku metodu sa elektrohemijским detektorom i post-kolonskim fotohemijским reaktorom (HPLC/hv/ED) za određivanje imidakloprida [95] i tiametoksama [96]. Postignute su granice detekcije od  $0,6 \text{ ng cm}^{-3}$  za imidaklopid i  $2,1 \text{ ng cm}^{-3}$  za tiametoksam.

U literaturi su opisani i neki manje poznati načini određivanja neonikotinoidea.

*Segura Carettero et al.* [97] su primenili **kapilarnu elektroforezu** (micelarnu kapilarnu hromatografiju) za određivanje imidakloprida i njegovog metabolita 6-HNK u smeši. Razrađena metoda je primenjena za određivanje navedenih molekula u atmosferi staklenika. Izdvajanje ciljnih komponenti je vršeno ekstrakcijom na čvrstoj fazi Amberlite XAD-2 kolonama, primenjujući protok od  $2 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ . Kolone su zatim zatvorene i držane na  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  do analize. Najbolji analitički parametri su postignuti primenom  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$  pufera (pH 8,5) u prisustvu natrijum-dodecilsulfata u koncentraciji od  $60 \text{ mmol dm}^{-3}$ . Detekcija je vršena pomoću DAD detektora. Granica detekcije iznosi  $0,71 \text{ } \mu\text{g cm}^{-3}$  za imidaklopid i  $1,18 \text{ } \mu\text{g cm}^{-3}$  za 6-HNK.

*Bi i Yang* [98] su opisali primenu **kvarc-kristalne mikrovage** za simultanu detekciju i određivanje imidakloprida i tiakloprida u soku celera. Na površini mikrovage je pripremljen monosloj sa molekulskim imprintom (engl.: molecular imprinted monolayer)



za specifično prepoznavanje analita. Postignuta je granica detekcije od  $0,25 \text{ mg kg}^{-1}$  za oba jedinjenja.

*García-Reyes et al.* [99] su primenili **desorpcionu elektrosprej jonizaciju u kombinaciji sa tandemskom masenom spektrometrijom (DESI/MS/MS)** za brzu, *in situ*, direktnu kvalitativnu i kvantitativnu ultraosetljivu analizu 16 pesticida (uključujući nitenpiram i tiaklopid) u uzorcima voća i povrća. Granice detekcije u realnim uzorcima su u  $\mu\text{g kg}^{-1}$  oblasti za sve analite.

### 3. CILJ RADA

Cilj ove disertacije je bio da se razrade voltametrijske metode za karakterizaciju i određivanje odabranih neonikotinoida (imidakloprida, tiametoksama, klotianidina, nitenpirama i acetamiprida). U tu svrhu je bilo potrebno odrediti optimalne uslove određivanja, uticaj pH-vrednosti pomoćnog elektrolita, osobina radnih elektroda i mernih parametara na voltametrijsko ponašanje neonikotinoida. Kao radne elektrode su primenjene CPE (sa različitim vezivnim sredstvima), GCE i BiFE. Nakon pronalaženja optimalnih uslova merenja, razrađene visoko-osetljive DPV metode su primenjene za određivanje neonikotinoida u model-rastvorima i odabranim realnim uzorcima (komercijalne formulacije insekticida i rečna voda). Razvijene metode su takođe primenjene i za praćenje smanjenja koncentracije neonikotinoida u toku njihove fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje. Kao uporedne metode za određivanje neonikotinoida korišćene su HPLC/DAD i FTIR. Stanje elektrodnih površina je proučavano metodom SEM/EDS. Za detekciju nekih intermedijera nastalih tokom fotorazgradnje je primenjena HPLC/MS/MS metoda.

## 4. EKSPERIMENTALNI DEO

### 4.1. HEMIKALIJE, RASTVORI I ISPITIVANI UZORCI

Primenjeni standardi su bili: imidaklopid, tiametoksam, acetamiprid, nitenpiram, klotianidin (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Seelze, Nemačka), PESTANAL<sup>®</sup>, čistoće 99,9%; 99,7%; 99,9%; 99,9%; 99,9%, respektivno, i 6-HNK (Fluka Chemie GmbH, Buchs, Švajcarska), čistoće  $\geq 97,0\%$ . Osnovni rastvori su pripremani rastvaranjem odgovarajuće količine analitičkog standarda u dvaput destilovanoj vodi. Ostali rastvori insekticida i 6-HNK su pripremani razblaživanjem osnovnih rastvora. Rastvori su čuvani na 4 °C u mraku pre izvođenja eksperimenata.

Britton-Robinson puferski rastvori su pripremani od osnovne smeše kiselina uz dodatak 0,2 mol dm<sup>-3</sup> natrijum-hidroksida (Zorka Pharma, Šabac, Srbija) do željene pH-vrednosti. Smeša kiselina je sadržavala 0,04 mol dm<sup>-3</sup> fosforu (Merck, Darmstadt, Nemačka), 0,04 mol dm<sup>-3</sup> bornu (Merck) i 0,04 mol dm<sup>-3</sup> sirćetnu kiselinu (Merck).

Hlorovodonična kiselina (Zorka Pharma), kalijum-hlorid (Kemika, Zagreb, Hrvatska), kalijum-bromid (Kemika), kalijum-nitrat (Alkaloid, Skopje, Makedonija), kalijum-sulfat (Kemika), bizmut(III)-nitrat (Merck) su bili p.a. kvaliteta.

Korišćeni su sledeći organski rastvarači: hloroform (Lach-Ner, Brno, Češka Republika, p.a.) i acetonitril (Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, Holandija).

Za poliranje površine GCE je korišćen  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Kemika) različitog granulometrijskog sastava i MicroPolish Alumina (Buehler, Lake Bluff, SAD), sa prosečnom dimenzijom čestica od 0,05  $\mu\text{m}$ .

Kao vezivne tečnosti u CPE, korišćeni su trikrezil-fosfat (smeša izomera, Fluka Chemie GmbH, Buchs, Švajcarska), silikonsko ulje (MV 8000, Lučební Závody, Kolín, Češka Republika) i *n*-tetradekan (Polyscience Corporation, Evanston, USA). Za pripremu CPE korišćen je grafitni prah tipa CR 5 (Maziva Tým, Tým nad Vltavou, Češka Republika), čistoće  $\geq 99,5\%$ .

Proučavane su sledeće komercijalne formulacije insekticida: Confidor 200 SL (Bayer CropScience, Nemačka) sa  $200 \pm 12 \text{ g dm}^{-3}$  imidakloprida, Macho 200 SL (Hemovet, Srbija) sa  $200 \pm 12 \text{ g dm}^{-3}$  imidakloprida i Actara 25 WG (Syngenta Crop Protection AG, Switzerland) sa  $25 \pm 6\%$  tiametoksama.

Uzorci dunavske vode su uzeti kod Novog Sada.

Ispitivanje fotokatalitičke degradacije neonikotinoida je vršeno u prisustvu  $2 \text{ mg cm}^{-3}$  suspenzije  $\text{TiO}_2$  (Degussa P-25; 75% anataze i 25% rutil-oblika, specifična površina  $50 \pm 15 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , veličina čestica oko 20 nm) kao fotokatalizatora.

## 4.2. INSTRUMENTI

**Spektrofotometrija.** Spektrofotometrijska merenja su rađena na jednozračnom spektrofotometru Anthelie Advanced 2 (Secomam, Francuska) i dvozračnom spektrofotometru T80+ (PG Instruments Ltd., Ujedinjeno Kraljevstvo) u oblasti talasnih dužina od 200 do 400 nm. Primenjene su kvarcne kivete od 1,00 cm.

**Tečna hromatografija visoke efikasnosti.** Hromatogrami su snimani na Agilent 1100 tečnom hromatografu (Agilent Technologies Inc., SAD) sa Agilent 1100 detektorom od niza dioda (Agilent) i na Agilent 1200 tečnom hromatografu (Agilent) sa Agilent 6410 Triple Quad MS/MS detektorom (Agilent) primenom Zorbax Eclipse XDB C18 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), odnosno Zorbax Eclipse C18 Rapid Resolution kolone, respektivno.

**Voltometrija.** Voltometrijska merenja su rađena na elektrohemijским analizatorima Autolab PGSTAT12 (Eco Chemie, Holandija), BAS-100B/W (Bioanalytical Systems, USA) i Voltalab PST050 (Radiometer Analytical SAS, Francuska) (slika 12).



Slika 12. Elektrohemijски analizatori Autolab PGSTAT12 (A), BAS-100B/W (B) i Voltalab PST050 (C).

Referentna elektroda je bila ZKE (Amel, Italija) ili Ag/AgCl/ 3 mol dm<sup>-3</sup> KCl (CH Instruments, SAD), a pomoćna elektroda je bila platinska elektroda (Amel). Primjenjene su različite radne elektrode na bazi ugljenične paste i staklastog ugljenika (Amel i CH Instruments Inc., SAD). Kalup elektroda od ugljenične paste je napravljen od teflona sa metalnim zavrtanjem [100]. U slučaju korišćenja CPE potencijali su mereni u odnosu na ZKE, a u slučaju primene GCE (nemodifikovane i modifikovane) potencijali su prikazani u odnosu na Ag/AgCl/ 3 mol dm<sup>-3</sup> KCl.

**Infracrvena spektrometrija.** IR merenja su rađena na Nicolet Magna 760 FTIR spektrometru (Nicolet Instrument Corp., SAD) povezanim sa temperaturno-stabilizovanim deuterisanim triglicin-sulfat detektorom. Korišćena kiveta sa dužinom optičkog puta od 0,2 cm je bila od kalijum-bromida.

**Skenirajuća elektronska mikroskopija sa detektorom na bazi energetske disperzije.** SEM merenja su rađena na JSM-6460LV (Jeol, Japan) elektronskog mikroskopa. EDS merenja su vršena pomoću INCAx-sight detektora (Oxford Instruments, Ujedinjeno Kraljevstvo) i INCAx-stream pulsno procesora (Oxford Instruments).

**Merenje pH-vrednosti.** Za podešavanje i kontrolu pH-vrednosti puferskih rastvora primenjeni su pH-metri PHM62 (Radiometer, Danska), F-16 (Horiba, Japan) i Inolab pH 7200 (WTW GmbH, Nemačka), sa različitim kombinovanim staklenim elektrodama.

### 4.3. POSTUPCI

**Spektrofotometrija.** Apsorpcioni spektri rastvora ispitivanih jedinjenja ( $c = 3,26 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ ) su snimani u intervalu talasnih dužina od 200–400 nm pri pH 7,0. Smeša Britton-Robinson pufera pH 7,0 i dvaput destilovane vode (1:1, v/v) je služila kao slepa proba. U slučaju snimanja apsorpcionih spektara rastvori su napravljeni mešanjem Britton-Robinson pufera pH 7,0 i rastvora ispitivanog jedinjenja koncentracije  $6,52 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  (1:1, v/v).

**Tečna hromatografija visoke efikasnosti.** U slučaju komparativne HPLC/DAD analize pojedinačnih neonikotinoida mobilna faza je napravljena od smeše 0,2% fosforne kiseline i acetonitrila u odnosu 7:3, v/v. U slučaju ispitivanja kompleksnijih uzoraka (npr. praćenje procesa fotorazgradnje) udeo vodene faze je povećavan po potrebi (maksimalno do 85%, v/v) radi efikasnijeg razdvajanja signala prisutnih jedinjenja. Ostali parametri su bili: protok  $0,8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$  ili  $1,0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ , radna temperatura kolone  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , a zapremina petlje  $5,00 \text{ }\mu\text{L}$ . Ponovljivost merenja je ispitana na koncentracijskom nivou od  $500 \text{ ng cm}^{-3}$ , na bazi šest merenja, pri čemu je RSD retencionog vremena bila ispod 0,8%, a površine pika ispod 1,7%. Sva merenja su rađena pri izokratskim uslovima. Tiametoksam, imidaklopid, acetamiprid, nitenpiram, klotianidin i 6-HNK su određivani na 252, 270, 245, 270 i 224 nm, respektivno. Za HPLC/MS/MS merenja mobilna faza je bila pripremljena od 1,0% mravlje kiseline i acetonitrila u odnosu 85:15, v/v. Razdvajanje je vršeno pri izokratskim uslovima. Napon fragmentora MS-detektora je bio

podešen na 80 V. Protok, pritisak i temperatura azota za sušenje su bili  $4,0 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$ ,  $0,276 \text{ Pa}$  i  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , respektivno. Kao kolizioni gas je korišćen azot velike čistoće. Opseg skeniranja je bio 40–400 m/z, a brzina skeniranja  $2,85 \text{ s ciklus}^{-1}$ . HPLC merenjima je prethodilo filtriranje analiziranih rastvora kroz Millex-GV (Millipore, SAD) membranske filtre sa veličinom pora od  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$ .

**Voltometrija.** CPE su napravljene od komercijalno dostupnog grafitnog praha CR 5 i vezivne tečnosti ( $0,1 \text{ cm}^3$  vezivne tečnosti i  $0,25 \text{ g}$  grafitnog praha), intenzivnim mešanjem sastojaka u porcelanskom avanu u trajanju od 30 minuta, a zatim je pasta pakovana u teflonski kalup sa metalnim zavrtnjem koji omogućava istiskivanje paste (slika 13).



Slika 13. Oprema za pravljenje CPE.



Svaka elektroda je bila podvrgnuta procesu starenja od minimum 24 sata pre korišćenja. Zbog isparljivosti pojedinih vezivnih tečnosti napravljene elektrode su bile obmotane Parafilmom M (Alcan Packaging, SAD) i čuvane u frižideru sve do izvođenja merenja. Površinski sloj elektrode je odstranjen pre svake serije merenja istiskivanjem male količine paste i skidanjem površinskog sloja pomoću vlažne filter hartije. Radi postizanja kvalitetnijih signala, primenjeno je *ex situ* elektrohemijsko kondicioniranje. Naime, neposredno pre merenja CPE su podvrgnute *ex situ* cikliranju potencijala (10 ciklusa) u intervalu od -0,60 V do -1,50 V u posebnoj elektrohemijskoj ćeliji sa osnovnim elektrolitom odgovarajuće pH-vrednosti.

Radi obnavljanja površine GCE, pre svakog merenja i pre svakog nanošenja filma, elektrode su polirane vodenom suspenzijom  $\text{Al}_2\text{O}_3$  različitog granulometrijskog sastava i na kraju primenom suspenzije čestica prečnika 0,05  $\mu\text{m}$ . Nakon poliranja elektrode su detaljno oprane pod mlazom dvaput destilovane vode, a zatim, radi uklanjanja eventualno zaostalih čestica  $\text{Al}_2\text{O}_3$  tretirane u ultrazvučnom kupatilu u toku pet minuta. Radi postizanja kvalitetnijih signala, pored poliranja, primenjena je i *ex situ* elektrohemijska aktivacija. Slično kao kod CPE, GCE elektrode su kondicionirane *ex situ* cikliranjem potencijala (10 ciklusa) u intervalu od 0,20 V do -1,60 V, u posebnoj elektrohemijskoj ćeliji sa osnovnim elektrolitom odgovarajuće pH-vrednosti ili sa rastvorom za elektrodepoziciju.

BiFE je pripremana *ex situ* depozicijom bizmuta na površini GCE [20]. Rastvor za elektrodepoziciju se sastoji od 0,02 mol  $\text{dm}^{-3}$   $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ , 1 mol  $\text{dm}^{-3}$  HCl i 0,5 mol  $\text{dm}^{-3}$  KBr. Optimalni potencijal elektrolize je bio -0,25 V, a vreme elektrolize 60 s u mirnom rastvoru. Posle nanošenja filma BiFE je prana pomoću 1 mol  $\text{dm}^{-3}$  HCl. Pre početka

elektrodepozicije GCE je neophodno aktivirati cikliranjem potencijala u opsegu od 0,00 V do -0,60 V. Površina GCE je obnavljana primenom potencijala od +0,20 V i glačanjem.

Za voltametrijska merenja su korišćene elektrohemijske ćelije zapremine od 5–50 cm<sup>3</sup>. Radi eliminisanja uticaja rastvorenog kiseonika kroz analizirani rastvor je produvavan azot u toku 10 minuta. U slučaju primene BiFE, zbog manje osetljivosti na prisustvo rastvorenog kiseonika, nije bilo potrebe za njegovim uklanjanjem. Za određivanje visina i površina pikova su korišćeni odgovarajući softverski paketi primenjenih elektrohemijskih analizatora.

**Infracrvena spektrometrija.** Uzorci za praćenje fotorazgradnje imidakloprida i acetamiprida su dobijeni razgradnjom navedenih jedinjenja u fotoreaktoru u prisustvu TiO<sub>2</sub> (detaljan opis fotodegradacionih postupaka je dat kasnije). Uzorci iz reaktora su uzimani diskontinualno. Dobijeni uzorci su filtrirani kroz Millex-GV filtre, a filtrati su prebačeni u petrijeve šolje i sušeni na sobnoj temperaturi do isparavanja vode. Suvi ostatak je rastvaran u poznatoj zapremini hloroforma i sipan u KBr kivetu. FTIR spektri su snimani u osegu od 400–4000 cm<sup>-1</sup>.

**Skenirajuća elektronska mikroskopija sa detektorom na bazi energetske disperzije.** Površine grafitnog praha CR 5, TCP-CPE i GCE su proučavane primenom napona od 20 kV. U slučaju grafitnog praha CR 5 i TCP-CPE nije bilo potrebno posebno pripremanje uzorka pre snimanja. Sva EDS merenja su rađena na reprezentativnom površinskom segmentu.

**Priprema realnih uzoraka za analizu.** Uzorci komercijalne formulacije Actara 25 WG su sprašeni i homogenizovani u porcelanskom avanu, a zatim su rastvoreni u dvaput

destilovanoj vodi. Navedeni rastvor je zatim postupno razblaživan po potrebi. Formulacije Confidor 200 SL i Macho 200 SL su postupno razblaživane po potrebi. Uzorci rečne vode su uzeti iz Dunava kod Novog Sada i čuvani na 4 °C u mraku pre izvođenja eksperimenata. Pošto u navedenom uzorku vode nisu nađene detektabilne količine neonikotinoidea, pre testiranja razrađenih metoda u navedeni uzorak je dodata poznata količina imidakloprida i tiametoksama (pojedinačno). Fotokatalitička i fotolitička razgradnja imidakloprida i acetamiprida (priprema uzoraka za testiranje BiFE) je rađena u fotohemijском reaktoru (maks. zapremina 30,0 cm<sup>3</sup>) napravljenom od Pyrex-stakla. Reaktor je bio okružen vodenim plaštom, a mešanje rastvora je izvedeno pomoću magnetne mešalice. Reaktor je posedovao otvore za uduvavanje kiseonika i za uzorkovanje. Rastvori su bili ozračivani živinom lampom od 125 W (HPL-N, Philips, Holandija), sa emisionim linijama na talasnim dužinama od 304, 314, 335 i 366 nm (emisioni maksimum je na 366 nm). Vodeni rastvori ispitivanih neonikotinoidea bez TiO<sub>2</sub> i sa suspenzijom TiO<sub>2</sub> (2 mg cm<sup>-3</sup>) su bili tretirani u ultrazvučnom kupatilu i pre ozračivanja termostatirani na 43 °C. Fotolitički i fotokatalitički procesi su se odvijali pri kontrolisanim uslovima: na 43 °C uz konstantno mešanje i produvanje kiseonika brzinom od oko 9,1 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>. Alikvoti su uzimani diskontinualno. Početne koncentracije imidakloprida i acetamiprida pre ozračivanja su bile u opsegu od 144–333 µg cm<sup>-3</sup>. Pri voltometrijskom praćenju fotolitičke i fotokatalitičke degradacije, navedeni uzorci su bili razblaženi pomoću 1,0 mol dm<sup>-3</sup> rastvora KCl i Britton-Robinson pufera pH 8,0 za imidaklopid i pH 3,0 za acetamiprid, u odnosu 6:1:5, v/v. Solarna fotodegradacija imidakloprida, tiametoksama, klotianidina i nitenpirama (priprema uzoraka za testiranje TCP-CPE) početnih koncentracija 102,26, 116,68, 99,87 i 108,29 µg cm<sup>-3</sup> je vršena u

sterilizovanim odmernim sudovima od 250,0 cm<sup>3</sup> u prisustvu i odsustvu TiO<sub>2</sub> (2 mg cm<sup>-3</sup>). Ozračivanje je vršeno sunčevim zracima u toku meseca septembra 2009. godine. Uzorci za analizu su uzimani svakog dana. Paralelne probe rastvora istih neonicotinoida su držane u mraku u prisustvu i odsustvu TiO<sub>2</sub>, radi ispitivanja njihove stabilnosti u odsustvu svetlosti. Pri voltametrijskom praćenju fotolitičke i fotokatalitičke degradacije, uzorci su bili razblaženi sa dvaput destilovanom vodom i Britton-Robinsonovim puferom pH 7,0 u odnosu 1:1:2, v/v. Voltametrijsko ispitivanje fotodegradacionih uzoraka je vršeno bez filtriranja.

**Validnost analitičkih metoda.** Linearnost odziva voltametrijskih i hromatografskih metoda je ispitivana merenjem u rastvorima sa minimalno pet različitih koncentracija. Na osnovu eksperimentalnih podataka granica detekcije (GD) i granica određivanja (GO) su određene računskim putem [101, 102]. RSD u slučaju svih ispitivanih jedinjenja je određena pri najnižoj koncentraciji sa kalibracione krive, na osnovu serija signala od minimalno šest merenja. Rezultati razvijenih voltametrijskih metoda su upoređivane sa rezultatima opšteprihvaćene HPLC/DAD metode. U nekim slučajevima su vršena i FTIR uporedna merenja.

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

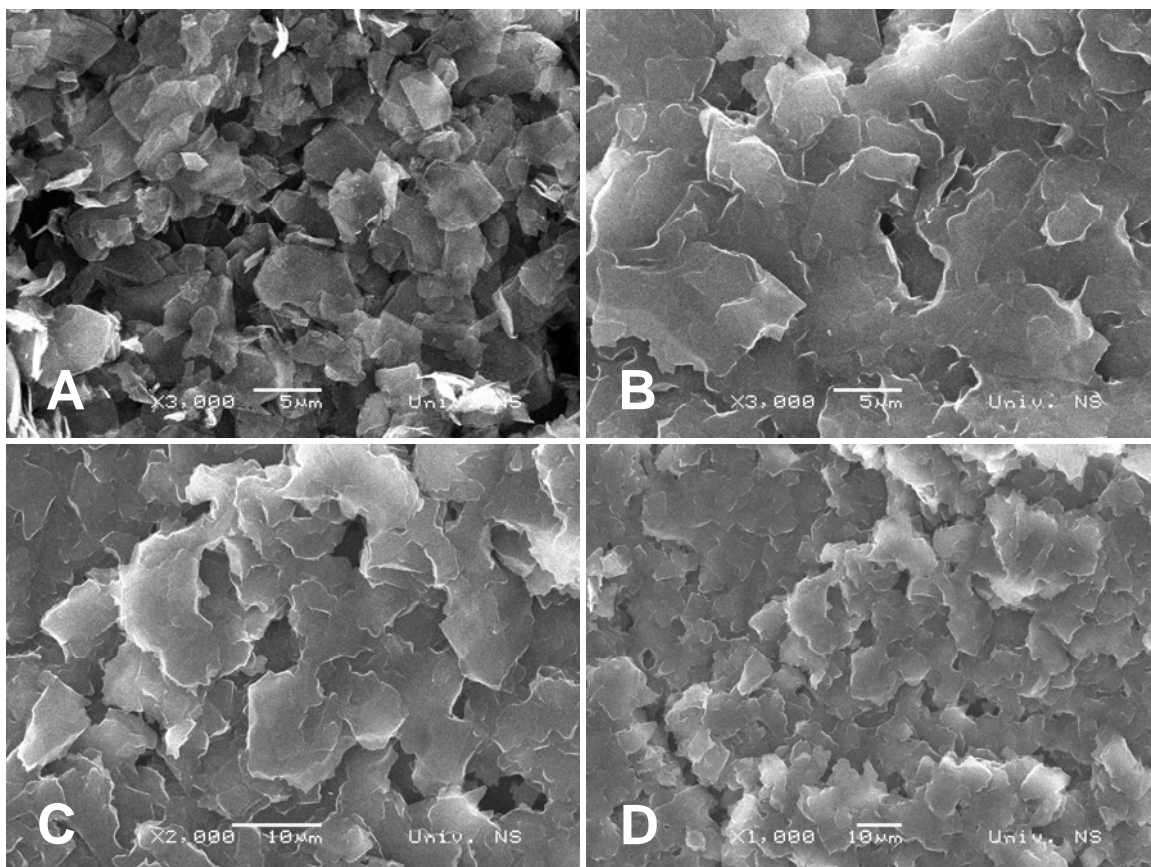
### 5.1. VOLTAMETRIJSKO ISPITIVANJE NEONIKOTINOIDA POMOĆU ELEKTRODA OD UGLJENIČNE PASTE

#### 5.1.1. Osnovne karakteristike elektroda od ugljenične paste

Primenljivost TCP-CPE je proučavana sa glavnim ciljem da se ova elektroda iskoristi za određivanje odabranih neonikotinoida sa *N*-nitroiminskom (imidaklopid, tiametoksam i klotianidin) i 2-nitrometilenskom (nitenpiram) elektroaktivnom funkcionalnom grupom. Različiti eksperimentalni parametri, kao što su, na primer, efekat rastvorenog kiseonika, kondicioniranje elektrode, efekat pH-vrednosti pomoćnog elektrolita i efekti vezivnog sredstva su bili ispitivani i optimizovani radi postizanja što niže rezidualne struje i što intenzivnijih signala analita.

Fizička karakterizacija CR 5 grafitnog praha, osnovnog sastojka elektrodnog materijala i reprezentativne površine dobijene TCP-CPE je vršena metodom SEM, pri čemu je uočena značajna razlika između ispitivanih površina. Naime, karakteristične, diskretne čestice CR 5 grafitnog praha sa oštrim ivicama, nepravilnog oblika i veličine od oko 5-10  $\mu\text{m}$ , su jasno prepoznatljive na slici 14A. U slučaju površine TCP-CPE, čestice grafitnog praha nisu prisutne kao pojedinačne jedinice, nego su vezane jedna za drugu,

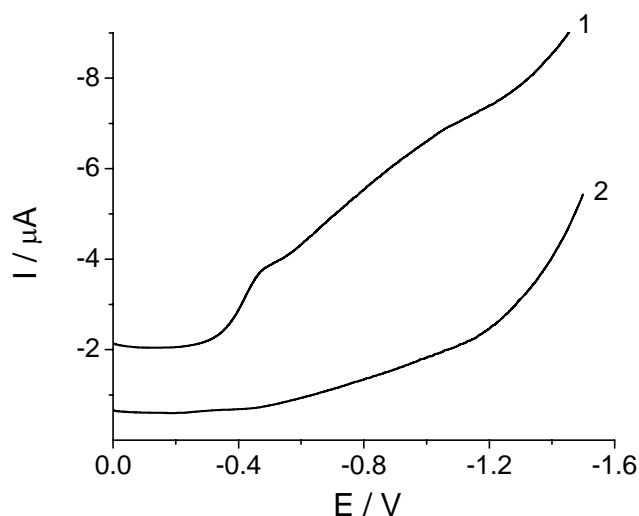
formirajući relativno kompaktnu masu (slike 14B-C). Ova struktura je posledica prisustva vezivne tečnosti između čestica.



Slika 14. SEM snimci površinske strukture CR 5 grafitnog praha (A) i TCP-CPE (B-D).  
Uvećanje: 3000 (A, B), 2000 (C) i 1000 (D).

Prisustvo signala kiseonika u toku ispitivanja u katodnoj oblasti je generalno nepoželjno zbog deformacije bazne linije ili čak signala od interesa. Kiseonik sa jedne strane može biti prisutan u ispitivanom rastvoru, a sa druge strane može da se nalazi u samom elektrodnom materijalu. TCP kao vezivno sredstvo, zbog efikasnog blokiranja adsorpcionih mesta, daje pastu sa приметно nižim redukcionim odzivom kiseonika u odnosu na CPE sa konvencionalnim vezivnim sredstvima [103]. Visoko lipofilni molekuli TCP su u stanju da fino prekriju ugljenične čestice, sprečavajući zarobljavanje

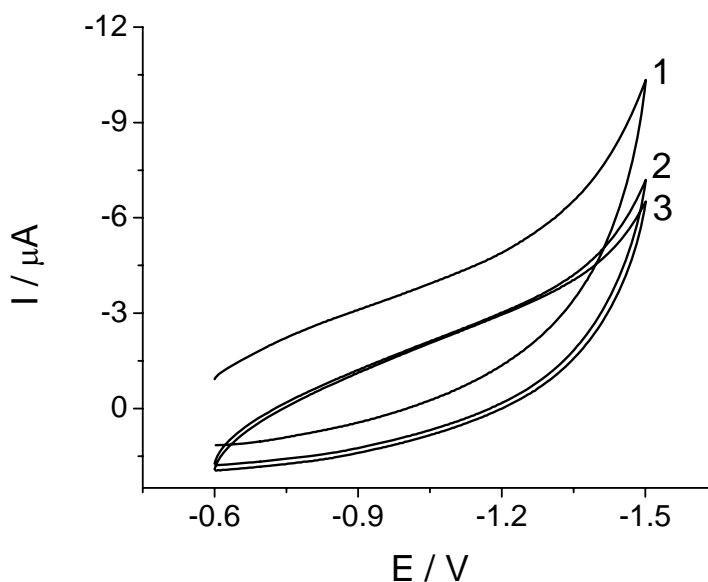
kiseonika iz vazduha. Zbog toga efekat prisustva kiseonika u samom elektrodnom materijalu nije proučavan. S druge strane se jasno vidi (slika 15) da provođenje inertnog gasa kroz ispitivani rastvor je neophodno zbog intenzivnog signala rastvorenog kiseonika u ispitivanoj potencijalskoj oblasti. Kriva 1 je snimljena u Britton-Robinson puferu pH 7,0 u prisustvu atmosferskog kiseonika, koji daje širok redukcionni signal u oblasti od -0,35 do -1,20 V. Zbog toga je kroz sve ispitivane rastvore prođuvavan azot u trajanju od 10 minuta. Signal kiseonika se ne pojavljuje na krivoj 2, koja je snimljena nakon prođuvavanja rastvora, a sa druge strane dolazi i do značajnog smanjenja rezidualne struje.



Slika 15. Izgled bazne linije snimljene DPV tehnikom u Britton-Robinson puferu pH 7,0 na TCP-CPE bez prođuvavanja azota (1) i posle prođuvavanja azota u trajanju od 10 minuta (2). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa 50 mV, širina pulsa 50 ms.

Kao što je naglašeno u uvodnom delu, postupci aktivacije površine u slučaju čvrstih elektroda često počinju mehaničkom obradom, npr. poliranjem. U slučaju CPE taj deo posla se svodi na skidanje površinskog sloja elektrode pomoću vlažne filter-hartije. To

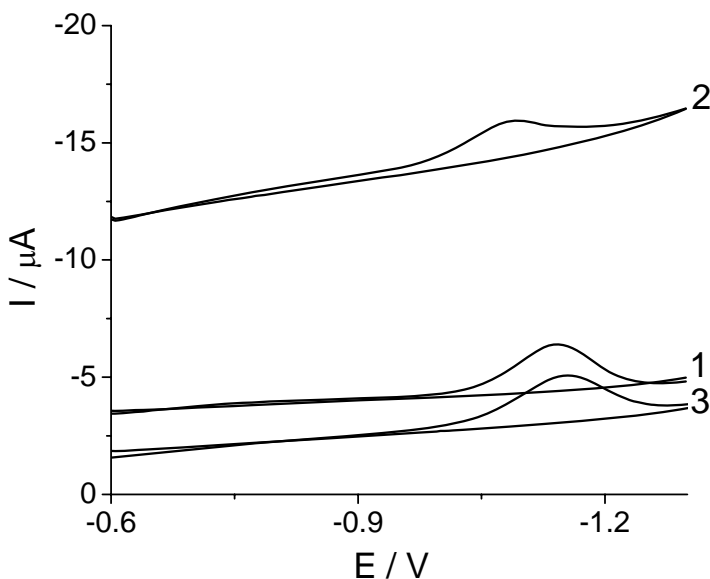
može da bude ili samostalna metoda, ili se zbog prirode ispitivanog sistema, primenjuje u kombinaciji sa nekom drugom tehnikom, npr. elektrohemijским kondicioniranjem, što podrazumeva ciklično menjanje potencijala CPE u opsegu u kojem se izvodi analiza. Sa slike 16 se može videti da elektrohemijски kondicionirana elektroda u Britton-Robinson puferu pH 7,0 u oblasti od -0,60 do -1,50 V ima nižu prenapetost izdvajanja vodonika nego elektroda bez cikliranja potencijala. Rezidualna struja je takođe znatno niža u slučaju tretirane elektrode, a dolazi i do dodatne stabilizacije bazne linije. U okviru ispitivanja efekta pretretmana, upoređujući uticaj različitog broja primenjenih ciklusa u osnovnom elektrolitu, vidi se da su voltamogrami dobijeni nakon petog i desetog uzastopnog ciklusa veoma slični (slika 16, krive 2 i 3), na osnovu čega se može zaključiti da cikliranje posle desetog ciklusa ne vodi značajnijem poboljšanju kvaliteta bazne linije i snižavanju rezidualne struje.



Slika 16. Uticaj cikliranja potencijala na TCP-CPE u Britton-Robinson puferu pH 7,0: prvi ciklus (1), peti ciklus (2), deseti ciklus (3);  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .

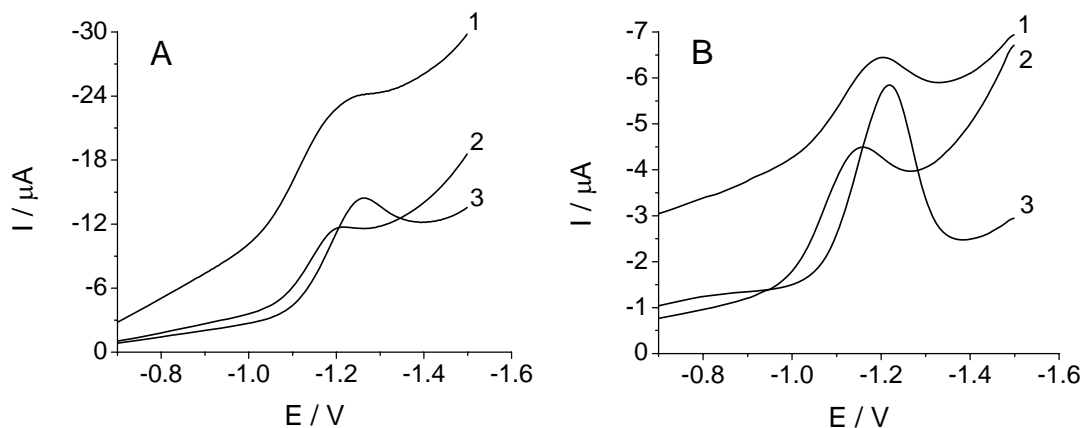


Zbog relativno visoke isparljivosti TCP, potrebno je bilo ispitati životni vek TCP-CPE. Snimljeni su DPV signali imidakloprida pri pH 7,0 u test-rastvorima identične koncentracije prvog i sedmog dana nakon pripreme elektrode i posle 5,5 meseca. Kao što se vidi sa slike 17 (krive 1, 2), TCP-CPE vremenom gubi osetljivost (nakon nedelju dana signal se smanjuje oko 25%), a sa druge strane dolazi do porasta rezidualne struje. Prema tome možemo zaključiti da je TCP-CPE upotrebljiva nekoliko dana. Međutim, ovaj nedostatak se može lako ukloniti, ako elektrodu nakon pripreme čuvamo obavijenu Parafilmom M, koji usporava isparavanje vezivne tečnosti. Na taj način elektroda ostaje upotrebljiva i nakon više meseca lagerovanja (kriva 3).



Slika 17. Upoređivanje DPV signala TCP-CPE u rastvoru imidakloprida koncentracije  $33,34 \mu\text{g cm}^{-3}$  sa odgovarajućim baznim linijama: 1 dan nakon pripreme elektrode (1), nakon 7 dana (2) i nakon 5,5 meseci, pri čemu je površina elektrode bila obavijena Parafilmom M (3). Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .

Voltametrijski odziv TCP-CPE je upoređen sa odzivom CPE na bazi silikonskog ulja (SO-CPE) i *n*-tetradekana (C14-CPE) pri pH 7,0, znajući da je neutralna ili slabo bazna sredina najpogodnija za određivanje neonikotinoide sa nitro-grupom [20, 26, 55-59], pri čemu je kao test-jedinjenje korišćen imidakloprid. Optimalna elektroda za njegovo određivanje je izabrana na osnovu upoređivanja intenziteta i oblika odgovarajućih LSV (voltometrija sa linearnom promenom potencijala) (slika 18A), a pre svega DPV (slika 18B) signala dobijenih pomoću različitih CPE. Prednost TCP-CPE (kriva 3) u odnosu na SO-CPE (kriva 1) i C14-CPE (kriva 2) je jasno uočljiva. Voltamogrami snimljeni pomoću TCP-CPE u LSV i DPV eksperimentima su jasno definisani, sa niskom rezidualnom strujom i najintenzivnijim pikovima u poređenju sa signalima ostalih CPE.

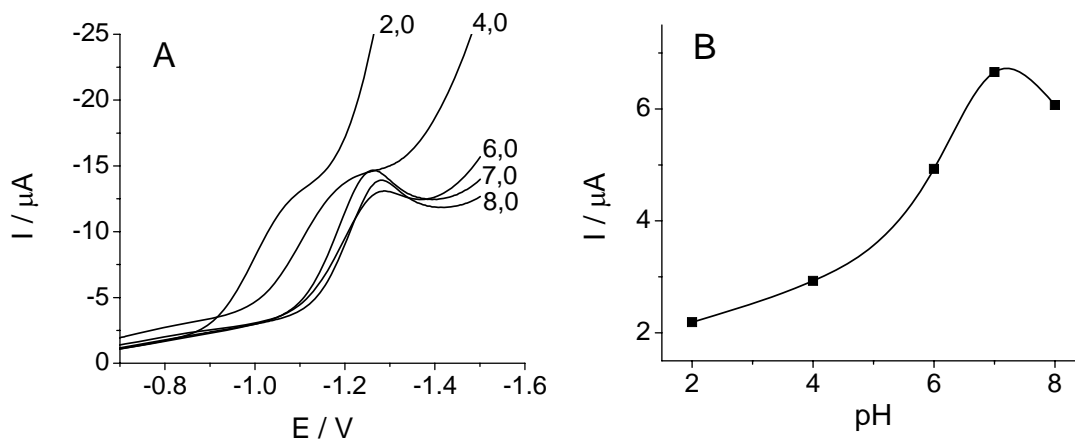


Slika 18. Upoređivanje LSV (A) i DPV (B) signala dobijenih pomoću različitih radnih elektroda: SO-CPE (1), C14-CPE (2) i TCP-CPE (3) u istom rastvoru imidakloprida. Uslovi merenja:  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$  (A) ili  $25 \text{ mV s}^{-1}$  (B), amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$  (B), širina pulsa  $50 \text{ ms}$  (B),  $c = 33,34 \text{ } \mu\text{g cm}^{-3}$  (A, B),  $\text{pH} = 7,0$  (A, B).

Ovakvo ponašanje TCP-CPE je verovatno posledica polarnosti TCP, što olakšava kontakt između relativno polarnih molekula imidakloprida i elektrodne površine, za razliku od ostalih nepolarnih vezivnih tečnosti. Redukcioni pik imidakloprida na TCP-CPE se nalazi pri nešto negativnijim potencijalima nego na SO-CPE (slika 18B, kriva 1), C14-CPE (slika 18B, kriva 2) i GCE, ali to ne predstavlja problem zbog širokog potencijalskog prozora TCP-CPE u katodnoj oblasti. Kao što je to ranije utvrđeno, optimalni merni parametri pri DPV određivanju imidakloprida (i drugih neonikotinoida) su sledeći: amplituda pulsa, 50 mV; širina pulsa, 50 ms i brzina snimanja, 25 mV s<sup>-1</sup> [20, 26].

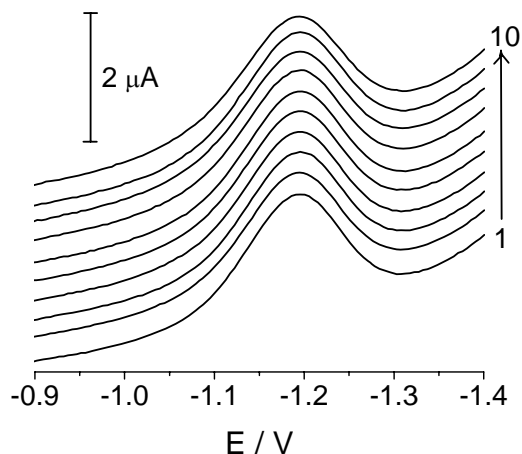
#### 5.1.2. Karakterizacija i određivanje neonikotinoida pomoću elektroda od ugljenične paste u model-rastvorima

Pre primene TCP-CPE za kvantitativno određivanje imidakloprida, izvršena je njegova dodatna karakterizacija. U tu svrhu su snimljene LSV krive u pH-oblasti od 2,0 do 8,0 (slika 19). Kao što se vidi, sa porastom pH-vrednosti potencijal pika se pomera ka negativnijim vrednostima. S druge strane, najoštrij i najsimetričniji pikovi se dobijaju za neutralne i slabo alkalne rastvore, što je u dobroj saglasnosti sa ranijim ispitivanjima neonikotinoida sa nitro-grupom [20, 26, 55-59]. Na osnovu ovoga i zbog izbegavanja moguće hidrolize TCP u alkalnoj sredini, za određivanje imidakloprida je odabrana pH-vrednost 7,0.



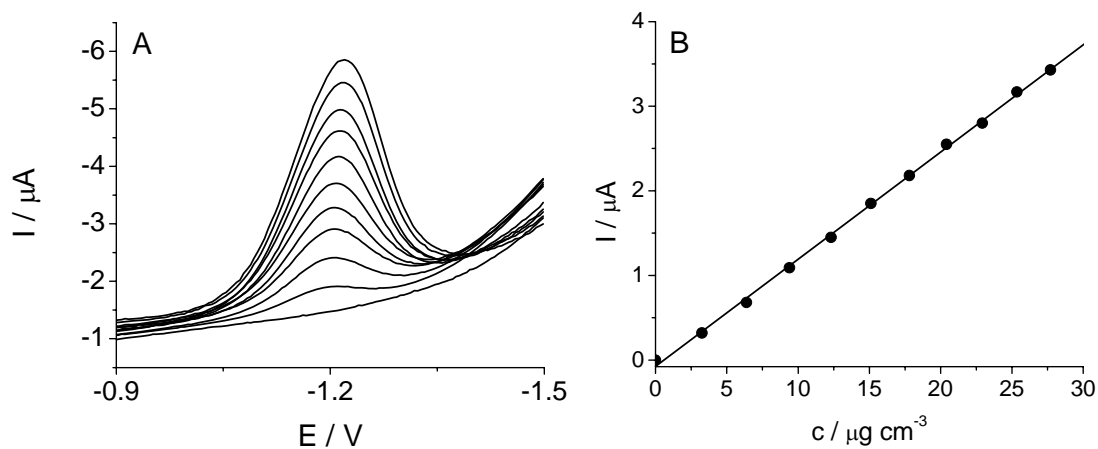
Slika 19. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na LSV signale imidakloprida (A) i visinu pika (B) na TCP-CPE. Uslovi merenja:  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $c = 33,34 \mu\text{g cm}^{-3}$ .

Takođe je ispitana i stabilnost signala na TCP-CPE, pre svega da bi se ispitale moguće promene u analitičkom signalu usled eventualnih adsorpcionih ili apsorpcionih procesa. Na slici 20 se vide uzastopno snimljene krive za rastvor imidakloprida. Nije uočena značajnija promena analitičkog signala u toku 30 minuta merenja, što ukazuje na odsustvo značajnijih adsorpcionih i apsorpcionih procesa imidakloprida na/u TCP-CPE.



Slika 20. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću TCP-CPE za  $15,11 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor imidakloprida pri  $\text{pH} = 7,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .

Kvantitativno DPV određivanje imidakloprida u model-rastvorima se zasniva na linearnoj zavisnosti između intenziteta redukcionih pikova i koncentracije proučavanog analita (slika 21).



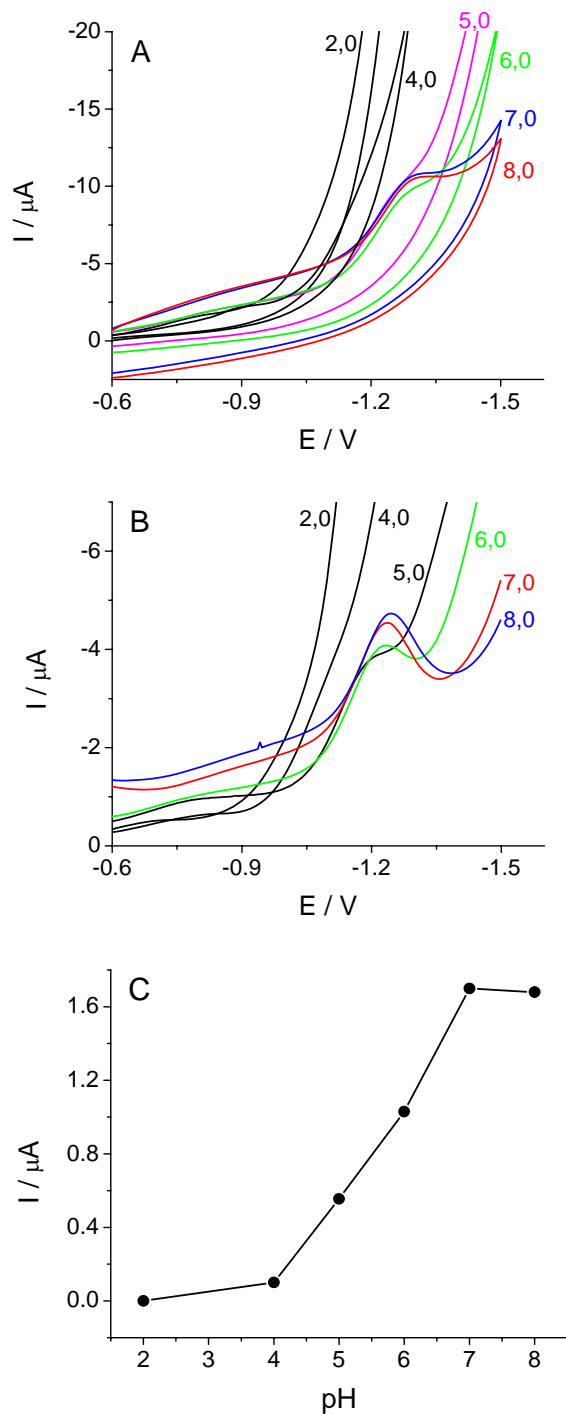
Slika 21. DPV signali imidakloprida na TCP-CPE pri različitim koncentracijama (A) i odgovarajuća kalibraciona prava (B). Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

Analitički parametri razvijene DPV metode su prikazani u tablici 7, zajedno sa rezultatima komparativne HPLC/DAD metode. Kao što se vidi, imidakloprid je određivan pomoću DPV u koncentracionalnoj oblasti od 1,73–30,0  $\mu\text{g cm}^{-3}$ , pri čemu RSD (za šest uzastopnih merenja pri 3,26  $\mu\text{g cm}^{-3}$ ) nije prelazila 1,4%. Granica određivanja metode za imidakloprid je iznosila 1,73  $\mu\text{g cm}^{-3}$ .

Tablica 7. Analitički parametri za DPV i HPLC/DAD određivanje imidakloprida. *r*: korelacioni koeficijent; *GD*: granica detekcije; *GO*: granica određivanja.

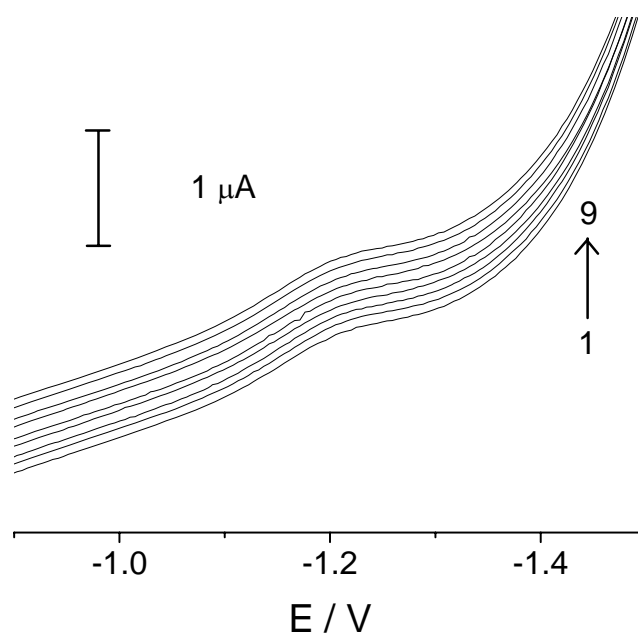
Parametar	Metoda	
	DPV	HPLC/DAD
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	1,73–30,0	0,075–15,0
Odsečak	- 0,0769 $\mu\text{A}$	- 0,57 mAU
Nagib	0,1268 $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$	0,108 mAU $\text{cm}^3 \text{ng}^{-1}$
<i>r</i>	0,999	0,999
GD [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,52	0,023
GO [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	1,73	0,075
RSD [%] ( <i>n</i> =9)	1,4	1,1

Pored imidakloprida, izvršena je karakterizacija i određivanje tiametoksama, klotianidina i nitenpirama na TCP-CPE (slike 22-30). Analitički parametri određivanja su prikazani u tablicama 8-10. Slično imidaklopridu, svi ovi neonicotinoidi sadrže nitro-grupu i zbog toga pokazuju veoma slično voltametrijsko ponašanje. Potencijali njihovih pikova se takođe pomeraju ka negativnijim vrednostima sa porastom pH-vrednosti. Najintenzivniji signali se dobijaju u neutralnim i slabo baznim rastvorima (slike 22, 25, 28).



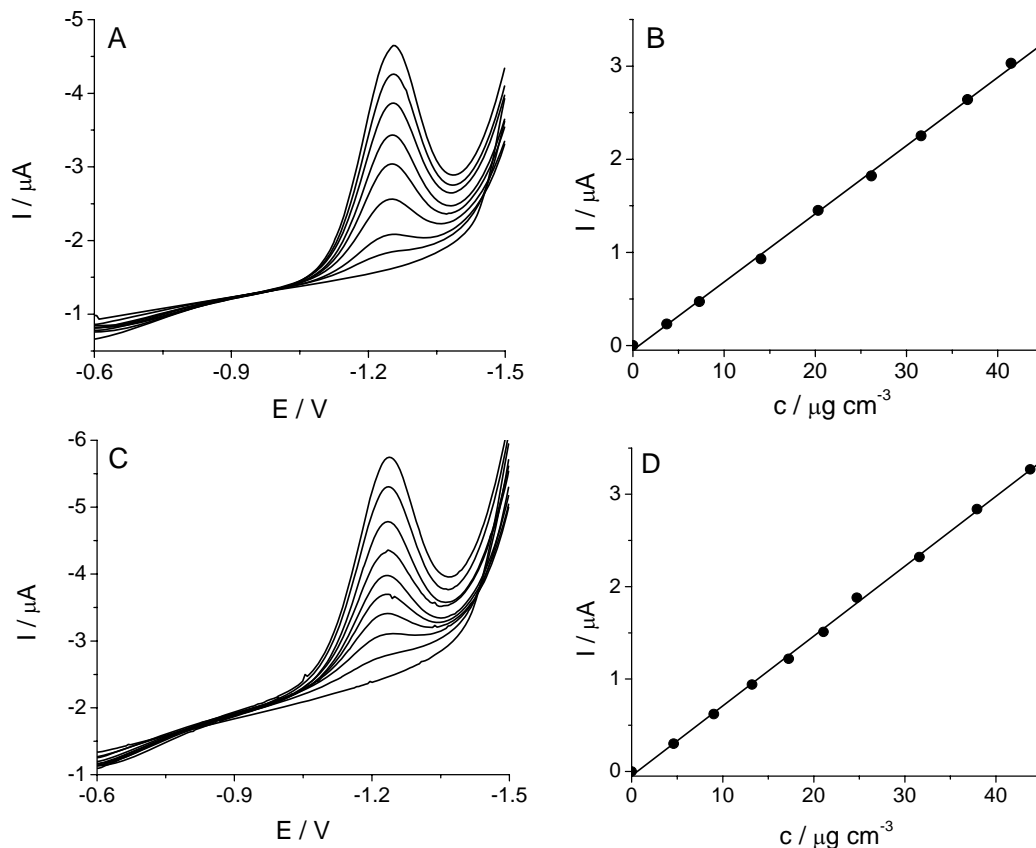
Slika 22. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na CV (A) i DPV (B) signale tiametoksama, i visinu DPV pika (C) na TCP-CPE. Uslovi merenja:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (A) ili  $25 \text{ mV s}^{-1}$  (B), amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$  (B), širina pulsa  $50 \text{ ms}$  (B),  $c = 31,60 \mu\text{g cm}^{-3}$  (A-C).

Zbog izbegavanja moguće hidrolize TCP i ispitivanih insekticida u alkalnoj sredini, pH 7,0 je odabrana za njihovo određivanje. Na slikama 23, 26 i 29 se vide uzastopno snimljene krive za različite koncentracije tiametoksama, klotianidina i nitenpirama. Nije uočena značajnija promena analitičkog signala u toku 30 minuta merenja, što ukazuje na odsustvo značajnijih adsorpcionih i apsorpcionih procesa ispitivanih komponenti na/u TCP-CPE.



Slika 23. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću TCP-CPE za  $3,72 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor tiametoksama pri  $\text{pH} = 7,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .



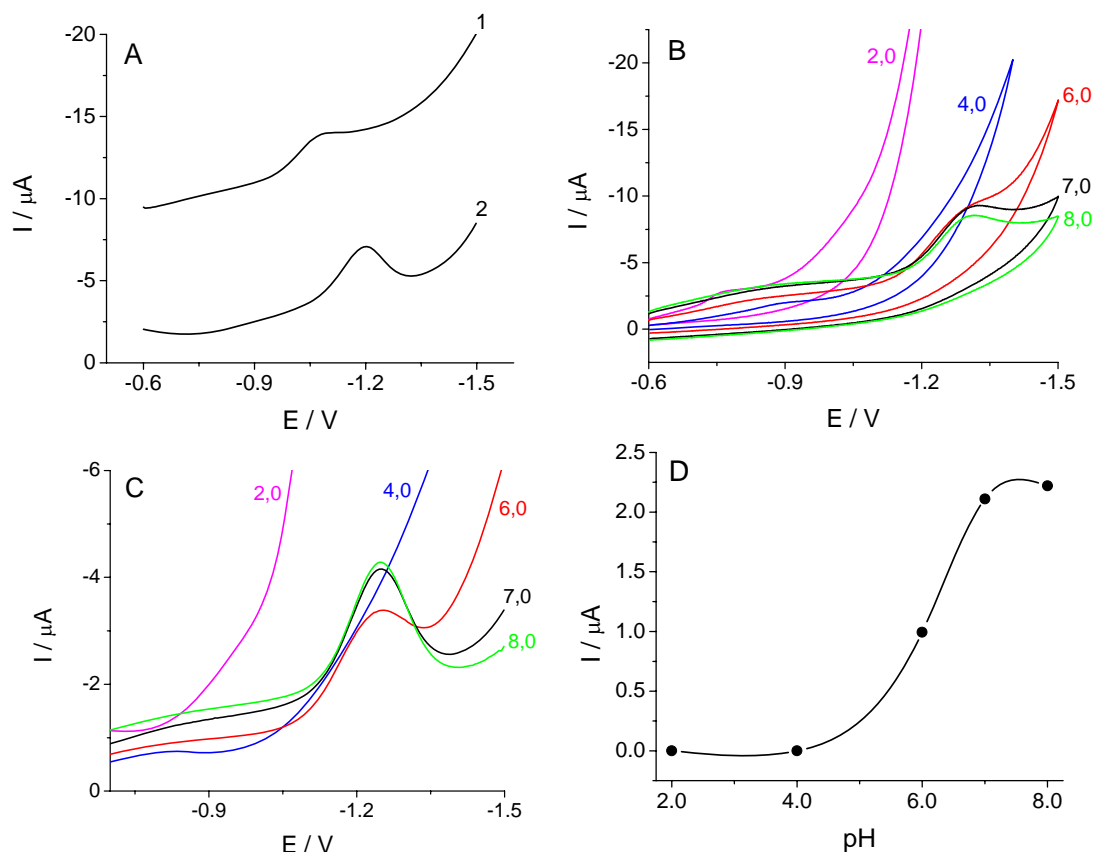


Slika 24. DPV signali tiametoksama pri različitim koncentracijama dobijeni pomoću dve TCP-CPE identičnog sastava (A, C) i odgovarajuće kalibracione prave (B, D). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa 50 mV, širina pulsa 50 ms,  $\text{pH} = 7,0$ .

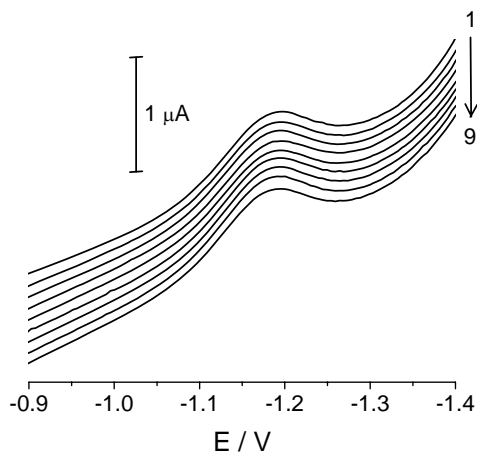
Tablica 8. Analitički parametri za DPV i HPLC/DAD određivanje tiametoksama.  $r$ : korelacioni koeficijent; GD: granica detekcije; GO: granica određivanja.

Parametar	Metoda	
	DPV	HPLC/DAD
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,23–43,6	0,28–25,0
Odsečak	- 0,0463 $\mu\text{A}$	2,23 mAU
Nagib	0,0751 $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$	0,079 mAU $\text{cm}^3 \text{ng}^{-1}$
$r$	0,999	0,999
GD [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,67	0,08
GO [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,23	0,28
RSD [%] ( $n=9$ )	1,3	1,9

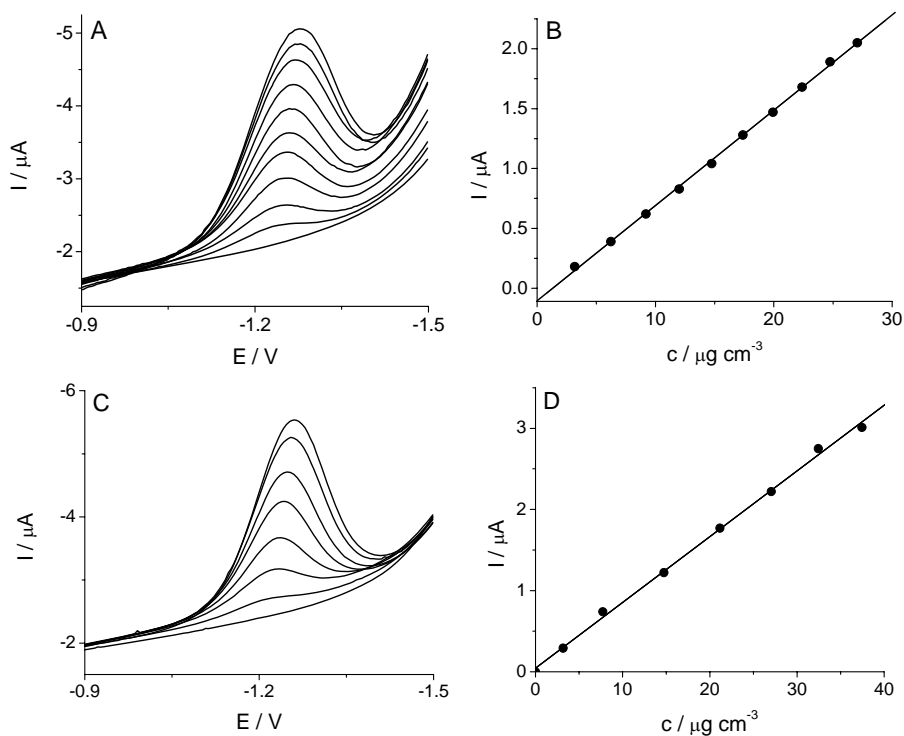
Slično imidaklopridu, i u slučaju klotianidina je ispitan uticaj vezivne tečnosti na signal ispitivane komponente. Sa slike 25A se jasno vidi da se imidakloprid i klotianidin slično ponašaju i da je signal mnogo manjeg intenziteta za SO-CPE (kriva 1) nego za TCP-CPE (kriva 2). Vrednosti rezidualne struje za TCP-CPE su takođe znatno niže.



Slika 25. Upoređivanje DPV signala dobijenih na različitim radnim elektrodama (A): SO-CPE (1) i TCP-CPE (2) u istom rastvoru klotianidina; i uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na CV (B) i DPV (C) signale klotianidina, i visinu DPV pika (D) na TCP-CPE. Uslovi merenja:  $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (B) ili  $25 \text{ mV s}^{-1}$  (A, C), amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$  (A, C), širina pulsa  $50 \text{ ms}$  (A, C),  $c = 27,05 \text{ } \mu\text{g cm}^{-3}$  (A-D),  $\text{pH} = 7,0$  (A).



Slika 26. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću TCP-CPE za  $7,73 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor klotianidina pri  $\text{pH} = 7,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .

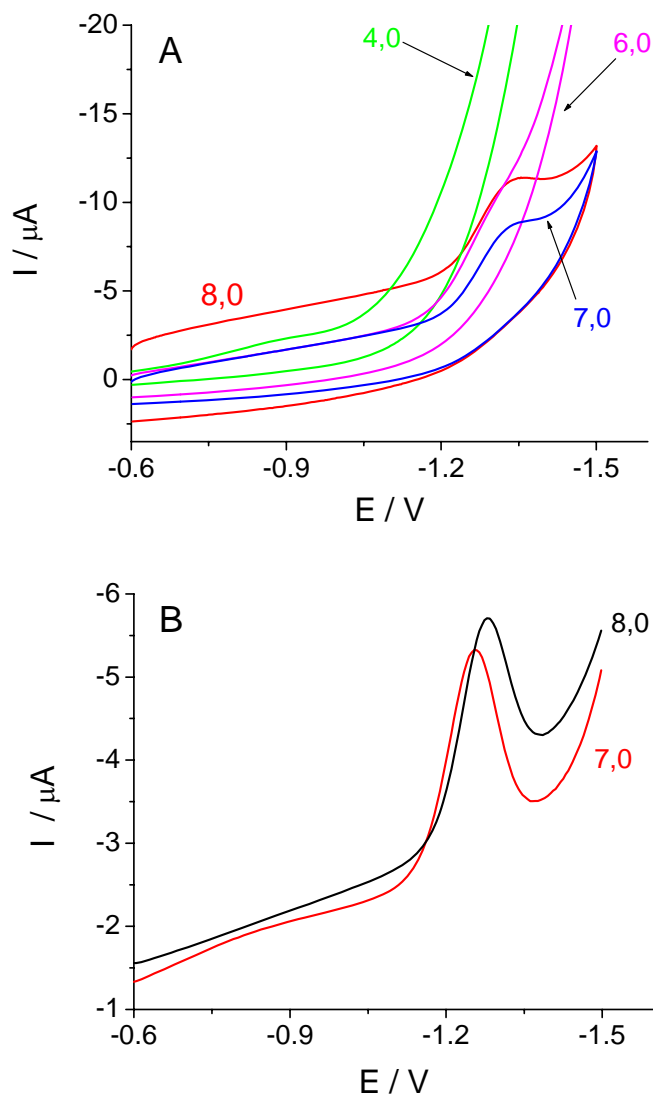


Slika 27. DPV signali klotianidina pri različitim koncentracijama dobijeni pomoću dve TCP-CPE identičnog sastava (A, C) i odgovarajuće kalibracione prave (B, D). Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

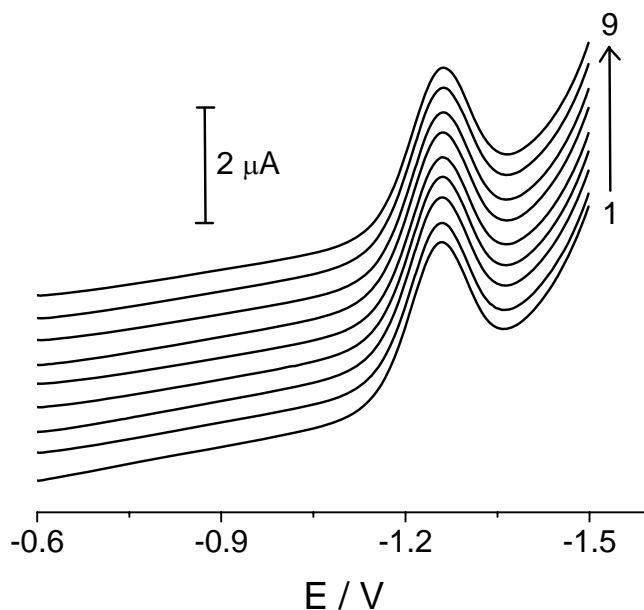
Tablica 9. Analitički parametri za DPV određivanje klotianidina.  $r$ : korelacioni koeficijent;  $GD$ : granica detekcije;  $GO$ : granica određivanja.

Parametar	Vrednost
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,70–37,45
Odsečak [ $\mu\text{A}$ ]	- 0,0308
Nagib [ $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	0,0803
$r$	0,999
$GD$ [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,81
$GO$ [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,70
RSD [%] ( $n=9$ )	1,9

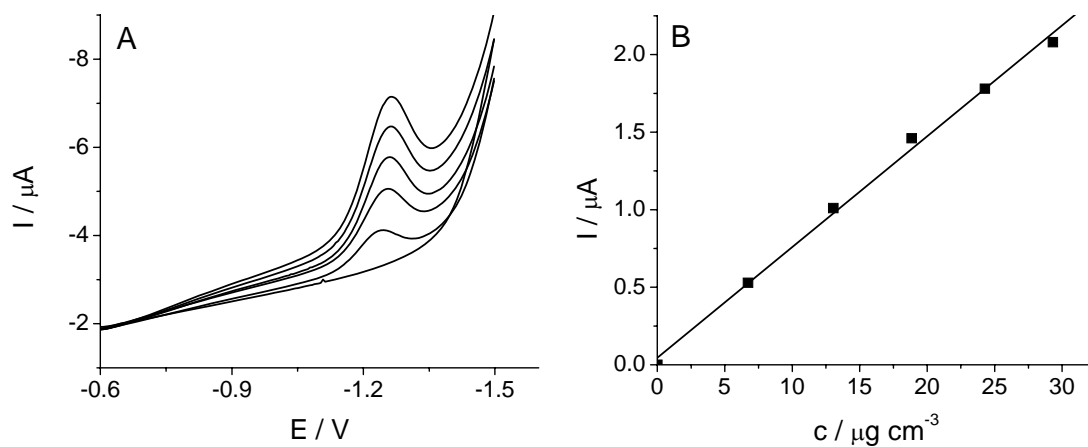
Prema literaturi, jedan od najvećih nedostataka CPE je da uspešnost njihove primene u kvantitativnoj analitičkoj hemiji umnogome zavisi od umešnosti i iskustva istraživača. Uopšteno gledano, ovo se odnosi i na čvrste elektrode, ali CPE predstavljaju specifičan slučaj. Za razliku od čvrstih elektroda, kod kojih svaka jedinka od istog proizvođača pruža praktično identične elektrohemijske osobine, kod CPE svaka pojedinačno napravljena elektroda predstavlja posebnu jedinku, s tim što između jedinki mogu da postoje značajne razlike. Zato se svaka CPE mora pojedinačno kalibrisati [104]. Zbog toga je bilo važno ispitati kako zavisi osetljivost određivanja, ako se primene različite jedinke TCP-CPE identičnog sastava napravljene u posebnim kalupima istih karakteristika. Utvrđeno je da u slučaju TCP-CPE ne postoji značajnija razika između različitih jedinki. Na slikama 24 i 27 je demonstrirana sličnost kalibracionih pravih za dve TCP-CPE. Upoređujući nagibe kalibracionih pravih možemo zaključiti da se osetljivost ne razlikuje više od 2%. Jasno se vidi da identične koncentracije tiametoksama (i klotianidina) daju praktično isti voltametrijski odziv na obe TCP-CPE.



Slika 28. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na CV (A) i DPV (B) signale nitenpirama na TCP-CPE. Uslovi merenja:  $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$  (A) i  $25 \text{ mV s}^{-1}$  (B), amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$  (B), širina pulsa  $50 \text{ ms}$  (B),  $c = 29,33 \mu\text{g cm}^{-3}$  (A, B).



Slika 29. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću TCP-CPE za  $29,33 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor nitenpirama pri  $\text{pH} = 7,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .



Slika 30. DPV signali nitenpirama na TCP-CPE pri različitim koncentracijama (A) i odgovarajuća kalibraciona prava (B). Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

Tablica 10. Analitički parametri za DPV određivanje nitenpirama. *r*: korelacioni koeficijent; *GD*: granica detekcije; *GO*: granica određivanja.

Parametar	Vrednost
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,51–29,33
Odsečak [ $\mu\text{A}$ ]	0,0452
Nagib [ $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	0,0714
<i>r</i>	0,998
<i>GD</i> [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,75
<i>GO</i> [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,51
RSD [%] ( <i>n</i> =9)	0,83

Analitički parametri razvijene DPV metode za određivanje tiametoksama, klotianidina i nitenpirama su prikazani u tablicama 8-10. U slučaju tiametoksama su prikazani i rezultati komparativne HPLC/DAD metode. Kao što se vidi, tiametoksam, klotianidin i nitenpiram su određivani pomoću DPV u koncentracionoj oblasti od 2,23–43,6, 2,70–37,45 i 2,51–29,33  $\mu\text{g cm}^{-3}$ , sa RSD od 1,3, 1,9 i 0,83%, respektivno. Granice određivanja za tiametoksam, klotianidin i nitenpiram su iznosile 2,23, 2,70 i 2,51  $\mu\text{g cm}^{-3}$ .

Upoređujući osetljivost određivanja (nagibe kalibracionih pravih) za četiri analizirana neonikotinoidea pomoću TCP-CPE, uočava se primetna razlika. Ova činjenica je verovatno posledica različite polarnosti i lipofilnosti ispitivanih neonikotinoidea i njihovih interakcija sa polarnom, ali relativno hidrofobnom površinom TCP-CPE. Nagibi kalibracionih pravih su manji u slučaju polarnijih komponenti – nitenpirama i tiametoksama. Manje polarni klotianidin i imidakloprid daju intenzivnije signale u ekvimolarnim rastvorima u odnosu na nitenpiram i tiametoksam.

Na osnovu svega izloženog je jasno da TCP-CPE predstavlja efikasnu radnu elektrodu za određivanje imidakloprida, tiametoksama, klotianidina i nitenpirama u

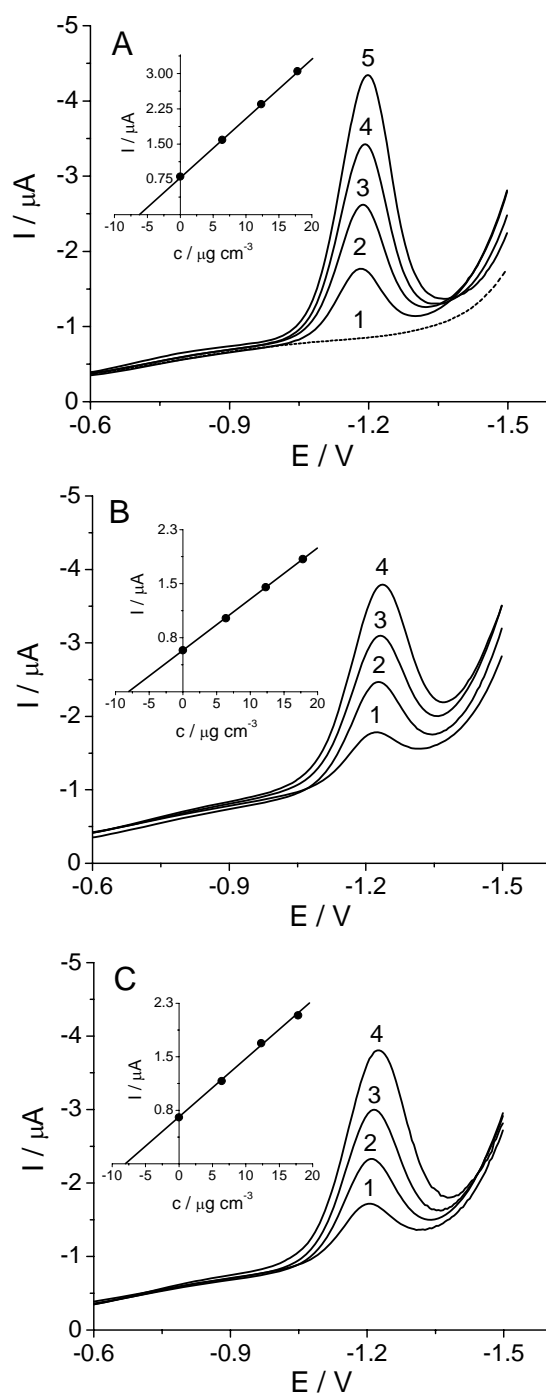
model-rastvorima. Ovde je potrebno istaći da ovaj rad predstavlja prvu primenu CPE za voltametrijsko određivanje neonikotinoidnih insekticida.

### 5.1.3. Primena elektrode od ugljenične paste za određivanje odabranih neonikotinoida u realnim uzorcima

Razvijene DPV metode za određivanje neonikotinoida su primenjene za određivanje imidakloprida i tiametoksama u različitim realnim uzorcima, kao što su komercijalne formulacije i "spajkovana" rečna voda. Pored toga, TCP-CPE je primenjena za ispitivanje stabilnosti i proučavanje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitenpirama, klotianidina, imidakloprida i tiametoksama.

Na sa slici 31 je prikazano određivanje imidakloprida u uzorku "spajkovane" rečne vode (Dunav, Novi Sad) i komercijalnim formulacijama Confidor 200 SL i Macho 200 SL. Kao što se može videti, matriks rečne vode i komercijalnih formulacija ne blokira elektrodnu površinu, niti pokazuje voltametrijske interferencije, što umnogome olakšava određivanje imidakloprida. Koncentracije aktivne komponente u navedenim uzorcima su bile određene metodom standardnog dodatka.





Slika 31. Određivanje imidakloprida u realnim uzorcima. Rečna voda (A): originalni uzorak (1), "spajkovani" uzorak (2), uzastopni standardni dodaci (3-5); komercijalne formulacije Confidor 200 SL (B) i Macho 200 SL (C): uzorak (1), uzastopni standardni dodaci (2-4). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

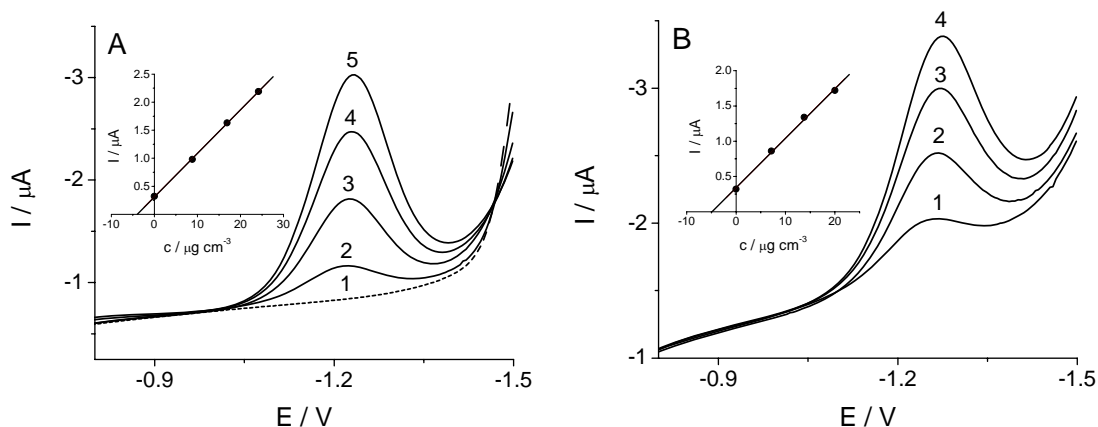
Veoma dobra korelacija između određivane i nominalne (dodate) količine i niske RSD vrednosti ukazuju na visoku tačnost i preciznost razvijene metode (tablica 11). S druge strane, nešto niža preciznost uočena kod određivanja imidakloprida u komercijalnim formulacijama u odnosu na uzorak rečne vode potiče verovatno od procesa uzorkovanja viskozne i lepljive tečne formulacije.

Rezultati komparativne HPLC/DAD analize su u dobroj saglasnosti za rezultatima voltametrijske metode, i u slučaju određivane koncentracije, i u slučaju RSD (tablica 11).

Tablica 11. Sadržaj imidakloprida u ispitivanim realnim uzorcima ( $n = 6$ ).

Uzorak	Dodata (nominalna) količina [ $\text{mg cm}^{-3}$ ]	Nađena količina [ $\text{mg cm}^{-3}$ ]		RSD [%]	
		DPV	HPLC/DAD	DPV	HPLC/DAD
Dunavska voda	$6,39 \times 10^{-3}$	$6,40 \times 10^{-3}$	$6,35 \times 10^{-3}$	1,6	0,8
Confidor 200 SL	$200 \pm 12$	196,4	195,8	2,0	2,1
Macho 200 SL	$200 \pm 12$	196,0	194,3	2,2	1,4

Slično određivanju imidakloprida, i tiametoksam je uspešno određivan u uzorku "spajkovane" rečne vode (Dunav, Novi Sad) i komercijalnoj formulaciji Actara 25 WG (slika 32). Ni u ovom slučaju nisu uočeni neželjeni efekti matriksa. Koncentracije tiametoksama određivane voltametrijskom metodom su u dobroj saglasnosti sa nominalnom (dodatim) količinom i sa rezultatima komparativne HPLC/DAD metode, a niske RSD vrednosti ukazuju na visoku tačnost i preciznost razvijene metode (tablica 12). Nešto niža preciznost određivanja tiametoksama u komercijalnoj formulaciji čvrstog agregatnog stanja verovatno potiče od nepotpune homogenizacije navedenog uzorka pre analize.



Slika 32. Određivanje tiametoksama u realnim uzorcima. Rečna voda (A): originalni uzorak (1), "spajkovani" uzorak (2), sukcesivni standardni dodaci (3-5); komercijalna formulacija Actara 25 WG (B): uzorak (1), sukcesivni standardni dodaci (2-4). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa 50 mV, širina pulsa 50 ms,  $pH = 7,0$ .

Tablica 12. Sadržaj tiametoksama u ispitivanim realnim uzorcima ( $n = 5$ ).

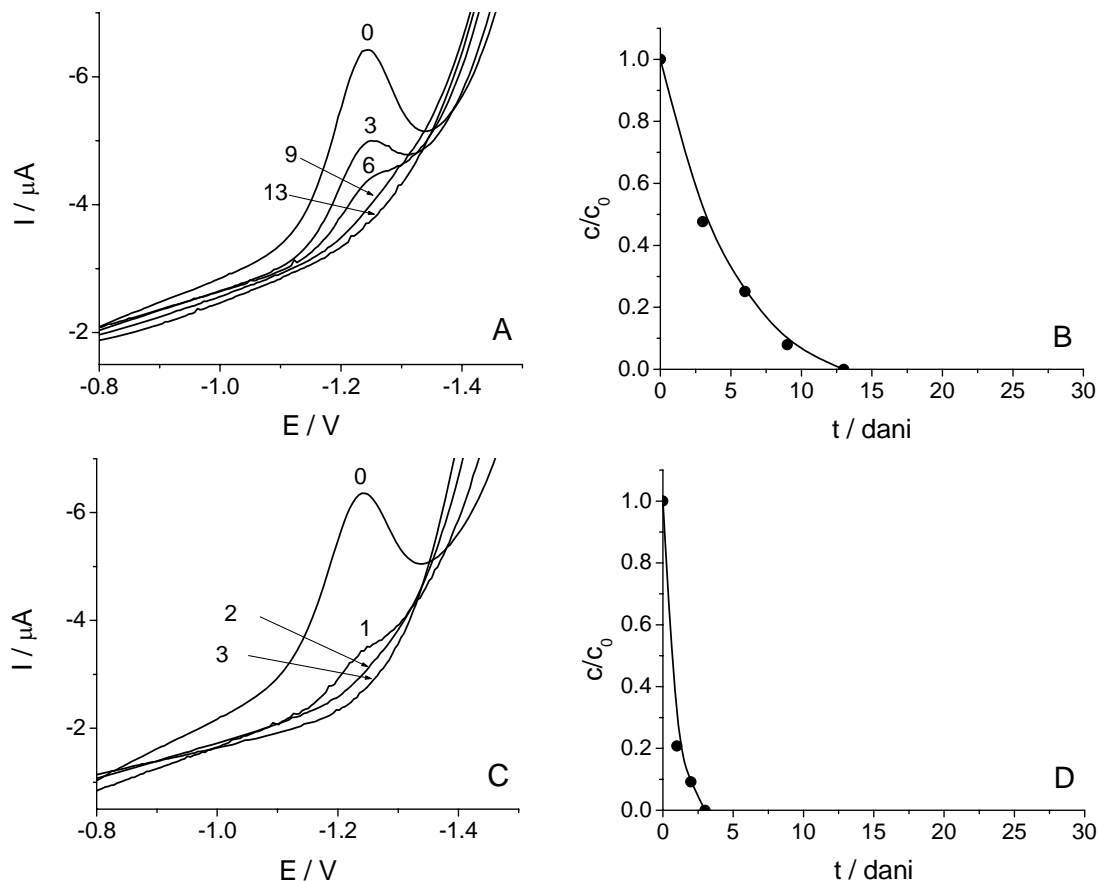
Uzorak	Dodata (nominalna) količina [ $\text{mg cm}^{-3}$ ]	Nađena količina [ $\text{mg cm}^{-3}$ ]		RSD [%]	
		DPV	HPLC/DAD	DPV	HPLC/DAD
Dunavska voda	$8,12 \times 10^{-3}$	$7,90 \times 10^{-3}$	$8,06 \times 10^{-3}$	3,0	0,53
Actara 25 WG	$250 \pm 60$	236,0	234,0	4,9	1,0

Dodate koncentracije neonikotinoidea u uzorcima rečne vode su bile relativno visoke. Određivanje nižih koncentracija, koje su mnogo verovatnije u realnim uzorcima iz životne sredine, je moguće primenom različitih metoda prekoncentracije pre analize. Bez obzira na činjenicu da HPLC analiza pruža mnogo više informacija o ispitivanim sistemima, razvijena voltometrijska metoda predstavlja alternativnu, brzu i jeftinu metodu za određivanje insekticida u uzorcima komercijalnih formulacija i rečne vode.

#### 5.1.4. Primena elektrode od ugljenične paste za praćenje fotorazgradnje odabranih neonikotinoida

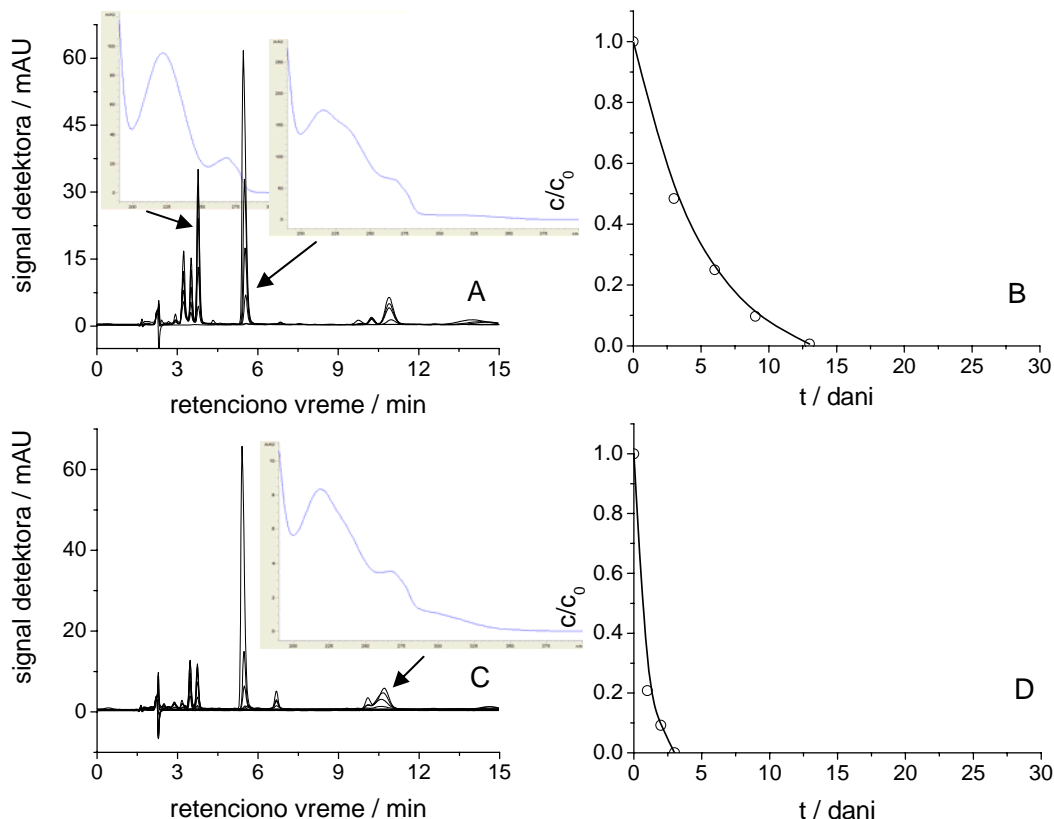
Nakon razrade DPV metode za određivanje neonikotinoida primenom TCP-CPE u model-rastvorima, komercijalnim formulacijama i rečnoj vodi, ispitana je mogućnost njene primene za praćenje njihove fotolitičke i fotokatalitičke degradacije. Proučavanje ovako kompleksnih uzoraka, kod kojih mogu da se jave različite otežavajuće okolnosti (prisustvo različitih degradacionih intermedijera od kojih mnogi mogu biti elektrohemijski aktivni, velike promene pH-vrednosti tokom razgradnje, prisustvo heterogenog fotokatalizatora u slučaju fotokatalize, itd.), predstavlja pravi izazov. Negativni efekti velikih promena pH-vrednosti su rešeni korišćenjem relativno visokih koncentracija Britton-Robinson pufera pH 7,0. S druge strane je uočeno da u slučaju fotokatalitičkih uzoraka sa  $\text{TiO}_2$ , dodatak pufera prouzrokuje taloženje katalizatora, čime se izbegavaju smetnje pri voltametrijskom određivanju. Zbog toga je voltametrijsko praćenje fotokatalize vršeno bez posebne obrade, tj. filtriranja uzoraka. Fotolitički i fotokatalitički eksperimenti su vršeni u prisustvu sunčeve svetlosti u toku meseca septembra 2009. godine. U slučaju fotokatalitičkih eksperimenata, primenjen je  $\text{TiO}_2$  fotokatalizator.

Na slici 33 je prikazano voltametrijsko praćenje fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje nitenpirama.



Slika 33. DPV signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $108,29 \mu\text{g cm}^{-3}$  nitenpirama u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzimani uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

Na osnovu dobijenih voltamograma (slika 33A), hromatograma (slika 34A) i odgovarajućih kinetičkih krivih (slike 33B, 34B) za fotolitičku degradaciju nitenpirama može se uočiti da se insekticid razgrađuje veoma brzo. Za 13 dana se razgradi praktično sav nitenpiram. U slučaju fotokatalitičke degradacije (slike 33C, D i 34C, D) razgradnja je još brža; nitenpiram nestaje nakon oko 3 dana. Prema tome, možemo zaključiti da je fotokatalitički proces oko četiri puta brži od fotolitičkog.



Slika 34. HPLC/DAD signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $108,29 \mu\text{g cm}^{-3}$  nitenpirama u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Apsorpcioni spektri osnovnog jedinjenja i odabranih intermedijera fotorazgradnje su prikazani u insertu.

U slučaju fotokatalize, s obzirom da reakcija između  $\bullet\text{OH}$  radikala (čiju koncentraciju u toku reakcije možemo smatrati konstantnom) i molekula nitenpirama određuje brzinu reakcije razgradnje insekticida, jednačinu brzine razgradnje možemo napisati na sledeći način:

$$R = k_{\bullet\text{OH}} [\bullet\text{OH}] c^n = k_{\text{ap}} c^n$$

gde je:

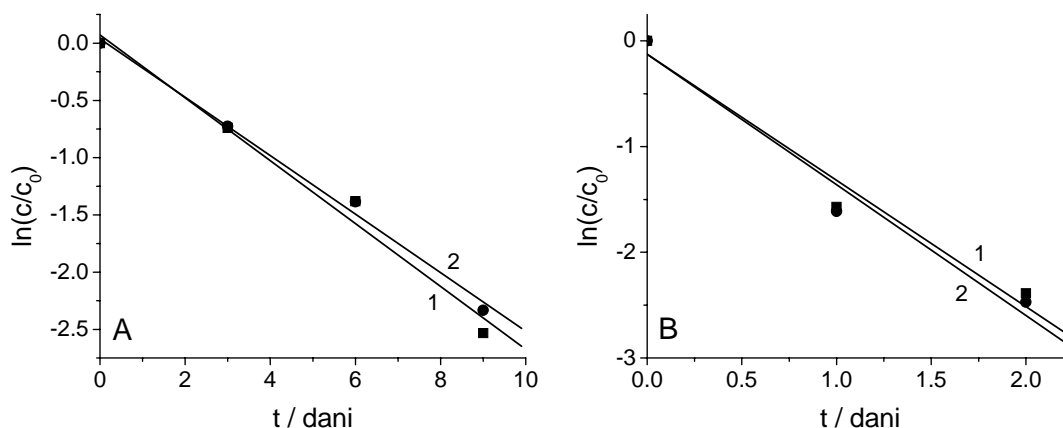
$c$  i  $[\bullet\text{OH}]$  – koncentracija nitenpirama i hidroksilnih radikala na početku reakcije,

$n$  – red reakcije,

$k_{OH}$  – konstanta brzine i

$k_{ap}$  – prividna konstanta brzine [105].

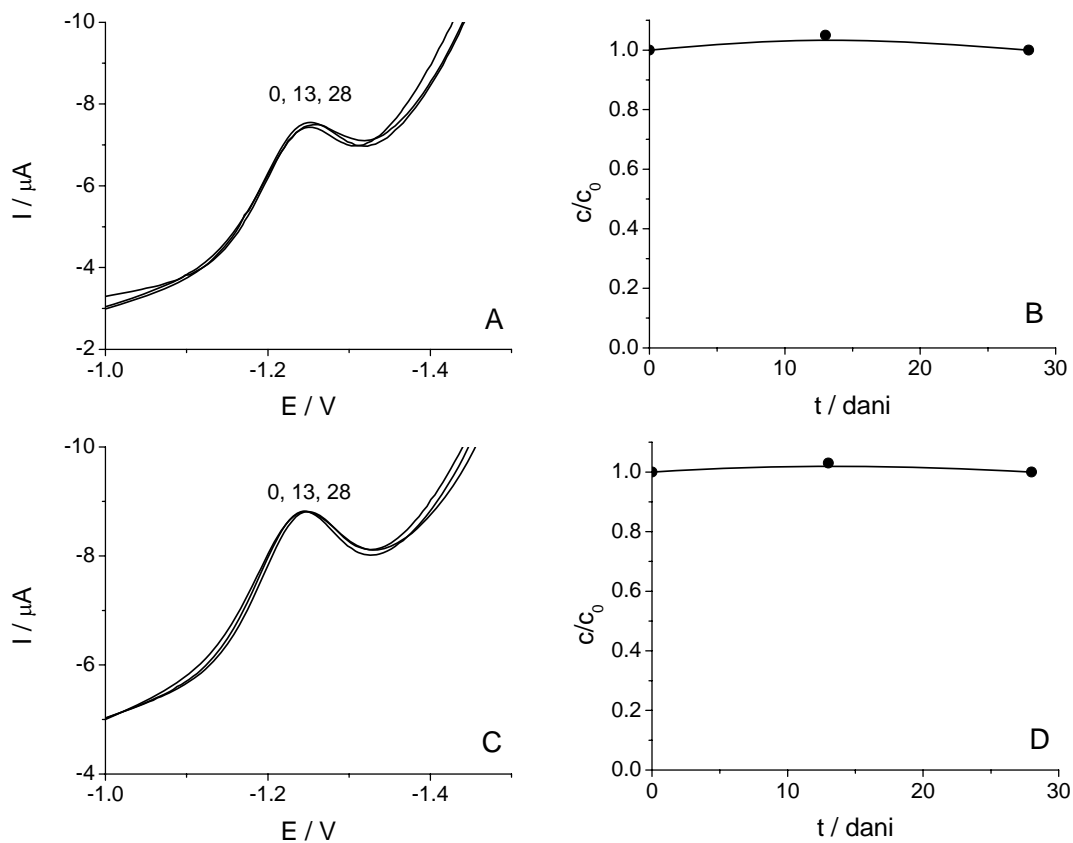
Na slici 35 su uporedno prikazane kinetičke krive fotolitičke i fotokatalitičke degradacije nitenpirama dobivene DPV i HPLC/DAD metodom. Na osnovu linearne zavisnosti između  $\ln(c/c_0)$  i vremena ozračivanja sunčevim zracima možemo zaključiti da je reakcija fotolitičke i fotokatalitičke degradacije nitenpirama prvog i pseudo-prvog reda, respektivno. Nagibi ovih pravih predstavljaju odgovarajuće konstante brzine reakcije razgradnje nitenpirama (tablica 13).



Slika 35. Kinetičke krive fotolitičke (A) i fotokatalitičke (B) degradacije  $108,29 \mu\text{g cm}^{-3}$  nitenpirama u prisustvu sunčeve svetlosti praćene pomoću DPV (1) i HPLC/DAD (2) tehnika.

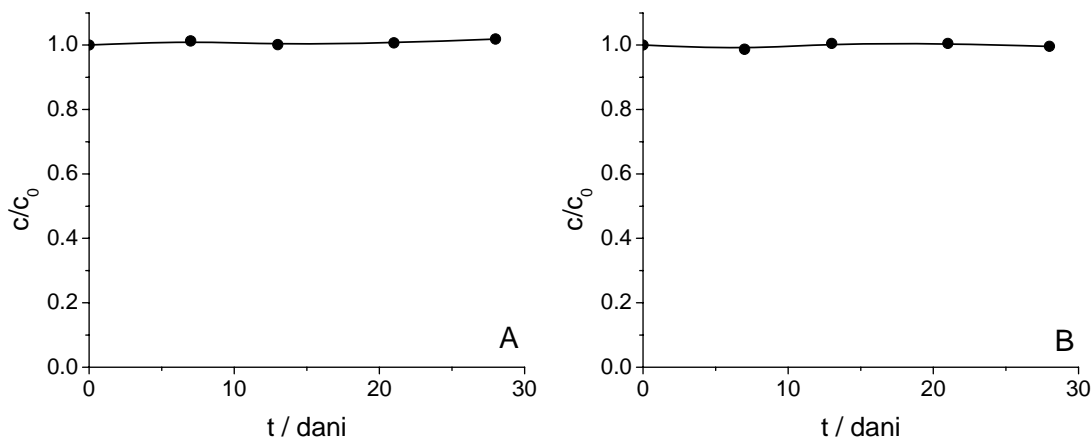
Paralelno sa fotodegradacionim eksperimentima nitenpirama, ispitivana je i njegova stabilnost u odsustvu svetlosti primenom istih metoda. Voltametrijska merenja pokazuju da je nitenpiram stabilan u odsustvu svetlosti i bez prisustva fotokatalizatora (slike 36A, B) i u prisustvu  $\text{TiO}_2$  (slike 36C, D). I rezultati HPLC/DAD analize su potvrdili

postojanost nitenpirama u odsustvu svetlosti u ispitivanom vremenskom intervalu (slika 37).



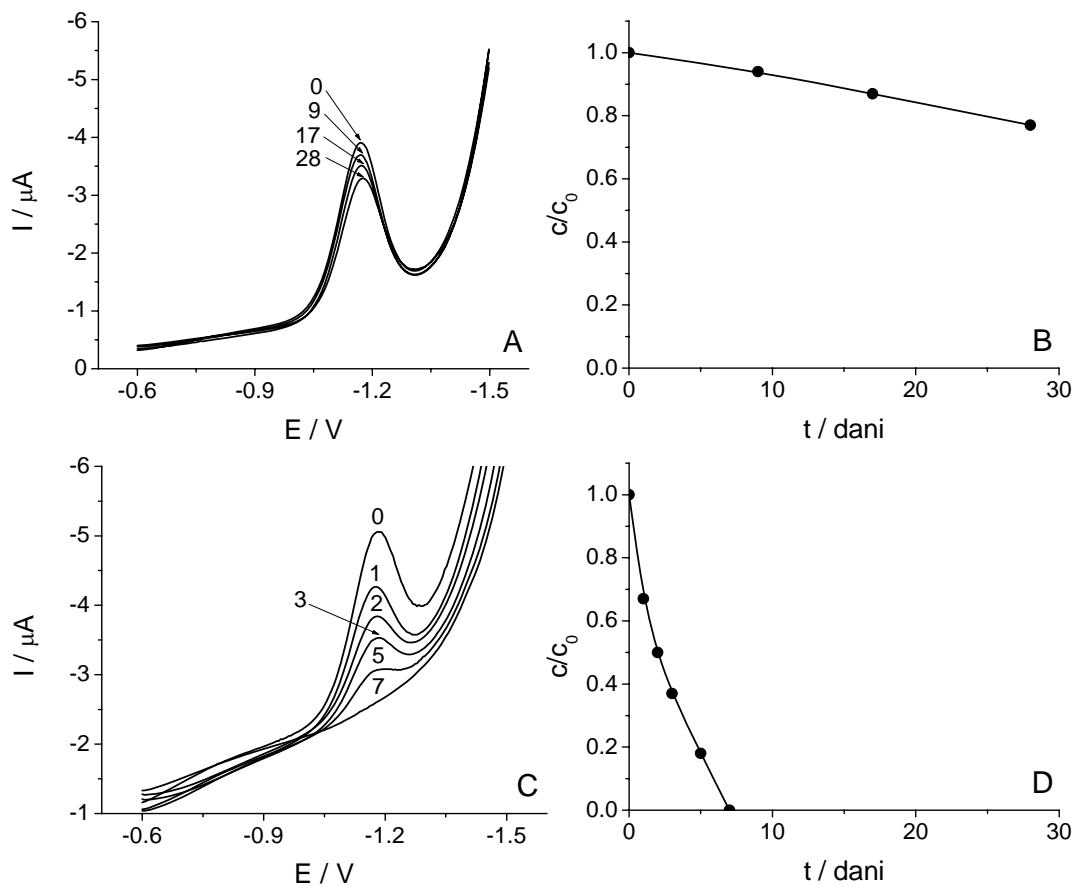
Slika 36. DPV signali praćenja stabilnosti  $108,29 \mu\text{g cm}^{-3}$  nitenpirama u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (C)  $\text{TiO}_2$  i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .





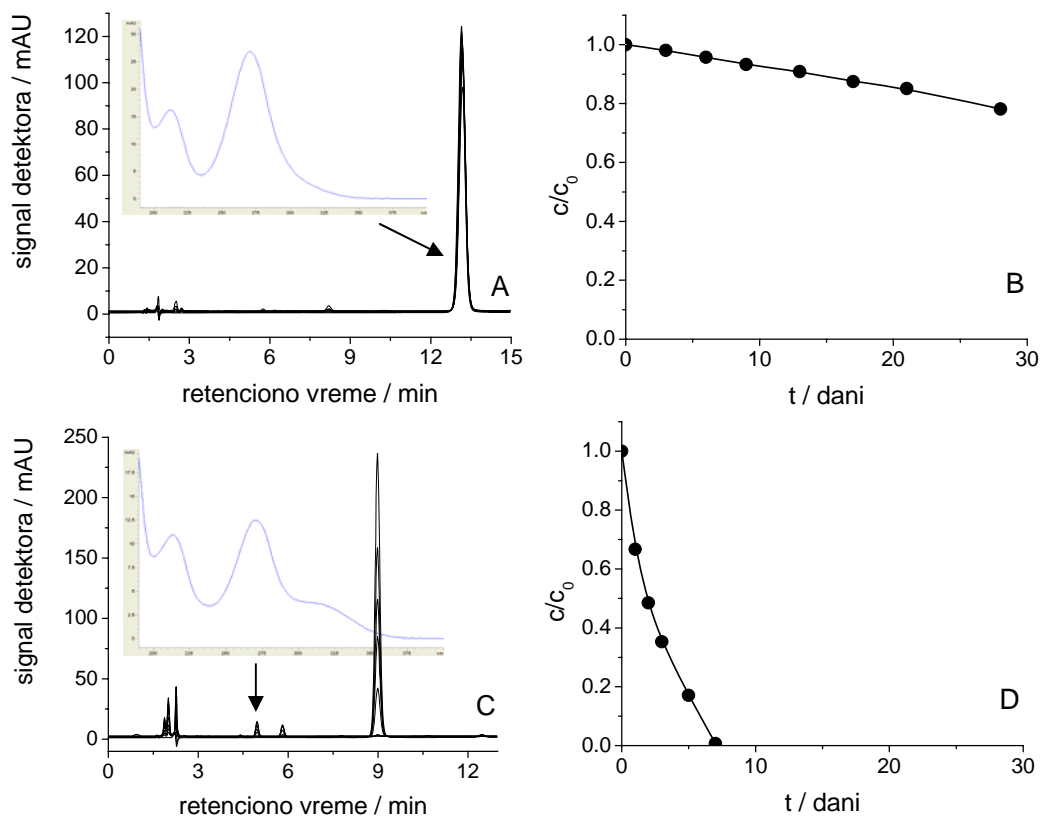
Slika 37. Rezultati HPLC/DAD praćenja stabilnosti  $108,29 \mu\text{g cm}^{-3}$  nitenpirama u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (B)  $TiO_2$ .

Molekuli nitenpirama i imidakloprida, pored razlike u njihovim farmakoforama (2-nitrometilenska i *N*-nitroiminska grupa), oba sadrže zajedničku, voluminoznu 6-hlor-3-piridilmetilnu grupu (tablica 1). Zbog navedenih strukturnih sličnosti i razlika, bilo je zanimljivo uporediti njihovu fotostabilnost. Na osnovu dobijenih DPV krivih za fotolitičku degradaciju imidakloprida može se uočiti da se insekticid razgrađuje relativno sporo, nakon 28 dana nestaje nešto više od 22% polazne supstance (slike 38A, B). U slučaju fotokatalitičke degradacije, imidaklopid se razgrađuje brže, tako da nakon jednog dana nestaje oko 33% insekticida, a za oko nedelju dana praktično sav imidaklopid (slike 38C, D).



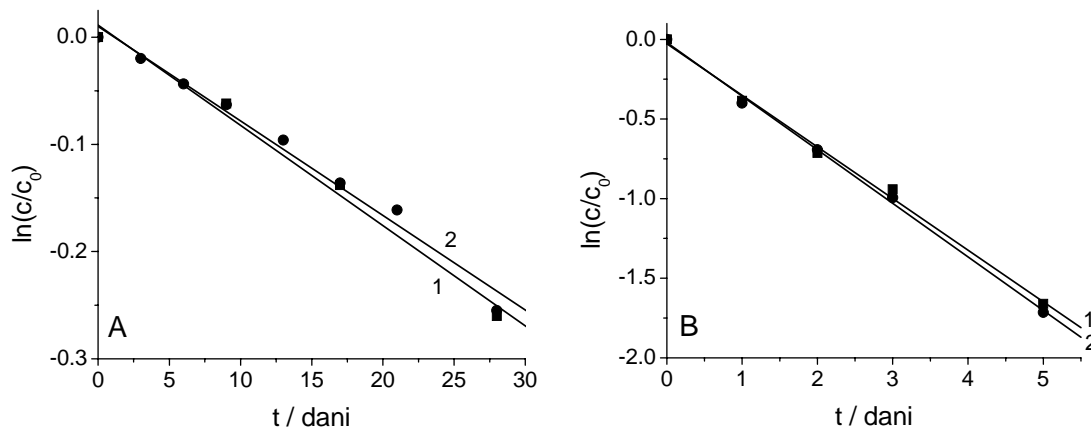
Slika 38. DPV signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $102,26 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

Na slici 39 su prikazani HPLC/DAD signali dobijeni za fotolitičku (A) i fotokatalitičku (C) degradaciju imidakloprida sa odgovarajućim kinetičkim krivama (B, D). Razlike u retencionom vremenu imidakloprida za dve serije hromatograma potiču od razlike mernih parametara. U slučaju ispitivanja fotolize mobilna faza je bila smeša  $0,2\%$  fosforne kiseline i acetonitrila u odnosu  $85:15$ , v/v; pri protoku od  $1,0 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ . Fotokataliza je praćena pri odnosu komponenata mobilne faze  $8:2$ , v/v; a protok je bio  $0,8 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ .



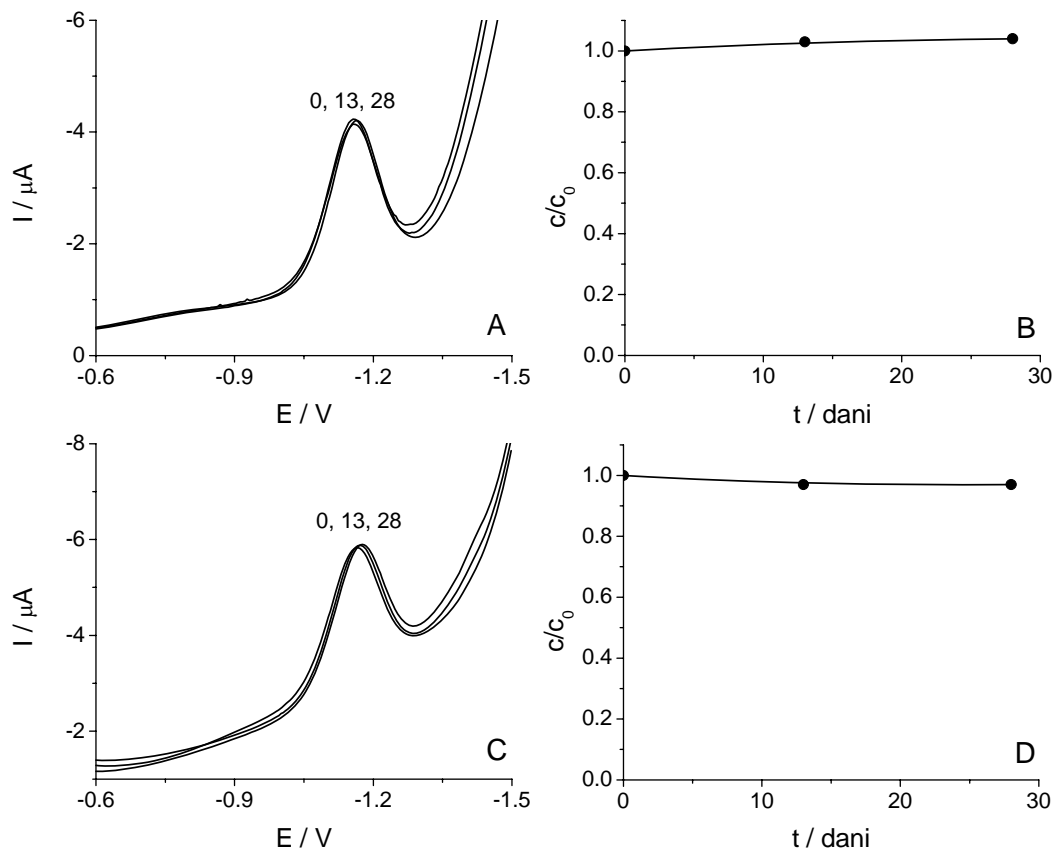
Slika 39. HPLC/DAD signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $102,26 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Apsorpcioni spektri osnovnog jedinjenja i odabranog intermedijera fotorazgradnje su prikazani u insertu.

Na slici 40 je prikazano upoređivanje kinetike fotolitičke i fotokatalitičke degradacije imidakloprida DPV i HPLC/DAD metodom. Reakcija fotolitičke i fotokatalitičke degradacije imidakloprida je prvog i pseudo-prvog reda, respektivno. Nagibi ovih pravih predstavljaju odgovarajuće konstante brzine reakcije razgradnje imidakloprida (tablica 13).

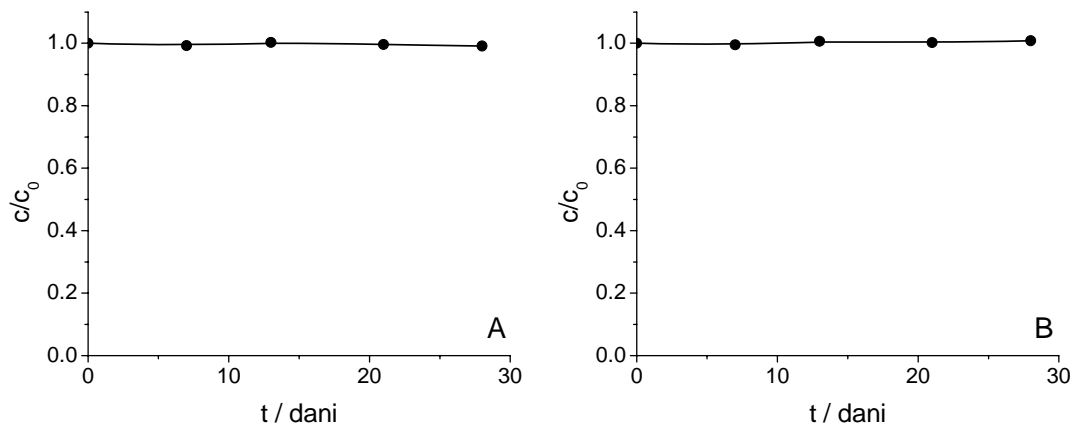


Slika 40. Kinetičke krive fotolitičke (A) i fotokatalitičke (B) degradacije  $102,26 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida u prisustvu sunčeve svetlosti praćene primenom DPV (1) i HPLC/DAD (2) tehnika.

Paralelno sa fotodegradacionim eksperimentima, ispitana je i stabilnost imidakloprida u odsustvu svetlosti DPV i HPLC/DAD metodom. Voltometrijska merenja pokazuju da je imidakloprid stabilan u odsustvu svetlosti i bez prisustva fotokatalizatora (slike 41A, B) i u prisustvu  $\text{TiO}_2$  (slike 41C, D). Njegovu postojanost potvrđuju i rezultati HPLC/DAD u ispitivanom vremenskom intervalu (slika 42).



Slika 41. DPV signali praćenja stabilnosti  $102,26 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i prisustvu (C)  $\text{TiO}_2$  i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

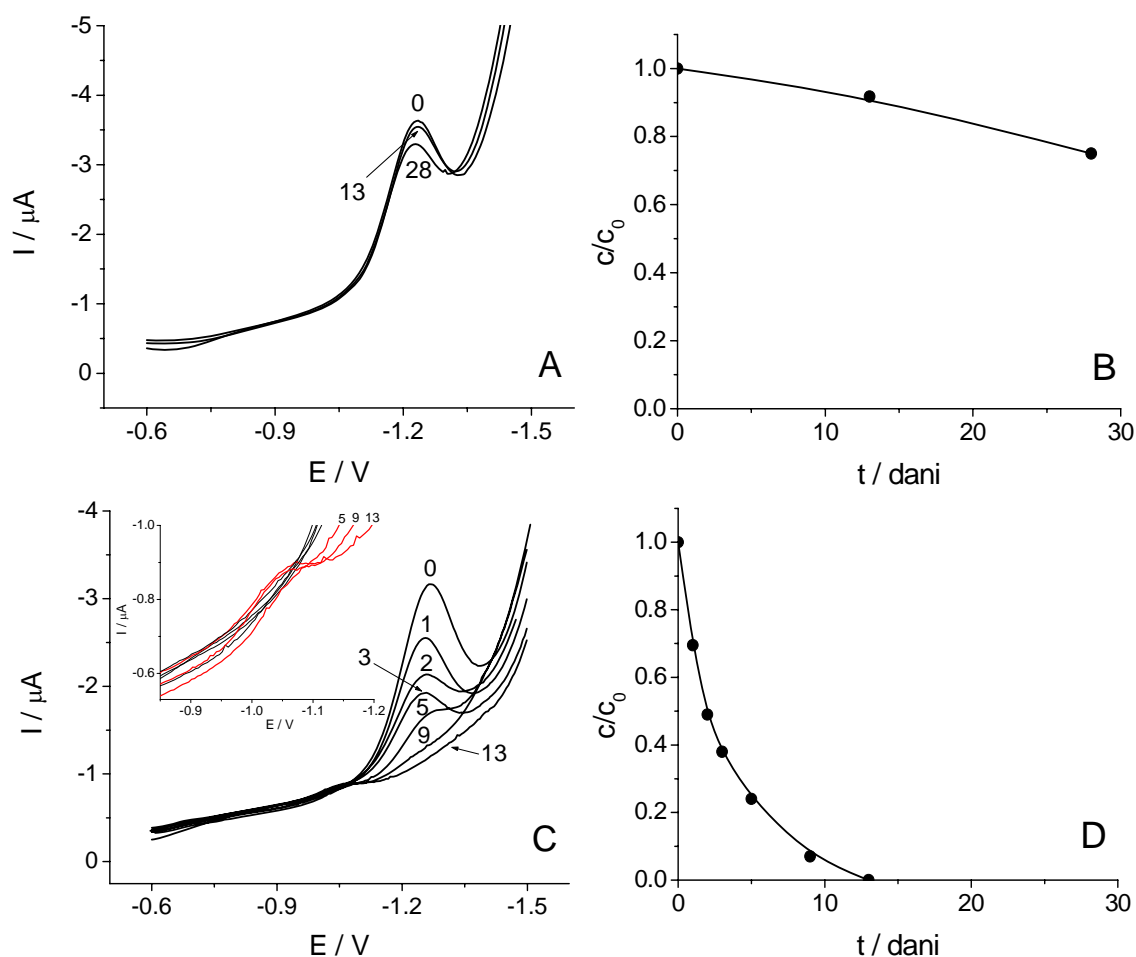


Slika 42. Rezultati HPLC/DAD praćenja stabilnosti  $102,26 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (B)  $\text{TiO}_2$ .

Očigledno je da imidakloprid pokazuje značajno veću fotostabilnost u odnosu na nitenpiram, što je posledica razlike u strukturi njihovih farmakofora.

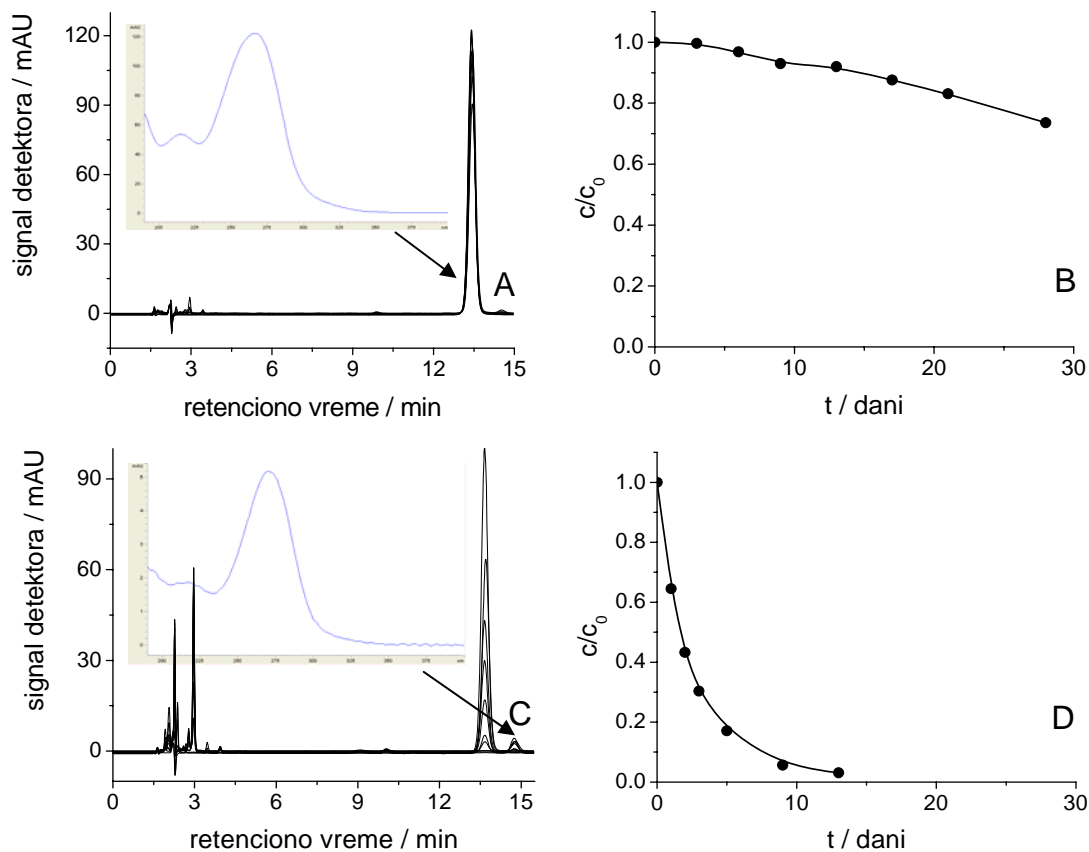
U daljem delu, ispitana su još dva neonikotinoidea sa *N*-nitroiminskom farmakoforom (klotianidin i tiametoksam). Za razliku od nitenpirama i imidakloprida, oni sadrže zajedničku 2-hlor-1,3-tiazol-5-ilmetilnu grupu vezanu za *N*-nitroiminsku farmakoforu. Zato je sa jedne strane interesantno ispitati u kojoj meri je njihova fotostabilnost slična fotostabilnosti imidakloprida, koji ima identičnu farmakoforu, a sa druge strane proučavati uticaj položaja farmakofora na fotostabilnost, pošto se kod imidakloprida i tiametoksama ona nalazi u okviru peto- odnosno šesto-članog prstena, a kod klotianidina u otvorenom nizu (tablica 1).

Na osnovu DPV krivih dobijenih za fotolitičku degradaciju klotianidina može se videti da se i ovaj insekticid razgrađuje sporo: nakon 28 dana nestaje oko 25% istog (slike 43A, B). U slučaju fotokatalitičke degradacije, klotianidin se razgrađuje znatno brže, tako da nakon jednog dana nestaje nešto više od 30% insekticida, a za manje od dve nedelje praktično razgradi sav klotianidin (slike 43C, D). Posle petog dana fotokatalitičke razgradnje javlja se jasno definisan pik elektroaktivnog degradacionog intermedijera sa redukcionim maksimumom na  $-1,05$  V (slika 43C). Koncentracija navedenog intermedijera raste sve do potpunog nestajanja klotianidina. Pošto se pik ovog intermedijera nalazi na dovoljno različitom potencijalu u odnosu na signal klotianidina, on ne predstavlja smetnju pri njegovom određivanju.



Slika 43. DPV signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $99,87 \mu\text{g cm}^{-3}$  klotianidina u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

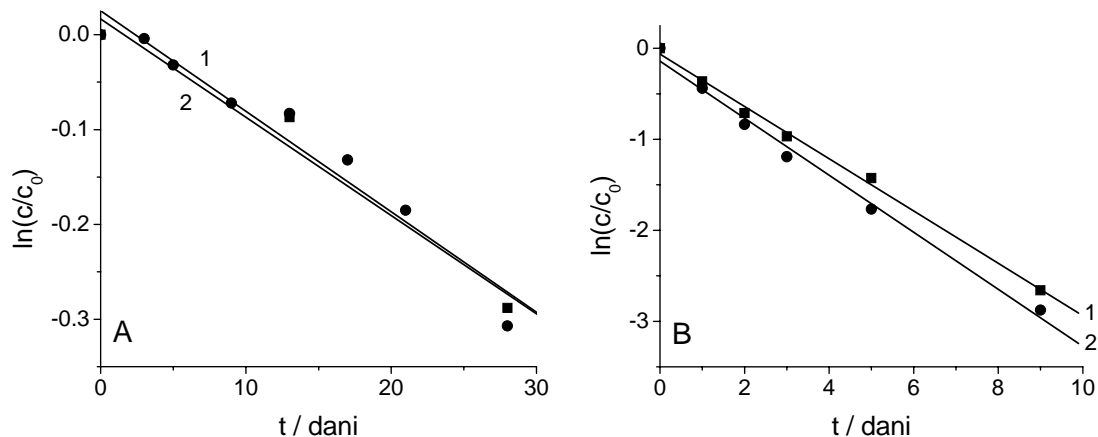
Na slici 44 su prikazani HPLC/DAD signali dobijeni za fotolitičku (A) i fotokatalitičku (C) degradaciju klotianidina i odgovarajuće kinetičke krive (B, D).



Slika 44. HPLC/DAD signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $99,87 \mu\text{g cm}^{-3}$  klotianidina u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). ApSORPCIONI spektri osnovnog jedinjenja i odabranog intermedijera fotorazgradnje su prikazani u insertu.

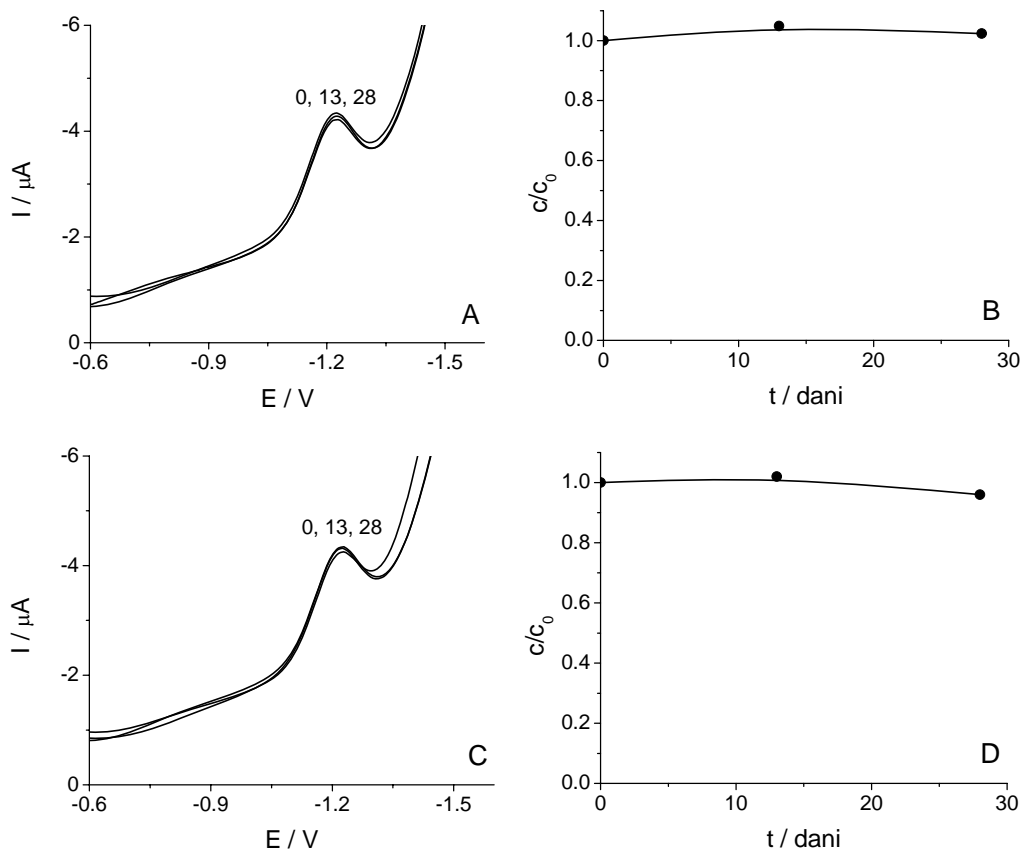
Na slici 45 su upoređene brzine fotolitičke i fotokatalitičke degradacije klotianidina dobijene metodama DPV i HPLC/DAD. Reakcija fotolitičke i fotokatalitičke degradacije klotianidina je prvog i pseudo-prvog reda, respektivno. Nagibi ovih pravih predstavljaju odgovarajuće konstante brzine reakcije razgradnje klotianidina (tablica 13).



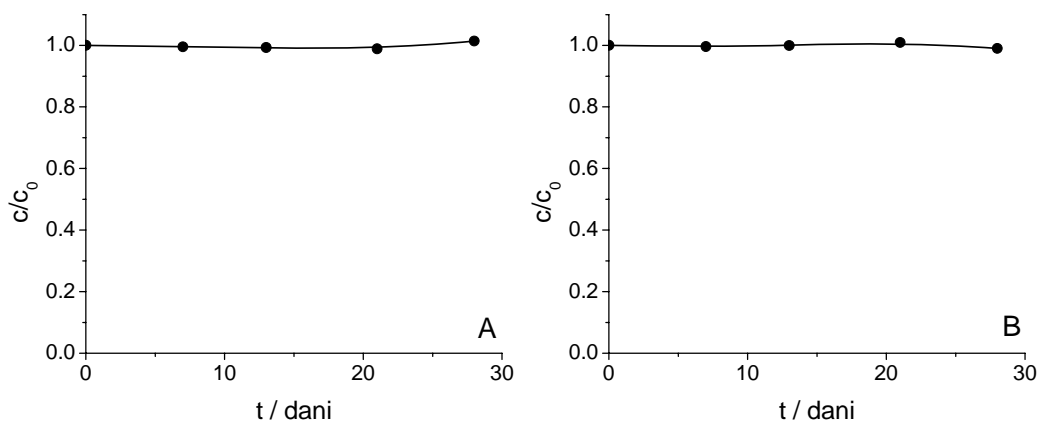


Slika 45. Kinetičke krive fotolitičke (A) i fotokatalitičke (B) degradacije  $99,87 \mu\text{g cm}^{-3}$  klotianidina u prisustvu sunčeve svetlosti praćene primenom DPV (1) i HPLC/DAD (2) tehnika.

Paralelno sa fotodegradacionim eksperimentima, ispitana je i stabilnost klotianidina u odsustvu svetlosti metodama DPV i HPLC/DAD. Voltometrijska merenja pokazuju da je klotianidin stabilan u mraku, i bez prisustva fotokatalizatora (slike 46A, B), i u prisustvu  $\text{TiO}_2$  (slike 46C, D). Ovo potvrđuju i rezultati HPLC/DAD analize (slika 47).

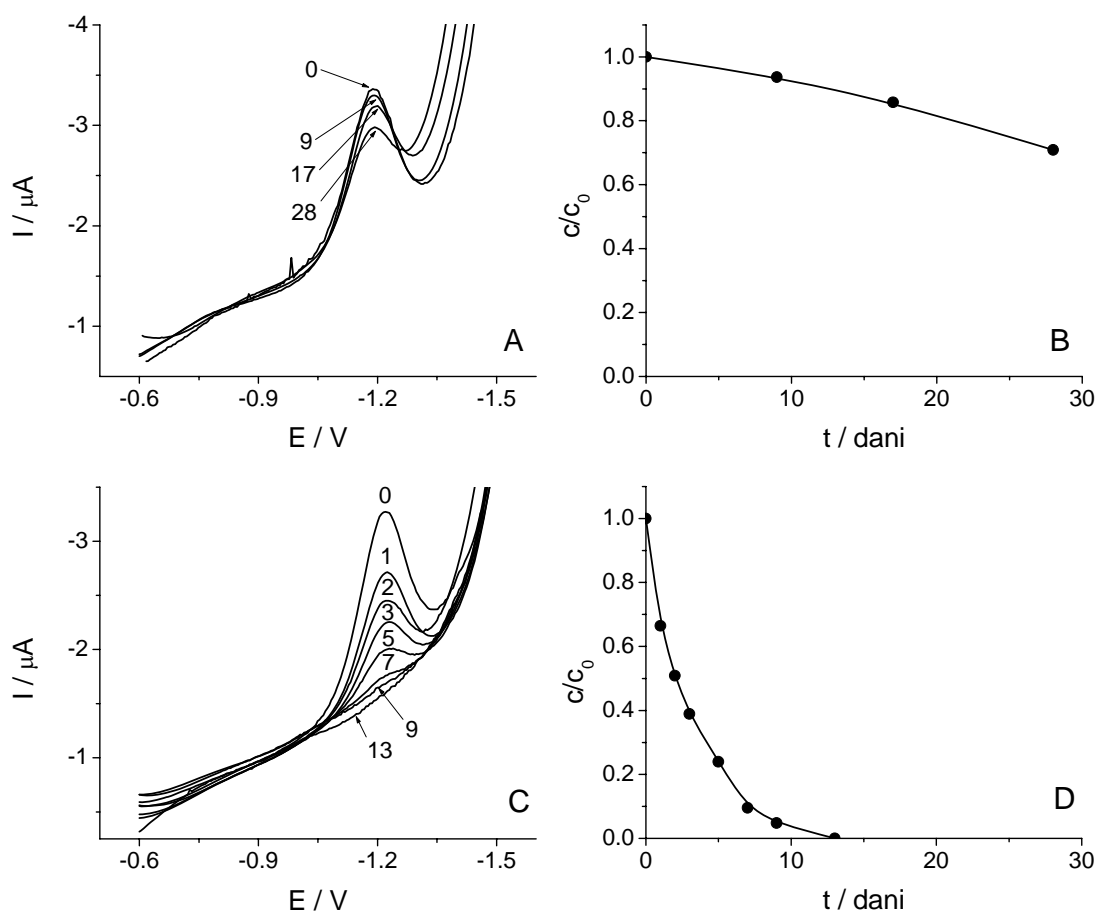


Slika 46. DPV signali praćenja stabilnosti  $99,87 \mu\text{g cm}^{-3}$  klotianidina u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (C)  $\text{TiO}_2$  i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .



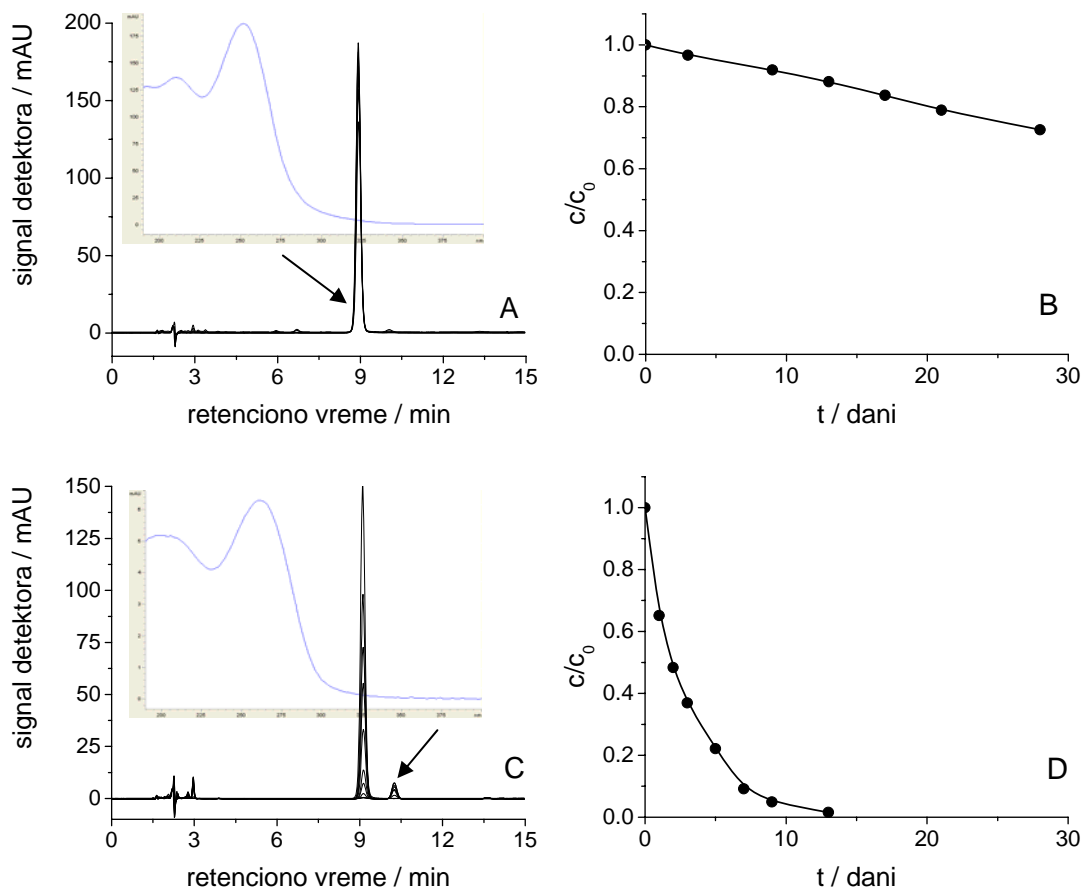
Slika 47. Rezultati HPLC/DAD praćenja stabilnosti  $99,87 \mu\text{g cm}^{-3}$  klotianidina u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (B)  $\text{TiO}_2$ .

Na osnovu DPV krivih dobijenih za fotolitičku degradaciju tiametoksama može se uočiti da se i on razgrađuje dosta sporo. Nakon 28 dana se razgradi oko 25% tiametoksama (slike 48A, B). U slučaju fotokatalitičke degradacije tiametoksama se uočava brzo nestajanje osnovne komponente. Brzina razgradnje pokazuje veliku sličnost sa brzinom degradacije klotianidina - za manje od dve nedelje se razgradi praktično sav tiametoksam (slike 48C, D).



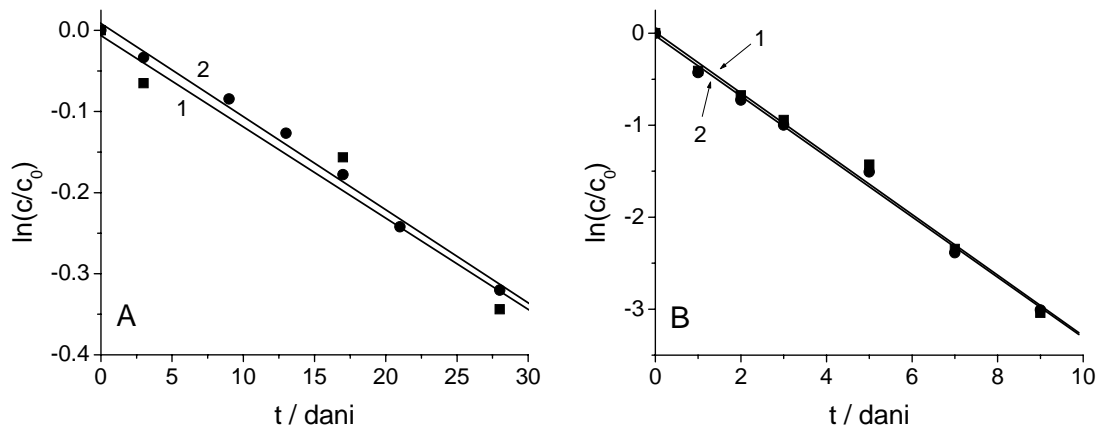
Slika 48. DPV signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$  tiametoksama u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

Na slici 49 su prikazani HPLC/DAD signali dobijeni za fotolitičku (A) i fotokatalitičku (C) degradaciju tiametoksama sa odgovarajućim kinetičkim krivama.



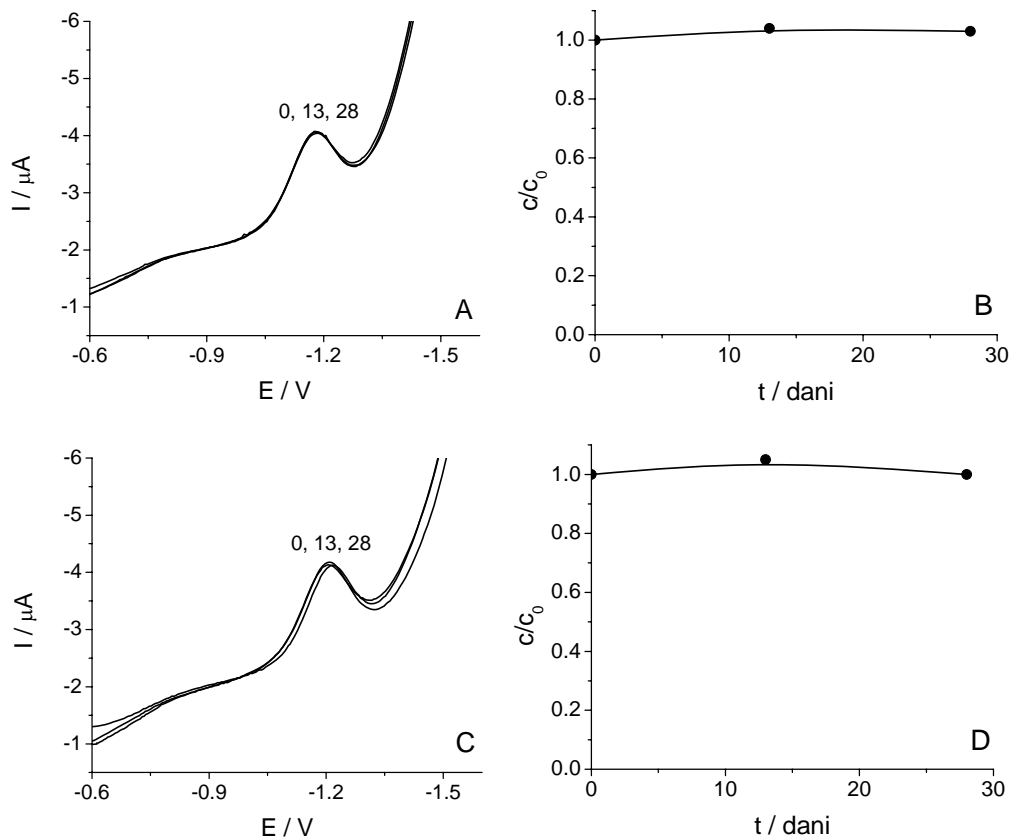
Slika 49. HPLC/DAD signali praćenja fotolitičke (A) i fotokatalitičke (C) degradacije  $116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$  tiametoksama u prisustvu sunčeve svetlosti i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Apsorpcioni spektri osnovnog jedinjenja i odabranog intermedijera fotorazgradnje su prikazani u insertu.

Na slici 50 su uporedno prikazane kinetike fotolitičke i fotokatalitičke degradacije tiametoksama praćene metodama DPV i HPLC/DAD. Reakcija fotolitičke i fotokatalitičke degradacije tiametoksama je prvog i pseudo-prvog reda, respektivno. Nagibi ovih pravih predstavljaju odgovarajuće konstante brzine reakcije razgradnje tiametoksama (tablica 13).

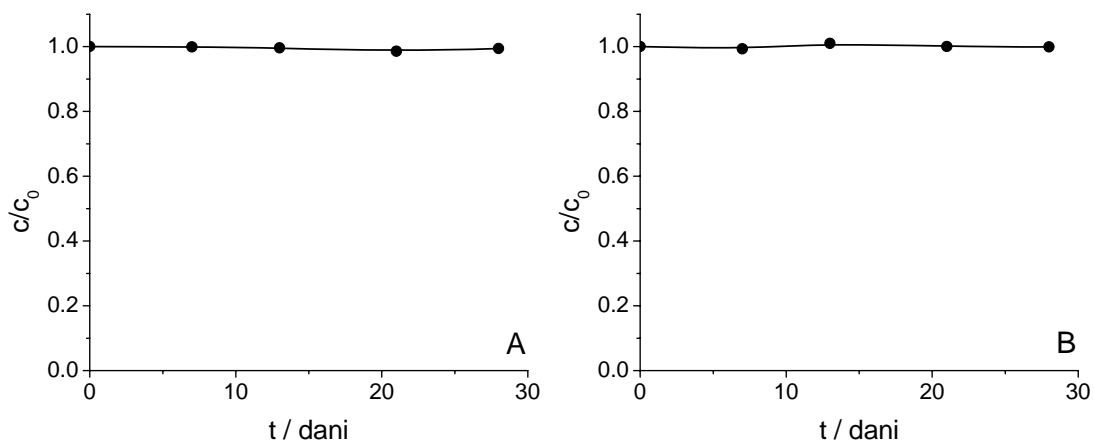


Slika 50. Kinetičke krive fotolitičke (A) i fotokatalitičke (B) degradacije  $116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$  tiametoksama u prisustvu sunčeve svetlosti praćene primenom DPV (1) i HPLC/DAD (2).

Paralelno sa fotodegradacionim eksperimentima, ispitana je i stabilnost tiametoksama u odsustvu svetlosti primenom DPV i HPLC/DAD. DPV merenja su pokazala da je tiametoksam ostao nepromenjen u mraku, kako u odsustvu fotokatalizatora (slike 51A, B), tako i u prisustvu  $\text{TiO}_2$  (slike 51C, D). Postojanost tiametoksama u mraku u ispitivanom vremenskom intervalu potvrđuju i rezultati HPLC/DAD analize (slika 52).



Slika 51. DPV signali praćenja stabilnosti  $116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$  tiametoksama u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (C)  $\text{TiO}_2$  i odgovarajuće kinetičke krive (B, D). Brojevi pored krivih označavaju dane kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .



Slika 52. Rezultati HPLC/DAD praćenja stabilnosti  $116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$  tiametoksama u odsustvu svetlosti bez prisustva (A) i u prisustvu (B)  $\text{TiO}_2$ .

Tablica 13. Konstante brzine fotokatalitičke ( $k_{ap}$ ) i fotolitičke ( $k$ ) razgradnje neonikotinoida na TCP-CPE.  $r$ : korelacioni koeficijent. Uslovi merenja:  $c_0(\text{nitenpiram}) = 108,29$ ,  $c_0(\text{klotianidin}) = 99,87$ ,  $c_0(\text{imidaklopid}) = 102,26$  i  $c_0(\text{tiametoksam}) = 116,68 \mu\text{g cm}^{-3}$ .

Kinetički parametri	Metoda	Ispitivane supstance			
		nitenpiram	klotianidin	imidaklopid	tiametoksam
$k_{ap} [\text{dan}^{-1}]$	DPV	- 1,19 $r = - 0,984$	- 0,29 $r = -0,998$	- 0,32 $r = - 0,998$	- 0,33 $r = - 0,996$
	HPLC/DAD	- 1,24 $r = - 0,985$	- 0,31 $r = - 0,995$	- 0,34 $r = - 0,999$	- 0,33 $r = - 0,997$
$k [\text{dan}^{-1}]$	DPV	- 0,27 $r = - 0,991$	- 0,0106 $r = - 0,977$	- 0,0088 $r = - 0,992$	- 0,0113 $r = - 0,978$
	HPLC/DAD	- 0,26 $r = - 0,997$	- 0,0104 $r = - 0,983$	- 0,0094 $r = - 0,994$	- 0,0115 $r = - 0,996$

Na osnovu kinetičkih podataka za fotorazgradnju neonikotinoida možemo zaključiti da od ispitivanih jedinjenja nitenpiram pokazuje najveću nestabilnost, dok su stabilnosti imidakloprida, klotianidina i tiametoksama dosta slične. Ova razlika očigledno potiče od različitosti farmakofornih grupa ispitivanih jedinjenja. *N*-nitroiminska grupa imidakloprida, klotianidina i tiametoksama, nezavisno od toga da li se ona nalazi u otvorenom lancu (klotianidin) ili u okviru prstena (imidaklopid i tiametoksam), pokazuje značajno veću stabilnost u odnosu na 2-nitrometilensku grupu nitenpirama.

Na osnovu svega izloženog se može zaključiti da i pored činjenice da hromatografska metoda pruža više informacija o ispitivanim sistemima, voltometrija primenom TCP-CPE može da bude brza, jeftina i ekološki prihvatljiva alternativna metoda za dobijanje informacije o koncentraciji neonikotinoida u toku njihove fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje.

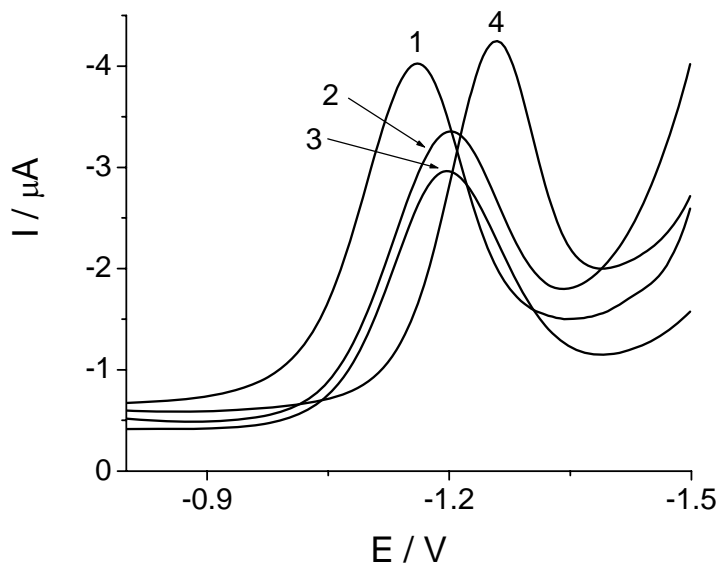
## 5.2. VOLTAMETRIJSKO ISPITIVANJE NEONIKOTINOIDA POMOĆU ELEKTRODA OD STAKLASTOG UGLJENIKA

### 5.2.1. Karakterizacija i određivanje neonikotinoida pomoću nemodifikovane elektrode od staklastog ugljenika u model-rastvorima

Eksperimentalni uslovi za karakterizaciju i određivanje neonikotinoida pomoću GCE pokazuju veliku sličnost sa istim u slučaju CPE. Slično ispitivanjima na CPE, kroz rastvore je bio produvavan azot u trajanju od 10 minuta radi uklanjanja neželjenih efekata rastvorenog kiseonika. Razlike u postupanju sa GCE u odnosu na CPE su primetne u slučaju pripreme elektrodne površine i u širini potencijalske oblasti u kojoj je vršeno cikliranje radne elektrode. Obnavljanje površine GCE pre svakog merenja je vršeno poliranjem vodenom suspenzijom  $\text{Al}_2\text{O}_3$  različitog granulometrijskog sastava i na kraju primenom suspenzije čestica prečnika  $0,05 \mu\text{m}$ , kao što je to opisano u poglavlju 4.3. Nakon poliranja, elektroda je detaljno prana pod mlazom dvaput destilovane vode, a zatim radi uklanjanja zaostalih čestica sredstva za poliranje, tretirana u ultrazvučnom kupatilu u toku pet minuta. *Ex situ* elektrohemijska aktivacija (10 ciklusa) je vršena u intervalu od  $0,20$  do  $-1,60 \text{ V}$ , u posebnoj elektrohemijskoj ćeliji sa Britton-Robinsonovim puferom pH  $8,0$ . Optimalni merni parametri pri DPV određivanjima su bili identični onima kod primene CPE: amplituda pulsa,  $50 \text{ mV}$ ; širina pulsa,  $50 \text{ ms}$  i brzina snimanja,  $25 \text{ mV s}^{-1}$ .



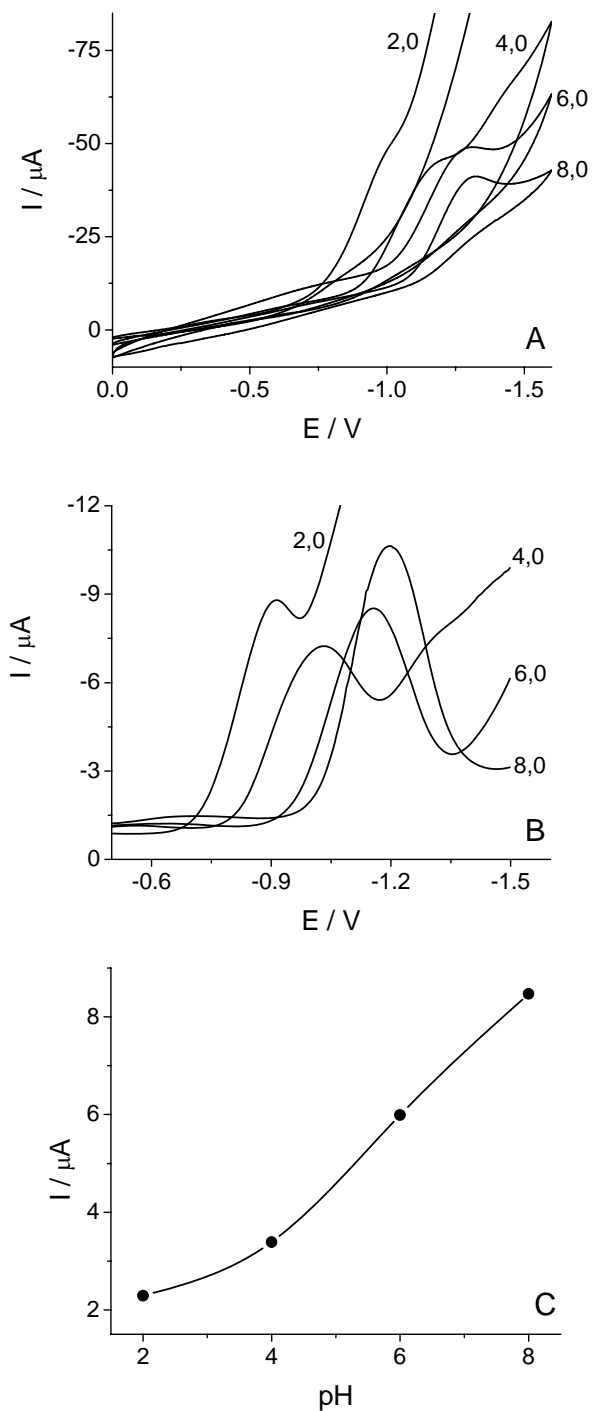
U ovom delu rada izvršena je karakterizacija i određivanje klotianidina i nitenpirama na GCE (slike 53-58).



Slika 53. Upoređivanje DPV signala imidakloprida (1), tiametoksama (2), klotianidina (3) i nitenpirama (4) na GCE u ekvimolarnim rastvorima. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa 50 mV, širina pulsa 50 ms, pH = 8,0,  $c(1-4) = 0,11 \text{ mmol dm}^{-3}$ .

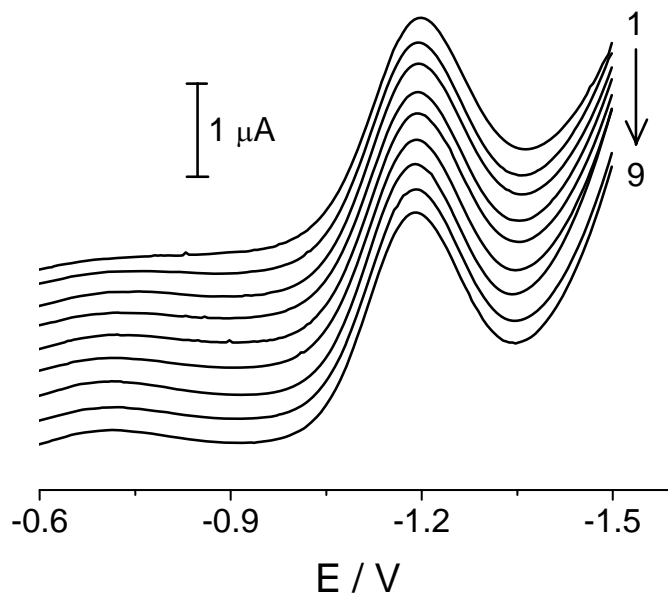
Pre primene GCE za kvantitativno određivanje izvršeno je ispitivanje zavisnosti signala redukcije klotianidina (slika 54) i nitenpirama (slika 57) od pH-vrednosti sredine u oblasti od pH 2,0 do 8,0. Najoštriji i najsimetričniji pikovi su dobijeni pri pH 8,0, što pokazuje veliku sličnost sa optimalnim pH za određivanja istih insekticida na TCP-CPE (pH 7,0). Potrebno je, međutim napomenuti da je intenzitet signala u kiselijim rastvorima intenzivniji na GCE nego na TCP-CPE. Izvršeno je i upoređivanje DPV signala klotianidina i nitenpirama sa signalima imidakloprida i tiametoksama. Intenziteti i oblik DPV signala ovih neonikotinoida za ekvimolarne rastvore zbog identične elektroaktivne grupe pokazuju veliku sličnost, što bi moglo da oteža njihovo eventualno simultano

određivanje. Sa slike 53 se jasno vidi da tiametoksam i klotianidin pokazuju najsličnije voltametrijske osobine. Njihovi pikovi se nalaze na  $-1,20$  V. Redukcioni pik imidakloprida se nalazi na najpozitivnijoj vrednosti potencijala ( $-1,16$  V) u odnosu na ostale neonicotinoide sa nitro-grupom. Nitenpiram se redukuje na najnegativnijem potencijalu ( $-1,25$  V). Ova razlika se može pripisati različitom elektronskom okruženju elektroaktivne nitro-grupe u ispitivanim jedinjenjima.



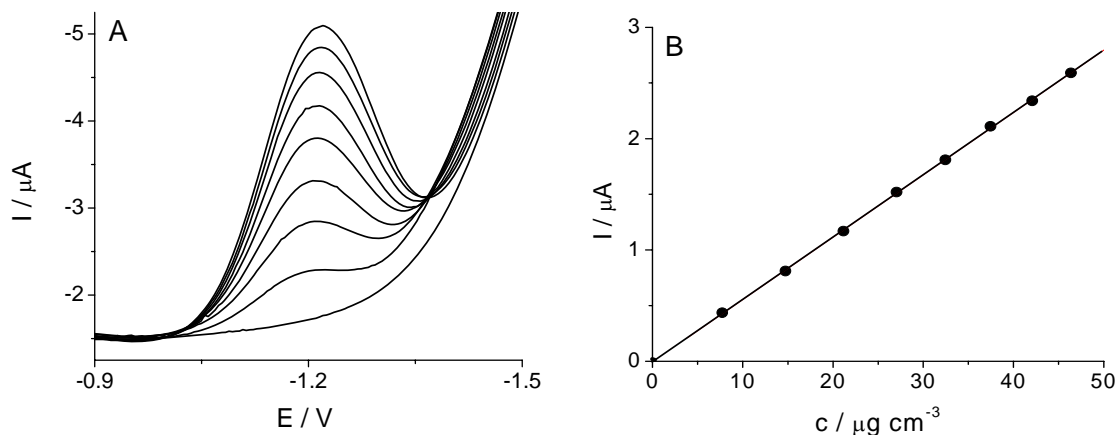
Slika 54. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na CV (A) i DPV (B) signale klotianidina i visinu DPV pika (C) na GCE. Uslovi merenja:  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$  (A) ili  $25 \text{ mV s}^{-1}$  (B), amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$  (B), širina pulsa  $50 \text{ ms}$  (B),  $c = 129,84 \mu\text{g cm}^{-3}$  (A-C).

Ispitana je takođe i stabilnost signala na GCE. Na slici 55 se vidi 9 uzastopno snimljenih krivih za  $27,05 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor klotianidina. Nije uočena značajnija promena analitičkog signala u toku 30 minuta merenja, što ukazuje na odsustvo značajnijih adsorpcionih procesa klotianidina na GCE.



Slika 55. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću GCE za  $27,05 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor klotianidina pri  $\text{pH} = 8,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .

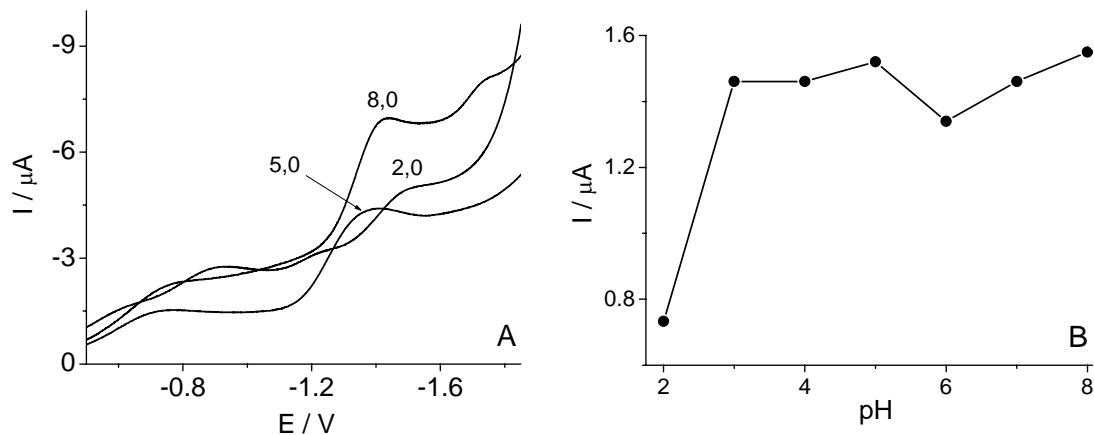
Kvantitativno DPV određivanje klotianidina i nitenpirama u model-rastvorima se zasniva na linearnoj zavisnosti između intenziteta pikova i koncentracije (slike 56, 58 i tablice 14, 15).



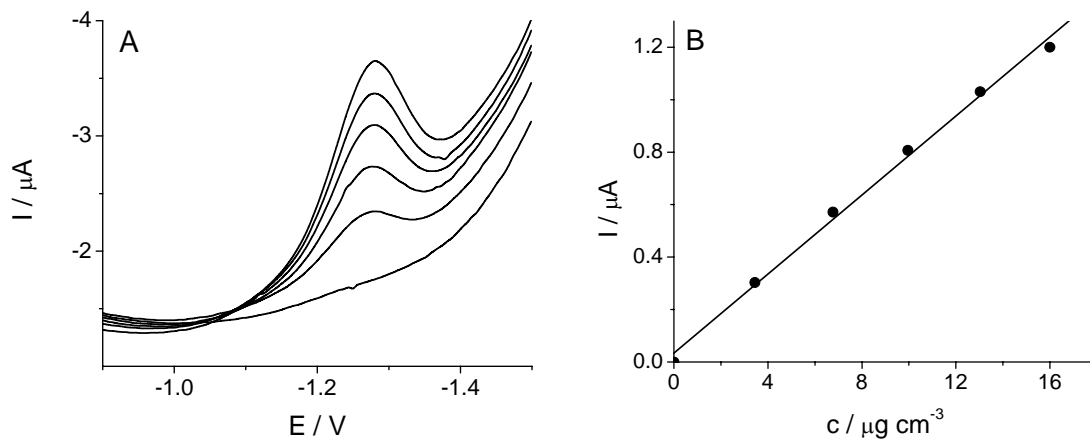
Slika 56. DPV signali klotianidina na GCE pri različitim koncentracijama (A) i odgovarajuća kalibraciona prava (B). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa 50 mV, širina pulsa 50 ms,  $\text{pH} = 8,0$ .

Tablica 14. Analitički parametri za DPV određivanje klotianidina na GCE.  $r$ : korelacioni koeficijent; GD: granica detekcije; GO: granica određivanja.

Parametar	Vrednost
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,84–46,37
Odsečak [ $\mu\text{A}$ ]	- 0,0059
Nagib [ $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	0,0560
$r$	0,999
GD [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,85
GO [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,84
RSD [%] ( $n=9$ )	0,88



Slika 57. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na LSV signale (A) i visinu LSV pika (B) nitenpirama na GCE. Uslovi merenja:  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ .



Slika 58. DPV signali nitenpirama na GCE pri različitim koncentracijama (A) i odgovarajuća kalibraciona prava (B). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 8,0$ .

Tablica 15. Analitički parametri za DPV određivanje nitenpirama na GCE.  $r$ : korelacioni koeficijent; GD: granica detekcije; GO: granica određivanja.

Parametar	Vrednost
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,43–16,00
Odsečak [ $\mu\text{A}$ ]	0,0340
Nagib [ $\mu\text{A cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	0,0753
$r$	0,998
GD [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,73
GO [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,43
RSD [%] ( $n=6$ )	1,5

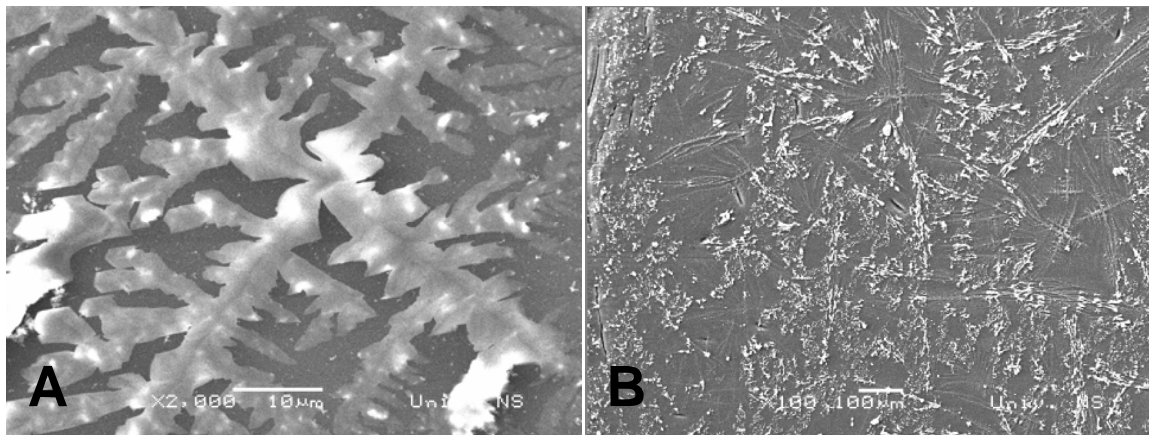
Analitički parametri razvijene DPV metode za određivanje klotianidina i nitenpirama su prikazani u tablicama 14 i 15. Kao što se vidi, klotianidin je određivan u koncentracionoj oblasti od 2,84–46,37  $\mu\text{g cm}^{-3}$ , pri čemu RSD nije prelazila 1%. Nitenpiram je određivan u oblasti od 2,43–16,00, sa RSD od 1,5%. Granice određivanja za klotianidin i nitenpiram na GCE iznose 2,84 i 2,43  $\mu\text{g cm}^{-3}$ , respektivno.

#### 5.2.2. Primena nemodifikovane elektrode od staklastog ugljenika za praćenje fotorazgradnje imidakloprida

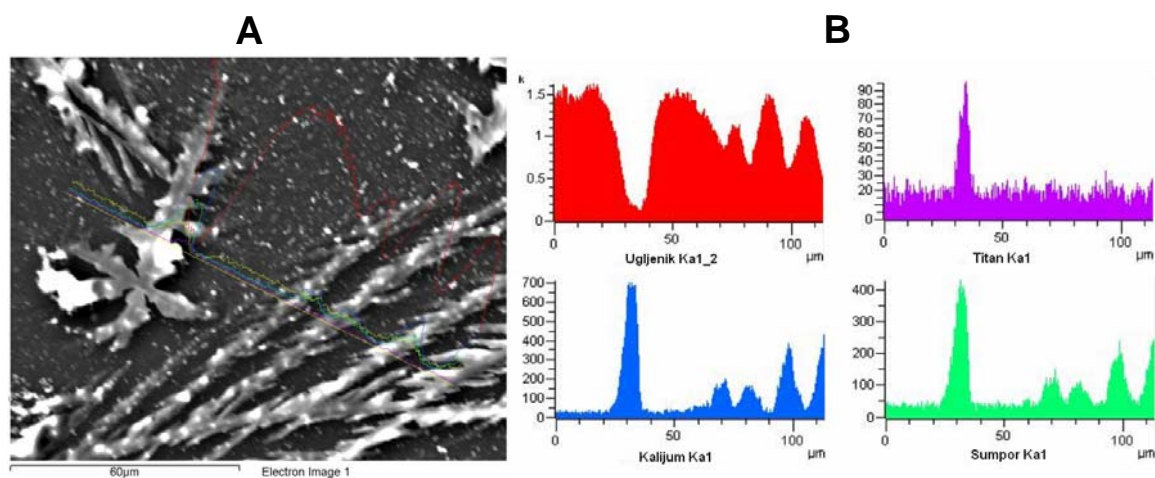
Slično primeni TCP-CPE za proučavanje solarne fotodegradacije odabranih neonikotinoidea, GCE je primenjena za proučavanje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida DPV metodom u prisustvu  $\text{TiO}_2$  i HPL-N lampe, kao izvora UV-svetlosti.

Pre voltametrijskih merenja, ispitivana je moguća adsorpcija fotokatalizatora na elektrodoj površini pomoću SEM/EDS. Nađeno je da prisustvo neorganskih soli (npr. kalijum-sulfata i kalijum-hlorida) u ispitivanim puferisanim rastvorima (pH 7,0) dovodi

do taloženja katalizatora. Na ovaj način je smanjena mogućnost njegove adsorpcije na površini GCE. Na slikama 59 i 60A, međutim, pored nepokrivenih delova GCE vide se u velikoj meri i bele kristalne čestice. EDS analizom je utvrđeno (slike 60A, B) da se na površini elektrode nalazi iskristalisani kalijum-sulfat, a  $\text{TiO}_2$  je prisutan samo u zanemarljivim količinama. Zbog toga su merenja vršena bez filtriranja uzoraka.



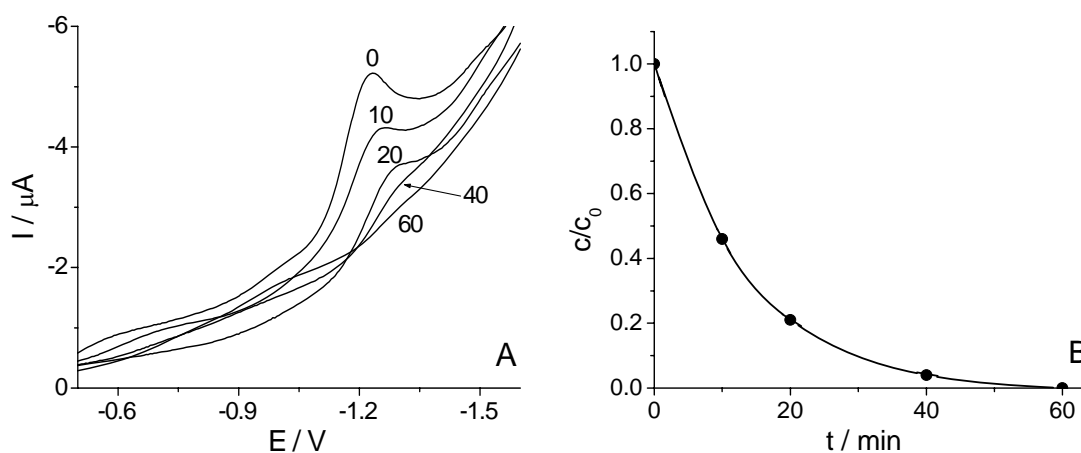
Slika 59. SEM snimci površinske strukture GCE nakon njene primene kao radne elektrode za ispitivanje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida. Uvećanje: 2000 (A) i 100 (B).



Slika 60. SEM (A) i EDS (B) rezultati analize GCE nakon njene primene kao radne elektrode za ispitivanje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida.



Na slici 61 je prikazano voltametrijsko praćenje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida. Na osnovu dobijenih voltamograma (slika 61A) i odgovarajuće kinetičke krive (slika 61B) za fotokatalitičku degradaciju imidakloprida može se uočiti da se insekticid razgrađuje veoma brzo. Za 10 minuta se razgradi oko 50%, a nakon 60 minuta praktično sav imidaklopid.



Slika 61. DPV signali praćenja fotokatalitičke degradacije  $167 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida primenom UV zračenja (A) i odgovarajuća kinetička kriva (B). Brojevi pored krivih označavaju vreme kada su uzeti uzorci. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $\text{pH} = 7,0$ .

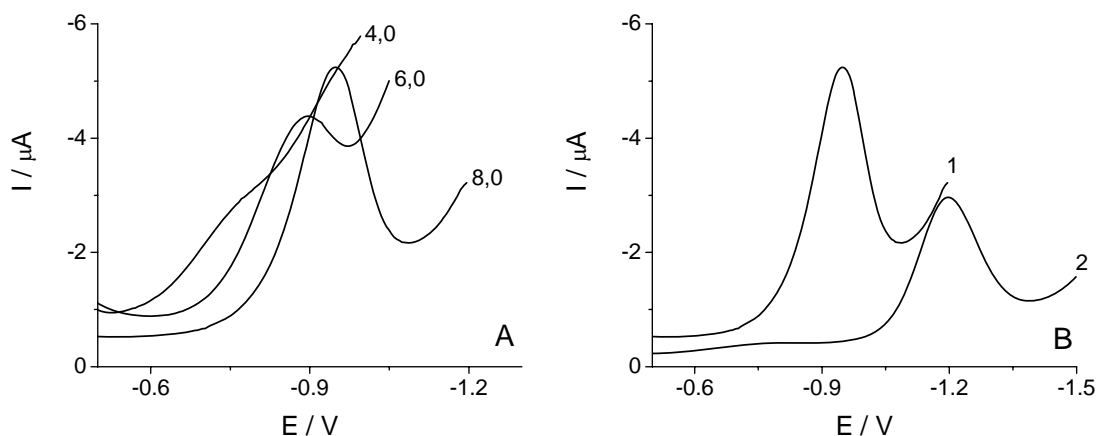
Razgradnja imidakloprida pokazuje kinetiku pseudo-prvog reda, a prividna konstanta brzine razgradnje imidakloprida dobijena DPV metodom na GCE iznosi  $k_{ap} = -0,082 \text{ min}^{-1}$ . Ovaj rezultat je u dobroj saglasnosti sa kinetičkim podacima dobijenim za fotokatalitičku razgradnju imidakloprida pomoću komparativne HPLC/DAD ( $k_{ap} = -0,076 \text{ min}^{-1}$ ), FTIR ( $k_{ap} = -0,077 \text{ min}^{-1}$ ) i DPV metode uz primenu BiFE kao radne elektrode ( $k_{ap} = -0,076 \text{ min}^{-1}$ ). Rezultati tih ispitivanja su prikazani u poglavlju 5.2.4.

### 5.2.3. Karakterizacija i određivanje neonikotinoide pomoću bizmut-filmom modifikovane elektrode od staklastog ugljenika u model-rastvorima

Uspeh određivanja pomoću BiFE u velikoj meri zavisi od kvaliteta bizmut-filma. Optimalan potencijal izdvajanja bizmuta za katodna voltametrijska određivanja, između ostalog, zavisi od sastava elektrodnog materijala i karakteristika njene površine [20, 106, 107]. Ciklički voltamogrami snimljeni u rastvoru za depoziciju ( $v = 10\text{--}25 \text{ mV s}^{-1}$ ) pružaju neophodne informacije o potencijalu izdvajanja filma. Kao što je to ranije utvrđeno [20, 106, 107], potencijal redukcionog pika je najpogodniji potencijal za izdvajanje filma. Za elektrode na bazi ugljenika je to između  $-0,20$  i  $-0,35 \text{ V}$ . BiFE, koja je pripremljena pri nižim potencijalima daje znatniju rezidualnu struju, koja negativno utiče na proces detekcije i određivanja ispitivanih supstanci. U slučaju *ex situ* katodne primene, nakon vađenja BiFE iz rastvora za depoziciju i uranjavanja u neutralan ili bazan rastvor analita, može da dođe do brze pasivacije elektrodne površine. Nađeno je da pranje elektrode rastvorom hlorovodonične kiseline koncentracije  $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$  predstavlja pogodan način uklanjanja bizmutovih kompleksa sa elektrodne površine, što nema negativnog uticaja na osetljivost metode [20, 26]. Nakon pranja se vrši elektrohemijska aktivacija cikliranjem potencijala elektrode u opsegu od  $-0,40$  do  $-1,60 \text{ V}$  u rastvoru pomoćnog elektrolita. Bizmut-film dobijen na ovaj način karakterišu nukleusi, koji gustim, slučajnim rasporedom pokrivaju površinu elektrode (slika 6A). Međutim,

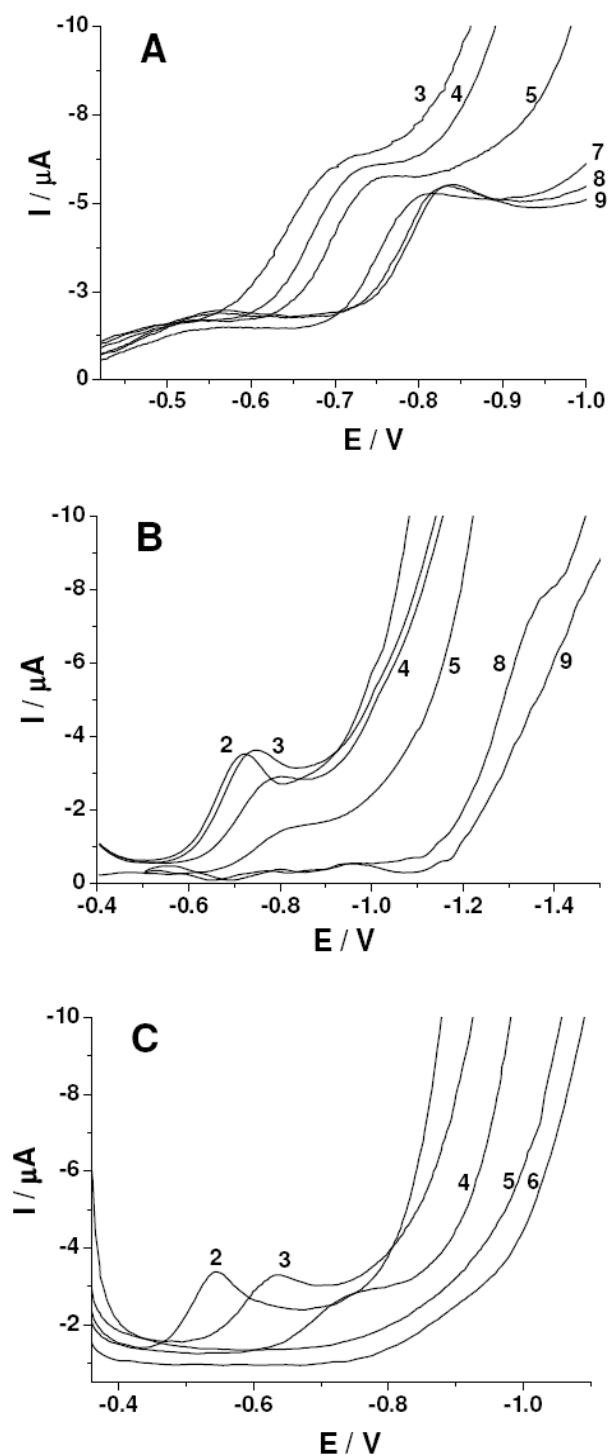
očigledno je da pored delova površine pokrivenih bizmutom, značajan deo površine ostaje slobodan [20].

U ovom delu rada je izvršeno ispitivanje i određivanje klotianidina, acetamiprida, imidakloprida i 6-HNK pomoću BiFE. Pošto proučavane supstance sadrže različite elektroaktivne grupe, moglo se očekivati i njihovo različito voltametrijsko ponašanje. Karakteristike DPV i LSV signala, kao što su npr. potencijal redukcije, oblik i intenzitet, u velikoj meri zavise od pH-vrednosti pomoćnog elektrolita (slike 62A, 63). Ovakvo ponašanje se može pripisati važnoj ulozi protona u redukcionom mehanizmu [20, 58, 59, 108]. Sa slike 62 se jasno vidi da se sa porastom pH-vrednosti povećava intenzitet DPV signala klotianidina na BiFE. Uočava se takođe, da je signal ispitivane komponente pri pH 8,0 dobijen pomoću BiFE intenzivniji od onog dobivenog pomoću GCE (slika 62B), što predstavlja direktan dokaz povećanja osetljivosti određivanja primenom bizmut-filmom modifikovane elektrode u odnosu na nemodifikovanu GCE.



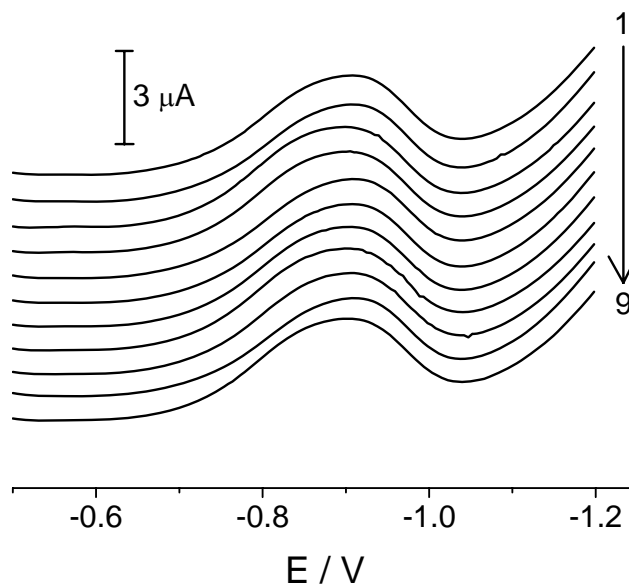
Slika 62. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na DPV signale klotianidina (A) i upoređivanje DPV signala klotianidina na BiFE (1) i GCE (2) pri pH 8,0 (B). Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ ,  $c = 27,05 \mu\text{g cm}^{-3}$ .

LSV signali imidakloprida pokazuju sličnu pH-zavisnost kao klotianidin. Ireverzibilni redukcionni pik imidakloprida se javlja u oblasti  $-0,55$  i  $-0,90$  V (pH 3,0–9,0), pri čemu se najintenzivniji signal pojavljuje pri pH 8,0. Redukcionni pik acetamiprida, koji se nalazi u opsegu od  $-0,45$  do  $-0,85$  V (pH 2,0–5,0), je takođe ireverzibilan. Sa povećanjem baznosti rastvora intenzitet redukcionnog pika se smanjuje i postaje neupotrebljiv za analitičku primenu. Grafik koji pokazuje zavisnost  $E_p$  od pH-vrednosti je linearan, i u slučaju imidakloprida ( $E_p = -0,623 - 0,024\text{pH}$ ;  $r > 0,993$ ), i u slučaju acetamiprida ( $E_p = -0,637 - 0,036\text{pH}$ ;  $r > 0,997$ ). Uzevši u obzir oblik i intenzitet DPV (slika 62A) i LSV signala (slika 63), klotianidin i imidaklopid su određivani pri pH 8,0, a acetamiprid pri pH 3,0. Ispitano je i voltametrijsko ponašanje 6-HNK (zajednički sintetski prekursor i degradacioni proizvod imidakloprida i acetamiprida), koja zbog sličnog redukcionnog potencijala može da ometa određivanje acetamiprida, jer daje merljiv voltametrijski signal pri pH 2,0 i 3,0.



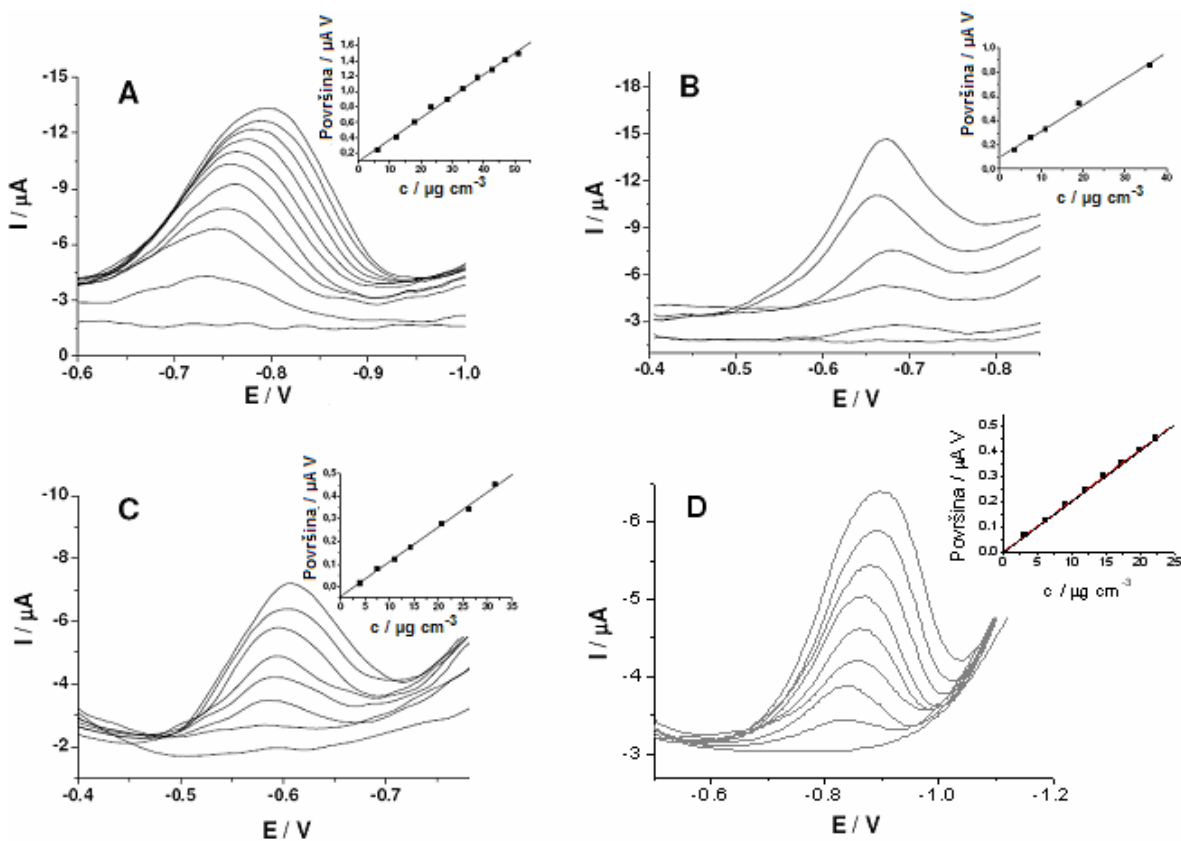
Slika 63. Uticaj pH (vrednosti označene na krivima) na LSV signale imidakloprida (A), acetamiprida (B) i 6-HNK (C) na BiFE. Uslovi merenja:  $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $c = 0,65 \text{ mmol dm}^{-3}$  [108].

Kao i u slučaju TCP-CPE, ni kod BiFE nisu uočeni neželjeni adsorpcioni procesi. Na slici 64 su prikazani uzastopno snimljeni DPV signali klotianidina, koji ne pokazuju značajnije promene u ispitivanom vremenskom intervalu od 30 minuta.



Slika 64. DPV signali snimljeni uzastopno pomoću BiFE za  $22,38 \mu\text{g cm}^{-3}$  rastvor klotianidina pri  $\text{pH} = 8,0$  u toku 30 minuta. Krive su pomerene po y-osi radi bolje preglednosti. Uslovi merenja:  $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ .

Kvantitativno određivanje pomenutih jedinjenja pomoću BiFE se zasniva na linearnoj zavisnosti između površine redukcionog pika i koncentracije (slika 65). Analitički parametri određivanja su prikazani u tablici 16.



Slika 65. DPV signali dobiveni za različite koncentracije imidakloprida (A) [108], acetamiprida (B) [108], 6-HNK (C) [108] i klotianidina (D) pomoću BiFE i odgovarajuće kalibracione prave u insertu. Uslovi merenja:  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ , amplituda pulsa  $50 \text{ mV}$ , širina pulsa  $50 \text{ ms}$ , pH 8,0 (A, D) i 3,0 (B, C).

Tablica 16. Analitički parametri za DPV određivanje acetamiprida, klotianidina, imidakloprida i 6-HNK pomoću BiFE. *r*: korelacioni koeficijent; *GD*: granica detekcije; *GO*: granica određivanja.

Parametar	Metoda			
	DPV			
	acetamiprid	klotianidin	imidaklopid	6-HNK
Koncentracioni interval [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,95–47,3	2,51–22,4	2,43–51,1	3,52–31,5
Odsečak [ $\mu\text{A V}$ ]	0,097	0,0005	0,094	- 0,044
Nagib [ $\mu\text{A V cm}^3 \mu\text{g}^{-1}$ ]	0,023	0,020	0,028	0,016
<i>r</i>	0,998	0,999	0,998	0,998
<i>GD</i> [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	0,88	0,75	0,73	1,05
<i>GO</i> [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ]	2,95	2,51	2,43	3,52
RSD [%] ( <i>n</i> =6)	1,4	1,1	1,2	1,7

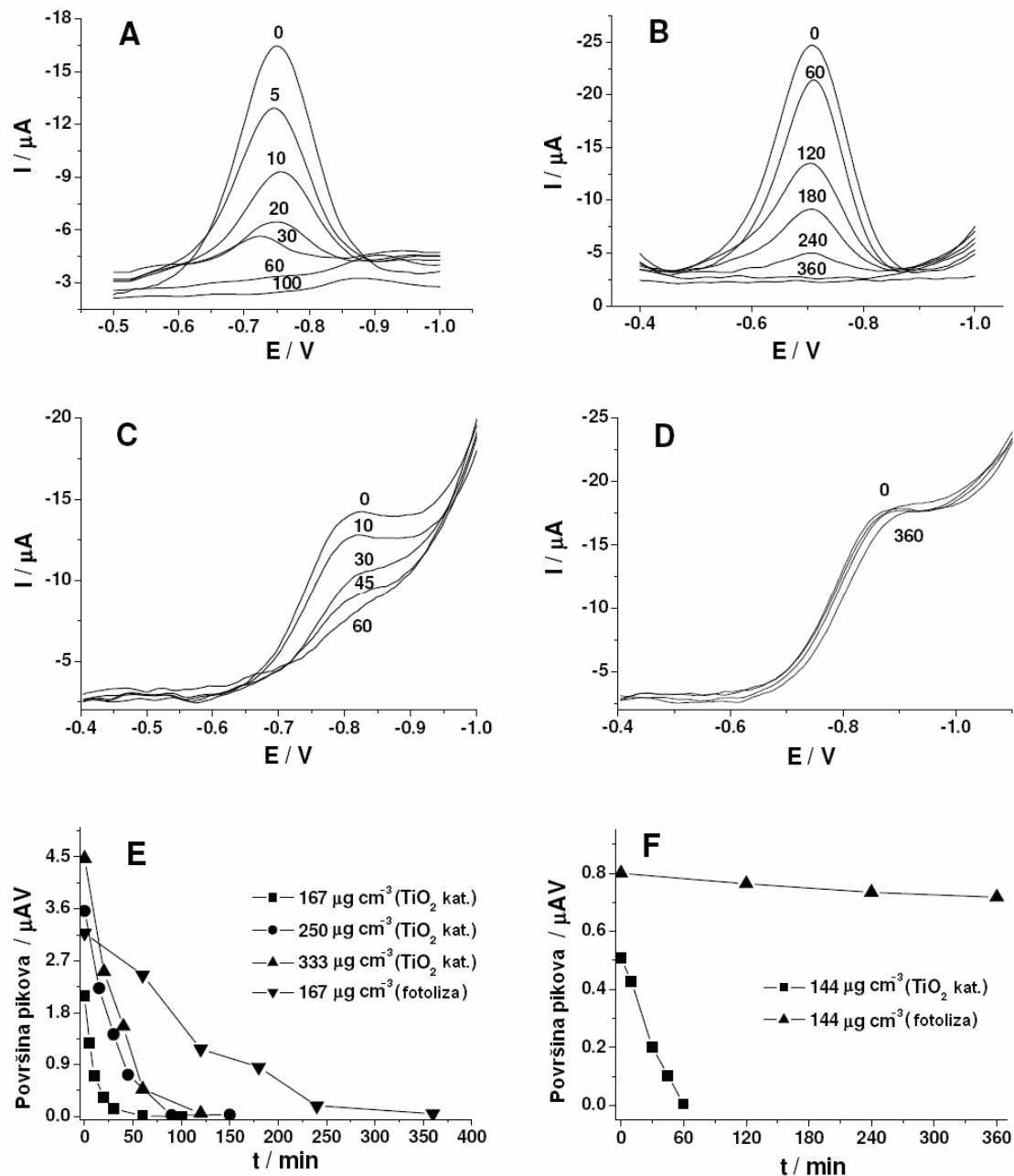
#### 5.2.4. Primena bizmut-filmom modifikovane elektrode od staklastog ugljenika za praćenje fotorazgradnje imidakloprida i acetamiprida

Nakon razrade DPV metode za određivanje imidakloprida i acetamiprida u model-rastvorima, ispitana je mogućnost njene primene za praćenje njihove fotolitičke i fotokatalitičke razgradnje. Slično ispitivanjima fotodegradacije pomoću TCP-CPE i GCE, i u slučaju BiFE je bilo potrebno prevazići različite eksperimentalne poteškoće, počevši od prisustva fotokatalizatora u slučaju fotokatalize, pojave potencijalno elektroaktivnih degradacionih proizvoda i velike promene pH-vrednosti rastvora. Na primer, u slučaju fotokatalitičke razgradnje acetamiprida je došlo do smanjenja pH sa 5,0 na 2,0. Zbog veoma velikog uticaja pH-vrednosti na voltametrijske signale, bilo je potrebno podesiti pH uzoraka pre analize na optimalnu vrednost. Eksperimenti su pokazali da dodatak



neutralne soli (npr. kalijum-sulfata ili kalijum-hlorida) u relativno visokoj koncentraciji dovodi do efikasnijeg taloženja katalizatora u odnosu na sam pufer i na ovaj način smanjuje mogućnost njegove adsorpcije na elektrodnu površinu. Zbog toga su merenja vršena bez filtriranja uzoraka.

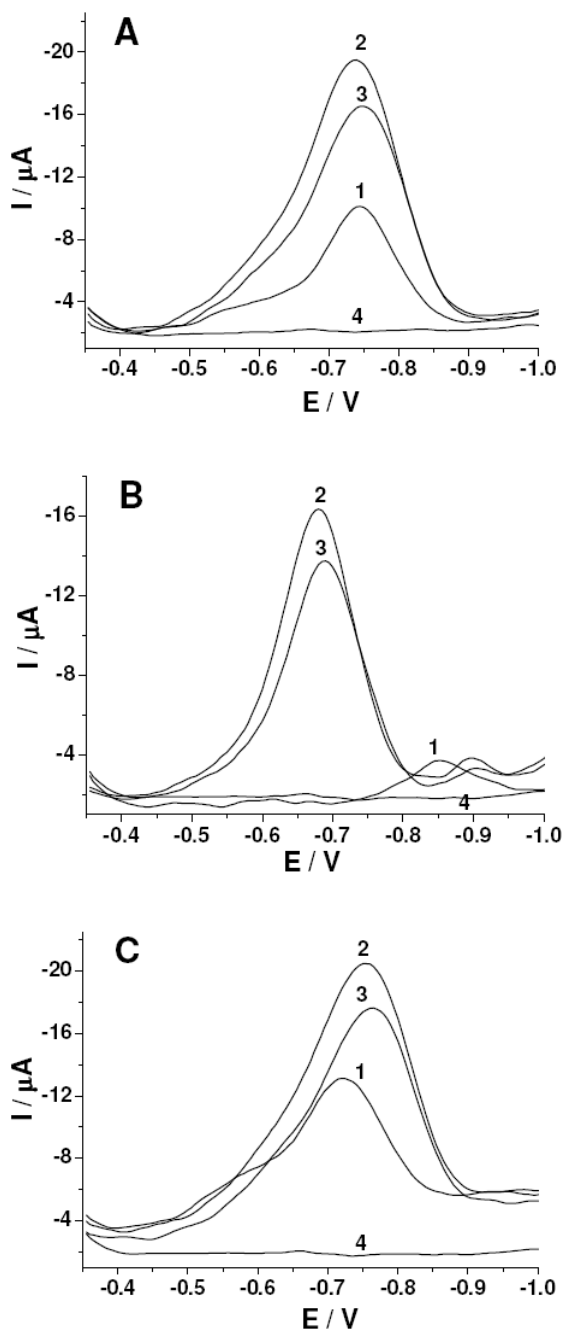
Prikazivanjem površine DPV signala, dobijenih za različite uzorke tokom degradacionog procesa u funkciji koncentracije, dobijene su odgovarajuće kinetičke krive za imidakloprid i acetamiprid (slika 66). Slike 66A i E pokazuju da je brzina fotokatalitičke razgradnje imidakloprida relativno velika i da zavisi od koncentracije. Potpuni nestanak voltametrijskog signala se uočava nakon 30–90 minuta, u zavisnosti od koncentracije. S druge strane, u slučaju fotolize (slike 66B, E) uočava se sporije smanjenje površine redukcionog pika. Sa slike 67 se jasno vidi da prisustvo degradacionih proizvoda (npr. 6-HNK) ne ometa određivanje imidakloprida. Koncentracija insekticida u ispitivanim fotolitičkim i fotokatalitičkim uzorcima se može lako odrediti dodavanjem poznate količine imidakloprida i u prisustvu visoke koncentracije 6-HNK.



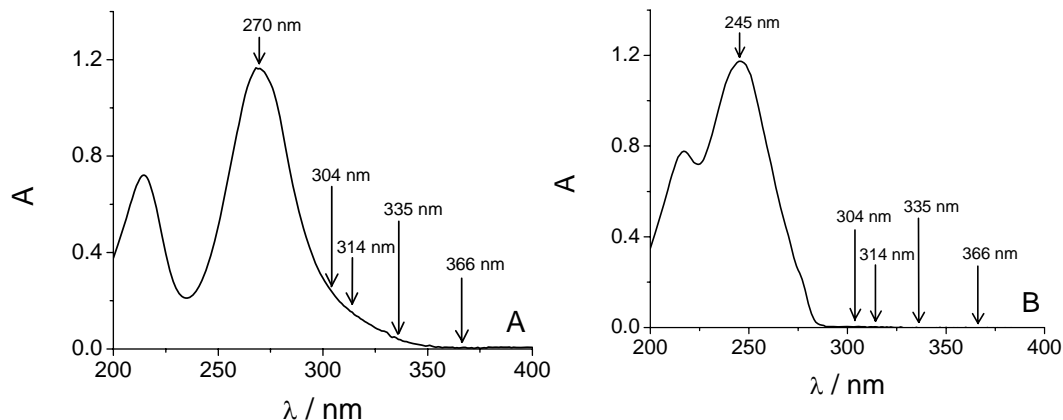
Slika 66. DPV signali snimljeni pomoću BiFE tokom fotokatalitičke (A, C) i fotoliitičke (B, D) degradacije imidakloprida (A, B, E) i acetamiprida (C, D, F) primenom UV zračenja i odgovarajuće kinetičke krive (E, F) [108]. Brojevi pored krivih označavaju vreme uzorkovanja u minutima. Početne koncentracije insekticida (označene na E i F) su bile sledeće: 167 (A, B), 250 i 333  $\mu\text{g cm}^{-3}$  za imidakloprid i 144  $\mu\text{g cm}^{-3}$  za acetamiprid. Ostali parametri su identični onima prikazanim na slici 65.

U prisustvu katalizatora DPV signal acetamiprida (iste molarne koncentracije kao imidaklopid) nestaje nakon 60 minuta ozračivanja (slike 66C, F). Nasuprot ovome, u slučaju fotolize nema značajnih promena voltometrijskih signala (slike 66D, F). Iz svega izloženog se može zaključiti da acetamiprid pokazuje veću fotostabilnost nego imidaklopid. Uzevši u obzir i rezultate ispitivanja fotorazgradnje dobijene pomoću TCP-CPE, možemo zaključiti da neonikotinoide sa *N*-cijanoiminskom farmakoforom pokazuju najveću fotostabilnost među komercijalnim neonikotinoide. S druge strane, *N*-nitroimini su umereno stabilni, a nitenpiram, sa 2-nitrometilenskom farmakoforom se može okarakterisati kao fotolabilan.

Može se pretpostaviti da se razlike u brzini fotokatalitičke razgradnje imidakloprida i acetamiprida mogu delimično objasniti razlikama u njihovim apsorpcionim spektrima (slika 68). Slično imidaklopidu (270 nm) i acetamiprid ima apsorpcioni maksimum u UV-C oblasti (245 nm), ali samo molekuli imidakloprida mogu apsorbovati zračenje talasne dužine veće talasne dužine od 300 nm (slika 68A). Pošto primenjeni izvor zračenja pretežno emituje iznad ove talasne dužine, acetamiprid se u prisustvu TiO<sub>2</sub> razgrađuje skoro isključivo fotokatalizom, dok u slučaju degradacije imidakloprida, pored fotokatalize, i fotoliza igra značajnu ulogu.



Slika 67. DPV signali snimljeni za fotolitičke (A) i fotokatalitičke (B, C) degradacione uzorke ( $6 \text{ cm}^3$ ) imidakloprida (1), nakon dodatka  $1 \text{ cm}^3$   $256 \mu\text{g cm}^{-3}$  imidakloprida (2), nakon narednog dodatka  $1 \text{ cm}^3$   $157 \mu\text{g cm}^{-3}$  6-HNK (3) i odgovarajuće bazne linije (4). Vreme ozračivanja: 120 min (A), 150 min (B) i 30 min (C). Ostali parametri su identični onima prikazanim na slici 65 [108].



Slika 68. ApSORPCIONI spektri imidakloprida (A) i acetamiprida (B) pri pH 7,0 i koncentraciji od  $3,26 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ . Pored apSORPCIONIH maksimuma ispitivanih komponenti, naznačene su i talasne dužine glavnih emisionih linija primenjene HPL-N lampe.

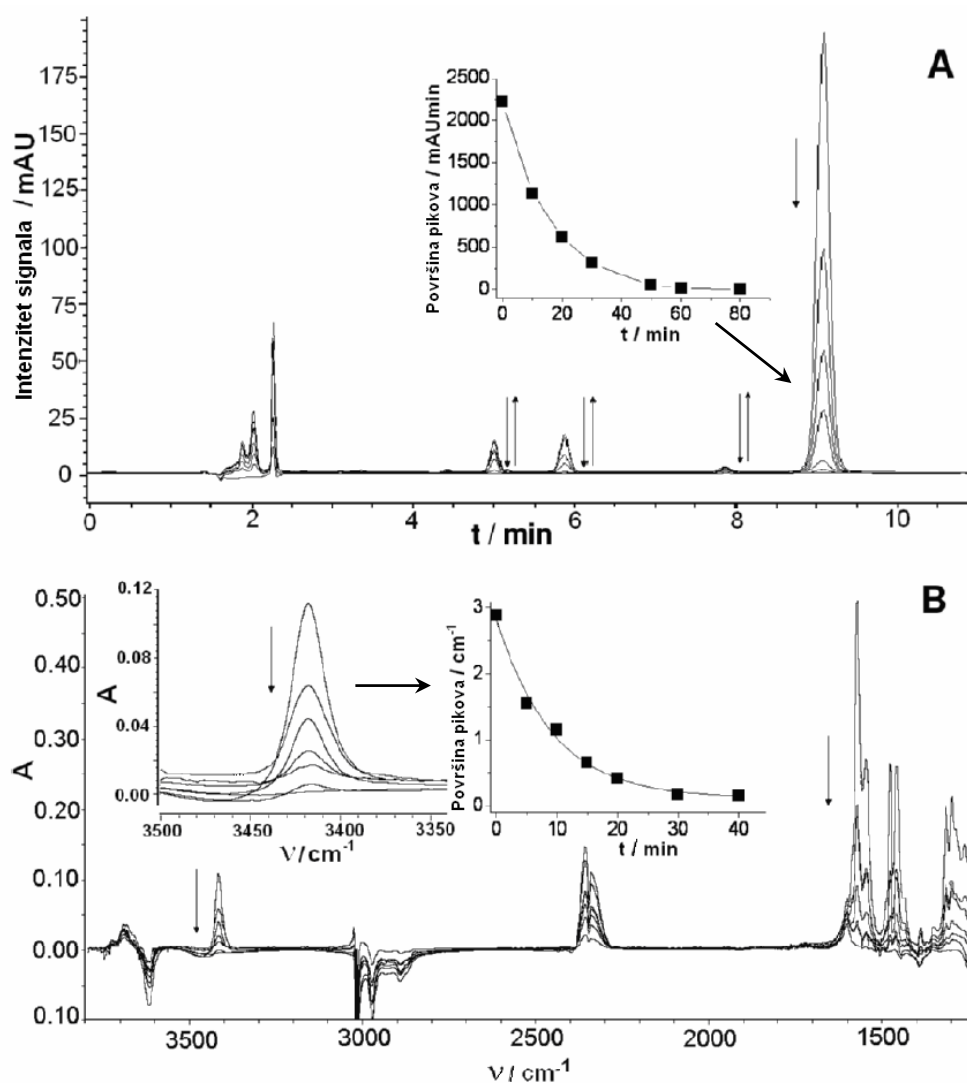
Takođe je ispitan i efekat početne koncentracije imidakloprida (167, 250 i  $333 \mu\text{g cm}^{-3}$ ) na brzinu fotokatalitičke razgradnje, a rezultati su prikazani na slici 66E i u tablici 17.

Tablica 17. Uticaj početne koncentracije imidakloprida na brzinu fotokatalitičke degradacije.

$c [\mu\text{g cm}^{-3}]$	Kinetički parametri		
	$k_{\text{ap}} [\text{min}^{-1}]$	$r$	$t_{1/2} [\text{min}]$
167	- 0,076	0,996	9,1
250	- 0,034	0,999	20,1
333	- 0,026	0,998	26,4

Na osnovu linearne zavisnosti između  $\ln c/c_0$  i vremena ozračivanja zaključeno je da je reakcija fotokatalitičke razgradnje imidakloprida pseudo-prvog reda. Nagib ovih pravih predstavlja prividnu konstantu brzine reakcije razgradnje.

Voltametrijски rezultati (kinetički parametri i degradacione krive) za fotokatalitičku degradaciju imidakloprida i acetamiprida su upoređeni sa rezultatima HPLC/DAD i FTIR merenja (slika 69 i tablica 18). Kao što se to vidi sa slike 69B, FTIR spektar pruža kvalitativne i kvantitativne informacije o elektroaktivnoj nitro-grupi ( $3419\text{ cm}^{-1}$ ) i piridinskom delu molekula ( $1572\text{ cm}^{-1}$  i  $1476\text{ cm}^{-1}$ ) imidakloprida tokom razgradnje. Signali su potpuno nestali nakon 30 minuta ozračivanja. U slučaju acetamiprida, signali na  $1577\text{ cm}^{-1}$  (piridinski fragment) i  $2186\text{ cm}^{-1}$  (cijano-grupa) su nestali za 60 minuta.



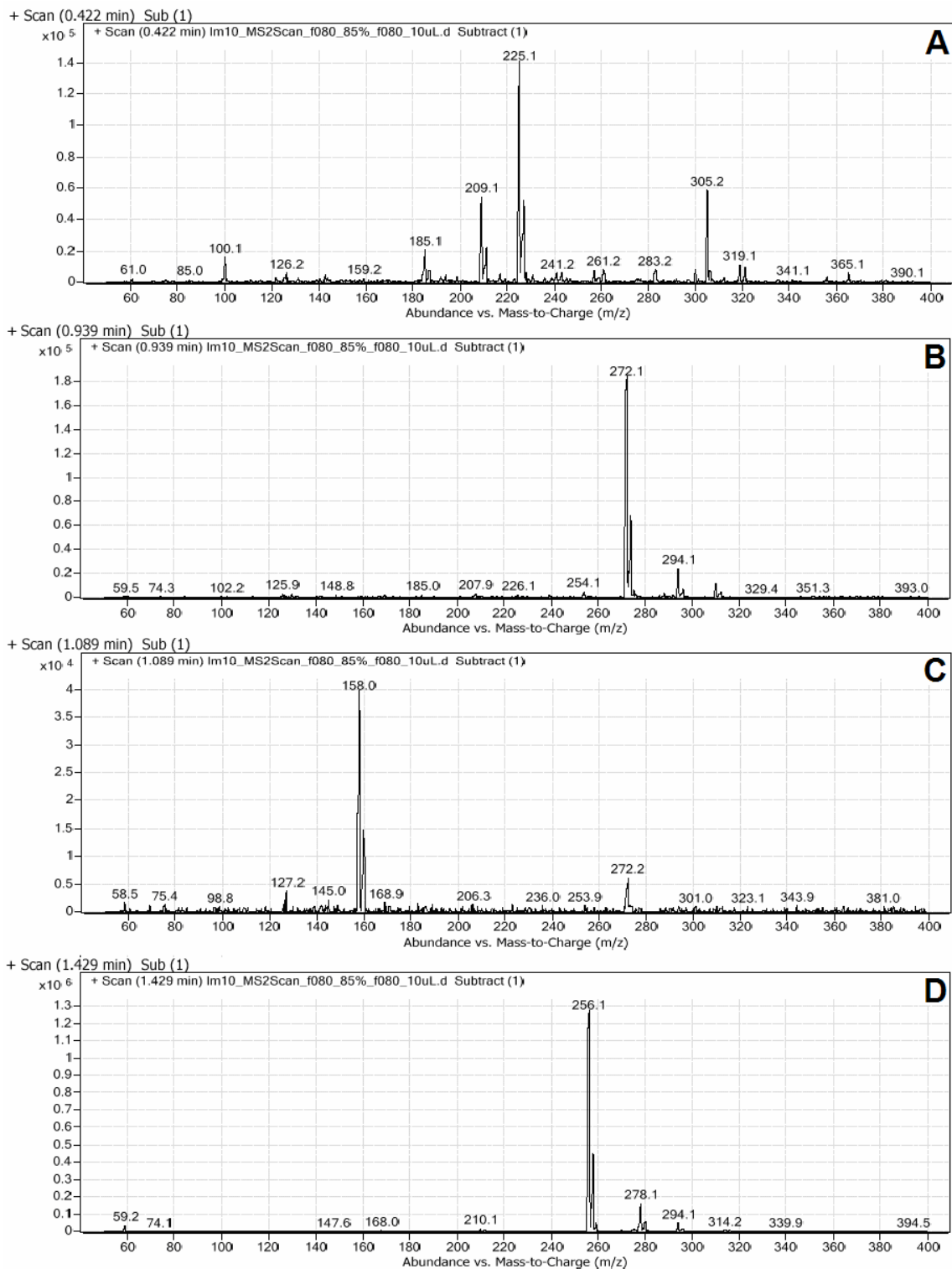
Slika 69. Komparativni HPLC/DAD (A) i FTIR (B) signali i odgovarajuće kinetičke krive.  $c_0(\text{imidaklopid}) = 167\ \mu\text{g cm}^{-3}$  [108].

Na osnovu poređenja rezultata gornjih analitičkih tehnika, može se zaključiti da je svaka od njih pogodna za praćenje fotokatalitičke razgradnje imidakloprida i acetamiprida (tablica 18).

Tablica 18. Neki kinetički parametri fotokatalitičke degradacije imidakloprida i acetamiprida ( $0,65 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) dobijeni FTIR, HPLC/DAD i DPV tehnikama.

Kinetički parametri	Metode					
	FTIR		HPLC/DAD		DPV	
	imidakl.	acetam.	imidakl.	acetam.	imidakl.	acetam.
$k_{ap} [\text{min}^{-1}]$	- 0,077	- 0,034	- 0,076	- 0,032	- 0,076	- 0,034
$t_{1/2} [\text{min}]$	9,0	20,7	9,2	20,4	9,1	20,3
$r$	0,991	0,994	0,995	0,987	0,996	0,999

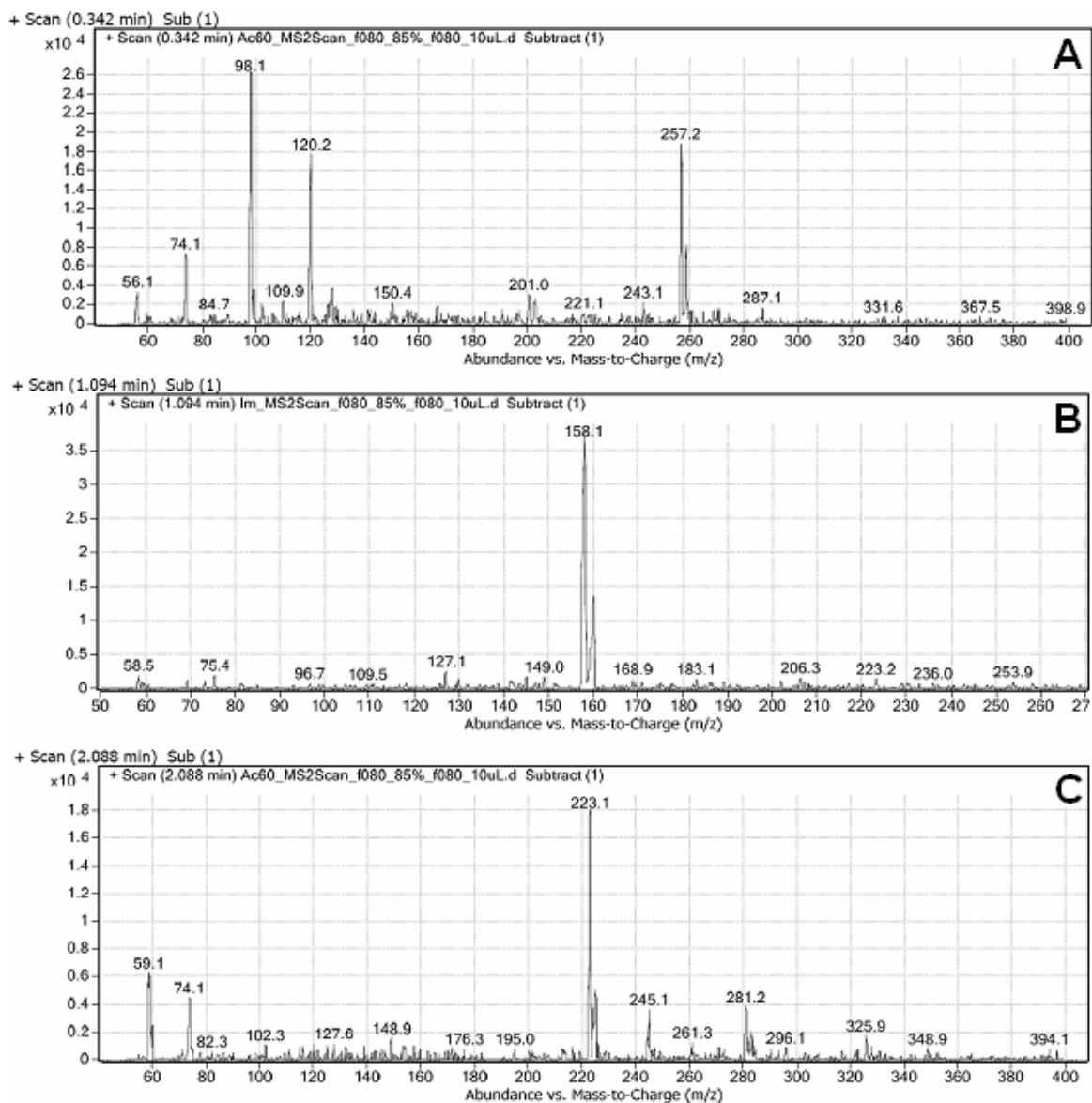
Za razliku od voltametrijske tehnike, hromatografija obuhvata pored detekcije i stupanj razdvajanja. MS/MS-detektor je korišćen pre svega za kvalitativnu analizu mogućih degradacionih intermedijera (slike 70, 71 i tablice 19, 20), a DA-detektor za kvantitativna određivanja (slika 69A). U slučaju MS ispitivanja primenjen je  $(M+H)^+$  način detekcije. Saglasno ranijim rezultatima [95, 109-111], u slučaju imidakloprida nađeno je nekoliko intermedijera sa tipičnim  $1\text{Cl}$  izotopnim klasterom (npr.  $m/z$  158, 225 i 272), pri čemu se može pretpostaviti da signal  $m/z$  158 potiče od 6-HNK.



Slika 70.  $(M+H)^+$  maseni spektri nekih intermedijera (A-C) i imidakloprida (D) nađenih u fotokatalitičkom uzorku imidakloprida nakon 10 minuta ozračivanja.

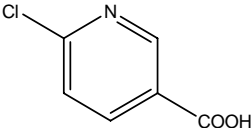
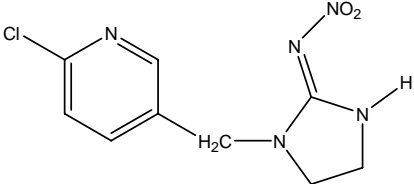
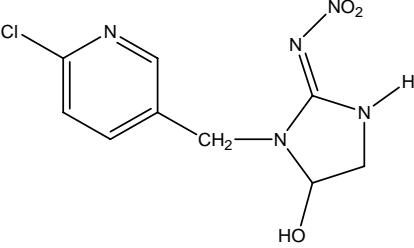
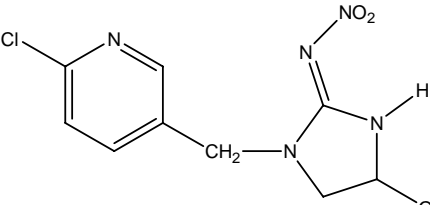


U slučaju acetamiprida detektovani su intermedijeri sa  $m/z$  257 i 158 (6-HNK). Količina nastale 6-HNK u ovom slučaju je manja nego kod imidakloprida. Nađeno je da se koncentracije degradacionih proizvoda menjaju (rastu i opadaju) u toku razgradnje (slika 69A). Pošto proizvodi razgradnje nisu (mnogo) stabilniji od početnih komponenti, ne treba očekivati njihovo veće prisustvo u reakcionoj smeši. Ove male količine degradacionih proizvoda ne ometaju voltametrijsko određivanje imidakloprida. U slučaju viših koncentracija acetamiprida, kada se može očekivati i više 6-HNK u reakcionoj smeši, može se primeniti jednostavna tečno-tečna ekstrakcija za odvajanje određivane komponente od degradacionih proizvoda (ili HPLC sa BiFE detektorom). Naši eksperimenti pokazuju da pri pH 6,0 i 7,0 6-HNK ostaje u vodenoj fazi, pri čemu insekticid kvantitativno prelazi u hloroformski sloj. Nakon uklanjanja hloroforma i rastvaranja ostatka u odgovarajućem puferu, uzorak je spreman za voltametrijsko ispitivanje.

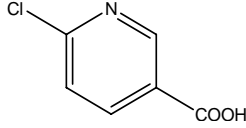
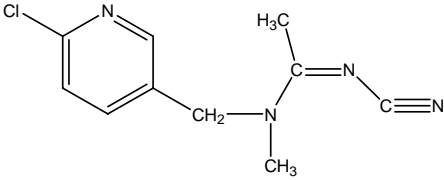


Slika 71.  $(M+H)^+$  maseni spektri nekih intermedijera (A, B) i acetamiprida (C) nađenih u fotokatalitičkom uzorku acetamiprida nakon 60 minuta ozračivanja.

Tablica 19. Neki od mogućih intermedijera fotokatalitičke degradacije imidakloprida.  
Podaci za imidakloprid su takođe prikazani.

Relativna molekulska masa	Retenciono vreme [min]	Nađeni jon $[M+H]^+$	Pretpostavljena molekulska struktura
157,55	1,09	158,0	
–	0,42	225,1	–
255,66	1,43	256,1	
271,66	0,94	272,1	 ili 

Tablica 20. Neki od mogućih intermedijera fotokatalitičke degradacije acetamiprida.  
Podaci za acetamiprid su takođe prikazani.

Relativna molekulska masa	Retenciono vreme [min]	Nađeni jon $[M+H]^+$	Pretpostavljena molekulska struktura
157,55	1,09	158,1	
222,67	2,09	223,1	
–	0,34	257,2	–

Na osnovu prikazanih rezultata možemo zaključiti da voltometrijski postupak uz primenu BiFE predstavlja efikasan, ekonomičan i ekološki prihvatljiv način za određivanje količine imidakloprida i acetamiprida tokom njihove fotorazgradnje.

## 6. REZIME

U poslednjih nekoliko godina, neonikotinoidi predstavljaju najvažniju klasu insekticida na tržištu. Kao moćni agonisti, oni selektivno deluju na nikotin-acetilholinske receptore (nAChR) insekata. Imaju relativno nizak rizik za ne-ciljne organizme i životnu sredinu. Njihova široka upotreba rezultuje u sve češćoj pojavi ovih jedinjenja u životnoj sredini i namirnicama. Zbog toga postoji velika potreba za razradom brzih i jednostavnih metoda za karakterizaciju i određivanje neonikotinoida. Elektroanalitičke metode, uključujući voltametriju, često predstavljaju pogodan način za određivanje različitih zagađivača. Elektrode na bazi ugljenika su u veoma širokoj upotrebi u elektroanalitičkoj hemiji, pre svega zbog širokog potencijalskog prozora, niske rezidualne struje, bogate površinske hemije, niske cene i hemijske inertnosti. Uzevši u obzir sve te činjenice, u ovoj disertaciji su razrađene voltametrijske metode na različitim elektrodama na bazi ugljenika, kao što su elektrode od ugljениčke paste (CPE), elektrode od staklastog ugljenika (GCE) i bizmut-filmom modifikovani staklasti ugljenik (BiFE) za karakterizaciju i određivanje pet neonikotinoida: imidakloprida, tiametoksama, klotianidina, nitenpirama i acetamiprida.

1. Izvršena je voltametrijska karakterizacija i određivanje imidakloprida, tiametoksama, klotianidina i nitenpirama pomoću CPE. Različiti eksperimentalni parametri, kao što su efekat rastvorenog kiseonika, kondicioniranje elektrodne

površine, efekat pH-vrednosti pomoćnog elektrolita i efekti vezivnog sredstva su bili ispitivani i optimizovani radi postizanja što niže rezidualne struje i što intenzivnijih signala analita. Utvrđeno je da je potrebno produvavati azot kroz ispitivani rastvor radi uklanjanja efekta rastvorenog kiseonika. Cikliranje potencijala u potencijalskom opsegu analize dovodi do smanjenja rezidualne struje i stabilnijih voltametrijskih signala. Utvrđeno je da od ispitivanih vezivnih sredstava (silikonsko ulje, *n*-tetradekan i trikrezil-fosfat (TCP)) TCP daje elektrodu sa najboljim karakteristikama za analitičke primene. Svi ispitivani neonikotinoide su dali najintenzivniji signal pri pH 7,0. Kvantitativno diferencijalno pulsno voltametrijsko (DPV) određivanje neonikotinoide u model-rastvorima se zasniva na linearnoj zavisnosti između intenziteta pikova i koncentracije. Granice određivanja su 1,73, 2,23, 2,70 i 2,51  $\mu\text{g cm}^{-3}$  za imidaklopid, tiametoksam, klotianidin i nitenpiram, respektivno. Izvršena je i fizička karakterizacija CR 5 grafitnog praha, osnovnog sastojka elektrodnog materijala i reprezentativne površine dobijene TCP-CPE pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije sa detektorom na bazi energetske disperzije (SEM/EDS).

2. Razrađena DPV metoda za određivanje neonikotinoide na TCP-CPE je bila primenjena za određivanje imidakloprida i tiametoksama u uzorcima rečne vode i u komercijalnim formulacijama (Macho 200 SL, Confidor 200 SL i Actara 25 WG) metodom standardnog dodatka. Veoma dobra korelacija između određivane i nominalne (dodate) količine i niske vrednosti relativne standardne devijacije (RSD) ukazuju na visoku tačnost i preciznost razvijene metode. Rezultati

komparativne teĥnohromatografske metode sa detektorom od niza dioda (HPLC/DAD) su u dobroj saglasnosti za rezultatima DPV, kako u pogledu odreĊivane koncentracije, tako i u pogledu RSD.

3. TCP-CPE je bila primenjena i za praćenje fotolitiĥke i fotokatalitiĥke degradacije imidakloprida, tiametoksama, klotianidina i nitenpirama. UtvrĊeno je da fotolitiĥki procesi slede kinetiku prvog, a fotokatalitiĥki procesi kinetiku pseudo-prvog reda. UtvrĊena je znaĥajna razlika u stabilnosti ispitivanih neonicotinoida. Razvijena DPV metoda i komparativna HPLC/DAD analiza su dale veoma sliĥne kinetiĥke podatke, ťto dokazuje da se voltametrijska metoda sa TCP-CPE moĥe primeniti za dobijanje brzih informacija o koncentraciji neonicotinoida u toku njihove fotodegradacije.
4. Izvrťena je voltametrijska karakterizacija i odreĊivanje klotianidina i nitenpirama pomoću GCE. Razliĥiti eksperimentalni parametri su bili ispitivani i optimizovani radi postizanja ťto niĥe rezidualne struje i ťto intenzivnijih signala analita. UtvrĊeno je da je potrebno prođuvavanje ispitivanih rastvora azotom radi uklanjanja efekta rastvorenog kiseonika. Cikliranje potencijala elektrode u potencijalskom opsegu analize je dovelo do smanjenja rezidualne struje i stabilnijih voltametrijskih signala. Najintenzivniji signali su dobijeni pri pH 8,0. Kvantitativno DPV odreĊivanje klotianidina i nitenpirama u model-rastvorima se zasniva na linearnoj zavisnosti izmeĊu intenziteta pikova i koncentracije. Granice odreĊivanja su 2,84 i 2,43  $\mu\text{g cm}^{-3}$  za klotianidin i nitenpiram, respektivno.
5. GCE je bila primenjena i za praćenje fotokatalitiĥke degradacije imidakloprida. Ispitivana je adsorpcija  $\text{TiO}_2$  na elektrodnoj povrťini pomoću SEM/EDS.

Utvrđeno je da ne dolazi do značajnije adsorpcije fotokatalizatora na površini, što omogućuje direktno praćenje fotorazgradnje bez filtriranja uzorka pre analize. Takođe je utvrđeno da fotokatalitički proces sledi kinetiku pseudo-prvog reda. Razvijena DPV metoda i komparativna HPLC/DAD analiza su dale veoma slične kinetičke podatke, što dokazuje da se DPV metoda sa GCE može primeniti za dobijanje brzih informacija o koncentraciji imidakloprida u toku njegove fotodegradacije.

6. Bizmut-filmom modifikovana GCE (BiFE) je bila primenjena za voltametrijsku karakterizaciju i određivanje acetamiprida, klotianidina, imidakloprida i 6-hlornikotinske kiseline (6-HNK), sintetskog prekursora i zajedničkog degradacionog proizvoda imidakloprida i acetamiprida. Utvrđeno je da prisustvo rastvorenog kiseonika ne ometa određivanje ovih neonikotinoida pomoću BiFE i zato su sva dalja merenja pomoću ove elektrode vršena bez produvavanja rastvora azotom. Najintenzivniji signali su dobijeni pri pH 8,0 u slučaju imidakloprida i klotianidina i pri pH 3,0 u slučaju acetamiprida i 6-HNK. Kvantitativno DPV određivanje u model-rastvorima se zasnivala na linearnoj zavisnosti između površine pikova i koncentracije. Granice određivanja su 2,95, 2,51, 2,43 i 3,52  $\mu\text{g cm}^{-3}$  za acetamiprid, klotianidin, imidakloprid i 6-HNK, respektivno.
7. BiFE je bila primenjena za praćenje fotolitičke i fotokatalitičke degradacije imidakloprida i acetamiprida. Nađeno je da fotolitički procesi su slede kinetiku prvog, a fotokatalitički procesi kinetiku pseudo-prvog reda. Utvrđena je značajna razlika u stabilnosti ispitivanih neonikotinoida. Razvijena DPV metoda i komparativna HPLC/DAD i infracrvena spektrometrijska (FTIR) analiza su dale



veoma slične kinetičke podatke, što dokazuje da se voltametrijska metoda sa BiFE može primeniti za dobijanje brzih informacija o koncentraciji neonikotinoida u toku njihove fotodegradacije. Za identifikaciju nekih fotoprodukata nastalih tokom razgradnje je primenjena tečnohromatografska metoda sa tandemskom masenospektrometrijskom detekcijom (HPLC/MS/MS).

## 7. SUMMARY

### Voltammetric characterization and determination of selected neonicotinoids using different carbon-based electrodes

In the last several years, neonicotinoids have represented the most important class of insecticides on the market. As a potent agonists, they act on nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) of the insects. They have a relatively low risk for non-target organisms and environment. Their widespread use results in their often appearance in the environment and foods. Because of that, there is a growing need for the development of fast and simple methods for the characterization and determination of the neonicotinoids. Electroanalytical methods, including voltammetry, often represent a convenient way for the determination of various pollutants. Carbon-based electrodes are in widespread use in electroanalytical chemistry, primarily because of their broad potential window, low residual current, rich surface chemistry, low cost and chemical inertness. Taking into account all these facts, the objective of this dissertation was to develop voltammetric methods involving different carbon-based electrodes such as carbon paste electrodes (CPE), glassy carbon electrodes (GCE) and bismuth-film modified glassy carbon (BiFE)

for the characterization and determination of five neonicotinoids: imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin, nitenpyram and acetamiprid.

1. Voltammetric characterization and determination of imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin and nitenpyram were performed using CPEs. Different experimental parameters such as the effects of dissolved oxygen, electrode conditioning, pH of the supporting electrolyte and the effects of the binding liquids were investigated and optimized in order to achieve as low as possible residual current and most intense analyte signals. It was shown that the purging of the investigated solutions with nitrogen was necessary to remove the effect of the dissolved oxygen. Potential cycling in the potential range of the analysis resulted in lowering of the background current and more stable voltammetric signals. It was demonstrated that among the investigated binding liquids (silicone oil, *n*-tetradecane and tricresyl phosphate (TCP)) TCP gives electrode with the best characteristics for analytical applications. All investigated neonicotinoids gave the most intense signals at pH 7.0. Quantitative differential pulse voltammetric (DPV) determination of neonicotinoids was based on the linear relationship between the intensity of the peaks and concentration. Limits of quantitation were 1.73, 2.23, 2.70 and 2.51  $\mu\text{g cm}^{-3}$  for imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin and nitenpyram, respectively. Physical characterization of the CR 5 graphite powder, the basic component of the electrode material, and of the representative surface of the resulting TCP-CPE was also performed using scanning electron microscopy with energy-dispersive detector (SEM/EDS).

2. The developed DPV method for the determination of neonicotinoids at TCP-CPE was applied for the determination of imidacloprid and thiamethoxam in river water samples and commercial formulations (Macho 200 SL, Confidor 200 SL and Actara 25 WG) using the standard addition method. Very good correlation between determined and nominal (added) amounts and low RSD values reflect the high accuracy and precision of the developed method. Results of the comparative high-performance liquid chromatographic method with diode array detector (HPLC/DAD) are in good agreement with the results of the DPV, both in respect of the determined concentration and RSD.
3. TCP-CPE was applied for the monitoring of the photolytic and photocatalytic degradation of imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin and nitenpyram. It was shown that the photolytic processes follow the first-order kinetics, while the photocatalytic processes follow pseudo-first order kinetics. Significant difference in the behavior of the investigated neonicotinoids was observed. The developed DPV method and the HPLC/DAD analysis gave very similar kinetic data, which confirms that the voltammetric method using TCP-CPE can be applied for obtaining fast information about concentration of the neonicotinoids during their photodegradation.
4. Voltammetric characterization and determination of clothianidin and nitenpyram was performed using GCE. Different experimental parameters were investigated with the aim of achieving as low as possible background current and most stable voltammetric signals. It was shown that the purging of the investigated solutions with nitrogen is essential for removing the effect of the dissolved oxygen. Cycling

of the electrode potential in the potential range of the analysis resulted in lowering of the background current and stable voltammetric signals. The most intense signals were achieved at pH 8.0. Quantitative DPV determination of clothianidin and nitenpyram was based on the linear relationship between the intensity of the peaks and concentration. Limits of quantitation were 2.84 and 2.43  $\mu\text{g cm}^{-3}$  for clothianidin and nitenpyram, respectively.

5. GCE was also applied for the monitoring of the imidacloprid concentration during its photocatalytic degradation. The adsorption of  $\text{TiO}_2$  on the electrode surface was investigated using SEM/EDS. It was shown that there is no significant adsorption of the photocatalyst on the surface, which allows direct monitoring of the photodegradation without the need for filtering of the samples before the analysis. It was also shown, that the photocatalytic process follows a pseudo-first order kinetics. The developed DPV method and the comparative HPLC/DAD gave very similar kinetic data, which demonstrates that the DPV method using GCE can be applied for obtaining fast information about the neonicotinoid concentration during their photodegradation.
6. Bismuth-film modified GCE (BiFE) was applied for voltammetric characterization and determination of acetamiprid, clothianidin, imidacloprid and 6-chloronicotinic acid (6-CNA), the synthetic precursor and common degradation product of imidacloprid and acetamiprid. It was shown that the effect of the dissolved oxygen did not affect the determination of these neonicotinoids with BiFE and hence all measurements were performed without purging of the solutions with nitrogen. The most intense signals were obtained at pH 8.0 in case

of imidacloprid and clothianidin, and at pH 3.0 for acetamiprid and 6-CNA. Quantitative DPV determination in model solutions was based on the linear relationship between the peak area and concentration. Limits of quantitation were 2.95, 2.51, 2.43 and 3.52  $\mu\text{g cm}^{-3}$  for acetamiprid, clothianidin, imidacloprid and 6-CNA, respectively.

7. BiFE was applied for the monitoring of photolytic and photocatalytic degradation of imidacloprid and acetamiprid. Photolytic processes followed a first-order kinetics, while photocatalytic processes followed pseudo-first order kinetics. Significant difference in the stability of the investigated neonicotinoids was observed. The developed DPV method and the comparative HPLC/DAD and infrared spectrometric (FTIR) analysis gave very similar kinetic data, which confirms that the voltammetric method using BiFE can be applied for obtaining fast information about concentration of the neonicotinoids during their photodegradation. For the identification of some photoproducts formed during the degradation, liquid chromatography with tandem mass-spectrometric detection (HPLC/MS/MS) was applied.

## 8. LITERATURA

- [1] R. L. McCreery, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2646.
- [2] K. Kinoshita, *Carbon: Electrochemical and Physicochemical Properties*, John Wiley and Sons, New York, USA, 1988.
- [3] C. A. Leon y Leon, L. R. Radovic, "Interfacial Chemistry and Electrochemistry of Carbon Surfaces", in: *Electroanalytical Chemistry (P. A. Throver, ed.)*, Vol 24, Marcel Dekker, New York, USA, 1994, str. 213-310.
- [4] [http://en.wikipedia.org/wiki/Allotropes\\_of\\_carbon](http://en.wikipedia.org/wiki/Allotropes_of_carbon) [23.07.2010.]
- [5] G. M. Jenkins, K. Kawamura, *Polymeric Carbons – Carbon Fibre, Glass and Char*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1976.
- [6] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2<sup>nd</sup> ed., Wiley-VCH, New York, USA, 2000.
- [7] R. L. McCreery, "Carbon Electrodes: Structural Effects on Electron Transfer Kinetics", in: *Electroanalytical Chemistry (A. Bard, ed.)*, Vol. 17, Marcel Dekker, New York, USA, 1991, str. 221-373.
- [8] K. Kalcher, I. Švancara, R. Metelka, K. Vytřas, A. Walcarius, "Heterogeneous Carbon Electrochemical Sensors", in: *Encyclopedia of Sensors (C. A. Grimes, E. C. Dickey, M. V. Pishko, eds.)*, Vol. 4, American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, USA, 2006, str. 283-429.

- [9] I. Švancara, K. Vytřas, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang, *Electroanal.* 21 (2009) 7.
- [10] K. Kalcher, I. Švancara, M. Buzuk, K. Vytřas, A. Walcarius, *Monatsh. Chem.* 140 (2009) 861.
- [11] K. Vytřas, I. Švancara, R. Metelka, *J. Serb. Chem. Soc.* 74 (2009) 1021.
- [12] I. Švancara, A. Walcarius, K. Kalcher, K. Vytřas, *Cent. Eur. J. Chem.* 7 (2009) 598.
- [13] <http://www.2spi.com/catalog/mounts/glassy-vitreous-carbon-powders.php>  
[28.07.2010.]
- [14] W. Matuszewski, M. Trojanowicz, *Analyst* 113 (1988) 735.
- [15] J. Wang, M. S. Lin, *Anal. Chem.* 60 (1988) 1545.
- [16] P. J. F. Harris, *Philos. J.* 84 (2004) 3159.
- [17] I. Švancara, C. Prior, S. B. Hočevar, J. Wang, *Electroanal.* 22 (2010) 1405.
- [18] S. B. Hočevar, B. Ogorevc, J. Wang, *Book of Abstracts of the 7<sup>th</sup> Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry*, Graz, Austria, 2000, 19.
- [19] J. Wang, J.-M. Lu, S. B. Hočevar, P. A. M. Farias, B. Ogorevc, *Anal. Chem.* 72 (2000) 3218.
- [20] V. Guzsvány, M. Kádár, F. Gaál, L. Bjelica, K. Tóth, *Electroanal.* 18 (2006) 1363.
- [21] I. Švancara, K. Vytřas, *Chem. Listy* 100 (2006) 90.
- [22] A. Economou, *TrAC – Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 334.
- [23] V. Guzsvány, *J. Flow Injection Anal.* 24 (2007) 126.
- [24] J. Wang, *Electroanal.* 17 (2005) 1341.



- [25] C. Kokkinos, A. Economou, *Curr. Anal. Chem.* 4 (2008) 183.
- [26] F. F. Gaál, V. J. Guzsvány, L. J. Bjelica, *J. Serb. Chem. Soc.* 72 (2007) 1465.
- [27] D. Du, X. Ye, J. Zhang, D. Liu, *Electrochim. Acta* 53 (2008) 4478.
- [28] M. Moreno, E. Bermejo, M. Chicharro, A. Zapardiel, A. S. Arribas, *Electroanal.* 21 (2009) 415.
- [29] B. Claux, O. Vittori, *Electroanal.* 19 (2007) 2243.
- [30] I. Campestrini, O. C. De Braga, I. C. Vieira, A. Spinelli, *Electrochim. Acta* 55 (2010) 4970.
- [31] P. Jeschke, R. Nauen, *Pest Manag. Sci.* 64 (2008) 1084.
- [32] P. Jeschke, R. Nauen, M. Schindler, A. Elbert, *J. Agric. Food Chem.* (2010) doi: 10.1021/jf101303g.
- [33] K. Matsuda, S. D. Buckingham, D. Kleier, J. J. Rauh, M. Grauso, D. B. Sattelle, *Trends Pharm. Sci.* 22 (2001) 573.
- [34] A. Elbert, M. Haas, B. Springer, W. Thielert, R. Nauen, *Pest Manag. Sci.* 64 (2008) 1099.
- [35] I. Ohno, M. Tomizawa, K. A. Durkin, J. E. Casida, S. Kagabu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 3449.
- [36] X. Shao, W. Zhang, Y. Peng, Z. Li, Z. Tian, X. Qian, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 6513.
- [37] I. Ohno, M. Tomizawa, A. Aoshima, S. Kumazawa, S. Kagabu, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 4999.
- [38] S. Kagabu, M. Takagi, I. Ohno, T. Mikawa, T. Miyamoto, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 2947.

- [39] W. Zhang, X. Yang, W. Chen, X. Xu, L. Li, H. Zhai, Z. Li, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 2741.
- [40] C. D. S. Tomlin (ed.), *The Pesticide Manual: A World Compendium*, 15<sup>th</sup> ed., British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, UK, 2009.
- [41] K. A. Ford, J. E. Casida, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 10168.
- [42] M. Tomizawa, T. T. Talley, D. Maltby, K. A. Durkin, K. F. Medzihradsky, A. L. Burlingame, P. Taylor, J. E. Casida, *PNAS* 104 (2007) 9075.
- [43] R. Nauen, U. Ebbinghaus-Kintscher, V. L. Salgado, M. Kausmann, *Pestic. Biochem. Physiol.* 76 (2003) 55.
- [44] V. Guzsvány, F. Gaál, S. Lazić, Zs. Papp, *Program i kratki izvodi radova* 43. *Savetovanja Srpskog hemijskog društva*, Beograd, 2005, 94.
- [45] F. Gaál, V. Guzsvány, S. Lazić, N. Vidaković, *Proceedings of the 12<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems*, Szeged, Hungary, 2005, 88.
- [46] V. Guzsvány, Zs. Papp, S. Lazić, F. Gaál, L. Bjelica, B. Abramović, *J. Serb. Chem. Soc.* 74 (2009) 1455.
- [47] V. Guzsvány, J. Csanádi, S. Lazić, F. Gaál, *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (2009) 152.
- [48] V. Guzsvány, N. Banić, Zs. Papp, F. Gaál, B. Abramović, *Reac. Kinet. Mech. Cat.* 99 (2010) 225.
- [49] V. Guzsvány, J. Csanádi, F. Gaál, *Acta Chim. Slov.* 53 (2006) 52.
- [50] J. L. Vilchez, M. C. Valencia, A. Navalón, B. Molinero-Morales, L. F. Capitán-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* 439 (2001) 299.
- [51] J. L. Vilchez, R. El-Khattabi, R. Blanc, A. Navalón, *Anal. Chim. Acta* 371 (1998) 247.

- [52] J. López-Flores, A. Molina Díaz, M. L. Fernández de Córdova, *Talanta* 72 (2007) 991.
- [53] A. F. Lagalante, P. W. Greenbacker, *Anal. Chim. Acta* 590 (2007) 151.
- [54] G. Quintás, S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, *J. Braz. Chem. Soc.* 15 (2004) 307.
- [55] A. Navalón, R. El-Khattabi, A. González-Casado, J. L. Vilchez, *Microchim. Acta* 130 (1999) 261.
- [56] R. Blanc, A. González-Casado, A. Navalón, J. L. Vilchez, *Anal. Chim. Acta* 403 (2000) 117.
- [57] A. Guiberteau, T. Galeano, N. Mora, P. Parrilla, F. Salinas, *Talanta* 53 (2001) 943.
- [58] V. J. Guzsvány, F. F. Gaál, L. J. Bjelica, Sz. N. Ökrész, *J. Serb. Chem. Soc.* 70 (2005) 735.
- [59] V. Guzsvány, M. Kádár, F. Gaál, K. Tóth, L. Bjelica, *Microchim. Acta* 154 (2006) 321.
- [60] S. Watanabe, S. Ito, Y. Kamata, N. Omoda, T. Yamazaki, H. Munakata, T. Kaneko, Y. Yuasa, *Anal. Chim. Acta* 427 (2001) 211.
- [61] H.-J. Kim, S. Liu, Y.-S. Keum, Q.X. Li, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 1823.
- [62] H.-J. Kim, W. L. Shelver, Q. X. Li, *Anal. Chim. Acta* 509 (2004) 111.
- [63] E. Watanabe, H. Eun, K. Baba, T. Arao, Y. Ishii, S. Endo, M. Ueji, *Anal. Chim. Acta* 521 (2004) 45.
- [64] E. Watanabe, K. Baba, H. Eun, S. Miyake, *Food Chem.* 102 (2007) 745.

- [65] E. Watanabe, H. Eun, K. Baba, T. Arao, Y. Ishii, S. Endo, M. Ueji, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 2756.
- [66] T. Xu, C. M. Jacobsen, I. K. Cho, A. H. Hara, Q. X. Li, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 8444.
- [67] H. J. Kim, W. L. Shelver, E. C. Hwang, T. Xu, Q. X. Li, *Anal. Chim. Acta* 571 (2006) 66.
- [68] T. Xu, K.-Y. Wei, J. Wang, H.-X. Ma, J. Li, Y.-J. Xu, Q. X. Li, *J. AOAC Int.* 93 (2010) 12.
- [69] S. Girotti, E. Maiolini, S. Ghini, S. Eremin, J. Mañes, *Anal. Lett.* 43 (2010) 466.
- [70] J. L. Vilchez, R. El-Khattabi, J. Fernández, A. González-Casado, A. Navalón, *J. Chromatogr. A* 746 (1996) 289.
- [71] A. Navalón, A. González-Casado, R. El-Khattabi, J. L. Vilchez, A. R. Fernández-Alba, *Analyst* 122 (1997) 579.
- [72] K. Zheng, W. Liu, *Pest. Sci.* 55 (1999) 482.
- [73] M. Mateu-Sánchez, M. Moreno, F. J. Arrebola, J. L. Martínez-Vidal, *Anal. Sci.* 19 (2003) 701.
- [74] M. Tokieda, M. Ozawa, S. Kobayashi, T. Gomyo, *J. Pest. Sci.* 22 (1999) 77.
- [75] F. Hernández, J. V. Sancho, O. Pozo, A. Lara, E. Pitarch, *J. Chromatogr. A* 939 (2001) 1.
- [76] C. Blasco, M. Fernández, Y. Picó, G. Font, J. Mañes, *Anal. Chim. Acta* 461 (2002) 109.
- [77] H. Obana, M. Okihashi, K. Akutsu, Y. Kitagawa, S. Hori, *J. Agric. Food Chem.* 51 (2003) 2501.

- [78] R. Schöning, R. Schmuck, *Bull. Insectology* 56 (2003) 41.
- [79] I. Ferrer, E. M. Thurman, A. R. Fernandez-Alba, *Anal. Chem.* 77 (2005) 2818.
- [80] S. Seccia, P. Fidente, D. A. Barbini, P. Moricca, *Anal. Chim. Acta* 553 (2005) 21.
- [81] P. Proença, H. Teixeira, F. Castanheira, J. Pinheiro, P. V. Monsanto, E. P. Marquez, D. Nuno Viera, *Forensic Sci. Int.* 153 (2005) 75.
- [82] P. Fidente, S. Seccia, F. Vanni, P. Moricca, *J. Chromatogr. A* 1094 (2005) 175.
- [83] A. Di Muccio, P. Fidente, D. A. Barbini, R. Dommarco, S. Seccia, P. Moricca, *J. Chromatogr. A* 1108 (2006) 1.
- [84] S. Totti, M. Fernández, S. Ghini, Y. Picó, F. Fini, J. Mañes, S. Girotti, *Talanta* 69 (2006) 724.
- [85] S. Liu, Z. Zheng, F. Wei, Y. Ren, W. Gui, H. Wu, G. Zhu, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 3271.
- [86] A. Kamel, *J. Agric. Food Chem.* 58 (2010) 5926.
- [87] A. R. Fernández-Alba, A. Valverde, A. Aguera, M. Contreras, S. Chiron, *J. Chromatogr. A* 721 (1996) 97.
- [88] M. Martínez Galera, A. Garrido Frenich, J. L. Martínez Vidal, P. Parrila Vázquez, *J. Chromatogr. A* 799 (1998) 149.
- [89] A. I. Mandić, S. D. Lazić, Sz. N. Ökrész, F. F. Gaál, *J. Anal. Chem.* 12 (2005) 1134.
- [90] E. Watanabe, K. Baba, H. Eun, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 3798.
- [91] S. Seccia, P. Fidente, D. Montesano, P. Moricca, *J. Chromatogr. A* 1214 (2008) 115.

- [92] V. Guzsvány, A. Madžgalj, P. Trebše, F. Gaál, M. Franko, *Environ. Chem. Lett.* 5 (2007) 203.
- [93] M. D. Gil García, M. Martínez Galera, R. Santiago Valverde, A. Galanti, S. Girotti, *J. Chromatogr. A* 1147 (2007) 17.
- [94] N. Ruíz de Erenchun, Z. Gómez de Balugera, M. A. Goicolea, R. J. Barrio, *Anal. Chim. Acta* 349 (1997) 199.
- [95] M. Rancan, A. G. Sabatini, G. Achilli, G. C. Galletti, *Anal. Chim. Acta* 555 (2006) 20.
- [96] M. Rancan, S. Rossi, A. G. Sabatini, *J. Chromatogr. A* 1123 (2006) 60.
- [97] A. Segura Carretero, C. Cruces-Blanco, S. Pérez Durán, A. Fernández Gutiérrez, *J. Chromatogr. A* 1003 (2003) 189.
- [98] X. Bi, K.-L. Yang, *Anal. Chem.* 81 (2009) 527.
- [99] J. García-Reyes, A. U. Jackson, A. Molina-Díaz, R. G. Cooks, *Anal. Chem.* 81 (2009) 820.
- [100] I. Švancara, K. Vytřas, R. Metelka, *Czech. Pat. Appl.* (2002) PV 3939.
- [101] J. N. Miller, J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5<sup>th</sup> ed., Pearson Education Limited, Edinburgh Gate, England, 2005.
- [102] B. Abramović, *Mikroanaliza – Odabrana poglavlja*, 2. izd., Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, 2000.
- [103] I. Švancara, K. Vytřas, *Anal. Chim. Acta* 273 (1993) 195.
- [104] T. Grygar, F. Marken, U. Schröder, F. Stolz, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 67 (2002) 163.

- [105] S. Malato, J. Blanco, J. Cáceres, A. R. Fernández-Alba, A. Agüera, A. Rodríguez, *Catal. Today* 76 (2002) 209.
- [106] A. Królicka, A. Bobrowski, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 99.
- [107] I. Švancara, L. Baldrianova, M. Vlcek, R. Metelka, K. Vytřas, *Electroanal.* 17 (2005) 120.
- [108] V. Guzsvány, M. Kádár, Zs. Papp, L. Bjelica, F. Gaál, K. Tóth, *Electroanal.* 20 (2008) 291.
- [109] A. Aügera, E. Almansa, S. Malato, M. I. Maldonado, A.R. Fernández-Alba, *Analisis* 26 (1998) 245.
- [110] P. Jeschke, R. Nauen, "Neonicotinoid insecticides", in: *Comprehensive Molecular Insect Science* (L. Gilbert, K. Iatrou, S. S. Gill, eds.), Vol. 5, Elsevier, Oxford, UK, 2005, 53-105.
- [111] N. P. Moza, K. Hustert, E. Feicht, A. Kettrup, *Chemosphere* 36 (1998) 497.

## 9. LISTA PUBLIKACIJA

### *Radovi u vrhunskim međunarodnim časopisima* [M21]

1. V. Guzsvány, M. Kádár, **Zs. Papp**, L. Bjelica, F. Gaál, K. Tóth, "Monitoring of Photocatalytic Degradation of Selected Neonicotinoid Insecticides by Cathodic Voltammetry with a Bismuth Film Electrode", *Electroanal.* 20 (2008) 291-300. IF: 2,901
2. **Zs. Papp**, I. Švancara, V. Guzsvány, K. Vytřas, F. Gaál, "Voltammetric Determination of Imidacloprid Insecticide in Selected Samples Using a Carbon Paste Electrode", *Microchim. Acta* 166 (2009) 169-175. IF: 2,648

### *Radovi u međunarodnim časopisima* [M23]

1. V. Guzsvány, **Zs. Papp**, S. Lazić, F. Gaál, L. Bjelica, B. Abramović, "A Rapid Spectrophotometric Determination of Imidacloprid in Selected Commercial Formulations in the Presence of 6-Chloronicotinic Acid", *J. Serb. Chem. Soc.* 74 (2009) 1455-1465. IF: 0,820
2. V. Guzsvány, N. Banić, **Zs. Papp**, F. Gaál, B. Abramović, "Comparison of Different Iron-Based Catalysts for Photocatalytic Removal of Imidacloprid", *Reac. Kinet. Mech. Cat.* 99 (2010) 225-233. IF: 0,557 (2009)
3. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, Sz. Kubiak, A. Bobrowski, L. Bjelica, "Voltammetric Determination of the Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam Using a Tricresyl Phosphate-Based Carbon Paste Electrode", *J. Serb. Chem. Soc.* 75 (2010) 681-687. IF: 0,820 (2009)

### *Radovi u časopisima nacionalnog značaja* [M51]

1. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, I. Švancara, K. Vytřas, "Carbon Paste Electrodes for the Analysis of Some Agricultural Pollutants and Trace Metals", *J. Agric. Sci. Technol.* (ISSN 1939-1250, USA), prihvaćen.

### *Monografska studija/poglavlje u knjizi M12 ili rad u tematskom zborniku međunarodnog značaja* [M14]

1. V. Guzsvány, **Zs. Papp**, L. Bjelica, F. Gaál, "Voltammetric Monitoring of Photocatalytic Degradation of Imidacloprid, Nitenpyram and Acetamiprid Neonicotinoid Insecticides", in: *Sensing in Electroanalysis* (K. Vytřas, K. Kalcher, I. Švancara, eds.), Vol. 3, ISBN 978-80-7395-087-3, University of Pardubice, Pardubice, Czech Republic, 2008, 105-116.



2. **Zs. Papp**, I. Švancara, V. Guzsvány, K. Vytřas, F. Gaál, L. Bjelica, B. Abramović, "New Applications of Tricresyl Phosphate-Based Carbon Paste Electrodes in Voltammetric Analysis", in: *Sensing in Electroanalysis* (K. Vytřas, K. Kalcher, I. Švancara, eds.), Vol. 4, ISBN 978-80-7395-212-9, University of Pardubice, Pardubice, Czech Republic, 2009, 47-58.

**Radovi saopštenji na skupu međunarodnog značaja štampani u celini** [M33]

1. V. Guzsvány, **Zs. Papp**, L. Bjelica, F. Gaál, "Voltammetric Study of Photocatalytic Degradation of Imidacloprid in Aqueous Solution", *Proceedings of the 13<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems*, Szeged, Hungary, 2006, 96-110.
2. V. Guzsvány, N. Banić, **Zs. Papp**, F. Gaál, "Investigation of the Different Photooxidation Degradation Processes of Imidacloprid", *Proceedings of the 14<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems*, Szeged, Hungary, 2007, 100-104.

**Radovi saopštenji na skupu međunarodnog značaja štampani u izvodu** [M34]

1. V. Guzsvány, L. Bjelica, **Zs. Papp**, F. Gaál, "Voltammetric Monitoring of Photocatalytic Degradation of Selected Neonicotinoid Insecticides", *Ernö Pretsch Symposium – Development and Application of Chemical Sensors*, Zürich, Switzerland, 2007, 29.
2. **Zs. Papp**, I. Švancara, V. Guzsvány, K. Vytřas, F. Gaál, "Direct Voltammetric Determination of Imidacloprid Insecticide Using a Tricresyl Phosphate-Based Carbon Paste Electrode", *Mátrafüred '08 International Conference on Electrochemical Sensors*, Dobogókő, Hungary, 2008, 75-76.
3. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, "Voltammetric Investigation of Selected Neonicotinoid Insecticides Using Different Carbon-Based Electrodes", *16<sup>th</sup> Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry*, Graz, Austria, 2009, 10-11.
4. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, I. Švancara, K. Vytřas, "Carbon Paste Electrode for the Monitoring of Photodegradation of Selected Insecticides", *2<sup>nd</sup> Regional Symposium on Electrochemistry – South-East Europe*, Belgrade, Serbia, 2010, 114.
5. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, "Contribution to the Analytical Chemistry of Neonicotinoids: Spectrophotometric, Voltammetric and HPLC Measurements", *17<sup>th</sup> Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry*, Venice, Italy, 2010, 6.
6. V. Guzsvány, M. Putek, B. Tasić, **Zs. Papp**, A. Bobrowski, "Refreshable Mercury Film Silver Based Electrode for Voltammetric Monitoring of Thiamethoxam Insecticide in Honey, Actara 25-WG and Danube Water Samples", *10<sup>th</sup> International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry – 2<sup>nd</sup> Workshop: Specific Methods for Food Safety and Quality*, Vinča, Serbia, 2010, 42.

**Radovi saopštenji na skupu nacionalnog značaja štampani u celini** [M63]

1. V. Guzsvány, F. Gaál, S. Lazić, **Zs. Papp**, "Derivatívno spektrofotometrijsko određivanje imidakloprida i tiametoksama", *43. Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, Beograd, 2005, 94-97.

2. **Papp Zs.**, "Tiametoxám és imidakloprid derivatív spektrofotometriás meghatározása" (Određivanje tiametoksama i imidakloprida derivativnom spektrofotometrijom), *A tudomány pillérei* (H. Péics, ed.), ISBN 86-85245-05-2, Novi Sad, 2005., 372-380. (Odabrani radovi sa III Vojvođanske mađarske naučne konferencije studenata)
3. **Papp Zs.**, "Imidakloprid és 6-klórnikotinsav derivatív spektrofotometriás és nagyhatékonyságú folyadékromatográfiás meghatározása" (Određivanje imidakloprida i 6-hlornikotinske kiseline derivativnom spektrofotometrijom i tečnom hromatografijom visoke efikasnosti), *Látómező* (F. Dujmovics, ed.), ISBN 86-85245-07-9, Novi Sad, 2006., 217-225. (Odabrani radovi sa IV Vojvođanske mađarske naučne konferencije studenata)

**Radovi saopšteni na skupu nacionalnog značaja štampani u izvodu [M64]**

1. **Papp Zs.**, "Imidakloprid fotokatalitikus bomlásának voltametriás követése" (Voltametrijsko praćenje fotokatalitičke degradacije imidakloprida), *V Vojvođanska mađarska naučna konferencija studenata*, Novi Sad, 2006, 74.
2. V. J. Guzsvány, **Zs. J. Papp**, L. J. Bjelica, Lj. S. Jovanović, F. F. Gaál, "Prilog voltametrijskom ispitivanju fotokatalitičke degradacije imidakloprida", *45. Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, Novi Sad, 2007, 39.
3. **Papp Zs.**, "Bizmutfilm elektród voltametriás alkalmazása egyes rovarölőszerek fotokatalitikus degradációjának követésére" (Primena bizmut-film elektrode za voltametrijsko praćenje fotokatalitičke degradacije odabranih neonikotinoidea), *VI Vojvođanska mađarska naučna konferencija studenata*, Novi Sad, 2007, 57.
4. **Zs. Papp**, I. Švancara, V. Guzsvány, K. Vytrás, F. Gaál, B. Abramović, L. Bjelica, "Neke nove voltametrijske primene elektrode od ugljenične paste na bazi trikrezil-fosfata", *47. Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, Beograd, 2009, 16.
5. **Zs. Papp**, V. Guzsvány, "Upoređivanje fotostabilnosti četiri neonikotinoidnih insekticida u prisustvu sunčeve svetlosti", *48. Savetovanje Srpskog hemijskog društva*, Novi Sad, 2010, 24.

## 10. BIOGRAFIJA



Žigmond Pap je rođen 23.10.1983. u Senti. Osnovnu školu i gimnaziju je završio u rodnom gradu. Studije hemije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu upisao je 2002. Više puta je dobio Univerzitetsku nagradu za postignuti uspeh. Diplomski rad iz oblasti analitičke hemije je odbranio 18.09.2006. Navedeni rad je od strane Kostićevog fonda ocenjen kao najbolji diplomski rad u Srbiji iz oblasti hemijskih nauka u školskoj 2005/2006. Dobitnik je i Godišnje nagrade Srpskog hemijskog društva (2007) za postignuti uspeh tokom studija. Doktorske studije hemije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu upisao je školske 2006/2007. Koautor je 5 naučnih radova u međunarodnim časopisima, 1 rada u časopisu nacionalnog značaja, 2 poglavlja u knjigama međunarodnog značaja i 16 saopštenja na domaćim i međunarodnim skupovima. Ima 8 heterocitata sa SCI liste. Godine 2006. se zaposlio na Departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Za istraživača-pripravnika je izabran 01.10.2006., a za istraživača-saradnika 20.03.2008. Pored naučnog rada drži vežbe iz predmeta Osnovi instrumentalne analize, Instrumentalna analiza, Praktikum iz instrumentalne analize, Bioanalitička hemija i Mikroanaliza. Pomagao je u izradi 10 diplomskih radova. Bavi se istraživanjima iz oblasti analitike i fotokatalitičke razgradnje insekticida. Angažovan je na jednom republičkom (Razvoj novih i poboljšanje postojećih postupaka praćenja i unapređenja kvaliteta životne sredine, nosilac prof. dr B. Abramović) i na jednom pokrajinskom projektu (Razvoj hemijskih metoda analize neonikotinoida i derivata piridin-karboksilne kiseline, nosilac prof. dr F. Gaál). U okviru programa CEEPUS II (Education of Modern Analytical and Bioanalytical Methods, koordinator doc. dr V. Gužvanj) je bio na stručnom usavršavanju na dva inostrana univerziteta: University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry, Pardubice, Czech Republic (15.02.–15.03.2008 i 26.01.–28.02.2009) i Budapest University of Technology and Economics, Department of Inorganic and Analytical Chemistry, Research Group for Technical Analytical Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary (01.07–21.07.2008). Član je Srpskog hemijskog društva – Hemijskog društva Vojvodine i Udruženja prosvetnih radnika Mađara u Vojvodini. Sekretar je Sekcije za analitičku hemiju Srpskog hemijskog društva – Hemijskog društva Vojvodine (2009–).

Novi Sad, 22.09.2010.

---

Zsigmond Papp

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj:

RBR

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija

VR

Autor: Žigmond Pap (Zsigmond Papp)

AU

Mentor: dr Valerija Gužvanj, docent

MN

Naslov rada: Voltometrijska karakterizacija i određivanje odabranih neonikotinoida primenom različitih elektroda na bazi ugljenika

NR

Jezik publikacije: Srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda: S/E

JI

Zemlja publikovanja: Republika Srbija

ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina

UGP

Godina: 2010

GO

Izdavač: Autorski reprint

IZ

Mesto i adresa: Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine,  
Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3, Novi Sad

MA

Fizički opis rada: broj poglavlja 10; strana 155; literaturnih citata 111; tablica 20; slika 71; shema 0

FO

Naučna oblast: Hemija

NO

Naučna disciplina: Analitička hemija

ND

Ključne reči: pesticidi, insekticidi, neonikotinoidi, imidakloprid, tiametoksam, nitenpiram, klotianidin, acetamiprid, voltometrija, ugljenična pasta, staklasti ugljenik, bizmut-film

PO

UDK:

Čuva se: U biblioteci Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, PMF, Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

ČU

Važna napomena: Nema

VN

Izvod: U disertaciji je izvršena voltometrijska karakterizacija i određivanje pet neonikotinoidnih insekticida (imidakloprida, tiametoksama, klotianidina, nitenpirama i acetamiprida) na različitim elektrodama na bazi ugljenika, kao što su elektroda od ugljenične paste, elektroda od staklastog ugljenika i bizmut-filmom modifikovani staklasti ugljenik. Pored ispitivanja u model-rastvorima, razvijene visokoosetljive diferencijalne pulsne voltometrijske metode su primenjene za određivanje neonikotinoida u realnim uzorcima. Neonikotinoidi su određivani u uzorcima rečne vode i komercijalnim formulacijama, a praćena je i njihova fotolitička i fotokatalitička razgradnja. Radi potvrđivanja voltometrijskih rezultata, izvedena su komparativna merenja uz primenu tečne hromatografije sa detektorom od niza dioda i infracrvene spektrometrije. Detekcija pojedinih degradacionih proizvoda nastalih u toku ispitivanih fotodegradacionih procesa je praćena tečnohromatografskom metodom sa tandemskom masenospektrometrijskom detekcijom. Proučavana je površinska struktura CR 5 grafitnog praha, elektrode od ugljenične paste na bazi trikrezil-fosfata i elektrode od staklastog ugljenika pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije.

IZ

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: 14.04.2009.

DP

Datum odbrane:

DO

Članovi komisije:

KO

Predsednik: dr Luka Bjelica, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu

Mentor: dr Valerija Gužvanj, docent Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu

Član: dr Biljana Abramović, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu

Član: dr Sanja Lazić, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF SCIENCES

## KEYWORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type: Monograph type

DT

Type of record: Printed text

TR

Contents code: Doctoral Thesis

CC

Author: Žigmond Pap (Zsigmond Papp)

AU

Mentor: dr Valéria Guzsvány, Assistant Professor

MN

Title: Voltammetric characterization and determination of selected neonicotinoids using different carbon-based electrodes

TI

Language of text: Serbian (Latin alphabet)

LT

Language of abstract: Serbian / English

LA

Country of publication: Republic of Serbia

CP

Locality of publication: Vojvodina

LP

Publication year: 2010

PY

Publisher: Author's reprint

PU

Pub. place: Novi Sad, Department for Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection, Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 3

PP

Physical description: chapters 10; pages 155; literature 111; tables 20; figures 71; sheme 0

PD

Scientific field: Chemistry

SF

Scientific discipline: Analytical Chemistry

SD

Keywords: pesticides, insecticides, neonicotinoids, imidacloprid, thiamethoxam, nitenpyram, clothianidin, acetamiprid, voltammetry, carbon paste, glassy carbon, bismuth film

UC

Holding data: In the library of Department for Chemistry, Faculty of Sciences, Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

HD

Note: None

N

Abstract: This thesis is concerned with the voltammetric characterization and determination of five neonicotinoid insecticides (imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin, nitenpyram and acetamiprid) at different carbon-based electrodes such as carbon paste, glassy carbon and bismuth-film modified glassy carbon. In addition to the investigations in model solutions, the developed highly sensitive differential pulse voltammetric methods were applied for the determination of neonicotinoids in real samples. Neonicotinoids were determined in river water samples, commercial formulations, and their photolytic and photocatalytic degradation was also monitored. To confirm the voltammetric results, comparative measurements were performed by liquid chromatography with diode-array detector and infrared spectrometry. Detection of some degradation products formed during the photodegradation processes was monitored using liquid chromatography with tandem mass-spectrometric detection. The surface structure of CR 5 graphite powder, tricresyl phosphate-based carbon paste electrode and glassy carbon electrode was investigated by scanning electron microscopy.

AB

Accepted by the Scientific Board on: 14.04.2009.

AC

Defended:

DE

Thesis defend board:

DB

President: dr Luka Bjelica, Full Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad

Mentor: dr Valéria Guzsivány, Assistant Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad

Member: dr Biljana Abramović, Full Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad

Member: dr Sanja Lazić, Full Professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad